

**SUSCEPTIBILIDAD A Hg⁺² Y Cd⁺²
EN CEPAS BACTERIANAS BIODEGRADADORAS
DE ANTRACENO AISLADAS DE LA PLAYA
“CAIMARE CHICO” ESTADO ZULIA**

José Dupontt^{1,2}, Laugeny Díaz², Lorena Atencio²
y Aleivi Pérez¹

¹Laboratorio de Microbiología del Petróleo.

²Laboratorio de Genética y Biología Molecular.

Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias,

La Universidad del Zulia, Apartado Postal 526.

Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. E-mail: laugenydiaz@hotmail.com.

Resumen. Muchos compuestos tóxicos son liberados al ecosistema acuático indiscriminadamente. Dentro de estos compuestos se encuentran los hidrocarburos y los metales pesados, los cuales han causado gran alarma debido a su toxicidad, mutagénesis y bioconcentración en los organismos. En este trabajo se planteó realizar una identificación bioquímica y determinar patrones de resistencia a metales pesados en bacterias que crecen en presencia de antraceno aisladas de zonas impactadas del Balneario “Caimare Chico” Estado Zulia. Se realizó un muestreo en el cual se tomaron tres (3) muestras de agua y tres (3) de sedimento a lo largo de la zona intermareal, identificadas como Z1, Z2 y Z3. La cuantificación del número total de UFC/g de sedimento se realizó por el método de dilución en placas de agar antraceno al 0,05% p/v. La concentración mínima inhibitoria (CMI) de las bacterias frente a metales pesados (Cd⁺⁺ y Hg⁺⁺) se llevó a cabo por el método propuesto por Fredrickson *et al.* (1988). Se obtuvo un promedio total de $1,047 \times 10^4 \pm 15107$ UFC/g de sedimento para las tres zonas de estudio. Se aisló un total de 20 cepas bacterianas identificadas como: *Pseudomonas* sp, *Acinetobacter* sp, *Bacillus* sp, *Micrococcus* sp y *Staphylococcus* sp. Se encontró una alta resistencia al mercurio (500 µg/mL) en las cepas bacterianas, siendo las bacterias gramnegativas más resistentes que las grampositivas. La similitud entre los patrones de resistencia bacteriana a metales pesados puede deberse a la

presencia de mecanismos fisiológicos comunes entre estas bacterias.
Recibido: 01 Diciembre 2000, *aceptado:* 20 Marzo 2001.

Palabras clave: antraceno, bacterias, Caimare Chico, metales pesados.

SUSCEPTIBILITY TO Hg^{+2} AND Cd^{+2} IN BIODEGRADING BACTERIAL STRAINS OF ANTHRACENE ISOLATED AT THE "CAIMARE CHICO" BEACH IN ZULIA STATE

Abstract. Many toxic compounds are liberated indiscriminately in the aquatic ecosystem. Among these compounds there are the hydrocarbons and the heavy metals, which have caused great alarm due to their toxicity, mutagenesis and bio-concentration in organisms. In this paper biochemical identification is undertaken and resistance patterns to heavy metals are determined in bacteria that grow in the presence of anthracene, isolated from impacted areas of the "Caimare Chico" beach, Zulia State. Three (3) samples were taken of water and three (3) samples of silt along the inter-tidal area, identified as Z1, Z2 and Z3. The quantification of the total number of silt UFC/g was carried out by the dilution method in plates of anthracene agar to 0,05% p/v. The inhibitory minimal concentration (IMC) of the bacteria regarding heavy metals (Cd^{++} and Hg^{++}) was carried out by the method proposed by Fredrickson *et al.* (1988). A total average of $1,047 \times 10^4 \pm 15107$ UFC/g of silt was obtained for the three study areas. A total of 20 bacterial strains were isolated identified as: *Pseudomonas* sp., *Acinetobacter* sp., *Bacillus* sp., *Micrococcus* sp. and *Staphylococcus* sp. A high resistance to the mercury (500 $\mu\text{g/mL}$) was found in the bacterial strains. The gram-negative bacteria were more resistant than the gram-positive ones. The similarity among the patterns of bacterial resistance to heavy metals may be due to the presence of common physiologic mechanisms among these bacteria. *Received:* 01 December 2000, *accepted:* 20 March 2001.

Key words: anthracene, bacteria, Caimare Chico, heavy metals.

INTRODUCCIÓN

A partir de la revolución industrial, una amplia variedad de poluentes aromáticos son introducidos en los diferentes ecosistemas a través de diferentes actividades. La persistencia de estos poluentes en el ambiente ha causado gran alarma pública debido a su toxicidad, mutagénesis y bioconcentración en los organismos por lo que se ha propuesto la prevención completa de su emisión en el ambiente (Aihara 1992).

Estos compuestos orgánicos constituyen contaminantes ambientales que tienen un gran impacto en los ecosistemas, ya que alteran el equilibrio ecológico; además de ser carcinógenos y mutágenos para el hombre (Wilson y Jones 1993). Los hidrocarburos aromáticos son relativamente estables y más difíciles de degradar que muchos otros compuestos orgánicos (Atlas y Bartha 1992, Cerniglia 1984, Wilson y Jones 1993).

El antraceno como representante de este grupo, es uno de los hidrocarburos poliaromáticos más estudiados, conformado por tres anillos bencénicos (Gibson y Subramanian 1984). Este hidrocarburo es utilizado como modelo en investigaciones sobre biodegradación microbiana debido a su alta incidencia en el ambiente y a su baja solubilidad en el agua, además de ser parte estructural de poliaromáticos más complejos y carcinogénicos, tales como: el benzo *a* pireno, benzo *a* antraceno y el 3-metilcloroantreno (Cerniglia 1984).

La biodegradación de los hidrocarburos por poblaciones naturales de microorganismos representa uno de los principales mecanismos con los cuales los poluentes hidrocarbonados pueden ser eliminados del ambiente (Cook 1982, Leahy y Colwell 1990). Es por ello que los científicos se han avocado a realizar estudios sobre las vías metabólicas y las bases genéticas regulatorias de la utilización de hidrocarburos por los microorganismos.

Otra forma de contaminación ambiental lo constituye la emisión de metales pesados al ambiente a partir de fuentes antropogénicas que involucran la descarga de desechos tóxicos a partir de la acti-

vidad industrial. La resistencia bacteriana a diferentes contaminantes se encuentra frecuentemente codificada en plásmidos o transposones (Bhattacharya *et al.* 2000, Cerniglia 1984).

Varios estudios demuestran la relación entre la capacidad degradativa de los hidrocarburos con la resistencia bacteriana a iones metálicos, las cuales se deben a la presencia de metales pesados tanto en las mezclas de petróleo, como en los sedimentos, donde tienden a bioacumularse (Fredrickson *et al.* 1988, Fuenmayor y Rodriguez Lemoine 1992, Hada y Sizemore 1981).

Fuenmayor y Rodriguez Lemoine (1992) empleando experimentos de conjugación demuestran una relación entre el fenotipo de degradación bacteriana al naftaleno y la resistencia a Mercurio, Cadmio, Cobre y Níquel. Estos autores demostraron que la transferencia de genes catabólicos para el naftaleno y el mercurio se lleva a cabo a través de plásmidos.

El Lago de Maracaibo ha sido blanco de numerosos derrames petroleros (Nissos Amorgos 1997) y por desechos de las industrias que operan a sus alrededores, los cuales han puesto en peligro la vida de la flora, la fauna y del hombre. Además, la industria petroquímica a contribuido en gran magnitud a la liberación de metales pesados al ambiente.

El propósito de este trabajo consistió en identificar bioquímicamente las cepas bacterianas que crecen en presencia de antraceno aisladas de zonas impactadas del Balneario Caimare Chico y evaluar su resistencia a metales pesados: Mercurio (Hg^{+2}) y Cadmio (Cd^{+2}).

MATERIALES Y MÉTODOS

ÁREA DE ESTUDIO

La playa "Caimare Chico" está localizada en la porción suroccidental del Golfo de Venezuela, Estado Zulia, Municipio Páez. Se ubica a $71^{\circ} 50' 4''$ Longitud Oeste y $11^{\circ} 10' 33''$ Latitud Norte, a

unos 80 Km de la Ciudad de Maracaibo y a 24 Km de la playa "Caño Sagua".

TOMA DE MUESTRA

Fueron tomadas tres (3) muestras de agua y tres (3) de sedimento en tres (3) puntos a lo largo de la zona intermareal. La primera fue tomada en la entrada del balneario donde se observó gran afluencia de bañistas (Z1), la segunda muestra fue colectada cuatro kilómetros a la izquierda del primer punto en línea recta (Z2), donde se evidenciaron grandes manchas de petróleo y la tercera fue tomada cuatro kilómetros a la derecha del primer punto (Z3) donde se observó actividad pesquera.

Las muestras de agua y sedimento se colectaron asépticamente y se trasladaron en condiciones de refrigeración al laboratorio para su procesamiento.

ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

Tanto las muestras de agua como sedimento se sometieron a análisis fisicoquímicos: temperatura, pH y salinidad, con el fin de conocer las condiciones ambientales del hábitat donde se desarrollan las bacterias.

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Cuantificación de las cepas bacterianas degradadoras de antraceno: Fue pesado 1 g de sedimento y se realizaron diluciones seriadas 1:10 desde 10^{-2} hasta 10^{-5} en solución salina fisiológica al 0,85% estéril. De cada uno de los tubos se tomaron 0,1 mL y se sembraron en placas conteniendo agar medio mínimo mineral (MMM) (15) con antraceno (0,05% p/v) (MMM + ANT). Las placas se incubaron a una temperatura de 30°C durante dos semanas o hasta observar crecimiento.

Transcurrido este período de tiempo se cuantificó el número total de bacterias heterotróficas aeróbicas crecidas en agar MMM + ANT expresadas como UFC/g.

Identificación bioquímica de las cepas bacterianas: Para la identificación bacteriana fueron empleados protocolos convencionales reportados en la literatura (Harrigan y McCance 1996, Holt 1984, MacFaddin 1980, Murray *et al.* 1999).

RESISTENCIA BACTERIANA A LOS METALES PESADOS

La concentración mínima inhibitoria (CMI) de los metales pesados para cada aislamiento bacteriano se determinó según Fredrickson *et al.* (1988) empleando placas de agar Müeller Hinton y discos de papel de filtro estériles de aproximadamente 7 mm, impregnados con el metal (10 μ L de la solución a estudiar), similares a los empleados para evaluar la sensibilidad a los antibióticos. Se emplearon los metales: Hg^{2+} como $HgCl_2$ y Cd^{2+} como $CdCl_2$ y las concentraciones oscilaron entre 10 y 1 000 μ g/mL por disco.

Las placas se incubaron a 30°C durante 18 a 24 h, y se midieron los diámetros de las zonas de inhibición. La CMI de los metales se determinó como la cantidad de metal requerido para producir una zona de inhibición menor o igual a 10 mm (Fredrickson *et al.* 1988)

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los resultados se empleó el paquete estadístico *Statistix for Windows* ver 4.1.

Se utilizó una estadística paramétrica (*t-student*) y no paramétrica (*prueba U Mann Whitney*) a un nivel de significancia del 95%.

RESULTADOS

Para el agua se obtuvo una temperatura de 29°C y para el sedimento de 29,6°C. Estos valores se corresponden con los reportados por Suárez *et al.* (1998).

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

CUANTIFICACIÓN DE LAS CEPAS BACTERIANAS DEGRADADORAS DE ANTRACENO

Para la Z1 se obtuvo un promedio de $3,62 \times 10^3 \pm 7670,9$ UFC/g de sedimento, para la Z2 $2,77 \times 10^4 \pm 89057$ y para la Z3 de $1,66 \times 10^1 \pm 0,557$ UFC/g, con un promedio total de $1,047 \times 10^4 \pm 15107$ UFC/g para las tres zonas en estudio.

ASLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LAS CEPAS BACTERIANAS

Se aisló un total de 20 cepas bacterianas que crecieron en presencia de antraceno, de las cuales 50% correspondieron a bacilos gramnegativos (B-), 25% a bacilos grampositivos (B+) esporulados y 25% a cocos grampositivos (C+).

Del 50% de los bastones gramnegativos, el 45% se ubicó dentro de la Familia *Pseudomonadaceae*, género *Pseudomonas* sp. y el 5% se ubicó dentro de la Familia *Neisseriaceae*, género *Acinetobacter* sp. (Holt 1984, Murray *et al.* 1999). Con respecto a los bacilos grampositivos todos presentaron endosporas por lo que se incluyeron en la Familia *Bacillaceae*, género *Bacillus* sp. (MacFaddin 1980) (Figura 1).

Se identificaron, además, miembros de la familia *Micrococcaeeae*. De este grupo de bacterias el 15% correspondió al género *Micrococcus* sp, y el 10% al género *Staphylococcus* sp (Harrigan y McCance 1996, Holt 1984) (Figura 1).

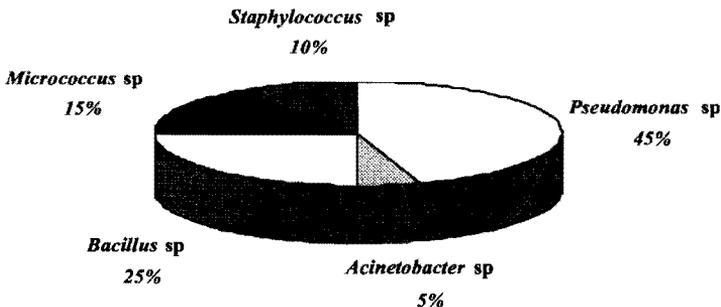


FIGURA 1. Porcentaje de géneros bacterianos antraceno líticos aislados .

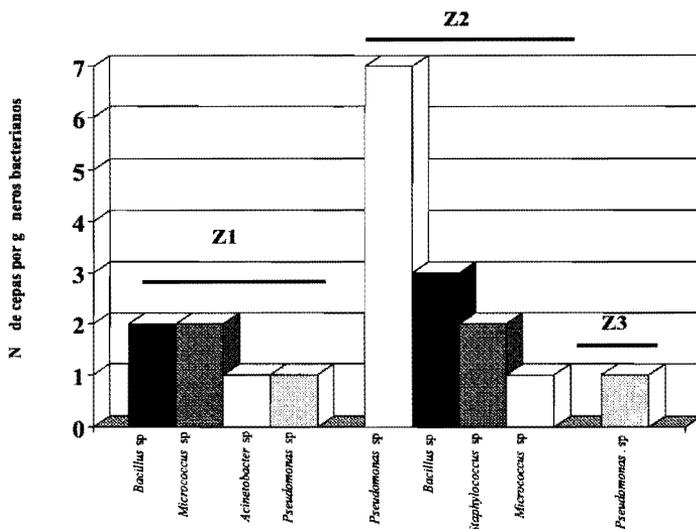


FIGURA 2. Distribución de cepas bacterianas por zonas de estudio.

DISTRIBUCIÓN DE GÉNEROS BACTERIANOS POR ZONAS DE ESTUDIO

En la Figura 2 se presentan las cantidades de cepas bacterianas de los diferentes géneros, encontrados en cada zona de estudio.

RESISTENCIA BACTERIANA A METALES PESADOS. DETERMINACIÓN DE LA C.M.I.

Resistencia bacteriana al Cadmio: Pudo observarse que los grupos morfológicos bacterianos fueron resistentes como mínimo a la concentración de 50 µg/mL (Tablas 1 y 2).

Las CMI en bacterias gramnegativas que resistieron al Cadmio estuvieron comprendidas entre 50 y 1000 µg/mL, con un promedio de 810 µg/mL (Tabla 1), mientras que para bacterias grampositivas, estuvieron comprendidas entre 50 y 900 g/mL, con un promedio de 330 µg/ mL (Tabla 2), siendo más susceptibles que las gramnegativas.

Las cepas de *Pseudomonas* fueron las más resistentes al Cadmio, especialmente las codificadas como B1-510 y B3-54 que fueron resistentes hasta 1000 µg/mL. También se evidenció una elevada resistencia al Cadmio por parte del género *Acinetobacter* sp. (800 µg/mL) metal.

TABLA 1. Resistencia bacteriana a metales pesados en cepas gram-negativas.

GÉNERO BACTERIANO	CMI (Cd ⁺²) µg/mL	CMI (Hg ⁺²) µg/mL
<i>Pseudomonas</i> sp. A1-36	900	100
<i>Pseudomonas</i> sp. B1-21	500	50*
<i>Pseudomonas</i> sp. B1-510	1000**	500**
<i>Pseudomonas</i> sp. B3-51A	500	50*
<i>Pseudomonas</i> sp. B3-52	50*	100
<i>Pseudomonas</i> sp. B3-53	250	50*
<i>Pseudomonas</i> sp. B3-54	1000**	100
<i>Pseudomonas</i> sp. B3-510	500	500**
<i>Pseudomonas</i> sp. C2-51	600	50*
<i>Acinetobacter</i> sp. A1-41B	800	50*
Promedio	810	225

CMI: Concentración Mínima inhibitoria del metal; **:Máximo; * Mínimo. Las letras al lado de los géneros bacterianos corresponden a: A, B y C zonas 1, 2 y 3 de los aislamientos respectivamente; los primeros números 1, 2 y 3 corresponden a la serie a la que corresponde el aislado en el triplicado; el signo negativo y el segundo número corresponden a la dilución; y el último número corresponde al número de la colonia. En el caso de algunas colonias que crecieron solapadas, se le asignó A o B según fueron separadas para el aislamiento.

Se obtuvo una resistencia a Cadmio por cepas de *Staphylococcus* a niveles de 50 µg/mL y 100 µg/mL, que fueron las concentraciones más bajas ensayadas.

Al realizar un análisis comparativo de los grupos bacterianos en relación a la resistencia al cadmio, empleando la prueba U de Mann-Whitney, se obtuvo que no se encontraron diferencias significativas en las CMI del metal en bacterias grampositivas y gramnegativas ($p > 0,05$).

Resistencia bacteriana a Mercurio: Todas las cepas bacterianas que utilizaron antraceno, mostraron resistencia al menos a la concentración de 50 $\mu\text{g/mL}$. Sin embargo, se observa que la mayoría de éstas fueron susceptibles a elevadas concentraciones del metal.

Las CMI de bacterias gramnegativas que resistieron al Mercurio estuvieron comprendidas entre 50 y 500 $\mu\text{g/mL}$, con un promedio de 225 $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 1), mientras que para las bacterias grampositivas estuvieron comprendidas entre 50 y 500 $\mu\text{g/mL}$, con un promedio de 125 $\mu\text{g/mL}$ (Tabla 2).

TABLA 2. Resistencia bacteriana a metales pesados en cepas grampositivas.

GÉNERO BACTERIANO	CMI (Cd^{+2}) $\mu\text{g/mL}$	CMI (Hg^{+2}) $\mu\text{g/mL}$
<i>Micrococcus</i> sp. A1-33	100	250
<i>Micrococcus</i> sp. A1-41A	50*	250
<i>Micrococcus</i> sp. B3-45	50*	250
<i>Staphylococcus</i> sp. B3-211A	100	250
<i>Staphylococcus</i> sp. B3-211B	50*	250
	900**	50*
	800	50*
<i>Bacillus</i> sp. B1-52	500	50*
<i>Bacillus</i> sp. B1-53	500	500**
<i>Bacillus</i> sp. B3-44	250	50*
Promedio	330	125

CMI: Concentración Mínima inhibitoria del metal; **:Máximo; * Mínimo. Las letras al lado de los géneros bacterianos corresponden a: A, B y C zonas 1, 2 y 3 de aislamiento respectivamente; los primeros números 1, 2 y 3 corresponden a la serie a la que corresponde el aislado en el triplicado; el signo negativo y el segundo número corresponden a la dilución; y el último número corresponde al número de la colonia. En el caso de algunas colonias que crecieron solapadas, se le asignó A o B según fueron separadas para el aislamiento.

Las cepas de *Pseudomonas* (B1-510 y B3-54) presentaron una resistencia al Mercurio hasta una concentración de 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$, mientras que la cepa de *Acinetobacter* A1-41B fue capaz de resistir sólo hasta 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

La CMI del Mercurio fue de 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ en las cepas de *Micrococcus* y *Staphylococcus*.

Al realizar un análisis comparativo de los grupos bacterianos en cuanto a la resistencia al Mercurio, no se encontraron diferencias significativas en las CMI del metal en bacterias grampositivas ($p > 0,05$).

DISCUSIÓN

Se encontró un mayor número de cepas bacterianas en la Z2 seguidas por la Z1 y finalmente por la Z3. Los géneros bacterianos predominantes fueron: *Pseudomonas* > *Bacillus* > *Micrococcus* > *Staphylococcus* > *Acinetobacter*. En la Z2 se observó una mayor variedad de bacterias que crecen en presencia de Antraceno, que podría deberse a un mayor impacto por hidrocarburos, evidenciado por grandes manchas de petróleo.

El hecho de haber encontrado un solo género bacteriano (*Pseudomonas* sp.) en la Z3 puede deberse a que la actividad pesquera permite la entrada de diversas fuentes de carbono orgánico, tales como los detritus de animales descompuestos, materia fecal y otros, que conducen a un florecimiento de bacterias heterotróficas las cuales desplazan a la flora bacteriana degradadora de hidrocarburos.

En otros trabajos se ha reportado el aislamiento de bacterias hidrocarbonoclasticas de sitios contaminados por diversas actividades industriales, con resistencia a diferentes iones metálicos; siendo el género *Pseudomonas* uno de los más versátiles. Macaskie y Dean (1987) lograron el aislamiento de una cepa de *Citrobacter* aislada de un lodo industrial, capaz de acumular Cadmio en presencia de Plomo. Remacle *et al.* (1992) reportaron una cepa de *Alcaligenes denitrificans* IM01 aislada de lodos contaminados con metales, capaz de remover Cadmio a concentraciones de 10 a 90 mg/L .

Fredrickson *et al.* (1991) por su parte, reportaron bacterias gramnegativas con capacidad degradativa al Tolueno, que resistieron a concentraciones de Mercurio por debajo de 20 $\mu\text{g/mL}$. Hada y Sizemore (1981) lograron el aislamiento de 440 cepas de *Vibrio*, a partir de un campo petrolero, capaces de resistir al Mercurio hasta una concentración de 8 $\mu\text{g/mL}$. Kelly y Reaney (1984) reportaron que de 27 especies de *Pseudomonas* aisladas del suelo, 20 presentaron valores de CMI de 40 $\mu\text{g/mL}$ al mercurio. Bhattacharya *et al.* (2001) reportaron cepas de *Acinetobacter* y *Pseudomonas* resistentes hasta 1 mM de Magnesio (II) en costas de la India contaminadas por actividad petroquímica.

Con respecto a las bacterias grampositivas, en el trabajo de Mullen *et al.* (1989) se reporta una cepa de *Bacillus* de origen ambiental que creció en presencia de cadmio a una concentración de 1 mM. Para este género bacteriano se han reportado diferentes mecanismos de resistencia a metales, incluyendo el Cadmio.

Por otra parte, se reporta en este estudio la resistencia a cadmio por cepas del género *Micrococcus*. En el trabajo de Bhattacharya *et al.* (2001) se reporta la presencia de una cepa de *Micrococcus* capaz de resistir al metal Magnesio (II) aislada a partir de costas de la India contaminadas con petróleo y otros desechos industriales.

La similitud encontrada en los patrones de resistencia a los metales evaluados entre bacterias grampositivas y gramnegativas podría deberse a la presencia de diferentes mecanismos fisiológicos comunes entre esas bacterias, o al desarrollo de tolerancia a los contaminantes a los que han sido expuestas.

La elevada resistencia a los iones metálicos por las bacterias antracénolíticas aisladas en este trabajo, permiten inferir que la actividad petroquímica ejerce una gran influencia en la aparición de fenotipos de resistencia a diversos contaminantes. Dichas resistencias podrían deberse a dos factores: a) a una adaptación de la microflora bacteriana de los sedimentos contaminados con petróleo y metales emanados por la industria petroquímica, o b) a la capacidad de las

bacterias de metabolizar metales contenidos en las mezclas de petróleo, a través de distintos mecanismos fisiológicos.

Si se considera que la industria petroquímica que opera alrededor del Lago de Maracaibo y del Golfo de Venezuela, emite grandes cantidades de hidrocarburos y metales al ambiente, no es sorprendente encontrar bacterias con resistencia a varios agentes. Esto es soportado por varios autores, dentro de los cuales el trabajo de Fuenmayor y Rodríguez (1992) resulta apropiado para ejemplificar este hecho, puesto que reportaron una bacteria aislada de un suelo contaminado con diversos poliaromáticos en el Tigre (Estado Anzoátegui Venezuela), que además presentó resistencia al Mercurio.

La presencia en las mezclas de petróleo de grandes cantidades de metales, podrían condicionar al florecimiento de bacterias hidrocarbonoclasticas con resistencia a metales pesados. En este caso se genera una presión de selección de la bacteria frente a dos sustratos diferentes, y es muy probable que dichas cepas puedan resistir o degradar otros agentes no considerados en este trabajo.

Dada la versatilidad encontrada en estas bacterias, las mismas podrían utilizarse potencialmente en la destoxificación de ambientes contaminados con metales e hidrocarburos; proporcionando una alternativa rápida y económica que involucra el uso de bacterias autóctonas para la futura biorremediación de sedimentos impactados por actividad petroquímica a lo largo de la costa del Lago de Maracaibo y del Golfo de Venezuela.

Por otra parte, dado que en otros trabajos se ha reportado el aislamiento de bacterias en lodos industriales y lagunas de oxidación para el tratamiento de aguas y de minas (Louhidou y Zouboulis 2001, Tyagi *et al.* 1993), resultaría conveniente utilizar estas bacterias en la descontaminación de aguas residuales, e inclusive en la recuperación de metales valiosos (Cervantes y *et al.* 1984, Gutnick y Bach 2000).

Se recomienda en estudios posteriores realizar una mejor caracterización de los mecanismos bacterianos implicados en las activida-

des degradativas y de resistencia, mediante la aplicación de técnicas de biología molecular. Esto con el fin de determinar la implicación de genes plasmídicos o cromosómicos en los fenotipos presentados en este trabajo.

CONCLUSIONES

Fueron aislados los géneros bacterianos *Pseudomonas* sp, *Bacillus* sp, *Micrococcus* sp, *Staphylococcus* sp y *Acinetobacter* sp, siendo el género *Pseudomonas* sp. el más frecuentemente aislado, capaz de resistir a altas concentraciones de Cadmio y Mercurio mucho mayores que las reportadas en otros trabajos. Dichas bacterias pudieran utilizarse potencialmente en experimentos de destoxificación de ambientes contaminados con estos y otros poluentes relacionados.

La similitud de los patrones de resistencia bacteriana a los metales entre bacterias grampositivas y gramnegativas, podría deberse a la presencia de mecanismos fisiológicos comunes entre estas bacterias.

La versatilidad de las bacterias estudiadas frente al Antraceno y a los metales Mercurio y Cadmio, permiten suponer una adaptación intrínseca de la microflora bacteriana de los sedimentos contaminados por la industria petroquímica. Esta habilidad confiere un gran potencial a la microflora autóctona para la remoción de contaminantes ambientales del ecosistema evaluado, para la volatilización de metales presentes en los lodos de lagunas de oxidación, y en la recuperación de metales valiosos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Lic. Federico Arrieta y al T.S.U. Johan Mesa por el asesoramiento en la determinación de los análisis químicos, de igual forma al personal del laboratorio de Genética y Biología Molecular de la Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia por permitir la infraestructura para la realización de la fase experimental de este proyecto de investigación.

LITERATURA CITADA

- AIHARA, J. 1992. ¿Por qué son estables los compuestos aromáticos? *Science*. 44-51.
- ATLAS, R., R. BARTHA. 1992.. *Microbial Ecology Fundamentals and Applications*. Third Edition. The Benjamin/Cumming Publishing Company, Inc. United States of America. pp. 563.
- BHATTACHARYA, M., S. S. ROY, D. BISWAS, y R. KUMAR. 2000. Effect of Mg(2+) ion in protein secretion by magnesium-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* and *Vibrio parahaemolyticus* from the coastal water of Haldia port. *FEMS Microbiol. Lett.* 185(2): 151-156.
- CERNIGLIA, C. E. 1984. Microbial metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Adv. Appl. Microbiol.* 30: 31-51.
- CERVANTES, C., J. CHAVEZ y S. VACA. 1991. Mecanismos de resistencia bacteriana a metales pesados. *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 33:61-70.
- COOK, J. 1982. Refining-from the microbes point of view. *Petroleum Review*. pp. 15.
- FREDRICKSON, J. K., R.J. HICKS., S.W. LI y F.J. BROCKMAN. 1988. Plasmid incidence in bacteria from deep subsurface sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* p. 2916-2923.
- FREDRICKSON, J.K., F.J. BROCKMAN., D.J. WORKMAN., S.W. LI y T.O. SEVENS. 1991. Isolation and characterization of a subsurface bacterium capable of growth on toluene, naphthalene, and other aromatic compounds. *Appl. Environ. Microbiol.* p. 796-803.
- FUENMAYOR, S. L. y V. RODRÍGUEZ-L. 1992. Characterization of polycyclic aromatic hydrocarbons degradative soil *Pseudomonas*. *Acta Científica Venezolana.* 43: 349-354.
- GIBSON, D. T. y V. SUBRAMANIAN. 1984. Microbial degradation of aromatic hydrocarbons. *Microbial degradation of aromatic hydrocarbons*. Edited by Gibson, D.T. Marcel Dekker, Inc. New York. pp. 535.
- GUTNICK, D. L. y H. BACH. 2000. Engineering bacterial biopolymers for the biosorption of heavy metals; new products and novel formulations. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 54 (4): 451-460.

- HADA, H.S. y R.K. SIZEMORE. 1981. Incidence of plasmid in marine *Vibrio* spp. isolated from an oil field in the Northwestern Gulf of Mexico. *Appl. Environ. Microbiol.* p. 199-202.
- HARRIGAN, W. F. y M.E. MCCANCE. 1966. Métodos de Laboratorio en Microbiología. Editorial. Academia. España. p. 10, 22, 23,67.
- HOLT, J. G. 1984. The shorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Eighth Edition. The Williams & Wilkins Company. Baltimore. The United States of America.
- JOBSON, A., F. D. COOK y D.W.S. WESTLAKE. 1972. Microbial utilization of crude oil. *Appl. Microbiol.* p. 23(6): 1082-1089.
- KELLY, W. J. y D.C. REANNEY. 1984. Mercury resistance among soil bacteria: ecology and transferability of genes encoding resistance. *Soil Bioch.* 16 (1): 1-8.
- LEAHY, J. G. y R. R. COLWELL. 1990. Microbial degradation of hydrocarbons in the environment. *Microbiol. Reviews.* p. 30-315.
- LOUKIDOU, M. X. y A. I. ZOUBOULIS. 2001. Comparison of two biological treatment processes using attached-growth biomass for sanitary landfill leachate treatment. *Environ. Pollut.* 111 (2): 273-281.
- MACASKIE, L. E. y A. C. R. DEAN. 1987. A heavy metal-accumulating *Citrobacter* sp. is unable to accumulate trimethyl lead but accumulates cadmium in the presence of organolead. *Biotechn. Lett.* 9(4): 299-300.
- MACFADDIN, A. 1989. Pruebas Bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Editorial Panamericana, S.A. Argentina.
- MULLEN, M. D., D. C. WOLF, F. G. FERRIS, T. J. BEVERIDGE, C. A. FLEMMING y G. W. BAILEY. 1989. Bacterial sorption of heavy metals. *Appl. Environ. Microbiol.* 55 (12):3143-3149.
- MURRAY, P., E. BARON, M. PFALLER, F. TENOVER. y R. YOLKEN. 1999. Manual of Clinical Microbiology. 7th Ed. American Society for Microbiology ASM Press. Washington. D. C.
- REMACLE, K., I. MUGURUZA y M. FRANSOLET. 1992. Cadmium removal by a strain of *Alcaligenes denitrificans* isolated from a metal-polluted pond. *Water Research.* 26(7): 923-926.

- SUAREZ, J., L. ATENCIO, J. PAZ, A. PEREZ, C. PEREZ y G. TORO. 1998. Caracterización de una bacteria degradadora de antraceno aislada en el balneario "Caimare Chico". Libro de Resúmenes. VIII Jornadas Científicas Nacionales de la Facultad Experimental de Ciencias. p. 30.
- TYAGI, R. D., J. F. BLAIS, J. C. AUCLAIR y N. MEUNIER. 1993. Bacterial leaching of toxic metals from municipal sludge: influence of sludge characteristics. *Water Environment Research*. 65 (3): 196-204.
- WILSON, S. C. y K. C. JONES. 1993. Biorremediation of soil contaminated with polynuclear aromatic hydrocarbons (PAHs). *Environ. Pollut.* 81: 229-249.