

OBTENCIÓN DE BIOPREPARADOS A PARTIR DE MICROORGANISMOS CON ACTIVIDAD BIORREMEDIADORA

Dr. C. Grethel Milián Florido¹, Ing. Milena L. Quintero Monet², MSc. Marlene M. Martínez Mora¹, MSc. Yadleiny Portilla Tundidor³,

1. Universidad de Matanzas, Vía Blanca Km.3, Matanzas, Cuba.
grethel.milian@umcc.cu

2. Delegación de la Agricultura, Vía Blanca Km.3, Matanzas.

3. Universidad Autónoma de Madrid, Ciudad Universitaria de Cantoblanco, 28049 Madrid, España.

Resumen

La necesidad de producir alimentos en cantidad suficiente repercute en las prácticas agrícolas de todo el mundo. En muchos países esta presión origina un mayor uso de fertilizantes y plaguicidas con el fin de lograr y mantener rendimientos superiores. Más del 55% de la tierra que se usa para la producción agrícola en países en vías de desarrollo, emplea cerca del 26% del total de plaguicidas producidos en el mundo. Sin embargo, la presencia de residuos y metabolitos de plaguicidas en el alimento, agua y suelo representa actualmente uno de los temas importantes para la química ambiental. Existe una gran variedad de métodos físicos, químicos y biológicos para tratar los suelos y mantos acuíferos contaminados dentro de los que se encuentra la biorremediación. En el presente trabajo se expone la obtención de biopreparados a partir de microorganismo con actividad biorremediadora.

Palabras claves: *probióticos, biorremediación, microorganismos, protección del recurso agua y suelo.*

Introducción

Actualmente, se conocen muchas técnicas para mejorar la calidad de los suelos y el agua, entre las que se encuentra la biorremediación. Esta consiste en la potenciación de aquellos microorganismos naturales, principalmente bacterias, que degradan los compuestos contaminantes transformándolos en moléculas de agua, dióxido de carbono y otros metabolitos mucho menos contaminantes que los que les dieron origen, inocuas para los seres vivos (Álvarez, 2015; Portilla, 2016).

Con el desarrollo de las investigaciones, en este campo el concepto de biorremediación se transforma y profundiza. Se define como cualquier proceso que utilice microorganismos, hongos, plantas o las enzimas derivadas de ellos para retornar a un medio ambiente alterado por contaminantes a su condición natural. Esta se aprovecha para atacar contaminantes específicos del suelo, por ejemplo, en la degradación bacteriana de compuestos organoclorados o de hidrocarburos (Álvarez, 2015; Hernández -Ruíz et al., 2017).

La aplicación de esta técnica no daña en absoluto la estructura del ecosistema y elimina la contaminación sin provocar efectos secundarios. Esto lleva a pensar en la biorremediación como una técnica efectiva en la descontaminación (Portilla, 2016) por medio de la degradación microbiana y enzimática, así como la utilización de estrategias como la bioestimulación de microorganismos nativos, y el bioaumentación (Boullosa, 2011), el que se basa en la inoculación de cepas, consorcios microbianos de laboratorio o mezclas de enzimas (Alarcón y Ferrera, 2015).

En los ambientes contaminados existen abundantes especies con estas capacidades metabólicas específicas, debido a la adaptación de la microflora presente en el contaminante (Álvarez, 2015). Cepas de *Bacillus*, *Lactobacillus*, levaduras y actinomicetos son una opción muy viable, ya que son microorganismos capaces de utilizar contaminantes como fuente de carbono y energía (Velásquez, 2017) necesarios para su crecimiento, donde se generan productos más sencillos.

En Cuba, la contaminación de los suelos y el agua se identifican como uno de los principales problemas ambientales. La provincia de Matanzas no se encuentra excluida de esta problemática, con aplicación de productos químicos en los suelos, lo que hace que se identifique como una problemática medio ambiental.

En la Universidad de Matanzas, Portilla (2016) aisló microorganismos de uno de los ríos emblemáticos de esta provincia: El río Yumurí. En él se reportan niveles elevados de

materia orgánica, amonio, fosfato y metales pesados como consecuencia de vertimientos de los residuales a los suelos, cavernas o directamente a corrientes superficiales. Estos residuos sobrepasan los límites de autodepuración e influyen negativamente sobre la calidad de sus aguas. La autora demostró que los microorganismos aislados, seleccionados e identificados fueron capaces en condiciones de laboratorio de mostrar un efecto biorremediador. Sin embargo; estos estudios no se han realizado en otros ecosistemas donde pudieran tener un efecto positivo, como es el caso de los suelos contaminados y de las fuentes de abasto de agua para riego y consumo animal. De ahí que el objetivo de esta monografía este encaminado en presentar algunos de los elementos que conforman hoy el problema de la contaminación de los sistemas productivos y su mejora a través de biopreparados con efecto biorremediador.

Desarrollo

1.1.- Ecosistemas

Un ecosistema, es el conjunto formado por los seres vivos y los elementos no vivos del ambiente y la relación vital que se establece entre ellos. La ciencia encargada de estudiar los ecosistemas y estas relaciones es la llamada ecología. Los ecosistemas pueden ser de dos tipos: terrestres (bosques, selvas, sabanas, desiertos, polos, etc.) y acuáticos (comprenden desde un charco hasta los océanos, mares, lagos, lagunas, manglares, arrecifes coralinos, etc.) (Martínez, 2015).

Los ecosistemas terrestres son los más conocidos debido a que no requieren un equipo especial para su observación (Martínez, 2015). Estos se caracterizan por la presencia de componentes vivos o bióticos (plantas, animales, bacterias, algas y hongos) y de componentes no vivos o abióticos (luz, sombra, temperatura, agua, humedad, aire, suelo, presión, viento y pH).

Los ecosistemas mantienen un intercambio constante de materia y energía que pasan de un ser viviente a otro, a través de las llamadas cadenas alimentarias. Las plantas (organismos productores) captan la energía solar y sintetizan materia orgánica (alimentos), tanto para ellas como para los organismos consumidores (animales) que la aprovechan, los cuales, además; pueden luego alimentarse unos de otros. Al morir estos organismos actúan los descomponedores (bacterias y hongos) y los transforman en nutrientes que enriquecen el suelo, los cuales serán aprovechados por las plantas, iniciándose así un nuevo ciclo.

Cabe resaltar, que actualmente los ecosistemas se enfrentan a una dificultad sin precedentes: **la Humanidad**. La acción incontrolada del ser humano sobre los ecosistemas como la destrucción y fragmentación de hábitats (incendios, tala indiscriminada, la caza, y pesca sin control y el uso de productos químicos), el cambio climático, la contaminación del suelo y del agua, afecta su estado de “equilibrio natural” y; el normal desarrollo y crecimiento de los organismos en una población. Por ello, se crean los decretos y leyes para la protección del ambiente (Martínez, 2015).

La Ley de Aguas en su artículo 6, inciso 20 de la Ley General del Ambiente en Honduras define la contaminación del agua como “la acción y efecto de introducir materias o formas de energía o inducir condiciones en el agua que, de modo directo o indirecto, impliquen una alteración perjudicial de su calidad en relación con sus usos posteriores o con su función ecológica” (Sánchez, 2011).

La ley de los suelos define que “los suelos deben usarse de acuerdo con su capacidad agrológica específica. Estos deben clasificarse basados en la pendiente, grado de erosión, fertilidad del suelo y factores del clima. Los suelos deben ser usados de forma tal que se mantenga su integridad física, y su capacidad productora, su fertilidad, inclinación, grado de erosión y otros factores”.

De ahí la necesidad de protección de los mismos como una alternativa viable a la solución de los problemas de hambruna que acarrea la humanidad.

1.2.- Contaminación. Situación actual en Cuba, Matanzas

La contaminación del suelo es el resultado de la deposición final sin tratamientos previos de una cantidad increíble de sustancias contaminantes, además de los químicos que se utilizan en otras tareas que también terminan en este sustrato (Zhang et al., 2014).

Según esta definición, la contaminación puede ser:

- Natural: resultado del equilibrio dinámico de la tierra, actividad geofísica y fases del ciclo natural del agua.
- Artificial (antropogénica): resultado de la actividad humana que genera sustancias ajenas a la composición natural del agua o de los suelos (Herrera et al., 2013).

En general, y dado que la palabra contaminación suele ir asociada a la artificial, dejaremos a un lado la natural, más aceptada, y entenderemos por procesos contaminantes los provocados o derivados por la acción del hombre.

La contaminación de los suelos por vertimiento de aguas residuales, mal uso de fertilizantes, desechos de hidrocarburos, metales pesados y complejos químicos, entre otros, hace que la metodología a seguir para lograr su recuperación no esté desarrollada a plenitud, lo que provoca con ello, que la efectividad de las tecnologías aplicadas, en muchas ocasiones sea insuficiente (Jaramillo et al.,2016).

Reyes et al., (2016) define el suelo” ... como algo maravilloso. Por estériles y aburridos y en ocasiones cenagosos que puedan parecer, la delgada capa que forma y que cubre la superficie del planeta, es el basamento de la biosfera, nuestro principal recurso repleto de vida bajo de miles de formas, el suelo merece ser calificado como un ecosistema por derecho propio o con más propiedad como una multitud de ecosistemas”.

El origen de la contaminación de las aguas está ligado a varias actividades dentro de las que se destacan las actividades urbanas, agrícolas, ganaderas e industriales (Cobos, 2002). La contaminación de las aguas debido a las actividades urbanas, es consecuencia de la inadecuada eliminación y ubicación de los residuos. Las aguas residuales urbanas contienen fundamentalmente contaminantes orgánicos procedentes de vertidos de residuos sólidos, efluentes líquidos domésticos, lavado diario, fugas de colectores y alcantarillas, fosas sépticas, así como papeles, detergentes, aceites y restos de plásticos; además también pueden presentar bacterias, virus y otros microorganismos que acompañan a los contaminantes anteriores (Polomé et al., 2016).

La contaminación de las aguas por prácticas agrícolas es debida fundamentalmente a la utilización de fertilizantes y biocidas en exceso (Agarwal et al., 2015). Los fertilizantes son ricos en compuestos nitrogenados y fosforados, por lo que son lavados y arrastrados de la superficie por lluvias y escorrentías, que los conducen a cauces de ríos y de ahí a lagos o embalses lo que favorece su eutrofización. Por otra parte, muchos de los biocidas que se utilizan en la agricultura presentan una alta toxicidad y persistencia, con alta capacidad de acumulación en los organismos vivos (Rashid y Romshoo, 2013).

La contaminación de aguas por explotaciones ganaderas es debida a compuestos orgánicos y biológicos procedentes de residuos de instalaciones ganaderas y purines de animales estabulados. Las aguas utilizadas en las explotaciones ganaderas, sobre todo para operaciones de limpieza, pueden arrastrar el estiércol, los purines producidos, así como restos de plaguicidas de origen ganadero (Gu et al., 2008).

La contaminación del agua se considera como una de las actividades industriales más compleja y en muchos casos difícil de eliminar. Al mismo tiempo es la actividad más contaminante de las aguas. El agua es un elemento fundamental en las actividades

industriales, como vehículo energético, de transporte, disolvente, en operaciones de lavado, base para reacciones, intercambiadores de calor, y, como materia prima (Popescu et al., 2015).

Todos estos procesos contaminantes, independientemente de su origen, afectan en cantidad e importancia las características del medio receptor y los usos del agua y calidades exigidas del recurso (Coronel y Tenesaca, 2013).

Situación de la contaminación en Cuba, Matanzas

La situación ambiental del país no puede dejar de enmarcarse dentro del proceso histórico, económico y social por el tránsito, por su vinculación y efectos producidos sobre el medio ambiente. Durante el período colonial y ya en este siglo, bajo la condición impuesta de República Mediatizada, el desarrollo económico que se logra alcanzar se sustentó principalmente en la producción agrícola extensiva, con un uso y manejo inadecuado de los suelos y una intensa destrucción de las áreas boscosas (Pérez et al., 2009).

Las profundas transformaciones económicas y sociales logradas por el proceso revolucionario, condujeron a cambios favorables en las condiciones de vida de la población y consecuentemente un incremento en las acciones encaminadas a la protección y conservación de los recursos naturales, los que son considerados como patrimonio de todo el pueblo (Díaz-Asencio et al., 2011).

Paralelamente a estos logros existen errores y deficiencias, dados en lo fundamental por la insuficiente conciencia, conocimientos y educación ambiental, la carencia de una mayor exigencia en la gestión, la limitada introducción y generalización de los resultados de la ciencia y tecnología, la aún insuficiente incorporación de la dimensión ambiental en las políticas, planes y programas de desarrollo, y la ausencia de un sistema jurídico lo suficientemente integrador y coherente. Por otra parte, la carencia de recursos materiales y financieros impide alcanzar niveles superiores de protección ambiental, lo que se agudiza en los últimos años por la situación económica en la cual se ve inmerso el país, debido a la pérdida de las relaciones comerciales y el sostenido e incremento del bloqueo económico de Estados Unidos.

Actualmente la contaminación en Cuba está enfocada en las aguas residuales urbanas, ganadería, agricultura, vertederos de residuos sólidos, aguas superficiales y actividades industriales (minería). A nivel nacional, las acciones van dirigidas desde el CITMA y apoyada por los programas nacionales como: Programa de Asociación de País (OP-15), el

Fondo Mundial para el Medio Ambiente (GEF) y el Programa de Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD).

Hoy se trabaja con mayor énfasis en la zona más occidental y extremo oriental, en las cuales se promueve el manejo sostenible de tierras (MST). Muchas de las acciones se encaminan a disminuir la pérdida de los suelos causada por la erosión, rehabilitación y estabilización de cárcavas, se impulsa la fertilización con materia orgánica, y la construcción de canales de drenaje y tanques de agua para el riego. Se suma la siembra de especies forestales y frutales, y otras protectoras del suelo, cuerpo natural que contiene todos los elementos químicos de la tabla periódica del científico ruso Dimitri Mendeleev, con el fin de disminuir la presencia de metales pesados en los suelos (ONE, 2011).

La provincia de Matanzas, no se encuentra ajena a estos programas de protección del medio ambiente. De ahí, que exista una definición de sus principales problemas ambientales, los que se recogen en la estrategia ambiental de la provincia (CITMA, 2015).

De los lugares identificados en la provincia con alta contaminación se encuentra el río Yumurí, uno de los tres ríos más importantes de la ciudad de Matanzas. De menos longitud y caudal que los otros dos (el río San Juan y Canímar), el río separa los barrios de Versalles y Matanzas, sin embargo, la belleza natural del paisaje se ve empañada por las condiciones higiénico-ambientales de sus márgenes y el vertimiento de residuales, a lo largo de su cauce, desde su nacimiento hasta desembocadura. Tiene múltiples fuentes contaminantes, debido a la acción del hombre, y los asentamientos humanos (Portilla, 2016).

Los últimos datos de la carga contaminante reducida de la cuenca hidrográfica, informan un número de 7 fuentes emisoras. La carga contaminante generada es de 411 t/año, [calculada como: demanda bioquímica de oxígeno (DBO)] y la carga contaminante dispuesta de 197 t/año (calculada como DBO). A esto se suman los albañales de la ciudad y los micro-vertederos (CITMA, 2013; Portilla, 2016). Estos informes demuestran el uso indiscriminado de los ríos como sumideros para los desechos de la agricultura, urbanos y de la industria, lo cual repercute negativamente en el ecosistema.

Las áreas cultivables de la provincia exponen niveles de contaminación, ya que se conoce que todos los cultivos reciben la aplicación de productos químicos como parte de las cartas tecnológicas de los cultivos.

1.3.- Principales agentes contaminantes de los suelos

Plaguicidas: representan el primer agente contaminante del suelo, no solo por afectarlo directamente, sino que además extermina tanto a la plaga como a otras especies, lo que genera un desequilibrio ambiental, y favorece a la contaminación de los productos que son ingeridos por el hombre (Portilla, 2016).

Minería: las aguas de relave producen en la actividad minera que se depositen en el suelo grandes cantidades de elementos químicos como el mercurio (Hg), arsénico (As), plomo (Pb), cadmio (Cd), cobre (Cu), entre otros. Todos estos elementos productos de diferentes industrias, como la del papel, la del cloro, la del cemento o directamente la minera, entre otras, produce graves problemas.

Basura: la gran generación de desperdicios diarios representa uno de los agentes contaminantes del suelo más alarmantes, sobre todo cuando se elimina sin ningún tipo de criterio medioambiental. La basura orgánica arrojada al aire libre sin tratamiento se fermenta, genera gases tóxicos y mal olor, además de sustancias que pueden filtrarse en suelos permeables, contaminando no solo ese sector, sino además las aguas superficiales y subterráneas, lo que trasciende en las cadenas alimenticias.

Hemos de distinguir entre contaminación natural, frecuentemente endógena, y contaminación antrópica, siempre exógena.

La contaminación natural es el proceso de concentración y toxicidad que muestran determinados elementos metálicos, presentes en los minerales originales de algunas rocas a medida que el suelo evoluciona.

Un caso significativo se produce sobre rocas serpentinizadas con altos contenidos de elementos como Cr, Ni, Cu, Mn, cuya edafogénesis en suelos con fuertes lavados origina la pérdida de los elementos más móviles, prácticamente todo el Mg, Ca y, en ocasiones hasta gran parte del Si, con lo que los suelos residuales fuertemente evolucionados presentan elevadísimas concentraciones de aquellos elementos metálicos, que hacen a estos suelos susceptibles de ser utilizados como minas metálicas. Obviamente, a medida que avanza el proceso de concentración residual de los metales pesados se produce el paso de estos elementos desde los minerales primarios, es decir desde formas no asimilables, a especies de mayor actividad e influencia sobre los vegetales y el entorno. De esta forma, la presencia de una fuerte toxicidad para muchas plantas sólo se manifiesta a partir de un cierto grado de evolución edáfica, y por tanto es máxima en condiciones tropicales húmedas (Portilla, 2016).

Otro ejemplo de aparición natural de una anomalía de alta concentración de una forma tóxica se produce en la evolución acidificante de los suelos por la acción conjunta de la hidrólisis, lavado de cationes, presión de CO₂ y ácidos orgánicos que, progresivamente, conducen a una mayor concentración de Al disuelto y a un predominio de especies nocivas como Al⁺³ o las formas Al-OH escasamente polimerizadas.

Los fenómenos naturales pueden ser causas de importantes contaminaciones en el suelo. Así es bien conocido el hecho de que un solo volcán activo puede aportar mayores cantidades de sustancias externas y contaminantes, como cenizas, metales pesados, H⁺ y SO₄⁻², que varias centrales térmicas de carbón (Portilla, 2016).

Pero las causas más frecuentes de contaminación son debidas a la actuación antrópica, que al desarrollarse sin la necesaria planificación producen un cambio negativo de las propiedades del suelo.

En los estudios de contaminación, no basta con detectar la presencia de contaminantes sino que se debe definir los máximos niveles admisibles y además se analizan los posibles factores que puedan influir en la respuesta del suelo a los agentes contaminantes, como son: vulnerabilidad, poder de amortiguación, movilidad, biodisponibilidad, persistencia y carga crítica, que pueden modificar los denominados umbrales generales de la toxicidad para la estimación de los impactos potenciales y la planificación de las actividades permitidas y prohibidas en cada tipo de medio (Portilla, 2016).

1.4.- Principales contaminantes de los ecosistemas acuáticos y terrestres

Materia orgánica disuelta: El carbono orgánico disuelto frecuentemente se mide como materia orgánica disuelta (MOD), la cual representa un importante reservorio de carbono orgánico en los ecosistemas acuáticos. La dinámica de la MOD tiene un papel importante en diferentes procesos ecológicos y biogeoquímicos. La actividad humana es una fuente abundante de MOD (Hudson et al., 2007) como lo es la materia orgánica particulada, mucha de la cual entra en los cuerpos de agua a través de descargas directas. Entre un 40 y 60% de la materia orgánica disuelta produce fluorescencia, este material fluorescente se compone principalmente de proteínas y de ácidos orgánicos derivados de la descomposición de materia de plantas y animales (Nie et al., 2016).

Materia orgánica en los sedimentos: Una consecuencia de la eutrofización es la acumulación de materia orgánica de los sedimentos, lo cual conlleva un aumento dramático en la densidad de bacterias heterotróficas. Este fenómeno ocasiona un aumento en la actividad respiratoria como consecuencia de la degradación bacteriana de la materia

orgánica y una disminución considerable del oxígeno disuelto (Pearl, 1998). Debido a la relativa solubilidad del oxígeno en el agua, con la presencia mantenida de materia orgánica, la demanda de oxígeno acaba excediendo a la disolución de este por aireación y el sedimento se transforma en anóxico (Murua, 2014).

Compuestos inorgánicos

Nitrógeno: el ciclo biogeoquímico del nitrógeno involucra diversas transformaciones de este elemento, lo que lleva asociado su circulación a través del ambiente, y determina en gran medida la productividad biológica de los ecosistemas. El ciclo del nitrógeno en los ecosistemas acuáticos es de naturaleza microbiana debido a que los compuestos de nitrógeno son en su mayoría, solubles y desde ese punto de vista más accesibles para los microorganismos (Zhang et al., 2015).

La materia orgánica viva y muerta representa una pequeña reserva de nitrógeno orgánico que incluye los materiales naturales como proteínas, péptidos, ácidos nucleicos y urea principalmente. Las formas iónicas más comunes de nitrógeno inorgánico disuelto en el agua son el amonio (NH_4^+), nitrito (NO_2^-) y nitrato (NO_3^-) (Murua, 2014; Tang et al., 2011).

La actividad humana altera sustancialmente el ciclo global del nitrógeno, a través del aumento de las concentraciones de compuestos inorgánicos nitrogenados en aguas superficiales y especialmente en los suelos subterráneos, lo que provoca efectos significativos en muchos organismos acuáticos y de esta forma contribuye a la degradación de ecosistemas acuáticos (Copetti et al., 2015; Pillay et al., 2015).

Fósforo: el fósforo es un elemento extremadamente importante que controla el estado trófico de muchos ecosistemas acuáticos, fundamentalmente, dulceacuícolas. Para estudiar su dinámica es fundamental tomar en cuenta los sedimentos, los cuales representan el principal sumidero de este nutriente.

El impacto de los sedimentos en el ciclo del fósforo depende de su tendencia a retener o liberar este nutriente, esto a su vez se relaciona con las condiciones fisicoquímicas de cada sedimento, entre las que se incluyen: 1) naturaleza y cantidad de óxidos e hidróxidos de hierro y aluminio; 2) potencial redox; 3) contenido de materia orgánica; 4) distribución y tamaño de las partículas del sedimento; 5) contenido de apatito o precipitados de carbonatos; 6) contenido de arcillas y 7) pH.

La concentración de fósforo en el sedimento puede ser de varios órdenes de magnitud superior a la del agua. Cuando la acumulación de fósforo es excesiva en el sedimento, se puede llegar a superar la capacidad de carga interna del sistema, lo que provoca una liberación de fósforo en la forma de fosfatos lo que causa una eutrofización severa de manera que los sedimentos pueden ser considerados como una fuente de contaminación por fósforo (Sulu-Gambari et al., 2016).

Metales pesados

Según Portilla (2016), se definen como metales pesados (MP) aquellos elementos químicos que presentan una densidad igual o superior a 5 g/cm³ cuando están en forma elemental o cuyo número atómico es superior a 20 (donde se excluyen a los metales alcalinos y alcalinos térreos). Su presencia en la corteza terrestre es inferior al 0,1% y casi siempre menor de 0,01%.

Los metales pesados se clasifican en:

- Oligoelementos o micronutrientes: los elementos que son necesarios en pequeñas cantidades para los organismos, pero tóxicos una vez pasado cierto umbral. Incluyen: Arsénico (As), Boro (B), Cobalto (Co), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Molibdeno (Mo), Manganeso (Mn), Níquel (Ni), Selenio (Se) y Zinc (Zn).
- Los elementos sin función biológica conocida: estos son altamente tóxicos e incluyen: Bario (Ba), Cadmio (Cd), Mercurio (Hg), Plomo (Pb), Antimonio (Sb), Bismuto (Bi).

Los metales pesados son elementos potencialmente tóxicos, cuya presencia en el medio ambiente se incrementa notablemente en las últimas décadas, fundamentalmente por la acción del hombre. (Covarrubias y Peña, 2017).

En un informe del Centro de Ingeniería y Manejo Ambiental de Bahías y Costas, se expone la situación de la contaminación en las costas y Bahías de Cuba. Se declara que Santiago de Cuba y especialmente La Habana constituyen las áreas más contaminadas de Cuba. Sin embargo, para los metales Cobalto (Co), Hierro (Fe), Manganeso (Mn) y Níquel (Ni), la situación es diferente, donde las bahías de Carbónico, Nipe y Levisa, son las de mayor contaminación, esta situación está dada por las actividades minero metalúrgico del níquel (Doan, 2010). Teniendo en cuenta estos datos el grado de contaminación general es: La Habana > Santiago de Cuba > Cienfuegos > Matanzas > Levisa > Nipe > Cárdenas > Carbónico.

En la provincia de Matanzas a pesar de no encontrar los mayores reportes de concentraciones de metales, se encuentran afectadas las zonas de Varadero, Cárdenas y Matanzas por el mal tratamiento de residuales principalmente de origen agrícola. En correspondencia a los daños que la acumulación de estos metales puede ocasionar a los sistemas biológicos, es vital la remoción de estos contaminantes de ecosistemas acuáticos y terrestres (Portilla, 2016).

1.5.- Biorremediación. Orígenes. Concepto

El término biorremediación fue acuñado a principios de la década de los '80. Los científicos observaron que era posible aplicar estrategias de remediación que fuesen biológicas, basadas en la capacidad de los microorganismos de realizar procesos degradativos. Uno de los muchos reporteros enviados a Alaska meditaba sobre el daño provocado por el vertido del Exxon Valdez. Pensaba que el petróleo, sustancia natural, no provocaría un daño ambiental irreparable y tal como se observó durante décadas, el crudo después de un largo tiempo es diluido y asimilado por el medio ambiente (Portilla, 2016).

De esta intrínseca capacidad de la naturaleza para superar algunos desequilibrios en el ecosistema, surge la biorremediación, como una tecnología que usa un elemento biológico, en la mayoría de los casos microorganismos, para eliminar contaminantes de un lugar, sea este suelo, sedimento, fango o mar. Esta tecnología se transforma en la colaboradora directa de la naturaleza, que no siempre es capaz de superar por sí sola grandes desequilibrios. La biorremediación le da una ayuda al medio ambiente en la mejora de los ecosistemas dañados, donde se aceleran dichos procesos naturales. Lo que hacen los microorganismos es degradar los desechos en productos menos tóxicos, además de concentrar e inmovilizar sustancias tóxicas, metales pesados; minimizar desechos industriales y rehabilitar áreas afectadas con diversos contaminantes (Portilla, 2016).

La biorremediación microbiana hace referencia a todos los procesos biológicos que se pueden usar para minimizar un impacto negativo en el ambiente; usualmente, es la remoción de un contaminante presente en el suelo, el agua o el aire mediante el empleo de microorganismos. Algunos microorganismos, especialmente ciertas bacterias tienen la habilidad de convertir las moléculas de un contaminante orgánico en dióxido de carbono, agua e iones inorgánicos necesarios para los ciclos biogeoquímicos, como también oxidar o reducir los agentes inorgánicos que contaminan un ambiente, esto permite que se regeneren los ecosistemas que son afectados por el vertimiento de sustancias orgánicas como el petróleo y sus derivados (hidrocarburos), plaguicidas (compuestos alifáticos y aromáticos

halogenados); sustancias inorgánicas (compuestos nitrogenados), y también algunos contaminantes metálicos (Dash, 2015).

Estudios referativos definen que la biorremediación surge como una alternativa para transformar los plaguicidas en compuestos más simples y poco contaminantes mediante el uso del potencial metabólico de los microorganismos. Los microorganismos que más se utilizan como biorremediadores son los géneros *Serratia*, *Bacillus* y *Pseudomonas*. La biorremediación depende de la capacidad competitiva de los microorganismos, de la biodisponibilidad y la concentración del organo-fosforado, del pH, la temperatura y el tipo de suelo, así como de la presencia de suplementos nutricionales (Hernández- Ruíz et al., 2017).

La tierra está cada día más enferma por la gran cantidad de contaminantes que son liberados al ambiente. Esto perjudica a los ecosistemas, lo que provoca severos daños a todos los seres vivos, donde se incluye al hombre. La biorremediación, rama de la biotecnología que utiliza un elemento biológico para mejorar el daño, ofrece excelentes soluciones y es en sí un buen negocio, pero la falta de regulación juega en contra de su utilización como un remedio para sanar la tierra y como una oportunidad para salvar el planeta (Ayesa, 2018).

1.6.- Métodos de biorremediación

La biotecnología ambiental emplea los procesos biológicos modernos en la protección y restauración de la calidad del ambiente. A través de ella se puede evaluar el estado de los ecosistemas, transformar los contaminantes en sustancias no tóxicas, generar materiales biodegradables a partir de recursos renovables y desarrollar procesos de manufactura y manejo de desechos ambientalmente seguros (Portilla, 2016).

Actualmente, una de las principales aplicaciones de la biotecnología ambiental es la biorremediación, considerada como una tecnología emergente. Se define como una tecnología de biorrestauración de ambientes naturales previamente contaminados, por eliminación, atenuación o transformación de los compuestos contaminantes (Ali et al., 2016). Para ello se emplea la capacidad metabólica de los microorganismos (bacterias, hongos, levaduras y algas), también se pueden emplear plantas, oxígeno y nutrientes, para acelerar los procesos de biodegradación natural. La transformación puede ser parcial, por obtención de un compuesto menos tóxico que el parental, mientras que la mineralización o transformación total es la degradación hasta dióxido de carbono y agua (procesos aerobios), agua y metano (condiciones anaerobias) (Dash y Das, 2015).

El uso de la biorremediación recibe especial atención, por ser de bajo costo y ambientalmente amigable, comparado con los procedimientos químicos y físicos. Sin embargo, este procedimiento puede llevar años para completar la restauración y recuperación de las áreas impactadas, dependiendo entre otros factores, de la cantidad de contaminante y de condiciones ambientales que favorezcan la proliferación y actividad de los organismos que se utilicen (Bradley et al., 2015).

Gómez et al. (2006) señalan que el proceso de biorremediación puede clasificarse de acuerdo al organismo que efectúe la degradación del compuesto en los siguientes tipos:

Fitorremediación. Consiste en el uso de plantas verdes para contener, remover o neutralizar compuestos orgánicos, metales pesados o radionucleídos (Lucero et al., 2016).

Biorremediación microbiana. Es el uso de bacterias que presentan la propiedad de acumular o metabolizar compuestos recalcitrantes. La utilización de microorganismos que transforman diferentes compuestos nocivos en otros de menor impacto ambiental experimenta un gran desarrollo reciente. Aunque las bacterias son las más empleadas en el proceso de biorremediación, también se emplean otros microorganismos como hongos, algas, cianobacterias y actinomicetos para la degradación de compuestos tóxicos (Ruffini et al., 2016).

La biorremediación microbiana se define como la remoción de un contaminante presente en el suelo, el agua o el aire mediante el empleo de microorganismos. Algunos microorganismos, especialmente ciertas bacterias tienen la habilidad de convertir las moléculas de un contaminante orgánico en dióxido de carbono, agua e iones inorgánicos necesarios para los ciclos biogeoquímicos, como también oxidar o reducir los agentes inorgánicos que contaminan un ambiente, esto permite que se regeneren los ecosistemas que se afectaron por el vertimiento de sustancias orgánicas como el petróleo y sus derivados (hidrocarburos), plaguicidas (compuestos alifáticos y aromáticos halogenados); sustancias inorgánicas (ej. compuestos nitrogenados y del fósforo), y también algunos contaminantes metálicos (Andreolli et al., 2016; Hernández-Ruiz et al., 2017).

Para que las bacterias puedan remover los contaminantes a gran escala existen diferentes técnicas de biorremediación, a continuación, se mencionan algunas de ellas:

- Bioestimulación
- Bioaumentación
- Landfarming

- Compostaje

1.7.- Principales microorganismos con efecto biorremediador

Los ecosistemas contaminados se caracterizan por contener una gran diversidad de microorganismos aclimatados a los contaminantes que normalmente son liberados de los procesos de origen. Frecuentemente estos microorganismos son efectivos para degradar los compuestos contaminantes debido a los cambios que se producen a nivel genómico durante largos períodos de aclimatación. La presión selectiva de los contaminantes sobre los microorganismos, permite la supervivencia únicamente de aquellos que son capaces de adaptar sus mecanismos metabólicos para sobrevivir en esas condiciones (Portilla, 2016).

El éxito de la biorremediación consiste en la selección de microorganismos que puedan degradar materiales contaminados a diferentes temperaturas, pH, salinidad y concentración de nutrientes. Muchos tipos de microorganismos son aislados para mejorar procesos de biorremediación de ambientes contaminados con hidrocarburos u otros compuestos recalcitrantes, por ejemplo *Bacillus* spp., *Rhodococcus*, *Mycobacterias*, levaduras, *Micromycetes* y *Pseudomonas*, los cuales utilizan como fuente de energía compuestos orgánicos simples y complejos y tienen la capacidad de producir enzimas extracelulares capaces de degradar un gran número de compuestos que constituyen contaminantes de los ecosistemas (Echeverri et al., 2011).

Existe una gran variedad de microorganismos identificados en la degradación de compuestos recalcitrantes que constituyen contaminantes de múltiples ecosistemas. Hasta el presente los géneros que más se utilizan son: *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Brevibacterium*, *Corynebacterium*, *Micrococcus*, *Nocardia*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Vibrio*, *Acinetobacter* y *Flavobacterium* (Portilla, 2016).

1.8.- Resultados sobre el uso de microorganismos como biorremediadores

Son muchas las soluciones ambientales que existen para recuperar los suelos que se ven afectados por la contaminación de compuestos orgánicos, lo cual depende de las características propias del recurso suelo, magnitud de la contaminación, tipo de contaminante entre otros. Hoy una de las tecnologías más usadas es la biorremediación (Álvarez, 2015).

Estudios realizados por (Balderas-León et al., 2015) en un suelo contaminado en alta concentración de aceite residual automotriz (ARA) aplicaron los criterios de la biorremediación (BR) por doble y secuencial bioestimulación (BS) y posterior

fitorremediación (FR) con *Sorghum vulgare* y *Bacillus cereus/Burkholderia cepacia* o bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) para reducir el ARA remanente. Los resultados indicaron que la biorremediación del suelo por doble y secuencial BS: con SM el ARA decreció a 32500 ppm/30 días y con *Proteus vulgaris*; lo que disminuyó hasta 10100 ppm/90 días. Su fitorremediación para minimizar el ARA remanente con *S. vulgare* y BPCV a floración lo redujo de 2500 ppm a 800 ppm.

Investigaciones reportadas por Benítez y Miranda (2013), recogen los niveles de contaminación de los cuerpos de aguas superficiales a partir de la utilización inadecuada y excesiva de plaguicidas en la agricultura. Los mismos informaron la presencia de residuos de plaguicidas organofosforados, carbamatos, triazinas y piretroides, entre otros, en aguas superficiales cercanas a zonas de producción agrícola en Venezuela, Colombia, Ecuador y México. En la mayoría de los casos, las concentraciones encontradas sobrepasan los límites establecidos por las normativas nacionales e internacionales establecidas.

Otros estudios fueron reportados por Herrera et al., (2013), cuando evaluaron la presencia de metales pesados en aguas. Los mismos encontraron: Cd, Ag, Se, Sn, Ni, Cr, Cu, B, Zn, Hg, Ba, Pb, Mn, As y Al en los sedimentos superficiales del sector medio del río Pirro, lo que afecta la calidad del agua que se utiliza para aplicar en los cultivos agrícolas.

Roa y Cañizares (2012), biorremediaron con el uso de algas aguas que contenían fosfatos y nitratos, los que obtuvieron una remoción del 60% de la cantidad inicial de nitratos, mientras que los fosfatos disminuyeron en un 47%. Además, alcanzaron la mayor producción de clorofila a (6.5 mg/L) y para carotenos el valor más alto. El examen de viabilidad de la microalga mostró resultados positivos al observarse al microscopio formación de un número importante de cenobios, tres días después de la inoculación en medio Bold de las células extraídas de las microesferas, concordante con un color verde intenso en los cultivos.

Portilla (2016), evaluó 32 cepas, de ellas, solo cuatro fueron capaces de remover la materia orgánica, amonio, fosfato, Cr, Pl, Cu, Co y Zn. Las especies que predominaron fueron *B. licheniformis* y *B. subtilis*, lo que presenta al género *Bacillus* como uno de los más destacados para ser empleado en procesos de biorremediación microbiana.

Conclusiones

El empleo de biopreparados a partir de microorganismos con efecto biorremediador permitirá mejorar los principales suelos de interés agrícola contaminados por la acción de agentes químicos y los sistemas de abasto de agua para regadío y consumo animal.

Bibliografía

AGARWAL, A., PRAJAPATI, R., SINGH, O.P., RAZA, S.K. Y THAKUR, L.K. Pesticide residue in water--a challenging task in India. *Environ Monit Assess.* no.187 vol. 2, 2015, pp.54.

ALARCÓN A. Y FERRERA-CERRATO R. Biorremediación de suelos y aguas. *Rev. Int. Contam. Ambie.* no.31 vol. 2, 2015, pp.211-212.

ALI, N., DASHTI, N., SALAMAH, S., SORKHOH, N., AL-AWADHI, H. Y RADWAN, S. Dynamics of bacterial populations during bench-scale bioremediation of oily seawater and desert soil bioaugmented with coastal microbial mats. *Microb Biotechnol.* no.11, 2016, pp. 1-15.

ÁLVAREZ, H. Biorremediación de ambientes contaminados con hidrocarburos: un proceso complejo que involucra múltiples variables. *Revista Química Viva.* no.14 vol. 1, 2015, pp.18-25.

ANDREOLLI, M., ALBERTARELLI, N., LAMPIS, S., BRIGNOLI, P., KHOEI, N.S. Y VALLINI, G. Bioremediation of diesel contamination at an underground storage tank site: a spatial analysis of the microbial community. *World J Microbiol Biotechnol.* no. 32 vol. 1, 2016, pp.1-6.

AYESA, F. 2018. Biorremediación. [fecha de consulta: 6 marzo 2018]. Disponible en: <http://www.ingenieroambiental.com>

BALDERAS-LEÓN, I. Y SÁNCHEZ-YÁÑEZ, J. M. Biorremediación of soil polluted by 75000 ppm of waste motor oil applying biostimulation and phytoremediation with *Sorghum vulgare* and *Bacillus cereus* or *Burkholderia cepacia*. *Journal of the Selva Andina Research Society.* no. 6 vol.1, 2015, pp. 23-32. [fecha de consulta: 28 junio 2018]. Disponible: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=361336202005>

BENÍTEZ-DÍAZ, P. Y MIRANDA-CONTRERAS, L. Contaminación de aguas superficiales por residuos de plaguicidas en Venezuela y otros países de Latinoamérica. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental.* no.29: 2013, pp. 7-23. [fecha de consulta: 10 junio 2018]. Disponible: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37028958001>

BOULLOSA, N. Biorremediación: 10 Métodos de recuperación ecológica. Granja Vertical "5 Terre Style": Revolución urbana verde. 2011. [fecha de consulta: 2 marzo 2018]

BRADLEY, P.M., BATTAGLIN, W.A., IWANOWICZ, L.R., CLARK, J. Y JOURNEY, C.A. 2015. Aerobic biodegradation potential of endocrine disrupting chemicals in surface-water sediment at Rocky Mountains National Park, USA. *Environ Toxicol Chem.* no.20, 2015, pp.1-14.

CITMA Segmento Ambiental. CV. El portal del medio ambiente en Cuba; 2015. [fecha de consulta: 15 julio 2018]. Disponible en: <http://www.medioambiente.cu/diccionario>. Asp.

CITMA Segmento Ambiental. Informe de Manejo Integrado de Agua, Matanzas, Cuba. 2013. [fecha de consulta: 4 junio 2018]. Disponible en: <http://www.medioambiente.cu>.

COBOS, C.R. El agua: Situación actual y necesidades de gestión. Serie de documentos técnicos: No. 5. Universidad Rafael Landívar (URL). Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas (FCAA), 2002.

COPETTI, D., FINSTERLE, K., MARZIALI, L., STEFANI, F., TARTARI, G., DOUGLAS, G., REITZEL, K., SPEARS, B.M., WINFIELD, I.J., CROSA, G., D'HAESE, P., YASSERI, S. Y LÜRLING, M. Eutrophication management in surface waters using lanthanum modified bentonite: A review. *Water Res.* no.6 vol.15, 2015, pp. 1-30.

CORONEL, V.E. Y TENESACA, M.N. Estudio de factibilidad de un proceso de biorremediación del colorante índigo presente en aguas residuales de la industria textil en la ciudad de Cuenca, a través de hongos ligninolíticos. Tesis de Grado en Opción al Título de Ingeniería Ambiental. Universidad Politécnica Salesiana de Cuenca. (España), 2013.

COVARRUBIAS, S. A. Y PEÑA, J. J. C. Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación. *Rev. Int. Contam. Ambie.* no.33, 2017, pp. 7-21. 1

DASH, H.R. Y DAS, S. Diversity, community structure, and bioremediation potential of mercury-resistant marine bacteria of estuarine and coastal environments of Odisha, India. *Environ Sci Pollut Res Int.* no.19, 2015, pp.1-11.

DÍAZ-ASENCIO, M., ALVARADO, J.A., ALONSO-HERNÁNDEZ, C., QUEJIDO-CABEZAS, A., RUIZ-FERNÁNDEZ, A.C., SANCHEZ-SANCHEZ, M., GÓMEZ-MANCEBO, M.B., FROIDEVAUX, P. Y SANCHEZ-CABEZA, J.A. Reconstruction of metal pollution and recent sedimentation processes in Havana Bay (Cuba): a tool for coastal ecosystem management. *J Hazard Mater.* no.196, 2011, pp.402-11.

DOAN, C. Comportamiento de las plantas de henequén (*Agave fourcroydes* L.) cultivadas en altas concentraciones de metales pesados. Tesis de Maestría. Universidad de Matanzas, (Cuba), 2010.

ECHEVERRI, G.E., MANJARREZ, G. Y CABRERA, M. Aislamiento de bacterias potencialmente degradadoras de petróleo en hábitats de ecosistemas costeros en la Bahía de Cartagena, Colombia. *NOVA - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas.* vol.13, 2011, pp. 1- 120.

GÓMEZ, M.L., VIVAS, L.J., RUIZ, R.A., REYES, V.R. Y HURTADO, C.A. Bacterias marinas nativas degradadoras de compuestos orgánicos persistentes en Colombia. Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras - INVEMAR - Santa Marta. no. 19, 2006, pp. 32.

GU, P., SHEN, R.F. Y CHEN, Y.D. Diffusion pollution from livestock and poultry rearing in the Yangtze Delta, China. *Environ Sci Pollut Res Int.* no.15 vol.3, 2008, pp.273-7.

- HERNÁNDEZ-RUIZ, G.M., ÁLVAREZ-OROZCO, N.A Y RÍOS-OSORIO, L.A. Bioremediation of organophosphates by fungi and bacteria in agricultural soils. A systematic review. *Corpoica Cienc Tenol Agropecuaria*. no.18 vol. 1, 2017, pp. 139-159. IS
- HERRERA, J., RODRÍGUEZ, J., COTO, J., SALGADO, V. Y BORBÓN, H. Evaluación de metales pesados en los sedimentos superficiales del río Pirro. *Tecnología en Marcha*. no.26 vol. 1, 2013, pp. 27-36.
- HUDSON, N., BAKER, A. & REYNOLDS, D. Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters- a review. *RiverResearch and Applications*. no 23, 2007, pp. 631-649.
- JARAMILLO, B. E. C., BERMÚDEZ, A. T. Y TIRADO, B. I. Organophosphorus pesticides degrading bacteria present in contaminated soils. *Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias*. no 5 vol. 3, 2016, pp. 1-10.
- LUCERO, P.A., FERRARI, M. M., ORDEN, A. A., CAÑAS, I., NASSETTA, M. Y KURINA-SANZ, M. Treatment of endosulfan contaminated water with in vitro plant cell cultures. *J Hazard Mater*. no 305, 2016, pp.149-55.
- MARTÍNEZ, M. Ecosistemas. Ministerio de Cultura y Educación, 2015, pp.1-15.
- MURUETA, L.N. Efecto de la carga orgánica y de nutrientes y su biorremediación en sedimentos de ecosistemas acuáticos con distintas características ecológicas. Tesis presentada en opción al Grado Científico de Doctor en Biodiversidad y Biología Evolutiva. Universidad de Valencia, (España), 2014.
- NIE, Z., WU, X., HUANG, H., FANG, X., XU, C., WU, J., LIANG, X. Y SHI, J. Tracking fluorescent dissolved organic matter in multistage rivers using EEM-PARAFAC analysis: implications of the secondary tributary remediation for watershed management. *Environ Sci Pollut Res Int*. no 2, 2016, pp. 1-14.
- O.N.E. 2011. Oficina Nacional de Estadística. Gestión Ambiental en Cifres, Cuba. 2011, pp. 1-32.
- PÉREZ, M. M., DOMÍNGUEZ, E. R., MARTÍNEZ, P., LÓPEZ, M. E., GONZÁLES, Y.M. Y MONTEAGUDO, M. Eficiencia de diferentes sustratos de filtros de suelo plantados en la depuración de aguas residuales domésticas. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. no.40 vol. 3, 2009, pp. 181-185.
- PILLAY, V., ISAACSON, C., MOTHABI, P., HALE, M., TOMAR, L.K., TYAGI, C., ALTINI, M., CHOONARA, Y.E. Y KUMAR, P. Carcinogenic nitrosamines in traditional beer as the cause of oesophageal squamous cell carcinoma in black South Africans. *S Afr Med J*. no. 105 vol. 8, 2015, pp.656-8.
- POLOMÉ, P., MIGNOT, E., NASRI, A., LIPEME, G., CAMPAN, L., HOOGE, C. Y RIVIÈRE, N. Urban domestic wastewater: how to reduce individual injection?. *Water Sci Technol*. no.73 vol. 1, 2016, pp.144-52.

POPESCU, R., MIMMO, T., DINCA, O.R., CAPICI, C., COSTINEL, D., SANDRU, C., IONETE, R.E., STEFANESCU, I. Y AXENTE, D. Using stable isotopes in tracing contaminant sources in an industrial area: A case study on the hydrological basin of the Olt River, Romania. *Sci Total Environ.* no.533, 2015, pp.17-23.

PORTILLA, Y. Caracterización de las potencialidades biorremediadoras de cepas bacterianas del río Yumurí, ubicado en Matanzas, Cuba. Tesis en Opción al Título Académico de Máster en Ciencias en Microbiología. Mención Ecología Microbiana. Universidad de La Habana, (Cuba), 2016.

RASHID, I. Y ROMSHOO, S.A. Impact of anthropogenic activities on water quality of Lidder River in Kashmir Himalayas. *Environ Monit Assess.* no.185 vol.6, 2013, pp.4705-19.

REYES, Y. C., VERGARA. I., TORRES, O. E., MERCEDES DÍAZ. Y GONZÁLEZ, E.E. HEAVY metals contamination: implications for health and food safety. *Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo.* no. 16 vol. 2, 2016, pp. 66-77.

ROA PARRA, A. L Y CAÑIZARES VILLANUEVA, R.O. Bioremediación de aguas con fosfatos y nitratos utilizando *Scenedesmus incrassatulus* inmovilizado Bistua: Revista de la Facultad de Ciencias Básicas. no. 10 vol. 1, 2012, pp. 71-79. Disponible: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=90326398006>

RUFFINI, M., GIORGETTI, L., BECARELLI, S., SIRACUSA, G., LORENZI, R Y DI GREGORIO, S. Polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soils: bioaugmentation of autochthonous bacteria and toxicological assessment of the bioremediation process by means of *Vicia faba L*". *Environ Sci Pollut Res Int.* no.15, 2016, pp. 1-11.

SÁNCHEZ, E.N. Compendio de legislación ambiental de Honduras. [fecha de consulta: 12 mayo 2018]. Disponible en: http://www.fao.org/pgrfa-gpa-archive/hnd/files/compendio_de_legislacion_ambienta_abril-2011.pdf.

SULU-GAMBARI, F., SEITAJ, D., MEYSMAN, F.J., SCHAUER, R., POLERECKY, L. Y SLOMP, C.P. Cable Bacteria Control Iron-Phosphorus Dynamics in Sediments of a Coastal Hypoxic Basin. *Environ Sci Technol.* no. 50 vol. 3, 2016, pp.1227-33.

TANG, C.J., ZHENG, P., WANG, C.H., MAHMOOD, Q., ZHANG, J.Q., CHEN, X.G., ZHANG, L. Y CHEN, J.W. Performance of high-loaded ANAMMOX UASB reactors containing granular sludge. *Water Research.* no. 45, 2011, pp. 135–144.

VELÁSQUEZ, M.T. Extracto hidroalcohólico de cáscaras de naranja (*Citrus sinensis*) como bioestimulador en un suelo de sabana contaminado con petróleo. *Revista Académica de la Facultad de Ingeniería, Universidad Autónoma de Yucatán, (México).* no. 21 vol. 2, 2017, pp.1-11.

ZHANG, Q., TANG, F., ZHOU, Y., XU, J., CHEN, H., WANG, M. Y LAANBROEK, H.J. Shifts in the pelagic ammonia-oxidizing microbial communities along the eutrophic estuary of Yong River in Ningbo City, China. *Front Microbiol.* no. 6, 2015, pp.1180.

ZHANG, W., ASIRI, A.M., LIU, D., DU, D. Y LIN, Y. Nanomaterial-based biosensors for environmental and biological monitoring of organophosphorus pesticides and nerve agents”, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. no. 54, 2014, pp. 1-10.