

REFLEXIONES EN TORNO A LA CARACTERIZACIÓN DE LA COMUNIDAD MICROBIANA PARA LA IDENTIFICACIÓN DE CEPAS DE INTERÉS BIOTECNOLÓGICO

REFLECTIONS ON THE CHARACTERIZATION OF THE MICROBIAL COMMUNITY FOR THE IDENTIFICATION OF STRAINS OF BIOTECHNOLOGICAL INTEREST

Arturo Barrios

Escuela de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Central de Venezuela.
Apartado Postal 47058, 1041-A. Venezuela. Email: arturo.barrios@ucv.ve
ID ORCID: 0000-0002-7043-46001

Recibido: 09-03-2025

Aceptado: 08-05-2025

RESUMEN

Los microorganismos, como hongos y bacterias, desempeñan un papel crucial en el reciclaje y la biodegradación de materia orgánica, así como en la remoción y degradación de compuestos tóxicos en el suelo. Esto justifica el interés en estudiar estas comunidades y su diversidad en entornos contaminados. Para ello, se han desarrollado diversas técnicas y estrategias que permiten determinar la diversidad en un lugar específico, identificando especies o grupos funcionales de interés. Al considerar la diversidad taxonómica, genética y funcional, se obtiene información valiosa sobre la estructura y propiedades de estas comunidades, relevante para la ecología y la biotecnología aplicada a la recuperación de espacios impactados. La caracterización detallada es fundamental para analizar la evolución de las comunidades, comprender su participación en el reciclaje de nutrientes, evaluar la capacidad de recuperación del ecosistema (resiliencia) e identificar microorganismos con capacidades específicas para degradar compuestos complejos o producir sustancias útiles en la biorremediación.

Palabras clave: Recursos naturales, biorremediación, ambiente, deterioro ambiental.

ABSTRACT

Microorganisms, such as fungi and bacteria, play a crucial role in recycling and biodegrading organic matter, as well as in removing and degrading toxic compounds in the soil. This justifies the interest in studying these communities and their diversity in contaminated environments. To this end, various techniques and strategies have been developed that allow determining the diversity in a specific location, identifying species or functional groups of interest. By considering taxonomic, genetic and functional diversity, valuable information is obtained on the structure and properties of these communities, relevant to ecology and biotechnology applied to the recovery of impacted spaces. Detailed characterization is essential to analyze the evolution of communities, understand their participation in nutrient recycling, evaluate the ecosystem's recovery capacity (resilience) and identify microorganisms with specific capacities to degrade complex compounds or produce substances useful in bioremediation.

Key words: Natural resources, Bioremediation, Environment, Environmental degradation.

Arturo Barrios Aguirre: Licenciado en Biología (UCV). Estudiante de la Maestría en Ecología de la UCV, área: Microbiología Ambiental. Docente adscrito a la Coordinación Académica de la Facultad de Ciencias de la UCV, área: Comisión curricular.

Introducción

La degradación del ambiente preocupa a todos los países debido a las graves consecuencias ecológicas, sociales y económicas que genera. El manejo inadecuado y la acumulación de desechos de la industria petrolera representan uno de los principales problemas. Estos desechos contienen componentes, incluidos compuestos orgánicos e inorgánicos, que no son autóctonos del ambiente o se encuentran en concentraciones mayores a las naturales, lo que exige un manejo adecuado.¹⁻⁴ Además, estos desechos generan cambios fisicoquímicos debido a las nuevas condiciones de materia orgánica y compuestos tóxicos presentes en el medio, afectando y poniendo en peligro a las comunidades, incluida la microbiana, lo que se refleja en cambios en su diversidad.⁵⁻⁷

En un ambiente impactado por compuestos tóxicos, existen microorganismos capaces de sobrevivir. La selección natural convierte a estos microorganismos en la comunidad dominante ante las nuevas condiciones ambientales. Participan en el reciclado de minerales y la biodegradación de materia orgánica e inorgánica, así como en la remoción y degradación de compuestos tóxicos que se depositan en el suelo.⁸⁻¹³

Surge, entonces, el interés por el estudio de la comunidad microbiana que se desarrolla en estos espacios. Las técnicas empleadas permiten analizar y destacar especies o grupos funcionales de interés, así como determinar la diversidad en un lugar específico. Al mismo tiempo, se puede conocer el impacto de los contaminantes sobre la estructura de la comunidad, la participación de los microorganismos en el reciclaje de nutrientes y la capacidad de recuperación del ecosistema o su resiliencia.^{3, 14-18}

Es necesario aportar al conocimiento de las comunidades microbianas sometidas a perturbaciones por la disposición de desechos e hidrocarburos, que influyen en la adaptación de las comunidades a las nuevas condiciones ambientales. Este trabajo menciona algunos aspectos del

análisis de las comunidades microbianas como herramienta para apoyar la generación y desarrollo de tecnologías limpias, como la biorremediación y el uso de biosurfactantes, que ayudan en la recuperación del ambiente. Se resalta, por un lado, el conocimiento sobre la biorremediación como un proceso biotecnológico con el potencial de eliminar contaminantes y recuperar sitios contaminados mediante procesos de biotratamiento que aprovechan la capacidad de degradación de contaminantes de los microorganismos (hongos, bacterias) a través del uso de enzimas de origen microbiano.^{9,11,19,20}

Por otro lado, se destaca el interés en el uso de biosurfactantes por sus propiedades para facilitar la solubilización de contaminantes poco polares, aumentando la disponibilidad y superficie de ataque de estos compuestos para la comunidad microbiana, lo que beneficia las técnicas de biorremediación.²¹

Se profundiza en los factores que afectan a las comunidades mencionadas, las diferentes estrategias para determinar su diversidad, y se enfatizan las herramientas y ventajas de los métodos tradicionales para identificar y resaltar aquellas de interés biotecnológico.

Se realizó una investigación documental, buscando literatura especializada en el tema, con el objetivo de destacar la importancia de utilizar técnicas amigables con el ambiente, como el uso de especies autóctonas y la mejora de las condiciones ambientales para promover el trabajo de las especies microbianas en el sitio. También se reconocen las fortalezas y debilidades de estas metodologías para fomentar el desarrollo de investigaciones y la toma de decisiones orientadas a la remediación del ambiente.

Desarrollo

En primer lugar, los microorganismos son los principales participantes en la degradación de la materia orgánica, la remoción de compuestos tóxicos y el mantenimiento del equilibrio ecológico en

el ambiente.^{9,11} Sin embargo, la historia de la microbiología ambiental o ecología microbiana es reciente; inicia a partir de la década de 1960, cuando el estudio de los microorganismos y su interrelación con el ambiente se hizo frecuente, junto con los avances en los estudios de microbiología y el enfoque en sus aportes a la calidad ambiental. Esto generó el reconocimiento de la participación de los microorganismos en el flujo de materia y energía a través de los ecosistemas, dada sus capacidades metabólicas para transformar sustancias complejas, orgánicas e inorgánicas, entre los que se cuentan desde contaminantes hasta moléculas sencillas y accesibles para los organismos productores.⁸⁻¹⁰

Sin embargo, los derrames y la disposición de desechos petroleros representan una de las principales y más graves fuentes de contaminación del suelo y una de las causas de los cambios en los factores fisicoquímicos y del equilibrio ecológico en los ecosistemas. Actualmente, se reconoce la capacidad de microorganismos para degradar un gran número de compuestos, tales como hidrocarburos de diversa toxicidad.

De forma que se destaca la susceptibilidad de los hidrocarburos a la actividad microbiana siguiendo el siguiente orden: saturados > aromáticos > resinas > asfáltenos, considerando las diferencias y limitantes por la composición del crudo.^{6,8,10,12,13, 22-26}

Las principales comunidades de microorganismos que participan en la degradación de hidrocarburos en el ambiente son la comunidad fúngica y la comunidad bacteriana. Sin embargo, cada organismo de la comunidad solo puede metabolizar un limitado grupo de hidrocarburos.

Así, la capacidad de la comunidad de degradar la compleja mezcla del crudo está determinada por la diversidad enzimática de los microorganismos en utilizar a los hidrocarburos como sustratos. De la comunidad bacteriana es frecuente identificar cepas del género *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Actinobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Berjerinckia*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Methylosinus*,

Mycobacterium, *Mycococcus*, *Nitrosomonas*, *Nocardia*, *Pseudomonas*, *Serratia* y *Xanthobacter* spp.^{6,22-26}

El éxito de la degradación no solo depende del potencial por parte de la comunidad bacteriana, sino que también está afectado por factores abióticos. Las variables que afectan la tasa de biodegradación se pueden englobar en tres condiciones: (a) la estructura de la comunidad microbiana, (b) la composición y biodisponibilidad de los contaminantes, y (c) las características físicas y químicas de los sitios contaminados.^{3,9,24,25}

Factores que Afectan el Desarrollo de las Comunidades Microbianas

Numerosos factores abióticos influyen en la distribución y el funcionamiento de las poblaciones microbianas a través de la supervivencia y el crecimiento de estas poblaciones, factores como la limitación de nutrientes y la tolerancia ambiental controlan la existencia de diversos microorganismos.

Estos están basados en los principios de la Ley del mínimo de Liebig y la ley de la tolerancia de Shelford respectivamente.⁹ Según la Ley de Liebig el crecimiento de las poblaciones bacterianas se ve determinado por el nutriente cuya concentración sea la más escasa o limitante. Estos son utilizados para la producción de energía, biomasa y la biosíntesis de diferentes productos microbianos. La ley de Shelford establece que para el éxito y desarrollo de cada organismo, este requiere de una serie de condiciones y cada uno presenta límites de tolerancia ante variables tales como factores físicos y químicos, la temperatura, el pH, entre otros.⁹

La modificación de las variables en sitios contaminados presenta desafíos significativos. La alteración de estos podría estimular la actividad microbiana, pero también incidir en la solubilidad y disponibilidad de los contaminantes. Esto, a su vez, podría facilitar la migración de los contaminantes a otros ecosistemas, así como la de nutrientes esenciales, con el consiguiente perjuicio para la comunidad

microbiana.¹⁹ Para esto es necesario conocer la influencia de los factores como:

1.El pH del suelo: Las bacterias presentan un crecimiento y actividad óptimos en condiciones cercanas a la neutralidad, específicamente en un rango de pH de 6 a 8. No obstante, este intervalo puede variar en función de la especie o cambiar en función del tipo de contaminante presente.^{13,19,25}

2.La Temperatura: Que afecta tanto el metabolismo bacteriano, en la tasa de crecimiento, así como al estado y la fisicoquímica del contaminante. El intervalo óptimo está dentro de los 20 ° C a 40 °C.^{13,19,22,25}

3.La Humedad: Los microorganismos requieren un intervalo de actividad del agua (aw) de 0,9 – 1,0 o un 30 a 90% de saturación del agua, y el intervalo frecuente de humedad (aw) en los suelos es de 0,0 a 0,99 y 0,98 en ambientes acuáticos.^{13,19,25}

4.Salinidad: Los estudios sobre la degradación de hidrocarburos han revelado una correlación entre la salinidad y la tasa de mineralización de las fracciones de crudo. Se observó que la biodegradación alcanzaba su punto máximo con salinidad mínima, y disminuía a medida que la salinidad superaba el doble de la salinidad marina normal.^{13,25}

5.Concentración de Nutrientes: Se refiere a la disponibilidad de nutrientes, tales como nitrógeno y fósforo, para el crecimiento microbiano y la producción de enzimas.^{13,19,24,25,27} Este puede ser suplementado por medio de fertilizantes.

6.Disponibilidad de Oxígeno: La actividad biológica requiere de la provisión de oxígeno para mejorar la actividad catalítica y respiratoria de los microorganismos, encontrándose valores 50 a 100 veces menores en condiciones anaeróbicas. La misma puede ser suplementada por medio de la percolación de agua enriquecida con oxígeno y ventilación, entre otros.^{13,19,25,28}

7.Estructura Química y Concentración de Hidrocarburos: La susceptibilidad de

los compuestos a la degradación se ve influenciada por la naturaleza y proporción de los contaminantes presentes, así como por su interacción con otros componentes, como metales o plaguicidas. Esta interacción afecta tanto la solubilidad en agua como la formación de agregados con el suelo, y modula el reconocimiento enzimático y la susceptibilidad al ataque microbiano.^{13,19,24,25,28,29}

8.Biodisponibilidad del Hidrocarburo: Variable que define el nivel y facilidad de degradación del compuesto, debido tanto a la solubilidad del compuesto y acceso a este por parte de las bacterias como por la acción y capacidad de la actividad enzimática de los microorganismos.^{13,19,25,28}

Ante esta limitación, los biosurfactantes destacan como compuestos producidos por microorganismos, que poseen propiedades tensoactivas. Estas propiedades facilitan la solubilización y dispersión de los contaminantes, optimizando así el proceso de biorremediación. Su eficiencia, baja toxicidad para el ecosistema, biodegradabilidad y facilidad de producción los convierten en una opción preferente.^{21,30,31}

9.Comunidad Microbiana: La capacidad de degradar contaminantes por parte de los microorganismos depende de la presencia y expresión de genes capaces de esta actividad.

La misma puede ser acondicionada por medio de la bioaugmentación, estrategia donde se inocula una población de organismos exógenos, como por medio de la bioestimulación, donde se modifican las condiciones abióticas y se favorece a la comunidad autóctona.^{5,13,19,24,25,28,29}

Así las comunidades microbianas están sujetas a los cambios sobre estas variables y difieren en número y frecuencia de especies.^{32,33,34} La caracterización de la comunidad permite determinar las diferencias entre comunidades y evaluar los efectos de la contaminación por hidrocarburos en las mismas.^{10,33,35}

Estrategias De Caracterización De Las Comunidades Microbianas

En este sentido, se promueven los estudios de la ecología microbiana, los cuales implican la detección de los procesos y productos dentro de las comunidades por empleo de ensayos biológicos y químicos, además del aislamiento de los microorganismos, para así aumentar de esta manera el conocimiento fundamental de la ecología de los organismos.^{17,33-35}

Los investigadores emplean métodos directos e indirectos para detectar y cuantificar comunidades microbianas, y estudian los componentes de la diversidad microbiana y cómo se relacionan con el funcionamiento del ecosistema.

En el caso de las comunidades microbianas se puede diferenciar en cuanto a un arreglo de tres elementos interrelacionados; diversidad taxonómica, diversidad genética y diversidad funcional. El primero está enfocado en determinar las especies presentes, el segundo en el número de genomas distintos, y el último en la capacidad de bioquímica de degradar compuestos orgánicos.^{32,35}

Específicamente, la diversidad genética alude al conjunto de genes presentes en la comunidad y que representa el potencial de las capacidades metabólicas de la misma.³² La diversidad funcional alude al conjunto de capacidades metabólicas presentes en el ecosistema.^{36,37} La diversidad taxonómica se refiere a la riqueza o número total de especies de un lugar determinado.³⁷

De esta manera, el análisis de la diversidad biológica revela que sus componentes están intrínsecamente interconectados. La diversidad de especies, por ejemplo, se sustenta en la diversidad genética y, a su vez, contribuye a la diversidad funcional del ecosistema.

En este sentido, la estabilidad y el funcionamiento de los ecosistemas dependen de la actividad de sus organismos y de su diversidad genética, la cual les permite desempeñar roles específicos y

mantener el equilibrio ecológico.

Griffiths y Philippot³⁸ sostienen que la diversidad posee propiedades y dimensiones emergentes a partir de sus interacciones y compartimentalización.

Estas características confieren a los ecosistemas mayor resiliencia y estabilidad frente a perturbaciones que amenazan la presencia o función de las especies. En esta línea, Konopka³⁹ sugiere que el análisis de la diversidad puede revelar cómo la redundancia funcional contribuye a la confiabilidad de los servicios ecosistémicos ante cambios ambientales. Además, Trevors [36] menciona que existe una diversidad estructural que define y afecta como se distribuyen las especies en el espacio y en el tiempo.

Así, los ecólogos microbianos emplean diversas metodologías para el estudio de la diversidad microbiana. Sin embargo, las técnicas de identificación de la diversidad de especies no siempre reflejan la diversidad genética o funcional. Del mismo modo, las técnicas de diversidad funcional pueden no abordar la identificación de la diversidad taxonómica o de especies.

Además, la vasta diversidad microbiana ha impulsado el desarrollo de múltiples métodos de recuento e identificación, a menudo específicos para ciertos grupos microbianos y menos precisos para otros.

Por ejemplo, hay estrategias que son muy específicas para extraer cierto tipo de información, destacando la diversidad de especies, pero sin destacar la diversidad de todas sus funciones, o limitado al número de sondas que se puedan diseñar y añadir al experimento. No necesariamente estas técnicas coinciden ambas respuestas o resultados destacando el número de especies con su respectiva diversidad enzimática. Aun así, con ciertas estrategias se puede estimar la abundancia de individuos.⁴⁰

En este orden de ideas, se tiene que las estrategias de estudio para virus, bacterias u hongos varían considerablemente y suelen presentar limitaciones para abarcar otros

grupos microbianos. Asimismo, los métodos de detección basados en medios de cultivo se especializan en especies o grupos específicos, lo que requiere la inhibición del crecimiento de otros microorganismos.⁹ Estas limitaciones también se manifiestan en los análisis de diversidad, los cuales tienden a especializarse en la determinación de la diversidad taxonómica, genética o funcional.

En este contexto, como señala Konopka,³⁹ los análisis de secuencias del gen ARNr 16S del ADN ambiental han revelado una notable diversidad de especies en muestras ambientales. Sin embargo, persiste la incertidumbre sobre sus funciones ecológicas y su participación en el ecosistema.

De manera similar, Garland y Milis⁴¹ destacan que la ecología microbiana ha centrado su atención en las interacciones funcionales entre los microorganismos y su entorno. Esta evolución ha abarcado desde el estudio de aislamientos y análisis de especies individuales hasta el creciente interés en comunidades microbianas complejas.

Siguiendo este orden de ideas, las metodologías más empleadas para el estudio de la diversidad microbiana abarcan desde técnicas moleculares, como la secuenciación de los genes ARNr 16S o 18S del ADN ambiental, basadas en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), a estrategias que incorporan la hibridación fluorescente in situ (FISH).

Asimismo, se utilizan métodos basados en perfiles metabólicos, como los kits Biolog®, que evalúan la utilización de fuentes de carbono por la comunidad microbiana en su conjunto, sin discriminar la contribución de microorganismos individuales. Finalmente, se recurre a técnicas de microbiología tradicional, donde destaca el análisis funcional.

Este enfoque evalúa el perfil fenotípico de poblaciones microbianas aisladas y purificadas, generando perfiles específicos según su potencial bioquímico para interactuar con diversos sustratos

ambientales, lo que permite agruparlas en grupos funcionales.^{32,33,35,41,42}

En este sentido, la diversidad funcional se destaca sobre las otras, dado al potencial de obtener información sobre los roles microbiológicos en los ecosistemas, como en los ciclos biogeoquímicos, la degradación de la materia orgánica, animal y vegetal y la degradación de contaminantes, a través de la caracterización de la comunidad microbiana en función de sus características fenotípicas. La diversidad funcional se define entonces como el número y tipo de fuentes de carbono utilizados por una muestra de la comunidad, sin la necesidad de llegar a la identificación taxonómica de las cepas, ni la diversidad de genomas, solo su capacidad y actividad bioquímica en el ecosistema.^{8,33,35,43}

Esta caracterización permite determinar la diversidad y estructura de la comunidad microbiana en un ambiente específico, comparar sitios en el tiempo y en el espacio en función de la frecuencia de aparición de microorganismos con características bioquímicas similares.^{3,10,15,17,18,33,35}

Dicho esto, se pueden sugerir estas técnicas para destacar información sobre la diversidad de especies y sobre la diversidad genética, pero se requiere de más herramientas o más desarrollo si se busca indagar o relacionar esta diversidad de especies con su diversidad genética o con la diversidad de genes funcionales. Especialmente, cuando la presencia del gen en la comunidad no garantiza que el gen esté activo en la célula.

Por la selección de grupos de interés biotecnológico

Dada la importancia de las comunidades microbianas en las funciones y homeostasis del ecosistema y el efecto de cambios ambientales y de la contaminación sobre estas, se revisan las principales respuestas de las comunidades ante los daños ambientales.¹⁴

De esta manera, los investigadores utilizan criterios específicos para la selección

de grupos microbianos con potencial biotecnológico. Por ejemplo, utilizando técnicas de microbiología tradicional, se pueden destacar e identificar grupos funcionales con respuesta positiva a: la actividad hemolítica, debido a que es uno de los indicadores de producción de biosurfactante;⁴⁴ el crecimiento en caldo petróleo, como indicador de su potencial de tolerancia y capacidad de usar fracciones del crudo como fuente de materia y energía;³ la degradación de acetato y la actividad lipolítica, por la capacidad de introducir y metabolizar el acetato y lípidos para producir biosurfactantes;^{2,45} el crecimiento en lignina, debido a la estructura compleja y rica en grupos fenólicos que es análoga con un gran número de moléculas aromáticas tóxicas.^{33,46}

Conclusión

Igualmente, el estudio de la diversidad funcional permite caracterizar la comunidad con el potencial para la biorremediación, así como el efecto de la contaminación por desechos petroleros sobre la estructura comunitaria. La caracterización de la comunidad del sitio impactado con contaminantes permite identificar especies que se han adaptado a las condiciones y a las presiones selectivas de la contaminación por hidrocarburos en el ambiente.

Este aspecto puede hacer la diferencia entre un proceso de biorremediación sustentable en el tiempo y un proceso de alto mantenimiento, en donde se tenga que ir sembrando constantemente nuevas cepas especializadas de laboratorio.

La diversidad funcional microbiana, como herramienta clave en la biorremediación, no solo revela el potencial de las comunidades para degradar contaminantes, sino que también ofrece una ventana a la resiliencia de los ecosistemas. Al estudiar cómo estas comunidades responden a la contaminación por hidrocarburos, los científicos pueden desentrañar los mecanismos adaptativos que permiten a ciertos microorganismos prosperar en ambientes hostiles.

La identificación de especies autóctonas adaptadas a condiciones extremas de contaminación es un pilar fundamental para el desarrollo de estrategias de biorremediación sostenibles. Estas especies, al haber evolucionado en el entorno contaminado, poseen una ventaja adaptativa sobre las cepas de laboratorio, lo que se traduce en una mayor eficiencia y persistencia en la degradación de contaminantes.

La caracterización de la comunidad microbiana también permite comprender las intrincadas redes de interacciones ecológicas que sustentan la funcionalidad del ecosistema. Al analizar cómo la contaminación afecta estas interacciones, los científicos pueden diseñar estrategias de restauración que no solo se centren en la eliminación de contaminantes, sino que también promuevan la recuperación de la resiliencia y la funcionalidad del ecosistema.

La integración de estos conocimientos en proyectos de investigación y desarrollo tiene el potencial de impulsar innovaciones en biotecnología ambiental. El desarrollo de bioprocesos

Como se mencionó antes, las comunidades microbianas están sujetas a los cambios sobre las variables fisicoquímicas del ambiente, lo que genera diferencias en el número y frecuencia de especies. Así, la identificación de microorganismos nativos adaptados a condiciones extremas de contaminación permite descubrir enzimas y metabolitos con propiedades únicas, que pueden ser utilizados en procesos de biorremediación.

En este orden de ideas, se pueden destacar comunidades microbianas que posean mecanismos de resistencia y degradación, así como de producción de moléculas como los biosurfactantes que son de interés para el desarrollo de tecnologías sostenibles en el tratamiento de hidrocarburos.

basados en el uso de comunidades microbianas autóctonas, por ejemplo, puede ofrecer soluciones más eficientes y sostenibles para la remediación de sitios contaminados.

Además, la caracterización de la diversidad funcional microbiana puede ser utilizada para monitorear la efectividad de las estrategias de biorremediación y para evaluar el progreso de la recuperación del ecosistema. Al analizar los cambios en la composición y actividad de la comunidad microbiana a lo largo del tiempo, los científicos pueden determinar si las estrategias de remediación están logrando los objetivos deseados.

En conclusión, el estudio de la diversidad funcional microbiana es una herramienta esencial para la biorremediación y la restauración de ecosistemas contaminados. La caracterización de las comunidades microbianas autóctonas, la comprensión de las interacciones ecológicas y la integración de estos conocimientos en proyectos de investigación y desarrollo son claves para el desarrollo de estrategias de remediación sostenibles y efectivas.

Referencias

- 1.- Araujo I., N. Angulo, C. Cárdenas, M. Méndez, M. Morante, y M. Machado. (2004). Biorremediación De Suelos Con Consorcio Bacteriano, Compostaje y Fertilización. Boletín Del Centro De Investigación Biológicas 38 (3): 186-202.
- 2.- Corneo, O. (2001). Simulación a Escala de Laboratorio de la Técnica de Biorremediación en Rípios de Perforación Base Aceite (Diesel). Tesis De Grado. Universidad Central De Venezuela – Facultad De Ingeniería (Venezuela).
- 3.- Peña, N. (2005). Evaluación Geoquímica y Microbiológica de Localidades Empleadas en el Bio-Tratamiento de Desechos con Hidrocarburos. Tesis De Grado. Universidad Central De Venezuela – Facultad De Ciencias (Venezuela).
- 4.- Speight, J. G. (1999). The Chemistry and Technology of Petroleum. Marcel Dekker, Inc, New York, N.Y.
- 5.- Bundy J. G., Paton G.I. y Campbell C. D. (2002). Microbial communities in different soil types do not converge after diesel contamination. J. App. Microbiol. 92. 276 – 288.
- 6.- Rivera-Cruz M. del C., Ferrera-Cerrato R., Volke Haller V., Rodriguez Vásquez R. y Fernandez Linares L. (2002) Adaptación y Selección de Microorganismos Autoctonos en Medios de Cultivos Enriquecidos con Petróleo Crudo. Terra. 20: 423-434
- 7.- Rosenberg, E., y Ron, E. (1995). Bioremediation of petroleum contamination. Pags. 100 – 124. En R. Crawford, D. Crawford (eds.). Bioremediation: Principles and Applications (Biotechnology Research). Cambridge University Press. New York. Estados Unidos.
- 8.- Antía, A. (1995). Estudio Ecologico de las Comunidades de las comunidades microbianas heterotróficas de un suelo en condiciones naturales y sometido a manejo agrícola. Tesis Doctoral. Universidad Central De Venezuela – Facultad De Ciencias (Venezuela)
- 9.- Atlas, R., y Bartha, R. (2002). Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental. 4ta. Edición. Editorial Addison Wesley. España.
- 10.- Bastardo, H. (2005). Algunos aspectos del proceso de descomposición y la microbiología ambiental. Acta Biol. Venez. 25: 91 – 97.

- 11.- Crawford, R. (1995). Preface. Pags: 1 – 12. En R. Crawford, D. Crawford (eds.). *Bioremediation: Principles and Applications (Biotechnology Research)*. Cambridge University Press. New York. Estados Unidos.
- 12.- Infante C. (2005). Contaminación de Suelos y Recuperación Ecológica en Venezuela. *Acta Biol. Venez.* 25 (1-2): 43 – 49.
- 13.- Leahy, J. G. y Colwell, R. R. (1990). Microbial Degradation Of Hydrocarbons In The Environment. *Microbiol. Rev.* 54:305-315
- 14.- Bozo, L., Fernández, M., López, M., Reyes, R., Suárez, P., (2007) Biomarcadores de la contaminación química en comunidades microbianas. *Interciencia.* 32: pp. 8 – 13.
- 15.- Domínguez, D. (2008). Caracterización Funcional De La Comunidad Fúngica Asociada A Dos Ripios De Perforación Base Agua. Tesis De Grado. Universidad Central De Venezuela – Facultad De Ciencias (Venezuela).
- 16.- Duarte, G. F., A. S. Rosado, L. Seldin, W. de Araujo, y J. D. van Elsas. (2001). Analysis of bacterial community structure in sulfurous-oil-containing soils and detection of species carrying dibenzothiophene (dsz) genes. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 1052 – 1062.
- 17.- León, Y. (2008). Caracterización Funcional y Molecular De Una Comunidad Bacteriana Asociada A Ripios Base Agua Impregnado En Crudo Pesado Con Énfasis En El Potencial De Producción De Biosurfactantes. Tesis De Grado. Universidad Central De Venezuela – Facultad De Ciencias (Venezuela)
- 18.- Zamora, A. (2006). Análisis Funcional De Comunidades Bacterianas Asociadas A Un Proceso De Biorremediación De Muestras De Suelo Contaminado Con Hidrocarburo. Tesis De Grado. Universidad Central De Venezuela – Facultad De Ciencias (Venezuela).
- 19.- Colleran, E. (1997). Uses of Bacteria in Bioremediation. Pp. 3-22. En Sheehan D. (Ed.) *Bioremediation Protocols*. Humana Press Inc. Totowa, New Jersey.
- 20.- Srinivas T. (2008). *Environmental Biotechnology*. New Age International Publishers. Nueva Delhi. India. ISBN: 978-81-224-2544-4
- 21.- Christofi, N., e Ivshina, I. (2002). Microbial surfactants and their use in field studies of soil remediation. A review. *J Appl Microb* 93: 915–929
- 22.- Atlas, R. (1975) Effects Of Temperature And Crude Oil Composition On Petroleum Biodegradation. *Appl. Environ. Microbiol.* 30: 396-403
- 23.- Ijah, U. J. J. (1998). Studies on relative capabilities of bacterial and yeast isolates from tropical soil in degrading crude oil. *Waste Management.* 18 (5): 293 – 299.
- 24.- Okoh, A.I., y Trejo-Hernandez, M.R. (2006) Remediation Of Petroleum Hydrocarbon Polluted Systems: Exploiting The Bioremediation Strategies. *African J. Biotechnol.* 5 (25), 2520-2525
- 25.- Saadoun, I. y Al-Ghzawi, Z. (2005). Bioremediation Of Petroleum Contamination. En M. Fingerman y Nagabhushanam (Eds.) *R. Bioremediation Of Aquatic And Terrestrial Ecosystems* (Pp. 311-329). Science Publishers, Inc.

- 26.- Surridge, A.K.J., Wehner, F.C. y Cloete, T.E. (2009). Bioremediation of Polluted Soil. Pags: 103 – 121. En A. Singh, R.C. Kuhad y O. P. Ward (Eds). *Advances in Applied Bioremediation*. Ontario. Canada.
- 27.- Olivieri, R. Bacchin P., Robertiello, N. Degen L. y Tonolo A. (1976). Microbial Degradation of Oil Spills Enhanced by Slow-Release Fertilizer. *Appl. Environ. Microbiol.* 31 (5): 629 – 634.
- 28.- Adams Schroeder, R., Domínguez Rodríguez, V. y García Hernández, L. (1999) Potencial de la Biorremediación de Suelo y Agua Impactados por Petróleo en el Trópico Mexicano. *TERRA.* 17 (2): 159 – 174.
- 29.- Van Hamme, J. D., Singh, A. y Ward, O. P. (2003). Recent Advances in Petroleum Microbiology. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 67: 503-549
- 30.- Georgiou, G., Lin, S-C y Sharma, M. M. (1992) Surface-Active Compounds from Microorganisms. *Bio/Technology* 10, 60 – 65
- 31.- Rahman, K.S.M., Rahman, T.J., Banat, I.M., Lord R. y Street, G. (2007). Bioremediation of Petroleum Sludge using Bacterial Consortium with Biosurfactant. PP 391-408. En Singh S. y Tripathi R (Eds.). *Environmental Bioremediation Technologies*. Springer.
- 32.- Zak J., Willing M. Moorhead D. y Wildman H (1994) Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach. *Soil Biology y Biochemistry.* 26: 1101 – 1108.
- 33.- Malaver, N. (1996). Aspectos ecologicos de la asociación microorganismos – raíz en *eichhornia crassipes* (Mart.) Solm-Laub (Pontederiaceae) expuesta a un efluente modificado. Tesis Doctoral. Universidad Central De Venezuela – Facultad De Ciencias (Venezuela).
- 34.- López, H. M. (2002). Sucesión de la Comunidad Bacteriana en Suelos Salinos Enmendados con Paja de Maíz y Glucosa. Tesis de Maestría. Universidad de Colima – Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias. (México).
- 35.- Zamora, A. (2008). Análisis Funcional De Microorganismos. Un Estimador de Diversidad y estructura Comunitaria. Seminario – Postgrado en Ecología. Universidad Central De Venezuela – Facultad De Ciencias (Venezuela).
- 36.- Trevors, J. (1998). Bacterial biodiversity in soil with an emphasis on chemically-contaminated soils. *Water, Air and Soil Pollution* 101:45-67
- 37.- Zamora, A., Malaver, N., y Ramos, J. (2012). Análisis funcional de microorganismos: un estimador de diversidad y estructura comunitaria. *Acta Biologica Venezuelica*, 32(1), 57-86.
- 38.- Griffiths, B. S., y Philippot, L. (2013). Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS microbiology reviews*, 37(2), 112-129.
- 39.- Konopka, A. (2009). What is microbial community ecology?. *The ISME journal*, 3(11), 1223-1230.
- 40.- Kuo, J. T., Chang, L. L., Yen, C. Y., Tsai, T. H., Chang, Y. C., Huang, Y. T., y Chung, Y. C. (2020). Development of fluorescence in situ hybridization as a rapid, accurate method for detecting coliforms in water samples. *Biosensors*, 11(1), 8.

- 41.- Garland, J.L. y Milis, A.L. (1991). Clasificación and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*. 57:2351-2359
- 42.- Liu, W. T., y Stahl, D. A. (2007). Molecular approaches for the measurement of density, diversity, and phylogeny. En: Hurst, C. J., Crawford, R. L., Garland, J. L., y Lipson, D. A. (Eds.). *Manual of environmental microbiology*. Tercera Edición. American Society for Microbiology Press. Washington D.C. ISBN-13: 978-1-55581-379-6
- 43.- Goodfriend, W. (1998). Microbial community patterns of potential substrates utilization: a comparison of salt marsh, sand dune, and seawater-irrigated agronomic systems. *Soil Biology y Biochemistry*. 30: 1169- 1176
- 44.- Youssef, N., Duncan, K., Tagle, D., Savage, K., Knapp, R. y McInerney, M. (2004). Comparison of methods to detect biosurfactant production by diverse microorganisms. *J. Microb. Methods*. 56, 339-347.
- 45.- Hommel, R. K. y Ratledge, C. (1993). Biosynthetic Mechanisms of Low Molecular Weight Surfactants and Their Precursor Molecules. PP: 3 – 64. En: Korasic N. (Ed) *Biosurfactants: Production, Properties, Applications* Surfactant Science Series, vol. 48. Marcel Dekker. New York, E.E.U.U.
- 46.- Iyer, A. P. y Mahadevan, A. (2002). Lignin degradation by bacteria. PP: 311 – 330. En V. P. Singh y R. Stapleton (Eds.) *Biotransformations: Bioremediation Technology For Health And Environmental Protection*. Elsevier B.V.