

Revista de la Universidad del Zulia

Fundada en 1947
por el Dr. Jesús Enrique Lossada



Ciencias

Exactas

Naturales

y de la Salud

65
Aniversario

Año 3 N° 6
Mayo - Agosto 2012
Tercera Época
Maracaibo- Venezuela

Efecto del queroseno y de la concentración de nutrientes en el crecimiento de un cultivo mixto de microalgas (Chlorophyta)

Díaz-Borrego Laugeny¹
Vera, Alexandra¹
Marín, Julio²
Aiello-Mazzarri, Cateryna³
Briceño, Beltrán¹
Morales, Ever¹

RESUMEN

En la presente investigación se evaluó el efecto combinado del queroseno y la concentración de nutrientes (Nitrofoska®, NPK) en el crecimiento de un cultivo mixto de microalgas (*Coenochloris* sp. y *Chlorococcum* sp.), aisladas de una fosa petrolera. Se realizaron cuatro tratamientos: queroseno 0,5%-NPK 1 mL/L (Q0,5-1), queroseno 0,5%-NPK 3 mL/L (Q0,5-3), queroseno 1%-NPK 1 mL/L (Q1-1), queroseno 1%-NPK 3 mL/L (Q1-3) y se utilizaron dos controles: sin queroseno-NPK 1 mL/L (C-1), sin queroseno-NPK 3 mL/L (C-3). Los cultivos se evaluaron cada 4 días, midiendo el pH, peso seco, densidad celular, pigmentos e hidrocarburos totales (TPH). Con Q0,5-1 se inhibió el crecimiento de *Coenochloris* sp. y *Chlorococcum* sp. en un 32,99 y 42,29%, respectivamente. Con Q0,5-1, Q0,5-3 y Q1-1 no se afectó la producción de pigmentos, pero si el crecimiento mi-

¹Laboratorio de Micro-organismos Fotosintéticos, Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Maracaibo 4001, Venezuela. E-mail: laugeny@yahoo.com

²Departamento de Ingeniería Sanitaria y Ambiental (DISA), Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Civil, Universidad del Zulia, Maracaibo 4001, Venezuela.

³Departamento de Ingeniería Bioquímica, Escuela de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería, Universidad del Zulia, Maracaibo 4001, Venezuela.

croalgal. El peso seco no presentó diferencias significativas entre los tratamientos ($p < 0,05$). En Q1-3 la inhibición de las poblaciones fue mayor (53,01 y 61,49%) al igual que los pigmentos. No obstante, la biodegradación de TPH fue de 68% en Q0,5-1 y Q0,5-3 y del 42,71 y 56,73% en Q1-1 y Q1-3, respectivamente. Los cultivos mixtos de microalgas y bacterias asociadas pueden utilizarse para la remoción de hidrocarburos con el fertilizante NPK a 1 mL/L destacándose su potencial biorremediador.

PALABRAS CLAVE: cultivo mixto, microalgas, nutrientes, queroseno.

Effect of kerosene and the concentration of nutrients in the growth of a mixed culture of microalgae (Chlorophyta)

ABSTRACT

In this research the combined effect of kerosene and the nutrient's concentration (Nitrofoska®, NPK), in the growth of a mixed culture of microalgae (*Coenochloris* sp. and *Chlorococcum* sp.) isolated from an oil pit was evaluated. Four treatments were applied to the samples: 0.5% kerosene-NPK 1 ml / L (Q0,5-1), NPK kerosene 0.5%, 3 mL/L (Q0,5-3), NPK kerosene 1%-1 mL/L (Q1-1), NPK Kerosene 1%, 3 mL/L (Q1-3) and two controls: no-NPK kerosene 1 mL/L (C-1), NPK without kerosene-3 mL/L (C-3). Cultures were evaluated every 4 days by measuring pH, dry weight, cell density, pigments and total hydrocarbons (TPH). With Q0,5-1 the growth of *Coenochloris* sp. and *Chlorococcum* sp was inhibited by 32.99% and 42.29%, respectively. With Q0,5-1, Q0,5-3 y Q1-1 the production of pigments was not affected, but the microalgae growth was affected significantly. The dry weight showed no significant differences between treatments ($p < 0.05$). In Q1-3 the inhibition of the populations was higher (53.01% and 61.49%) as the production of pigments. However, the biodegradation of TPH was 68% in Q0,5-1 and Q0,5-3, and 42.71 and 56.73% in Q1-1 and Q1-3, respectively. Mixed cultures of microalgae and associated bacterias can be used for the removal of hydrocarbons with fertilizer NPK to 1 mL/L with potential for bio-remediation.

KEYWORDS: kerosene, microalgae, mixed culture, nutrients.

Introducción

La industria petrolera venezolana es una de las más importantes del mundo, estimándose en el año 2011 una producción de crudo de 2.991 mil barriles diarios (MBD), una capacidad de refinación de 1.155 MBD y de exportación de 2.469 MBD (PDVSA, 2011). Esta intensa actividad petrolera ha condicionado la aparición de fosas petroleras, que constituyen un sistema ambiental con características propias, donde se han observado crecimiento de microalgas, cianofitas, bacterias, plantas e invertebrados, entre otros (Sulbarán, 2005).

Pocos han sido los trabajos publicados en Venezuela sobre el uso de consorcios de microalgas para la recuperación de ambientes contaminados con petróleo, puesto que la mayoría han sido relegados a favor de las bacterias. No obstante, se ha documentado que los hidrocarburos en ambientes naturales o artificiales, pueden ser atacados para su biotransformación y biodegradación por la acción de diversas microalgas y cianobacterias. Éstas proveen de carbono reducido y nitrógeno a la microbiota presente en los ecosistemas acuáticos, actuando también en la remoción de nutrientes, metales pesados y patógenos (Muñoz y Guieysse, 2006), lo que incrementa el potencial de degradación y eliminación de contaminantes por parte de estas comunidades microbianas (Ferrera-Cerrato et al, 2006).

El queroseno ha sido utilizado como sustrato modelo en estudios de biodegradación debido a que contiene una elevada concentración de saturados y aromáticos que son las fracciones orgánicas mayormente degradadas por los microorganismos; así los microorganismos capaces de crecer en queroseno serán capaces de emplear al menos una de las fracciones de hidrocarburos contenidas en la mezcla del petróleo (Altamirano y Pozo, 2001).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto combinado del queroseno y de la concentración de nutrientes en el crecimiento de

un cultivo mixto de microalgas (*Chlorophyta*), aisladas de una fosa petrolera venezolana.

1. Metodología

1.1. Microalgas

Las microalgas de la División Chlorophyta (*Chlorococcum* sp. y *Coenochloris* sp.) se aislaron de muestras de agua de una fosa petrolera ubicada la Costa Oriental del Lago de Maracaibo, estado Zulia, Venezuela, en las coordenadas N 10° 44' 197'' y W 71° 38' 795'' a una altura de 16,5 m. Estas microalgas forman parte del cepario del Laboratorio de Microorganismos Fotosintéticos, de la Universidad del Zulia. Ambas microalgas pertenecen a la División Chlorophyta, que tiene en común la presencia de un único cloroplasto en forma de copa con un solo pirenoide. *Chlorococcum* es unicelular con células esféricas o ligeramente ovaladas de tamaño variable, pueden estar solitarias o en agrupaciones irregulares; mientras que, *Coenochloris* forma colonias de cuatro, ocho, 16 o más células planctónicas dentro de una estructura mucilaginososa y con un tamaño aproximado de 8 μm (Needham y Needham, 1978).

1.2. Evaluación del crecimiento microalgal en queroseno

Las microalgas (en cultivos unialgales) se escalaron a 2,5 L hasta alcanzar la fase logarítmica de crecimiento y se cultivaron en frascos de vidrio con 100 mL de un medio orgánico elaborado con agua destilada estéril suplementada con fertilizante () y queroseno. Se emplearon dos concentraciones de fertilizante (1 y 3 mL/L) y dos concentraciones de queroseno (0,5 y 1,0% v/v). Los cultivos se mantuvieron durante 32 días, con fotoperíodo luz: oscuridad de 12:12h, agitación manual diaria y temperatura de $30 \pm 2^\circ\text{C}$ (Briceño et al, 2003). Para la siembra de los frascos se utilizó un inóculo de $2,5 \times 10^6$ cel/mL de cada microalga.

Se realizaron cuatro tratamientos: Q0,5-1: queroseno 0,5% + NPK 1 mL/L; Q0,5-3: queroseno 0,5% + NPK 3 mL/L; Q1-1: queroseno 1% + NPK 1 mL/L y Q1-3: queroseno 1% + NPK 3 mL/L, y se ensayaron dos controles C-1: sin queroseno + NPK 1 mL/L; C-3: sin queroseno + NPK 3 mL/L. Todas las experiencias se realizaron por triplicado.

1.3. Estimación de parámetros de crecimiento

Para determinar la densidad celular del cultivo se realizaron recuentos celulares en cámara Neubaüer, calculando la velocidad de crecimiento (μ) y el tiempo de duplicación (t_d) de acuerdo a Lobban et al (1988). Se realizaron determinaciones de biomasa (peso seco) (Utting, 1985), pigmentos (clorofila total (a+b) y carotenoides) (Jeffrey y Humphrey, 1975), y se cuantificó la flora bacteriana asociada mediante el recuento en placas (APHA et al, 2005). Adicionalmente, se determinó el contenido de hidrocarburos totales del petróleo (TPH) al inicio y al final de las experiencias realizando extracciones con cloroformo (APHA et al, 2005).

1.4. Análisis estadístico

Se comprobaron los supuestos de normalidad y homocedasticidad de los datos y se aplicó un diseño completamente al azar (ANOVA de una vía). También se aplicó la Prueba de Tukey para estimar diferencias significativas entre los tratamientos.

2. Resultados y discusión

2.1. Crecimiento de las microalgas *Coenochloris* sp. y *Chlorococcum* sp. en queroseno

En la Tabla 1 se presentan los parámetros de crecimiento y en las Figuras 1 y 2 se presenta el perfil de crecimiento de las microalgas en queroseno a las diferentes concentraciones de nutrientes.

TABLA 1. Parámetros de crecimiento de *Coenochloris* sp. y *Chlorococcum* sp., bajo las condiciones de cultivo establecidas en el presente estudio.

Tratamiento	μ (div.días ⁻¹)	t_d (días)	Densidad celular (cel x 10 ⁶ /mL)	Inhibición (%)
<i>Coenochloris</i> sp.				
C-1	0,36	1,92	4,94±1,88	-
C-3	0,22	3,15	3,98±1,33	-
Q0,5-1	0,28	2,47	3,31±0,88	32,99
Q0,5-3	0,22	3,15	2,46±0,92	38,19
Q1-1	0,16	4,33	2,54±1,15	48,58
Q1-3	0,11	6,30	1,87±1,05	53,01
<i>Chlorococcum</i> sp.				
C-1*	0,07	9,90	8,19±6,24	-
C-3**	0,04	17,32	5,61±2,92	-
Q0,5-1	0,04	17,32	4,73±2,26	42,24
Q0,5-3	0,03	23,10	3,16±0,74	43,67
Q1-1*	0,03	23,10	3,21±0,87	60,80
Q1-3**	0,05	13,86	2,16±1,05	61,49

μ : velocidad de crecimiento, t_d : tiempo de duplicación. **C-1**: control I sin queroseno suplementado con fertilizante (1 mL/L), **C-3**: control II sin queroseno suplementado con fertilizante (3 mL/L), **Q0,5-1**: tratamiento con queroseno al 0,5% y fertilizante (1 mL/L), **Q0,5-3**: tratamiento con queroseno al 0,5% y fertilizante (3 mL/L), **Q1-1**: tratamiento con queroseno al 1,0% y fertilizante (1 mL/L), **Q1-3**: tratamiento con queroseno al 1,0% y fertilizante (3 mL/L), * y ** indican que existen diferencias significativas ($p < 0,05$).

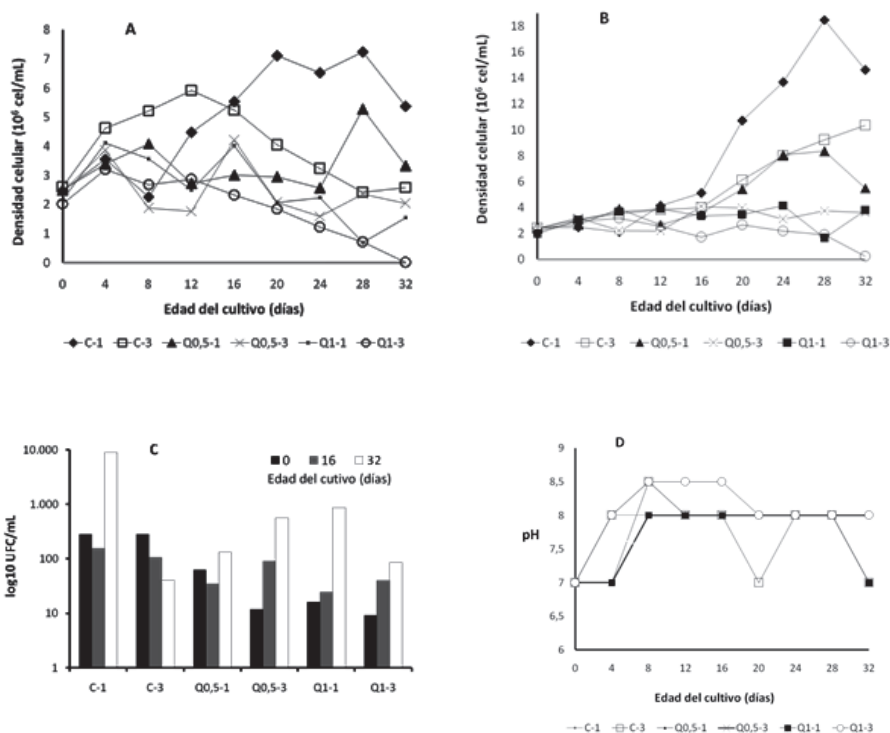


FIGURA 1. Dinámica de crecimiento poblacional de *Coenochloris sp.* (a) y *Chlorococcum sp.* (b), recuento de bacterias asociadas al cultivo mixto (c) y comportamiento del pH (d). C-1: control I sin queroseno suplementado con fertilizante (1 mL/L), C-3: control II sin queroseno suplementado con fertilizante (3 mL/L), Q0,5-1: tratamiento con queroseno al 0,5% y fertilizante (1 mL/L), Q0,5-3: tratamiento con queroseno al 0,5% y fertilizante (3 mL/L), Q1-1: tratamiento con queroseno al 1,0% y fertilizante (1 mL/L), Q1-3: tratamiento con queroseno al 1,0% y fertilizante (3 mL/L).

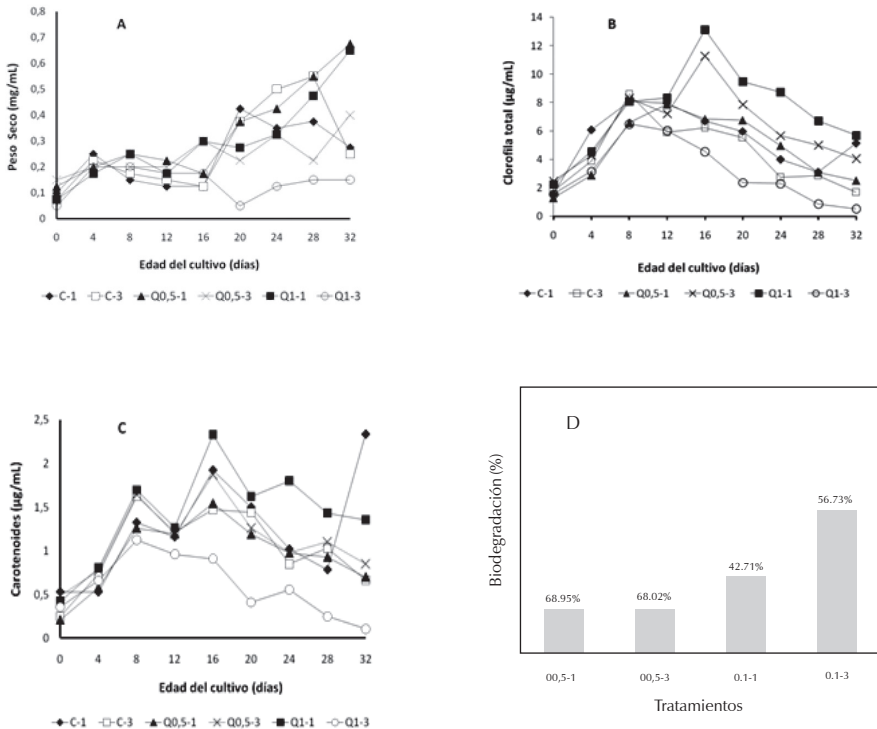


FIGURA 2. Comportamiento del peso seco (a), Clorofila total (b), carotenoides (c) por el cultivo mixto de *Coenochloris* sp. y *Chlorococcum* sp. Biodegradación de queroseno (d). C-1: control I sin queroseno suplementado con fertilizante (1 mL/L), C-3: control II sin queroseno suplementado con fertilizante (3 mL/L), Q0,5-1: tratamiento con queroseno al 0,5% y fertilizante (1 mL/L), Q0,5-3: tratamiento con queroseno al 0,5% y fertilizante (3 mL/L), Q1-1: tratamiento con queroseno al 1,0% y fertilizante (1 mL/L), Q1-3: tratamiento con queroseno al 1,0% y fertilizante (3 mL/L).

La mayor inhibición del crecimiento microalgal, con diferencias significativas ($p < 0,05$), se observó en Q1-1 y Q1-3. Sin embargo, la concentración de nutrientes aparentemente no afecta el crecimiento de las microalgas (Figura 1, Tabla 1). La mayor densidad celular, tanto para *Coenochloris* sp., como para *Chlorococcum* sp., se obtuvo en los controles C-1 y C-3.

También se aprecia que la μ disminuye y el t_d aumenta en presencia de queroseno al 1,0%; indicando su efecto tóxico sobre las microalgas, similar a lo obtenido por Briceño et al (2003) en las cianobacterias *Synechocystis minuscula* y *Limnothrix* sp. que inhibieron su crecimiento en un 60% en queroseno, y por Morales-Loo y Goutx, (1990) quienes reportan un crecimiento retardado de poblaciones de microalgas como *Nitzschia*, *Asterionella*, *Rhodomonas* y *Dunaliella* en presencia de fracción soluble de petróleo.

Al comparar las curvas de crecimiento en *Coenochloris* sp. (Figura 1a) se aprecia un acortamiento de la fase exponencial de crecimiento en presencia de queroseno, que se inicia desde el día 0 y se extiende por 4 a 8 días, en comparación con *Chlorococcum* sp. (Figura 1b), que presentó una fase de adaptación de unos 16 días. Momento en que inicia la fase exponencial de crecimiento, exhibiendo ligeras fluctuaciones en los recuentos celulares culminando la curva con un decaimiento de la población. Sin embargo, *Chlorococcum* sp. mostró la mayor densidad celular promedio en los tratamientos (Tabla 1).

Es posible que se haya generado algún tipo de competencia entre las microalgas en los controles sin queroseno, porque cuando decae la población de *Coenochloris* sp. comienza a incrementarse la de *Chlorococcum* sp. Esto parece indicar que *Coenochloris* sp. puede liberar algún factor inhibitorio como producto de su metabolismo sobre *Chlorococcum*. En el fitoplancton las poblaciones compiten por nutrientes, así como por la luz, llegando algunas especies a desarrollar habilidades para mejorar su capacidad de utilizar esas fuentes de nutrientes y mejorar su actividad competitiva en el ambiente con efectos negativos directos en otras especies competidoras, como lo puede ser a través de la liberación de compuestos químicos, fenómeno conocido como alelopatía (Fistarol et al, 2004). Las alelopatías presentadas en el fitoplancton pueden llegar a tener efecto en más de una microalga, tal como lo observaron Mahmoud y Rahman (2005), al evaluar el efecto de extractos crudos

de dos cianobacterias (productoras de toxinas) sobre el crecimiento y algunas actividades fisiológicas de dos microalgas unicelulares (*Chlorella vulgaris* y *Chlorococcum humicola*). Zhang et al (2007), por su parte, establecen el comportamiento de un consorcio microalgal, demostrando que la actividad metabólica de *Microcystis aeruginosa* se vio inhibida, como resultado de la limitación de la luz (ensombrecimiento) provocado por la población de *Coenochloris pyrenoidosa*.

2.2. Bacterias asociadas al cultivo mixto de las microalgas

No se encontró diferencias significativas en los recuentos bacterianos en los diferentes tratamientos ($p > 0,05$); sin embargo, estos incrementaron a través del tiempo; excepto en el control C-3. Por lo que, es posible que la mayor concentración de nutrientes cause inhibición en el crecimiento bacteriano (Figura 1c), quizás debido a la saturación de enzimas encargadas de la asimilación de esos nutrientes. Sin embargo, en presencia de queroseno la concentración de nutrientes parece ser importante para mantener los niveles de las poblaciones bacterianas, es decir que aumenta la biodisponibilidad, lo cual estaría en función de las enzimas degradadoras de estas fuentes de carbono y así posteriormente hacerlas más disponibles a las mismas bacterias para su crecimiento (Safonova et al 1999).

La mayor densidad bacteriana ocurre hacia el final del ensayo, donde ya muchas células de las microalgas han muerto, formando parte del detritus. La degradación de células microalgales lisadas resulta en la conversión de compuestos de fósforo y nitrógeno orgánico a inorgánico, liberando nutrientes solubles que pueden retomar nuevamente las microalgas, y a cambio, las bacterias degradan los hidrocarburos reduciendo su toxicidad (Riquelme y Avendaño, 2003; Abed y Koster, 2005; Sigeo, 2005).

Se encontraron correlaciones positivas entre el crecimiento de ambas microalgas y los recuentos bacterianos ($r=0,640$, $p<0,01$ para *Coenochloris* y $r=0,656$, $p<0,01$ para *Chlorococcum*). Safonova et al (1999) señalan que la combinación de bacterias alcalinotróficas con cepas representativas de microalgas (*Stichococcus*, *Chlorella* y *Scenedesmus*), y de cianobacterias (*Nostoc* y *Phormidium*) restauraron la reproductividad de microalgas sensibles al petróleo y estimularon el crecimiento de cepas tolerantes. Así el consorcio establecido entre bacterias y microalgas potencia la biodegradación de los hidrocarburos.

2.3. Comportamiento del pH

El mayor pH fue el obtenido por el tratamiento Q1-3 con 8,05, en comparación con Q1-1, que estuvo en 7,66. En promedio, el pH de los cultivos (Figura 1d) se mantuvo de neutro a alcalino, lo cual favorece el crecimiento microalgal y la producción de clorofila total ($r=0,440$, $p<0,01$), probablemente por la asimilación de fuentes de nitrógeno que favorecen el aumento del pH (Yépez y Morales, 1998). Se ha establecido que el principal mecanismo de remoción de nutrientes en aguas residuales incluyen captura al interior celular y liberación de amonio, elevándose el pH (Aslan y Kapdan, 2006).

2.4. Peso seco

Este parámetro permite estimar la asimilación de los hidrocarburos y nutrientes por las microalgas y sus bacterias asociadas. Los valores de peso seco oscilaron entre $0,14\pm 0,05$ y $0,33\pm 0,18$ mg/L en los tratamientos y controles; sin diferencias significativas entre estos ($p>0,05$). En la Figura 2a se observa que el peso seco en los tratamientos Q0,5-1, Q1-1 y en el control C-3, la mayor producción se estimó a partir de los 16 días del cultivo, pero en C-3 el peso seco decae el día 28. Mientras que, los tratamientos Q0,5-3 y Q1-3 presentaron un peso seco relativamente constante a través del tiempo, siendo la menor producción la estimada para Q1-3,

presumiéndose que la mayor concentración de nutrientes afecta el peso seco del cultivo mixto.

Se encontraron correlaciones positivas entre el peso seco y la densidad celular de *Chlorococcum* ($r=0,477$, $p<0,01$) y los recuentos bacterianos ($r=0,656$, $p<0,01$) por lo que estos pueden ser determinantes en el incremento del peso seco en los tratamientos.

2.5. Producción de pigmentos

La producción promedio de pigmentos, en la forma de clorofila total (Figura 2b) incrementó con la concentración de queroseno ($7,44\pm 0,30$ $\mu\text{g/mL}$ en Q1-1 y $6,24\pm 0,22$ $\mu\text{g/mL}$ en Q0,5-3) en comparación con los controles ($5,40\pm 0,36$ $\mu\text{g/mL}$ en C-1 y $4,35\pm 0,14$ $\mu\text{g/mL}$ en C-3) y con el tratamiento Q0,5-1 ($4,76\pm 0,56$ $\mu\text{g/mL}$), similar a lo obtenido por Gamila et al (2003) con las cianobacterias *Anabaena sphaerica* y *Oscillatoria agardhii* en petróleo crudo. No obstante, la mayor concentración de nutrientes (3 mL/L) parece inhibir significativamente ($p<0,05$) la concentración de clorofila total ($3,10\pm 0,37$ $\mu\text{g/mL}$) y de carotenoides ($0,59\pm 0,39$ $\mu\text{g/mL}$) en 28,73 y 42,71%, respectivamente.

En la Figura 2b se puede apreciar que el día 16 los tratamientos Q1-1 y Q0,5-3, alcanzan su máxima producción de pigmentos. Es posible que en este punto de la curva (final de fase exponencial), las bacterias asociadas hayan estimulado el crecimiento y la producción de pigmentos de las microalgas en presencia de queroseno, comportamiento similar a lo ocurrido con el peso seco. Así lo demuestra la correlación positiva establecida entre los recuentos bacterianos y la producción de carotenoides ($r=0,607$, $p<0,01$)

El aumento en la concentración de pigmentos a partir del día 28 en el tratamiento C-1, coincide con el momento en que la microalga *Chlorococcum* sp. alcanzó el máximo crecimiento exponencial. Es notable, además, que en la mayoría de los tratamientos la producción

de pigmentos de los cultivos decae entre los 16 y 20 días de edad del cultivo, tornándose cloróticos, por la presencia de pigmentos carotenoides (color amarillento), especialmente en C-1 donde la producción de carotenoides se dispara al final del ensayo. Algunas veces se induce una clorosis con la degradación de la clorofila, dejándose expuestos a los carotenoides, que no necesariamente se incrementan (Yépez y Morales, 1998). En la Figura 2c se muestra el comportamiento de los carotenoides, cuya producción es similar a la obtenida con la clorofila total, sin diferencias significativas entre los tratamientos ($p > 0,05$).

Tukaj (1987), indicó que la fracción soluble de petróleo y de combustible afectó disminuyendo el número de células, peso seco y producción de clorofila *a* en la microalga *Scenedesmus quadricauda*. Del mismo modo, Morales-Loo y Goutx (1990) obtuvieron que en mayoría de las microalgas planctónicas acusaron disminución del contenido de clorofila *a*, pigmentos lipídicos, glicolípidos y triglicéridos, mientras se acumulan los esteroides e hidrocarburos.

2.6. Biodegradación de queroseno por el cultivo mixto de las dos microalgas

Se evidenció una eficiente biodegradación de queroseno por el cultivo mixto de las dos microalgas y bacterias asociadas (Figura 2d), cercano a un 68% en Q0,5-1 y Q0,5-3, sin diferencias significativas ($p > 0,05$) y entre el 42,71 y 56,73% en Q1-1 y Q1-3, con diferencias significativas ($p < 0,05$). Sin embargo, deben realizarse estudios adicionales para establecer la vía de degradación de hidrocarburos por el cultivo mixto. Las pérdidas por evaporación estimadas en un control no inoculado contaminado con queroseno fueron del 5%.

Comparativamente, Raghukumar et al (2001), al emplear un cultivo mixto con las cianobacterias *Oscillatoria salina*, *Plectonema terebrans* y *Aphanocapsa* sp. removieron más del 40% del crudo formando un tapete microbiano en los glóbulos de petróleo cuando conformaron

un cultivo mixto. Mientras que, Lima et al (2004) pudieron remover 100% de *p*-clorofenol a una concentración de 150 mg/mL adsorbido a zeolita, mediante un cultivo mixto de microalgas conformado por las microalgas *Chlorella* sp. y *Coenochloris pyrenoidosa*.

Conclusiones

El queroseno afectó el crecimiento de cultivo mixto, pero no la biomasa ni la producción de pigmentos de las microalgas; mientras que, la flora bacteriana asociada fue estimulada en su presencia. El crecimiento del cultivo mixto fue similar con ambas concentraciones de nutrientes, por lo que se sugiere el uso de la menor concentración empleada (1 mL/L), a fin de minimizar los costos relacionados con el cultivo. Finalmente, el consorcio de las microalgas con sus bacterias asociadas fue capaz de degradar el queroseno eficientemente en un 68% para los tratamientos con queroseno al 0,5% y entre el 42,71 y 56,73% en queroseno al 3%, destacándose el potencial biorremediador del consorcio microbiano establecido.

Referencias

- Abed, R. M. M., Koster, J. (2005). The direct role of aerobic heterotrophic bacteria associated with cyanobacteria in the degradation of oil compounds. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 55: 29-37.
- APHA, AWWA, WEF. (2005). American Public Health Association. Standard methods for examination of water and wastewater. 21th Edition. New York, USA. 1427 p.
- Aslan, S., Kapdan, K. (2006). Batch kinetics of nitrogen and phosphorus removal from synthetic wastewater by algae. *Ecological Engineering*. 28: 64-70.

- Altamirano, M. G., Pozo, M. G. (2001). III-31-Aislamiento e identificación de bacterias hidrocarburohíticas provenientes de un suelo sometido a biorremediación. XXVI Congreso Interamericano de Engenharia Sanitária e Ambiental. Brasil.
- Briceño, B., Jonte, L., Ortega, J., Rosales, N., Morales, E. (2003). Respuesta de las Cianobacterias tropicales *Synechocystis minuscula* y *Limnothrix* sp. a derivados del petróleo. *Acta Biológica Venezuelica*. 23(4): 31-41.
- Ferrera-Cerrato, R., Rojas-Avelizapa, N., Poggi-Varaldo, H., Alarcón, A., Cañizares-Villanueva, R. (2006). Procesos de biorremediación de suelo y agua contaminados por hidrocarburos del petróleo y otros compuestos orgánicos. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. 48(2):179-187.
- Fistarol, G., Legrand, C., Rengefors, K., Granéli, E. (2004). Temporary cyst formation in phytoplankton: a response to allelopathic competitors? *Environmental Microbiology*. 6(8): 791-798.
- Gamila, A. H., Ibrahim, M.B.M., El-Ghafar, A. (2003). The role of cyanobacterial isolated strains in the biodegradation of crude oil. *International Journal of Environmental Studies*. 60(5): 435-444.
- Jeffrey, S., Humphrey, G. F. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophyll a, b, c1 and c23 in higher plants, algae and natural populations. *Biochemical Physiology Pflanzan*. 167:191-194.
- Lima, S. A. C., Raposo, F. M., Castro, M. L., Morais, R. M. (2004). Biodegradation of *p*-chlorophenol by a microalgae consortium. *Water Research*. 38: 97-102.

- Lobban, C., Chapman, D., Kremer, B. (1988). *Experimental Phycology: a Laboratory manual*. New York, USA. Cambridge University Press. 295 p.
- Mahmoud, H., Rahman, A. (2005). Effects of Cyanobacteria crude extracts on growth and related physiological activities of *Chlorococcum humicola* and *Chlorella vulgaris*. *Arab Journal of Biotechnology*. 8(1): 9-18.
- Morales-Loo, M. R., Goutx, M. (1990) Effects of water-soluble fraction of the Mexican crude oil "Isthmus Cactus" on growth, cellular content of chlorophyll *a*, and lipid composition of planktonic microalgae. *Marine Biology*. 104: 503-509.
- Muñoz, R., Guieysse, B. (2006). Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. *Water Research*. 40(15): 2799-2815.
- Needham, J., Needham, P. R. (1978). *Guía de estudio de los seres vivos de las aguas dulces*. Editorial Reverté, S. A. Nápoles, Barcelona. 123 p.
- Petróleos de Venezuela, S.A (PDVSA) y sus Filiales. (2011). *Informe de Gestión Anual 2011*. Período del 01 de enero al 31 de diciembre de 2011. 241 p.
- Raghukumar, C., Viparty, V., David, J. J., Chandramohan, D. (2001). Degradation of crude oil by marine cyanobacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 57(3): 433-436.
- Riquelme, C., Avendaño, R. (2003). Interacción bacteria-microalga en el ambiente marino y uso potencial en acuicultura. *Revista Chilena de Historia Natural*. 76: 725-736.
- Safonova, E. Th., Dmitrieva, I. A., Kvitko, K. V. (1999). The interaction of algae with alcanotrophic bacteria in black oil decomposition. *Resources, Conservation and Recycling*. 27: 193-201.

- Sigeo, C. (2005). Freshwater microbiology: Biodiversity and dynamic interactions of microorganisms in the aquatic environment. Manchester U.K. John Wiley & Sons Ltd.
- Sulbarán, S. (2005). Microalgas presentes en fosas de desechos petrolizados del estado Zulia. Tesis (Licenciatura en Biología). Maracaibo, Venezuela. Universidad del Zulia. Venezuela. 105 p.
- Tukaj, Z. (1987). The effects of crude and fuel oils on the growth, chlorophyll a content and dry matter production of a green alga *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. *Environmental Pollution*. 47: 9-24.
- Utting, S. (1985). Influence of nitrogen availability on the biochemical composition of three unicellular marine algae of commercial importance. *Acuaculture Engineering*. 4:175-190.
- Yépez, M., Morales, E. (1998). Efecto de la concentración de nitrato y cloruro de sodio sobre la densidad celular y contenido de pigmentos y proteínas de *Dunaliella viridis*. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*. 32(1): 1-12.
- Zhang, M., Kong, F., Xing, P., Tan, X. (2007). Effects of interspecific interactions between *Microcystis aeruginosa* and *Chlorella pyrenoidosa* on their growth and physiology. *International Review of Hydrobiology*. 92 (3),281-290.