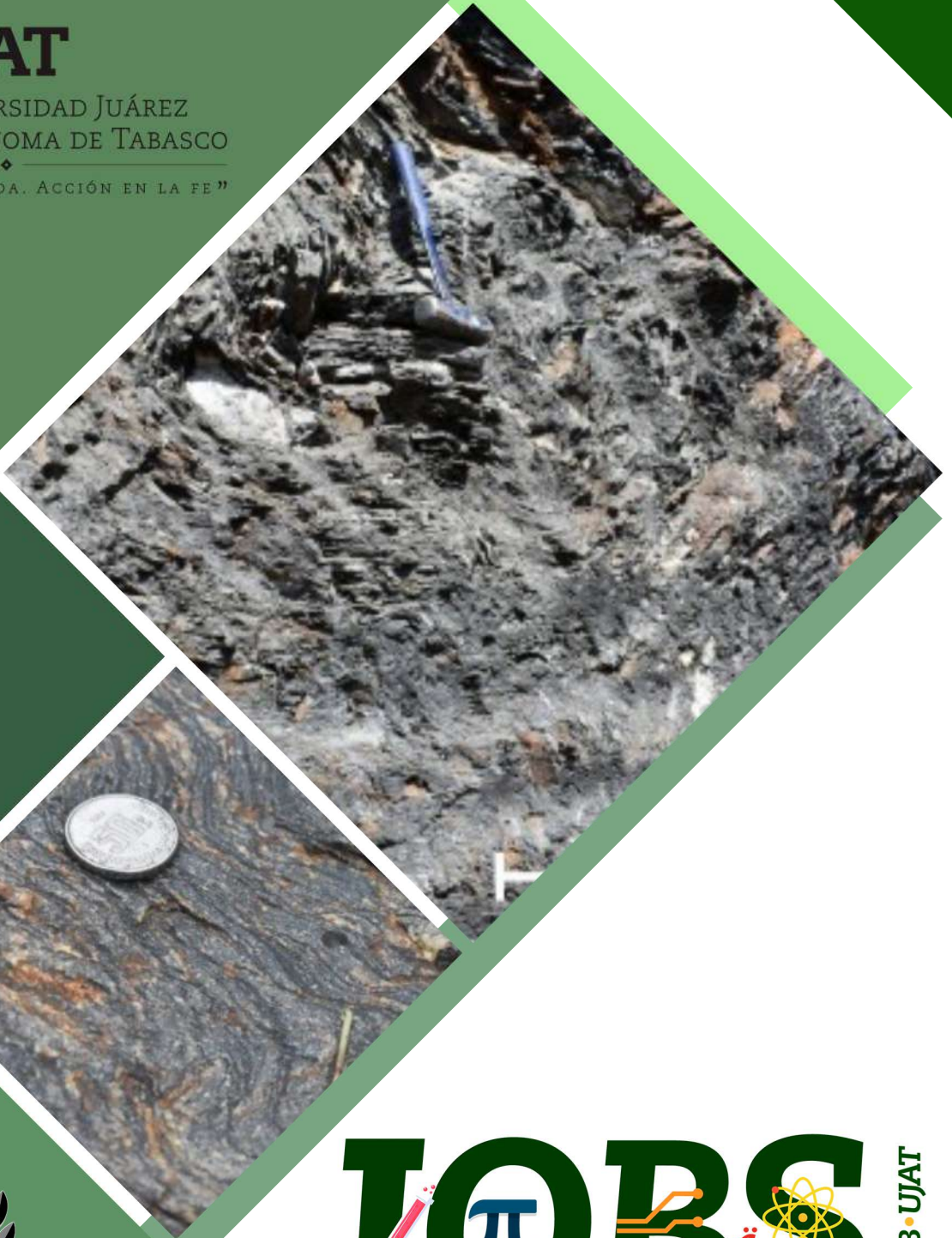




UJAT

UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

“ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE”



JOB π BS

DACB • UJAT

Journal of Basic Sciences

Volumen 10 • número 27 • enero-abril 2024

ISSN:2448-4997

<https://revistas.ujat.mx/index.php/jobs>

OPEN  ACCESS

La revista **Journal of Basic Sciences** (antes Revista de Ciencias Básicas UJAT) es una revista electrónica multidisciplinaria que es editada por la División Académica de Ciencias Básicas (DACB) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT) desde el 2002. Desde su nacimiento hasta el año 2014, se editaba semestralmente y de manera impresa, pero durante un proceso de reestructuración y relanzamiento, sufrió algunos cambios. A partir del 2015 cambió de título a su nombre actual, migró al modo solo electrónico y además pasó a ser editada cuatrimestralmente. La revista publica artículos con resultados de investigaciones científicas originales en los campos de la Física, Química, Matemáticas, Ciencias Computacionales y áreas afines. Sitio web: <http://revistas.ujat.mx/index.php/jobs>. Editor responsable: **Carlos Ernesto Lobato García**. Informes: jobs@ujat.mx. Es una revista de **Revista de acceso libre!**



Directorio Institucional

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco

- Lic. Guillermo Narváez Osorio. Rector
- Dr. Luis Manuel Hernández Govea. Secretario de Servicios Académicos
- Dr. Wilfrido Miguel Contreras Sánchez. Secretario de Investigación, Posgrado y Vinculación
- Dr. Pablo Marín Olán. Director de Difusión, Divulgación Científica y Tecnológica

Directorio Divisional

División Académica de Ciencias Básicas

- Dra. Hemicenda Pérez Vidal. Directora
- Dr. Luis Manuel Martínez González. Coordinador de Investigación
- M.C. Abel Cortazar May. Coordinador de Docencia
- Mtro. Santiago Antonio Méndez Pérez. Coordinador de Difusión Cultural y Extensión
- L.Q. Esmeralda León Ramos. Jefa de Investigación

Comité Editorial

- Dr. Carlos Ernesto Lobato García. Editor en Jefe
- Dr. Adib Abiu Silahua Pavón. Gestor Editorial
- Mtra. Claudia Gisela Vázquez Cruz. Editora Asociada. Actuaría
- Mtra. María Hortensia Almaguer Cantú. Editora Asociada. Ciencias de la Computación
- Dr. José Arnold González Garrido. Editor Asociado. Ciencias Farmacéuticas
- Dr. José Luis Benítez Benítez. Editor Asociado. Física
- Mtro. Guillermo Chávez Hernández. Editor Asociado. Geofísica
- Dra. Addy Margarita Bolívar Cimé. Editora Asociada. Matemáticas
- Dra. Nancy Romero Ceronio. Editora Asociada. Química
- Dr. Carlos Mario Morales Bautista (Editor Invitado)

Contenido

	Pag.
Análisis estructural y modelamiento molecular de los receptores de odorante Or4 de mosquitos <i>Aedes aegypti</i>	1-17
Regulación de la angiogénesis por antioxidantes en el cáncer de mama triple negativo	18-34
Principales alimentos funcionales con efecto hipoglucemiante en Diabetes mellitus	35-45
Bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre provenientes de diferentes rizosferas de mangles	46-57
Contaminación y deficiencia de la calidad por uso de suelos agrícolas: una revisión cualitativa	58-64
Síntesis de Ugi de tres componentes (U-3CR) en presencia de metales de transición. Obtención de N-bencil-2-fenil-2-(fenilamino)acetamida	65-74
Condiciones metamórficas del grafito en el Complejo Metamórfico Paleozoico Esquistos Granjeno	75-81
Determinación del parámetro Vs30 en el Municipio de Teapa, Tabasco	82-86
Problema de control para el modelo básico de la hepatitis C con tratamiento	87-105



Bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre provenientes de diferentes rizosferas de mangles

Fuentes Domínguez I¹., Ojeda-Morales M.E¹., Morales Bautista C.M^{2*}

¹Laboratorio de Biotecnología, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México, T, México, C.P. 86690 Km. 1 Carretera Cunduacán-Jalpa, Colonia La Esmeralda, Cunduacán.

²Laboratorio de Análisis de suelos e hidrocarburos. Universidad, Juárez Autónoma de Tabasco, México, C.P. 86690 Km. 1 Carretera Cunduacán-Jalpa, Colonia La Esmeralda, Cunduacán.

*carlos.morales@ujat.mx

Resumen

Los microorganismos desempeñan un rol importante en la degradación de petróleo en diversos ecosistemas contaminados; sin embargo, existen organismos resilientes con la capacidad de metabolizarlo. Por lo tanto, se investigan alternativas para remediar estos sitios a través de la biotecnología con el uso de microorganismos. El presente trabajo tuvo como objetivo obtener bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre capaces de degradar petróleo. Los microorganismos se obtuvieron a partir de las rizósferas de mangle: rojo (*Rhizophora mangle*), blanco (*Laguncularia racemosa*) y negro (*Avicennia germinans*), las cuales estaban libres de petróleo. De las tres rizósferas se obtuvieron 16 cepas bacterianas, las cuales se caracterizaron fenotípicamente, y posteriormente se sometieron a crecimiento en Agar *Bushnell Hass* y triple 17 con petróleo como única fuente de carbono, y determinar si eran petrofílicas. Los resultados demostraron tres especies de cepas bacterianas petrofílicas identificadas como: B₁MR, B₃MR perteneciente del mangle rojo y B₂MN mangle negro.

Palabras claves: bacteria, biorremediación, mangles, nitrógeno, petróleo, rizosfera

Abstract

Microorganisms play an important role in the degradation of oil on numerous kinds of contaminated ecosystems; however, there happens to exist some resilient organisms capable of metabolizing this substance. Therefore, some alternatives are currently being investigated in order to achieve remediation through biotechnology using these valuable microorganisms. The objective of this work is to obtain freeliving nitrogen-fixing bacteria that are capable of degrading oil. These microorganisms were all obtained from the following mangrove rhizospheres: red (*Rhizophora mangle*), white (*Laguncularia racemosa*) and black (*Avicennia germinans*), which were free of oil. From the three rhizospheres, 16 bacterial strains were obtained, which were phenotypically characterized, and subsequently subjected to growth on Bushnell Hass Agar and triple 17, counting oil as the sole carbon source, and to determine if these microorganisms were petrophilic. Results demonstrated three species of petrophilic bacterial strains identified as: B₁MR, B₃MR belonging to the red mangrove and B₂MN black mangrove.

Key words: bacteria, bioremediation, mangle, nitrogen, oil, rizosphere

Recibido: 01 de diciembre de 2023. Aceptado: 22 de diciembre de 2023. Publicado: 30 de abril de 2024.



1. Introducción

México posee grandes riquezas de recursos naturales no renovables principalmente la extracción de hidrocarburos, ocupando el segundo lugar como productor en Latinoamérica [1]. Dentro del mismo contexto, este recurso forma parte de la matriz energética a nivel mundial por su gran valor comercial e importancia dentro de la química, teniendo un gran impacto en el sector industrial y economía debido a la exploración, producción y extracción de este. Sin embargo, algunas de estas actividades generan contaminantes a los ecosistemas provocando problemas al medio ambiente, debido a la presencia de agentes xenobióticos, sustancia orgánicas e inorgánicas, y compuestos recalcitrantes [2].

Cabe resaltar que durante mucho tiempo se ha buscado vías alternas para contrarrestar estos efectos negativos, como es el uso de remediación a contaminantes mediante métodos convencionales, por ejemplo: solidificaciones, filtración, incineración, evaporación, oxidación avanzada, ósmosis inversa, precipitación química, tratamiento electroquímico entre otros. Sin embargo, los altos costos y los grandes volúmenes de reactivos son una limitante para estos métodos, ya que no se logran eliminar en su totalidad por ende se utiliza otros métodos para eliminarlo. Teniendo en cuenta esto, una excelente alternativa de solución es la biorremediación, la cual representa una tecnología emergente que aprovecha la capacidad metabólica de los microorganismos (levaduras, bacterias, hongos, microalgas), para degradar, biotransformar estos contaminantes. En primer lugar, la biorremediación permite acelerar los procesos biodegradables de forma natural, utilizando microorganismos nativos o exógenos, anaerobios, aerobios o facultativos, puede realizarse *ex situ* e *in situ* [3].

En esta investigación se propone el uso de microorganismos fijadores de nitrógeno de vida libre, estos son capaces de catalizar el triple enlace de nitrógeno y activarlo para que se combine con otros elementos químicos, se encuentran ampliamente distribuidas en ecosistemas naturales, poseen gran importancia en el equilibrio ecológico, tienen una actividad metabólica alta, con la cual pueden desencadenar reacciones que conllevan a la transformación del nitrógeno atmosférico molecular en nitrógeno mineral que es asimilable por las plantas, producen pigmentos y enzimas extracelulares con las que son capaces de degradar materia orgánica de origen vegetal o animal [4][5].

3. Metodología experimental

El desarrollo de la investigación se llevó en diferentes fases: ubicación, muestreo de las rizosferas, caracterización fisicoquímica del petróleo, obtención de microorganismos totales proveniente de las rizosferas, ensayos presuntivos y confirmatoria, y finalmente caracterización fenotípica.

Fase I. Muestreo

La zona de estudio se ubica en Úrsulo Galván perteneciente al municipio de Jalpa de Méndez, Tabasco. Se colectaron tres muestras de rizosferas de diferentes especies de mangles sin aparente contaminación por petróleo, para esto se tomaron cuatro submuestras por mangle, a una distancia de 1.5m en dirección a los puntos cardinales (figura 1), en cada uno de estos se debe continuar removiendo el suelo, hasta encontrar la raíz principal, a partir de esta, se busca raíces finas (aprox. 1mm o menores de diámetro) y se extraen un total de 30 cm por árbol, es decir se requiere de 7.5cm de raíz por submuestra y finalmente resguardar cada muestra en bolsas plásticas con cierre hermético con su de cadena en custodia y procesados dentro de las 24 h de su colecta [6].

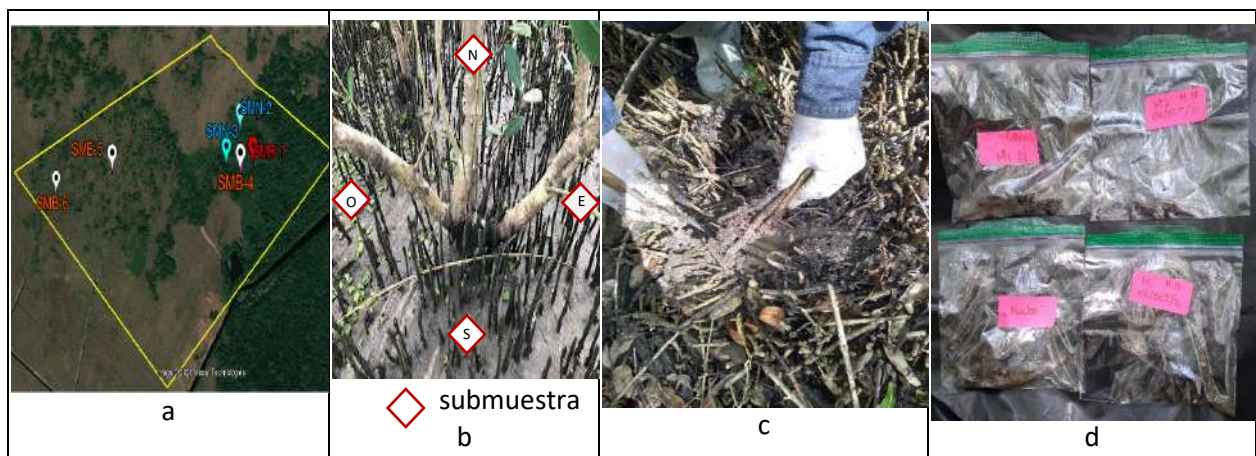


Figura 1. Ejido Úrsulo Galván: a) zona de muestreo, b y c) recolecta y d) resguardo de las rizosferas.

Fase II. Procesamiento de las muestras rizosferas a nivel laboratorio

El suelo excedente fue removido de las raíces de mangles: se cortaron, pesaron 10 g de raíz con suelo adherido, seguidamente se transfirió en un matraz Erlenmeyer de 250 mL con 90 mL de agua destilada estéril, así mismo se llevó a agitación y se dejó reposar por 30 min y finalmente se realizó la determinación de células viables por el método de conteo en placas usando diluciones seriadas, cabe mencionar que fue aplicado para cada una de las especies de mangles por triplicado [5].

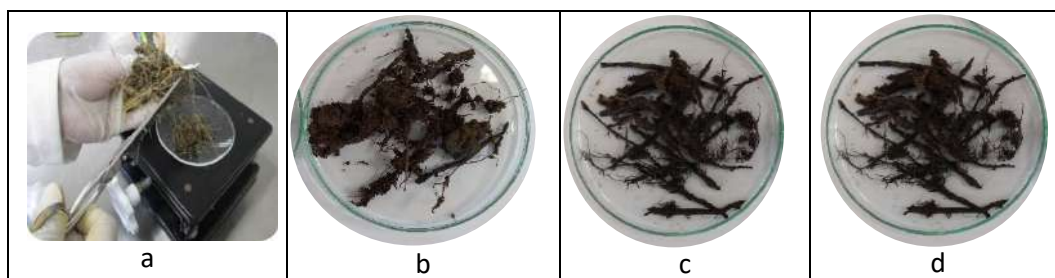


Figura 2. a) procesamiento de las rizosferas, b) mangle rojo, c) mangle blanco y d) mangle negro



Fase III. Obtención de las bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre: por método diluciones seriadas

En este método se utilizaron diluciones seriadas con base 10, consistió en preparar diluciones seriadas desde 10^{-1} a 10^{-6} tomando 1 mL de la solución madre (10 g de suelo rizosférico en 90 mL de agua destilada estéril) y se transfirió a 9 mL de agua destilada estéril (10^{-1}), repitiendo el proceso hasta alcanzar la dilución 10^{-6} [5]. El conteo de células viables se realizó colocando las cajas Petri estériles con su respectivo medio de cultivo semiselectivo Rojo Congo (ácido málico 5 g/L, K_2HPO_4 0.5 g/L, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 g/L, extracto de levadura 0.5 g/L, $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.015 g/L, KOH 4.8 g/L, NaCl 0.1 g/L, agar-agar 20 g/L y Rojo Congo 15 mL/L) para bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre, se agregó una alícuota de 0.1 mL desde 10^{-4} hasta 10^{-6} en el centro de la caja Petri y se extendió por la superficie usando un asa Drigalski y finalmente, las cajas Petri fueron invertidas e incubadas a $28^\circ C$ durante 3 a 5 d [5].

Fase IV. Caracterización morfológica a nivel colonia de bacterias fijadora de nitrógeno de vida libre

Expresadas las de Unidades Formadoras de Colonias (UFC), se caracterizó con base en: forma (puntiforme, circular), bordes (enteros, ondulados), consistencia (seca, viscosa, elevación: plana, elevadas y convexa) y el rubro más importante es el color, ya que estas colonias se tiñen de rojo oscuro o escarlata en comparación con otras bacterias no absorben el colorante rojo Congo [6][7] [8].

Fase VI. Aislamiento de cepas bacterianas por el método de extensión en placas

Una vez caracterizadas se procedió la preparación y esterilización del medio agar nutritivo (DIBICO®) donde se prepararon 250 mL del medio de cultivo, se precalentó a ebullición de 1 a 2 min. Después se esterilizó en autoclave por calor húmedo durante 15 min a 15 kg/cm^2 y $12^\circ C$. Una vez enfriado se vació en cajas de Petri estériles. Posteriormente, el aislamiento en las cajas; se seleccionaron de acuerdo con su morfología y sembraron por triplicado mediante la técnica de estría cruzada en el medio nutritivo, se incubaron bajo condiciones de $35 \pm 2^\circ C$ durante 24 h [4].

Fase VII: Identificación de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre degradadoras de petróleo en medio sólido

La obtención de cepas bacterianas degradadoras de petróleo por la técnica de estriado, se evaluaron las nueve cepas por triplicado. En condiciones axénicas, las cajas Petri estériles contenían el medio selectivo Bushnell Haas ($MgSO_4$ 0.2 g/L, $CaCl_2$ 0.02 g/L, KH_2PO_4 1 g/L, K_2HPO_4 1 g/L, NH_4NO_3 1 g/L, $FeCl_3$ 0.05 g/L, Agar-Agar 20 g/L) previamente esterilizado por base húmeda, se agregó 1mL de petróleo estéril como fuente de carbono, extendiéndose por toda la placa con la ayuda de un asa Drigalski. Finalmente fueron llevadas a inoculación $32^\circ C$ durante 7 d para obtener su crecimiento.



Figura 3. ensayo medio sólido: a) petróleo estéril, b) extensión del petróleo

Fase VIII. Identificación de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre bacterias degradadoras de petróleo en medio líquido

Las cepas bacterianas seleccionada de fase I, pasaron a la fase II. Consistió en utilizar un matraz Erlenmeyer de 250 mL con 100 mL de medio mineral líquido (triple 17) estéril, por triplicado. Seguidamente se agregó 10mL de inóculo de las bacterias en cada biorreactor experimental posteriormente se agregó un 1mL de petróleo estéril como única fuente de carbono. Los biorreactores fueron conectados a un sistema de venteo atmosférico impulsado por un compresor de 1.5 watts, acoplado con un filtro Vacushield TM microporo (0.45 μm), para evitar microorganismos externos. Para cada biorreactor experimental se utilizó un matraz Erlenmeyer de 250 mL y un tapón de goma con dos tubos de vidrio. Uno de los tubos sirvió como fuente de aireación impulsado por una bomba de aire, acoplado con un filtro, para evitar contaminación. El segundo tubo funcionó como salida de aire para liberar la presión. Cabe resaltar que las cepas identificadas (fase I), de igual forma, se estableció otro biorreactor libre de microorganismos como control. Las cepas bacterianas utilizadas para evaluar la mineralización del petróleo fueron las que mostraron una mejor expresión en el medio Bushnell Haas. Éstas fueron preservadas en cajas Petri con agar nutritivo a 28°C por 48 h. El experimento se mantuvo durante siete días en condiciones de temperatura ambiente [14].



Figura 4. Bacterias de vida libre en medio mineral



Fase IX. Caracterización fisico-química del petróleo

Se analizó petróleo crudo mediante tres métodos: °API, viscosidad y flash point. El método para medir °API se basó en la Norma ASTM D287 [16]. Para esto, se emplearon matraces aforados a hidrocarburos a diferentes temperaturas. Primero se registró el peso del matraz vacío, posteriormente se transfirió el petróleo hasta aforo y tomo lectura peso con la muestra y temperatura, esto se realizó continuamente hasta obtener 30 lecturas, se reporta densidad específica y temperatura. [15].

Además, se determinó **Viscosidad Saybolt** aplicando el procedimiento ASTM D88 [15]. Este se realizó en un equipo MASTESTS P.A TREVILOLO modelo:6087-01, a diferentes temperaturas en paralelo se registra el tiempo, en donde se compara la temperatura de la muestra con respecto al equipo y se hace pasar entre y otro. Este procedimiento se realiza hasta que el petróleo no tenga intermitencia al vaciarse al matraz Saybolt. Se reporta viscosidad cinemática aplicando la ecuación con base al tiempo y temperatura es decir: si $25 < t < 40$ al cumplir esta condición es $0.0024t - 0.60/t$ Finalmente, se determinó **Punto de inflamación (Flash Point)** con base en el método de copa abierta Cleveland [17]. Primero se estableció un sistema (temperatura-muestra-prueba de chispa, ver figura 3c). posteriormente, el petróleo se calentó ($25-80\text{ }^{\circ}\text{C}$, $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$) hasta alcanzar el punto de ignición, se registró temperatura.

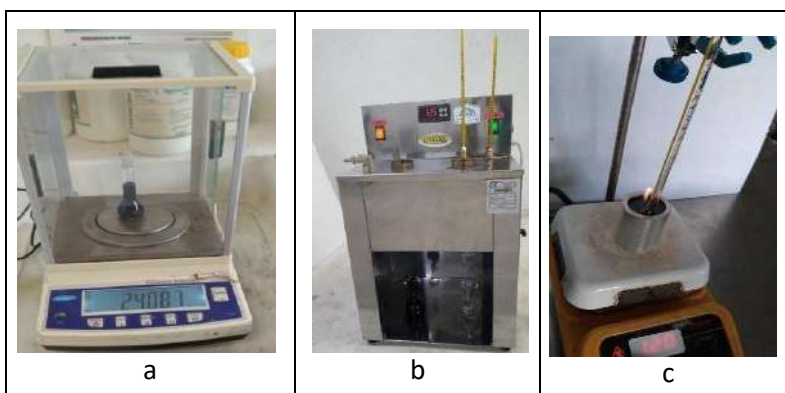


Figura 5. Caracterización fisicoquímica del petróleo: a) °API, c) viscosidad Saybolt y d) flash point

Fase X. Tinción de Gram

De un cultivo puro, se tomó la UFC más aislada, lo cual fue colocada en un portaobjeto para realizar el frotis posteriormente se llevó a la llama para ser fijada. Seguido de esto, se añadió una solución de cristal violeta 1 min, lavando con suficiente agua destilada. Luego se agregó una solución de Lugol por 1 min, y finalmente adición de una solución de safranina por 2 min, aplicando lavado con agua en cada solución colorante y después observadas en el microscopio con los objetivos 10X y 100x, añadiendo una gota de aceite de inmersión (figura 3).

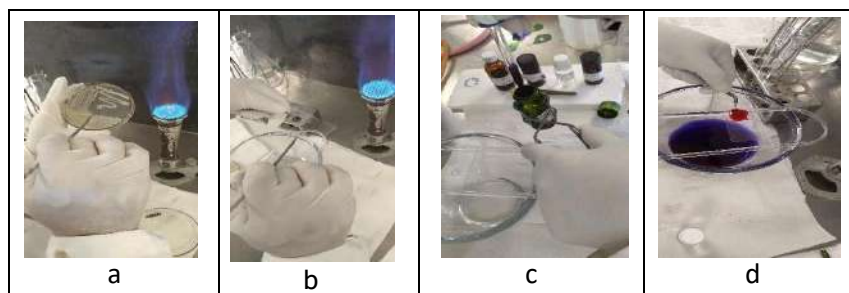


Figura 6. tinción gram: a) frotis, b) fijación frotis, c) aplicación de soluciones colorantes d) safranina

4. Resultados y discusiones

Obtención bacterias totales de especies de mangles por método diluciones seriadas

El crecimiento en el medio de cultivo Agar Rojo Congo, se observó 16 bacterias totales provenientes de las especies de mangles, las colonias macroscópicamente presentaron formas ondulada, circular, puntiforme con paredes gruesas, de color rojo, amarillo, crema entre otras. Cabe resaltar las bacterias de interés absorben el color rojo (B₂MR, B₄MR, B₆MR, B₇MR, B₈MR, B₂MN, B₂MB, B₃MB, B₄MB), además, concuerdan con [3, 16,17]. presenta la característica de que sus colonias planas y brillantes, poseen una forma circular; superficie: rugosa y brillante, de bordes, enteros, ondulados; consistencia: cremosa o viscosa y su color característico de este género (Tabla 1).

Número cepas	Nomenclatura	Forma	Borde	Textura	Elevación	Color
1	B ₁ MR	Puntiforme	Entero	Seca	Plana	Crema
2	B ₂ MR	Circular	Entero	Viscoso	Elevada	Rojo*
3	B ₃ MR	Circular	Entero	Viscoso	Elevada	Crema
4	B ₄ MR	Puntiforme	Entero	Seca	Plana	Rojo*
5	B ₅ MR	Circular	Entero	Viscoso	Plana	Naranja
6	B ₆ MR	Circular	Entero	Seca	Plana	Rojo*
7	B ₇ MR	Circular	Entero	Seca	Plana	Rojo*
8	B ₈ MR	Ondulada	Granular	Viscoso	Elevada	Rojo*
9	B ₉ MR	Circular	Entero	Viscoso	Plana	Amarillo
10	B ₁ MN	Puntiforme	Entero	Viscoso	convexa	Amarillo
11	B ₂ MN	Circular	Entero	Viscoso	Convexa	Rojo*
12	B ₃ MN	Circular	Entero	Viscoso	Convexa	Crema
13	B ₁ MB	Circular	Entero	Viscoso	Plana	Naranja
14	B ₂ MB	Lobulada	Granular	Viscoso	Plana	Rojo*
15	B ₃ MB	Circular	Entero	Viscoso	Elevada	Rojo*
16	B ₄ MB	Puntiforme	Entero	Seca	Plana	Rojo*

*cepas seleccionas cumplen con característica principal coloración rojo

Tabla 1. Caracterización macro de bacterias totales provenientes de las rizosferas de mangles.



Caracterización del petróleo crudo

El petróleo es la materia prima que se encuentra en la industria a nivel mundial y se clasifica con base en su densidad API (parámetro internacional del Instituto Americano del Petróleo), lo cual nos permite diferenciar las calidades del crudo. Con base en los resultados obtenidos (tabla 2,3), el petróleo caracterizado a nivel laboratorio está en la categoría mediano debido a la referencia.

Parámetros	Valor
° API	22.4 ± 0.26
Densidad (g*m ⁻³)	0.87
Flash point	81 ± 1°C
viscosidad SSF	0.943 a 90 °C

$$^{\circ}\text{API} = (141.5)/\text{peso específico} - 131.5 \text{ a } 60^{\circ}\text{F.}$$

Tabla 2. Caracterización del petróleo crudo

Aceite crudo	Mediano
Densidad (g*cm ⁻³)	0.92-0.87
Densidad de °API	22.3-31.1

Tabla 3. Clasificación del petróleo según el Instituto Americano del Petróleo [19]

Identificación de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre degradadoras de petróleo en medio sólido

Las nuevas bacterias seleccionadas a nivel macro, sólo ocho bacterias mostraron capacidades degradativas. En este sentido cabe destacar el medio Bushnell Hass cuenta con los nutrientes necesarios para el crecimiento, por ejemplo el magnesio (ayuda al crecimiento bacteriano debido a que forma parte de los cofactores enzimáticos), el NH₄NO₃ (como fuente de nitrógeno debido a que la cepa utiliza los nitratos como aceptor terminal de electrones para la respiración), el hierro (aumenta significativamente la producción de metabolitos), el K₂HPO₄ y el KH₂PO₄ (favorecen el óptimo crecimiento y producción de biotensioactivos). Cabe resaltar que este trabajo se continúa realizando, las faltas de estos componentes limitan el crecimiento y por consiguiente la producción de biotensioactivos [10][11].

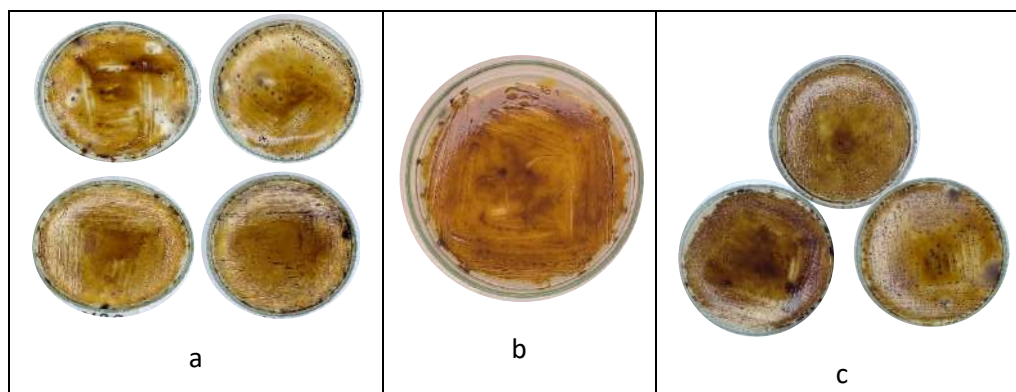


Figura 7. Bacterias degradadoras de petróleo a) mangle rojo, b) mangle negro, c) mangle blanco

Identificación de bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre bacterias degradadoras de petróleo en medio líquido

Los resultados se observaron, solo tres bacterias (B_2MR , B_3MR y B_2MN), degradadoras de petróleo las cuales solubilizaron el petróleo crudo, mientras que B_2MB no utilizó el petróleo como fuente de energía y su desarrollo poblacional (figura 8)..



Figura 8. Fase II mineralización del petróleo.

Las bacterias promotoras de crecimiento vegetal pueden convertir el nitrógeno en amonio y solubilizar el fósforo, esto permite que los nutrientes estén disponibles para su aprovechamiento [10]. microorganismo que se pueden encontrar en el ambiente que se ha logrado aislar de la rizosfera del manglar y de suelos no contaminados [19].

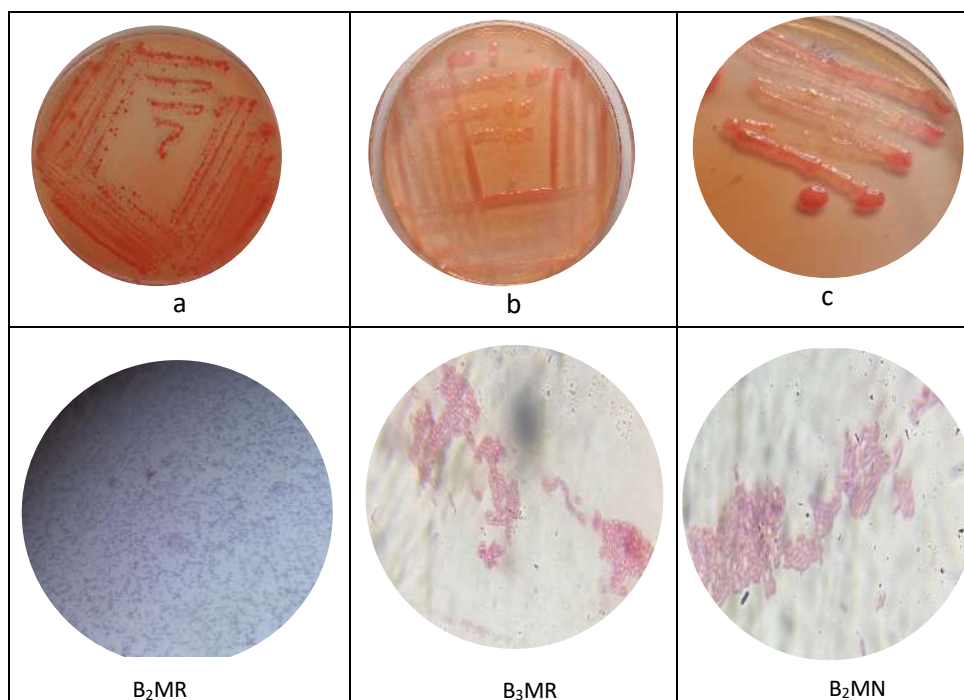


Figura 9. bacterias microbianas, a) mangle rojo (B_2MR), b) mangle rojo (B_3MR) y c) mangle negro (B_2MN)

Por otra parte, se puede observar de forma cualitativa que las cepas puras y aislada en el presente trabajo tiene capacidad de mineralizar petróleo en medio triple 17 y crecer en medio *Bushnell Hass*, por lo que podría ser de gran interés. El ensayo de mineralización de petróleo observado (figura 8).



Por otra parte, McMillen y cols. (2002), han demostrado que el punto final de la biorremediación es directamente proporcional al °API del petróleo, y los crudos con un valor de aproximadamente 30 °API y superiores son fácilmente biodegradables, mientras que los petróleos con valores de °API de 20 o menos son muy difíciles y lentos de biodegradar [19].

La morfología a nivel colonia de la bacteria denominada B₂MR es de forma granular, plana, de borde plano, de color rojo intenso y de acuerdo con su tinción gram, su tinción diferencial es Gram ⁽⁺⁾. Por otro lado, la bacteria B₃MR tuvo una morfología circular, de elevación convexa, borde entero, color rojo y presentó bacilos Gram ⁽⁻⁾ (figura 9). Y por último la bacteria B₂MR mostro una forma redonda, consistencia viscosa y la tinción diferencial una cepa bacteriana gram negativo.

5. Conclusiones

Después de haber estudiado las diferentes rizosferas de suelos libre de petróleo en estado de Tabasco en “Úrsulo Galván “se obtuvieron 16 cepas bacterianas totales, y pasando por ensayos presuntivos y confirmatorios, finalmente se obtiene dos cepas Gram negativas y una cepa Gram positivas y se continúan estudiando. Las poblaciones bacterianas tienen la capacidad de utilizar una enorme variedad de compuestos orgánicos como sustratos para crecer, capacidad que le permite colonizar nichos y ambientes inhóspitos en los que son escasos los nutrientes y que otros organismos no pueden asimilar. Las cepas aisladas fueron capaces de crecer sobre petróleo como única fuente de carbono y energía, y demostraron su crecimiento sobre petróleo al lograr llevar a cabo la mineralización de este, por tanto, estos podrían ser organismos potenciales para realizar futuros trabajos de biorremediación en el estado de Tabasco.

6. Agradecimientos

Agradecemos al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (Conahcyt) por la beca de la manutención para la realización de los estudios de posgrado, así como a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco por la infraestructura científica para el desarrollo de la investigación.

7. Referencias

- [1] Rojas, G, Reyes, E, "Desarrollo sostenible como principal impulsor del crecimiento económico." Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, 7, 2, 2023, pp. 9918-9928.
- [2] Botello, A, Vázquez, G, Ponce y Díaz, G, "Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP´ S) en áreas del Golfo de México", Hidrobiológica, 3,1. 1993, pp. 1-14.
- [3] Bou, G, "Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología" Enfermedades infecciosas y microbiología clínica, 29, 8, 2011, pp. 601-608.
- [4] Calva, GS, "Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno". Gran enciclopedia universal, Madrid, 2004.



- [5] Madigan, MT, Aiyer, J, Buckley, DH, Matthew, W, Stanhk, DA, "Brock biology of microorganism", Pearson Educación Superior, Universidad del Sur Illinois, 2021.
- [6] González-González, W, Ávila-Arias, C, Chinchilla-Mora, O, "Muestreo de suelo y rizosfera para la identificación de hongos micorrizicos arbusculares asociados naturalmente a la especie caoba", Revista trimestral sobre la actualidad ambiental, 278, 2021, pp. 30-35.
- [7] Rodríguez-Cáceres, E, "Improved Médium for Isolation of *Azospirillum spp*", Applied and Environmental, 44, 4, 1982, pp. 990-991.
- [8] Holt, JG, Krieg, NR, Sneath, PH, Williams, S, "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology ", Baltimore ed., Baltimore, USA, 1994.
- [9] Logan, NA, Berkeley, CW, "Identification of Bacillus Strains Using the API System", Journal of general microbiology", 130, 7, 1984, pp. 1871 -1882.
- [10] Robert, M, Mercadé, M, Bosch, M, Parra, J, Espuny, M, Manresa, A, "Effect of carbon source on biosurfactant production by *Pseudomonas aeruginosa* 44T12". Biotechnology Letters, 11, 12, 1989, pp. 871 -874.
- [11] Holmboe N, Kristensen, E, Andersen, F, "Anoxic decomposition in sediments from a tropical mangrove forest and the temperate Wadden sea: implications of N and P additions Estuary". Elsevier. 53, 2, 2001, pp. 125- 140.
- [12] Arenas-ruedas, F, Torres-López, M, "Guía laboratorio de fluidos". Facultad de ingenierías fisicoquímica de la Universidad Industrial de Santander Bucaramanga, Colombia, 2009.
- [13] Gobierno Mexicano "Norma Oficial Mexicana NOM-L-66-CT-1981: Productos derivados del petróleo- combustible diésel-determinación de la viscosidad Saybolt", Diario Oficial de la Federación, México, 1981.
- [14] Ordoñez, B, Didier, E, "Biodegradación de hidrocarburos alifáticos saturados por microorganismos aislados de suelo contaminado con derivados del petróleo", Revista de Ciencias, 22, 2, 2018, pp. 33-44.
- [15] American Standard for Testing and Materials, "Standard Test Mehod for Saybolt Viscosity for Saybolt Viscosity: ASTM D88-07", Reservar Stand ASTM, United States, 2013.
- [16] Domínguez-Domínguez, M, Martínez, P, Zavala-Cruz, J, Martínez, J, "Manejo forestal sustentable de los manglares de Tabasco", Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, México, 2011.
- [17] De la Cruz-Amador, EG, "Análisis de las propiedades de calidad de un crudo", Universidad Autónoma del Estado México, Toluca de Lerdo, México, 2016.
- [18] Okon, Y, "*Azospirillum*: physiological properties, mode of association with roots and its application for the benefit of cereal and forage grass crops", Israel Journal of Botany, 31, 2015, pp. 214-220.
- [19] Morales-Bautista, CM, Adams, RH, Guzmán-Osorio, F, Marín-García, D, "Dilution-extrapolation hydrometer method for easy determination of API gravity of heavily weathered hydrocarbons in petroleum contaminated soil", Energy and Environment Research, 3, 1, 2013, pp. 1-10.



[20] Hernández-Valencia I, Lárez, LM, García, JV, “Evaluación de la toxicidad de un suelo contaminado con diferentes tipos de crudos sobre la germinación de dos pastos tropicales”, *Bioagro*, 29, 2, 2017, pp. 1-10.

[21] Boshan, Y, Holguin, GR, Cerrato RF. “Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos I. *Azospirillum ssp*” *Terra*, 14, 1996, pp. 159-194.