

NOTA CIENTÍFICA

Presentado: 07/11/2019
Aceptado: 12/04/2020
Publicado online: 31/08/2020
Editor: Leonardo Romero

Autores

Adrián Javier Acuña¹
adrianjacuna@yahoo.com.ar
<https://orcid.org/0000-0002-0382-3681>

Luciana Cambarieri¹
luciana_cambarieri@yahoo.com.ar
<https://orcid.org/0000-0002-9161-0677>

Graciela Natalia Pucci*²
ceima@unpata.edu.ar
<https://orcid.org/0000-0002-0238-2394>

Institución y correspondencia

*Corresponding author

1 Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional Santa Cruz: Río Gallegos, Santa Cruz, Argentina.

2 Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Centro de Estudios e Investigación en Microbiología Aplicada (CEIMA), Facultad de Ciencias Naturales, Chubut, Argentina.

Citación

Acuña AJ, Cambarieri L, Pucci GN. 2020. Impacto sobre la biota microbiana del suelo por contaminantes provenientes de estaciones de servicio. *Revista peruana de biología* 27(3): 417- 422 (Agosto 2020). doi: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v27i3.17387>

Impacto sobre la biota microbiana del suelo por contaminantes provenientes de estaciones de servicio

Impact on soil microbial biota by pollutants from filling station

Resumen

La introducción de cualquier compuesto químico o el cambio de condiciones ambientales impacta en la comunidad bacteriana presente en un suelo. Este trabajo tuvo como objetivo observar los cambios en la comunidad bacteriana de un suelo al que se contaminó con hidrocarburos (gasoil, aceite y mezclas 1:1 gasoil-aceite y 1:1:1 nafta-gasoil-aceite). Se realizaron microcosmos cuya evolución fue estudiada por mineralización, recuento bacteriano, determinación de hidrocarburos totales del petróleo (TPH) y análisis de los principales componentes de la extracción de ácidos de las membranas bacterianas. Se presentaron disturbios en la composición de ácidos grasos de la comunidad bacteriana en todos los tratamientos. El agregado de nutrientes en el sistema de control produce un aumento del recuento bacteriano y el sistema que produjo mejor degradación fue el que contenía solo gasoil, la presencia de los hidrocarburos produjo, en el diagrama de PCA, un agrupamiento de las muestras con aceite y de las mezclas.

Abstract

Any chemical compound introduction in the soil, impact in bacterial community. This work aimed to observe the changes in the bacterial community of a soil that was contaminated with hydrocarbons (gasoline, diesel, oil and mixtures 1: 1 diesel-oil and 1: 1: 1 gasoline-diesel-oil). Microcosms were considered that were followed by mineralization, bacterial count, determination of TPH and acid extraction to monitor the bacterial community. There were disturbances in the composition of fatty acids of the bacterial community in all treatments. The addition of nutrients in the control system produces an increase in bacterial count and the system that best degraded was the system with diesel alone, the presence of hydrocarbons produced a grouping of samples with oil and mixtures in the PCA diagram.

Palabras claves:

contaminación; bacterias; hidrocarburos; ácidos grasos.

Keywords:

contamination; bacteria; hydrocarbons; fatty acids.

Introducción

Muchos estudios han demostrado que factores ambientales como el pH del suelo, la concentración de nutrientes, la textura del suelo y las condiciones climáticas, pueden afectar significativamente la distribución de las comunidades microbianas (Fierer & Jackson 2006, Pucci et al. 2012). Los microorganismos dentro de un nicho ecológico específico forman redes de interacción complejas (Faust & Raes 2012), la adaptación a las condiciones ambientales y presencia de contaminantes genera un cambio en comunidad bacteriana presente, que se puede evidenciar por diferentes métodos como los genéticos, modificación de los porcentajes de los ácidos grasos de las membranas (Dauner et al. 2017, Helfrich et al. 2015, Klamer & Baath 1998, Pucci 2004a, 2004b, Zaady et al. 2010).

La contaminación por hidrocarburos puede remediarse por procesos de biodegradación siendo la remediación microbiana una opción efectiva para la limpieza del ambiente debido a su bajo costo y por ser considerada una tecnología verde (Liebeg & Cutright 1999). Los suelos son un enorme reservorio para la diversidad microbiana, existiendo muchos microorganismos adaptados a ambientes dañinos, que son naturalmente abundantes y capaces de degradar contaminantes orgánicos xenobióticos como los hidrocarburos (Ventorino et al. 2018, Acuña et al. 2008), reportándose gran número de genes funcionales que contribuyen a la degradación de las fracciones de alcano en suelos contaminados con petróleo (Fierer & Jackson 2006). Por lo tanto, las bacterias juegan un rol predominante en la degradación de hidrocarburos, ya que, en comparación con otros grupos de microorganismos, estos microorganismos presentan un rápido desarrollo (Kumar et al. 2017). Por ello es importante determinar las estructuras las comunidades microbianas en suelos contaminados con hidrocarburos, ya que podría proporcionar pistas valiosas para la restauración del ecosistema y la gestión ambiental.

El análisis de ácidos grasos como los metil ésteres (FAMES) constituye una herramienta rápida, económica, sensible y reproducible para evaluar la estructura bacteriana presente en el suelo (Frostegård et al. 2011, García-Orenes et al. 2013), y que ha sido usada para evaluar el desempeño de los microorganismos durante la biorremediación de compuestos xenobióticos como los hidrocarburos (Pucci et al. 2012). Los patrones de los ácidos grasos revelan información sólida sobre las estructuras de la comunidad microbiana, el estado fisiológico, nutricional y la biomasa viable de la población microbiana en el suelo (Frostegård et al. 2011). El análisis de ácidos grasos ha sido utilizado ampliamente para determinar las diferencias en la estructura de la comunidad microbiana en el suelo con respecto a diversos factores ambientales, la disponibilidad de agua del suelo (Ruamps et al. 2011), los patrones espaciales de sedimentos (Fischer et al. 2010) y covariación espacial en suelos contaminados (Torneman et al. 2008, Pucci et al. 2012, Mair et al. 2013), contaminados con hidrocarburos poliaromáticos (HAP) (Pratt et al. 2012), estimulados con nutrientes (Margesin et al. 2007).

Este trabajo tuvo como principal objetivo ver el impacto de la contaminación de destilados de petróleo sobre la comunidad bacteriana en un ensayo de microcosmos sobre suelo proveniente de Rio Gallegos provincia de Santa Cruz, analizando los hidrocarburos totales del petróleo (TPH) y análisis de los principales componentes de la extracción de ácidos de las membranas bacterianas de la comunidad bacteriana presente en el suelo durante 100 días.

Material y métodos

Ensayo.- Se realizaron microcosmos en frascos de color caramelo con 600 g de suelo, a los cuales se le adicionó el hidrocarburos a examinar en un concentración de 3% gasoil, aceite y las mezclas 1:1 gasoil y aceite (GO/Ace); 1:1:1 gasoil, nafta y aceite (GO/Ace/Naf)) a estos sistemas se los siguió por mineralización, medición de CO₂ según Bartha (1979), también se extrajo suelo al inicio (0), 21, 41, 63, 80 y 100 días para las determinaciones de ácidos grasos, hidrocarburos totales del petróleo (THP) y recuento de bacterias.

Análisis de hidrocarburos totales del petróleo (TPH) utilizando la norma TNRCC 1005.- Diez gramos de suelo fueron colocados en un vial de 20 mL, y se le agregó 10 mL de pentano. Utilizando un agitador horizontal, los viales fueron agitados por una hora a 120 oscilaciones/min. Los extractos se dejaron decantar toda la noche para finalmente separar la fase orgánica. La identificación y cuantificación realizó utilizando un cromatógrafo de gases (Agilent 7890B), con un detector tipo FID alimentado por hidrógeno y aire cromatográfico. El puerto de inyección fue Split/splitless y la inyección de las muestras se realizó con jeringa de 10 µL con una torre de inyección automática. La columna utilizada fue HP-5 de marca Agilent de 30 m x 0.32 mm x 0.25 µm con gas nitrógeno como *carrier* a un flujo de 3mL/min. Las condiciones de corrida que se utilizaron fueron: volumen de muestra inyectado fue de 1 µL en modo splitless con un flujo de inyección de 20 mL/min con una temperatura del inyector de 285 °C. El programa del horno comenzó a 30 °C por 3 minutos, seguido de una rampa de 15 °C/min hasta alcanzar los 300 °C de temperatura que luego se mantuvo 5 minutos. Luego se utilizó una rampa de 15 °C/min hasta alcanzar los 325 °C, temperatura que se mantuvo hasta alcanzar los 30 minutos de corrida total. El detector FID se mantuvo a una temperatura de 325 °C, con un flujo de hidrógeno de 30 mL/min y de aire cromatográfico de 400 mL/min. La cuantificación se llevó a cabo utilizando los estándares propuestos por las normas EPA 8015 y TNRCC 1005.

Análisis microbiológico de la muestra de suelo.- Se realizó una suspensión de 1 g de suelo en 9 mL de solución fisiológica. Se homogeneizó durante 30 minutos en agitador orbital a 150 rpm. A partir de allí, se realizaron diluciones decimales. Los recuentos bacterianos se determinaron por diseminación en superficie incubándose 20 días a 28 °C. Se utilizó el medio R2A (g/L: extracto de levadura 0.5, peptona proteasa 0.5, casamino ácido 0.5, glucosa 0.5, almidón 0.5, piruvato de sodio 0.3, K₂HPO₄ 0.3, MgSO₄·7H₂O 0.05, agar 15, agua destilada 1000 mL)

para microorganismos aerobios totales. El medio mineral MM-PGO (g /L: NaCl 5, K₂PO₄ 0,5, NH₄PO₄ 0,5, (NH₄)₂SO₄ 1, Mg SO₄ 0,2, KNO₃ 3, FeSO₄ 0,05, SL 10 B (HCl (25 %) 7.7 mL, FeSO₄·7H₂O 1,5; ZnCl₂ 0,07, MnCl₂·4H₂O 0,1; H₃BO₃ 0,3, CoCl₂·6H₂O 0,19, CuCl₂·2H₂O 0,002, NiCl₂·6H₂O 0,024, Na₂MoO₄·2H₂O 0,036, agua destilada 1.000 mL) 10 mL, agar-agar 15 g, agua destilada 1.000 mL suplementado con 0.1 % de una mezcla de petróleo y gasoil 1:1) se utilizó para determinar el número de microorganismos degradadores de hidrocarburos.

Extracción de los ácidos grasos de la comunidad microbiológica.- La extracción de ácidos grasos se realizó una vez por semana por duplicado utilizando el Método de Ritchie et al. (2000). De cada sistema se extrae 10 g de suelo y se coloca en frascos de 100 mL enjuagados previamente con metanol. Se agrega 50 mL de KOH metilado (0.2 M), se coloca en baño de 37 °C durante una hora agitando cada 10 minutos luego se adiciona 10 mL de ácido acético para neutralizar el pH y posteriormente se filtra. Al sobrenadante obtenido luego de la filtración se le coloca 3 mL de n-hexano, se mezcla y se separa la fase de arriba. Luego se coloca 3 mL de n-hexano, mezclar y separar nuevamente la fase de arriba. Las fases separadas se las coloca en viales y se deja evaporar en atmósfera de nitrógeno.

Determinación de ácidos grasos.- Los ácidos grasos fueron determinados como metil ésteres por cromatografía gaseosa mediante la utilización de una columna capilar (HP5ms) de silicagel fundida de 30 m por 0.25 mm por 0.25 µm. Los análisis se llevaron a cabo con un cromatógrafo de gases Agilent 7890A (inyección splitless; presión inicial 10 psi; programa de temperatura: 170 – 288 °C a 28 °C min⁻¹, 288 – 310 °C a 60 °C min⁻¹, 1.5 min de permanencia a 310 °C) con detector por espectrometría de masas Agilent 5975C con una temperatura de la fuente de iones y la línea de transferencia de 230 °C y 180 °C respectivamente y una energía de impacto de 70 eV. La identificación de los ácidos grasos como metil ésteres se realizó con los estándares propuestos por el sistema MIDI y la biblioteca NIST 08. La composición de los ácidos grasos fue calculada como porcentaje del área de pico.

Resultados

Los nutrientes agregados a los microcosmos provocaron disturbio (Fig. 1). Los recuentos bacterianos realizados en R2A y BDH aumentaron entre el inicio a los 21 – 41 días y luego tuvo un leve descenso (Tabla 1). La

adición de los destilados del petróleo generó mayor dispersión lo cual puede asociarse a la toxicidad propia de cada uno. Las bacterias aerobias totales y degradadoras de hidrocarburos fueron más frecuentes en el sistema con gasoil (Tabla 1), seguido de las mezclas de destilados de petróleo en los sistemas GO/Ace y GO/Ace/Naf, que presentaron un buen número en el crecimiento bacteriano durante el desarrollo de la experiencia, sin embargo no fue el mismo caso para el aceite, que presentó los valores más bajos.

Los microcosmos con aceite presentaron los valores más bajos en los recuentos de bacterias degradadoras de hidrocarburos, a diferencia de los demás sistemas. De los resultados expuestos se puede estimar que la presencia de un contaminante produce un disturbio en el suelo que conduce a un cambio en la estructura de la comunidad bacteriana del mismo. Es importante remarcar que el solo hecho de mover el suelo o incorporarle nutrientes, también implica modificaciones en la comunidad bacteriana (Fig. 1), pero que se manifiestan de manera diferente a las producidas por el contaminante que posee toxicidad.

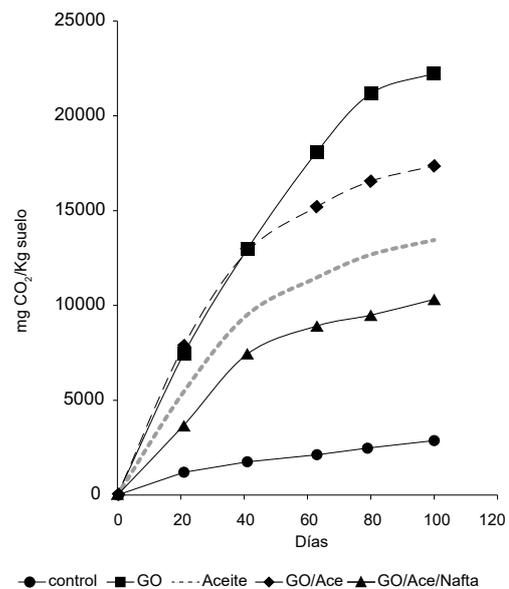


Figura 1. Biodegradación de hidrocarburos en el suelo contaminado por la biota microbiana. Se observa la mineralización en los microcosmos, medición de CO₂ (Dibble & Bartha 1979). (GO) gasoil, Aceite y las mezclas gasoil y aceite (GO/Ace); gasoil, nafta y aceite (GO/Ace/Nafta).

Tabla 1: Recuentos de las bacterias aerobias totales (BAT), y bacterias degradadoras de hidrocarburos (BDH).

Día	Control		Gas oil		Aceite		GO/aceite		GO/Aceite/Nafta	
	BAT	BDH	BAT	BDH	BAT	BDH	BAT	BDH	BAT	BDH
0	5.30x10 ⁵	8.90 x10 ³								
21	3.50 x10 ⁷	1.24 x10 ⁷	1.28 x10 ¹¹	6.40 x10 ¹⁰	6.70 x10 ⁷	5.50 x10 ⁷	2.82 x10 ⁸	2.34 x10 ⁸	3.32 x10 ⁸	2.69 x10 ⁸
41	2.91 x10 ⁷	2.46 x10 ⁶	3.53 x10 ¹¹	1.34 x10 ¹⁰	5.10 x10 ⁷	1.12 x10 ⁷	1.01 x10 ⁹	2.28 x10 ⁸	1.28 x10 ⁹	2.10 x10 ⁸
63	8.00 x10 ⁶	3.20 x10 ⁶	4.50 x10 ¹⁰	1.15 x10 ¹⁰	3.30 x10 ⁷	4.80 x10 ⁶	6.20 x10 ⁸	2.50 x10 ⁸	2.30 x10 ⁷	3.67 x10 ⁷
80	7.80 x10 ⁶	4.10 x10 ⁶	7.00 x10 ⁹	1.10 x10 ⁹	2.19 x10 ⁷	6.20 x10 ⁶	1.17 x10 ⁸	1.85 x10 ⁸	1.20 x10 ⁷	7.70 x10 ⁶
100	6.5 x10 ⁵	2.10 x10 ⁶	4.26 x10 ⁷	5.80 x10 ⁸	3.12 x10 ⁶	3.50 x10 ⁶	3.84 x10 ⁶	7.58 x10 ⁶	9.59 x10 ⁵	4.25 x10 ⁶

El Análisis de Componentes Principales (PCA, Fig. 2) de los ácidos grasos extraídos del suelo y provenientes de la comunidad bacteriana muestra que la adición de nutrientes e hidrocarburos produjo modificaciones y una diferenciación de la comunidad inicial. Se formaron tres grupos bien definidos, uno el de las muestras control bajo el impacto del agregado de nutrientes y humedad al suelo que aumenta el número de bacterias presentes, otro grupo formado por el microcosmos de gasoil y un tercer grupo formado por los microcosmos de aceite y de las mezclas, todos alejados de los valores iniciales.

Con respecto al sistema contaminado con gasoil, su aplicación en el suelo provocó algunas modificaciones en la estructura de la comunidad microbiana en relación con la comunidad original, que conlleva a distanciarla de la misma. En la Figura 1, durante los días 21, 41 y 63 se observa que la comunidad bacteriana exhibe diferencias pero a partir del día 100 estas son notables.

Discusión

Las comunidades microbianas pueden responder rápidamente a los cambios ambientales causados por la contaminación del petróleo crudo, y la toxicidad de estos es un importante factor a tener en cuenta. Los contaminantes pueden provocar un aumento (Kaplan & Kitts 2004) o una disminución (Vinas et al. 2005, Bordenave et al. 2007) en la diversidad microbiana dependiendo de su toxicidad y cantidad que probablemente sean causadas por la presión selectiva de los contaminantes de TPH. La presión de selección sobre los microorganismos puede ocurrir por el efecto tóxico de los TPH y los productos de biodegradación (Bordenave et al. 2007, Stroud et al. 2007), y limitaciones del aceptor de electrones debido a la mineralización de TPH (Zhou & Crawford 1995) y las interacciones químicas entre el contaminante y la es-

tructura del suelo. Debe tenerse en cuenta que la exposición previa de las comunidades microbianas induce una selección fisiológica y la adaptación de las poblaciones microbianas capaces de catabolizar.

La adición de nutrientes modifica la comunidad bacteriana, ya que permite el más rápido desarrollo de los organismos que no necesitan fijar nitrógeno para crecer, y que en ausencia de este están inhibidos en el desarrollo, por ello es de esperarse que abundantes nutrientes facilitaran el crecimiento de algunos microorganismos, esto explica el aumento de recuentos en el microcosmos de control, solo con nutrientes y humedad. Por el contrario, el agotamiento de nutrientes con lleva a un estado de estrés bacteriano, donde las bacterias con capacidad fijar nitrógeno ganan predominancia, aunque son de un desarrollo más lento (Zytner et al. 2006). Nuestro resultado en el impacto del aceite coincide con lo observado por Liang et al. (2011 y 2015), que los contaminantes del aceite ejercían un impacto significativo en el pH del suelo, TPH y Cd, y como consecuencia cambiaban las comunidades funcionales microbianas.

Observamos una relación directa entre de adición de gasoil, la densidad poblacional de bacterias heterotróficas en el suelo contaminado con gasoil que recibe la aplicación de inoculantes coincidiendo con lo encontrado por Leal et al. (2017). Esta relación fue consistente con la mayor degradación de los hidrocarburos del gasoil (medida fijación de CO₂) en el suelo comparados con los otros microcosmos. La nafta que estaba juntos con el aceite y gasoil, presentaron un valor menor de CO₂, la comunidad microbiana probablemente se adaptado, o fue seleccionada o inhibida por la presencia de los hidrocarburos más livianos y tóxicos presentes en la nafta (Hollen-der et al. 2003).

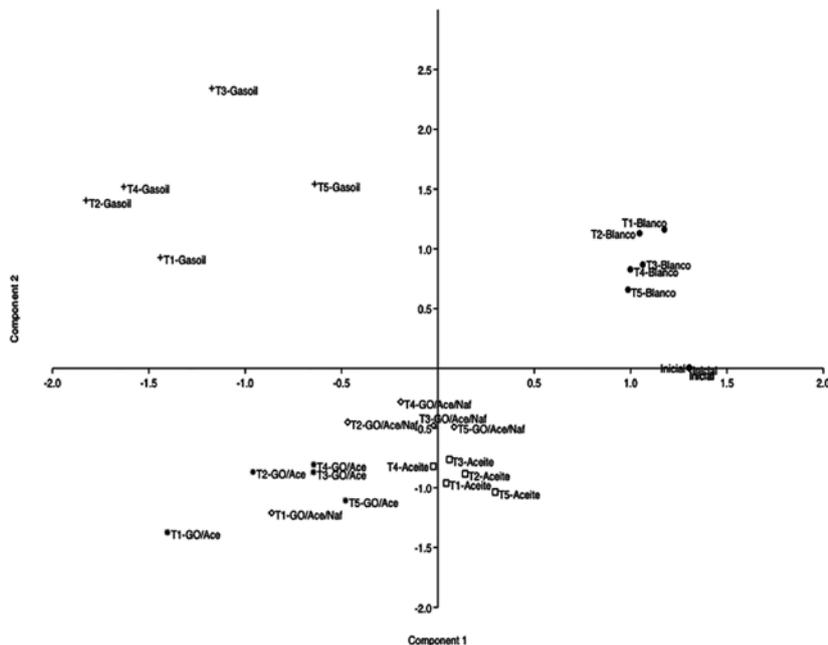


Figura 2: Análisis de PCA de los ácidos grasos, a control, b nafta, c gasoil, d aceite, e GO/Ace, f Go/Ace/Naf. Los puntos son los días.

El hecho de que todas las muestras inoculadas presenta este cambio simultáneamente, a pesar de tener diferentes acumulaciones de CO₂, puede indicar la pérdida de hidrocarburos por volatilización, debida a que cada vez que se abren los tubos para la medición de CO₂ hay un intercambio gaseoso por aire nuevo, el que podría haber causado la pérdida de muchos hidrocarburos por evaporación, lo que explica la diferencia en los valores de CO₂.

Los cambios en el perfil de ácidos grasos del suelo inoculado indican que los microorganismos presentes en los microcosmos podrían desarrollar en el suelo contaminado con los hidrocarburos examinados (Fig. 1 y Tabla 1) (Zhang et al. 2012). La dispersión observada en el PCA puede ser debida a que las poblaciones son dinámicas y la adición de nutrientes e hidrocarburos pudo haber reducido algunas poblaciones, posiblemente como resultado de la competencia con otras poblaciones microbianas de adaptación más rápida a los cambios ambientales.

El análisis de ácidos grasos dilucidó la comunidad microbiana del suelo, los cambios y el cambio dinámico de la estructura de la comunidad microbiana y el mecanismo de biodegradación asociado. Los resultados brindan una guía valiosa para comprender las comunidades bacterianas y otras prácticas de biorremediación mejoradas con el agregado de nutrientes.

Literatura citada

- Acuña AJ, Pucci OH, Pucci GN. 2008. Caracterización de un proceso de biorremediación de hidrocarburos en deficiencia de nitrógeno en un suelo de la Patagonia Argentina. *Revista Ecosistema* 17(2):85-93. <https://www.revistaecosistemas.net/index.php/ecosistemas/article/view/474>
- Bartha R. 1979. Effect of environmental parameters on the biodegradation of oil sludge. *Applied and Environmental Microbiology*. 37(4):729-239.
- Bordenave S, Goñi-Urriza MS, Caumette P, Duran R. 2007. Effects of heavy fuel oil on the bacterial community structure of a pristine microbial mat. *Applied and Environmental Microbiology*. 73(19):6089-6097. <https://doi.org/10.1128/AEM.01352-07>.
- Dauner ALL, MacCormack WP, Hernández EA, Martins CC. 2017. Sources and distribution of biomarkers in surficial sediments from a polar marine ecosystem (Potter Cove, King George Island, Antarctica). *Polar Biology*. 40(10):2015-2025. <https://doi.org/10.1007/s00300-017-2120-5>.
- Faust K, Raes J. 2012. Microbial interactions: from networks to models. *Nature Reviews Microbiology*. 10(8):538-550. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2832>.
- Fierer N, Jackson RB. 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 103(3):626-631. <https://doi.org/10.1073/pnas.0507535103>.
- Fischer J, Schauer F, Heipieper HJ. 2010. The trans/cis ratio of unsaturated fatty acids is not applicable as biomarker for environmental stress in case of long-term contaminated habitats *Applied Microbiology and Biotechnology*. 87:365-371. <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2544-0>.
- Frostegård A, Tunlid A, Bååth E. 2011. Use and misuse of PLFA measurements in soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 43(8):1621-1625. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.11.021>.
- García-Orenes F, Morugán-Coronado A, Zornoza R, Scow K. 2013. Changes in soil microbial community structure influenced by agricultural management practices in a mediterranean agro-ecosystem. *Plos One*. 8(11):e80522. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080522>.
- Helfrich M, Ludwig B, Thoms C, Gleixner G, Flessa H. 2015. The role of soil fungi and bacteria in plant litter decomposition and macroaggregate formation determined using phospholipid fatty acids. *Applied Soil Ecology*. 96:261-264. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.08.023>.
- Hollender J, Althoff K, Mundt M, Dott W. 2003. Assessing the microbial activity of soil samples, its nutrient limitation and toxic effects of contaminants using a simple respiration test. *Chemosphere*. 53(3):269-275. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(03\)00556-3](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(03)00556-3).
- Kaplan CW, Kitts CL. 2004. Bacterial succession in a petroleum land treatment unit. *Applied and Environmental Microbiology*. 70(3):1777-1786. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.3.1777-1786.2004>.
- Klamer M, Baath E. 1998. Microbial community dynamics during composting of straw material studied using phospholipid fatty acid analysis. *FEMS Microbiology Ecology*. 27(1):9-20. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6941.1998.tb00521.x>.
- Kumar M, Prasad R, Goyal P, Teotia P, Tuteja N, Varma A, Kumar V. 2017. Environmental Biodegradation of Xenobiotics: Role of Potential Microflora. *Xenobiotics in the Soil Environment*. 49:319-334. https://doi.org/10.1007/978-3-319-47744-2_21.
- Leal AJ, Rodrigues EM, Leal PL, Júlio ADL, Fernandes RDCR, Borges AC, Tótola, MR. 2017. Changes in the microbial community during bioremediation of gasoline-contaminated soil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 48(2):342-351. [dx. https://doi.org/10.1016/bj.2016.10.018](https://doi.org/10.1016/bj.2016.10.018).
- Liang Y, Van Nostrand JD, Deng Y, He Z, Wu L, Zhang X, Li G, Zhou J. 2011. Functional gene diversity of soil microbial communities from five oil-contaminated fields in China. *The ISME Journal*. 5(3):403-413. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.142>.
- Liang Y, Zhang X, Zhou J, Li G. 2015. Long-term oil contamination increases deterministic assembly processes in soil microbes. *Ecological Application*. 25(5):1235-1243. <https://doi.org/10.1890/14-1672.1>.
- Liebeg EW, Cutright TJ. 1999. The investigation of enhanced bioremediation through the addition of macro and micro nutrients in a PAH contaminated soil. *International Biodeterioration & Biodegradation* 44(1):55-64. [https://doi.org/10.1016/S0964-8305\(99\)00060-8](https://doi.org/10.1016/S0964-8305(99)00060-8).
- Mair J, Schinner F, Margesin R. 2013. A feasibility study on the bioremediation of hydrocarbon-contaminated soil from an Alpine former military site: effects of temperature and biostimulation. *Cold Regions Science and Technology*. 96:122-128. <https://doi.org/10.1016/j.coldregions.2013.07.006>.
- Margesin R, Hämmerle M, Tscherko D. 2007. Microbial activity and community composition during bioremediation of diesel-oil-contaminated soil: effects of hydrocarbon concentration, fertilizers, and incubation time. *Microbial Ecology*. 53(2):259-269. <https://doi.org/10.1007/s00248-006-9136-7>.

- Pratt B, Riesen R, Johnston CG. 2012. Ácidos grasos analyses of microbial communities associated with PAH-contaminated riverbank sediment. *Microbial Ecology*. 64(3):680-691. <https://doi.org/10.1007/s00248-012-0060-8>.
- Pucci GN, Härtig C, Pucci OH. 2004. Influencia de la concentración salina y la temperatura en la composición de ácidos grasos de membrana de *Pseudomona fluorescens* GNP-OHP-3. *Revista Argentina de Microbiología*. 36:6-15.
- Pucci GN, Pucci OH. 2004. Variación de la composición de ácidos grasos de membrana celular de *Rhodococcus rhodochrous* gnp-38r en respuesta a la temperatura y salinidad. *Revista Argentina de Microbiología*. 36:57-62.
- Pucci GN, Acuña AJ, Nohra NY, Pucci OH. 2012. Cambios en las comunidades bacterianas de suelo luego de una contaminación con hexadecano. *Revista Peruana de Biología*, 19(1):111-112. <https://doi.org/10.15381/rpb.v19i1.797>
- Ritchie NJ, Schutter ME, Dick RP, Myrold DD. 2000. Use of length heterogeneity PCR and fatty acid methyl ester profiles to characterize microbial communities in soil. *Applied and Environmental Microbiology*. 66(4):1668-1675. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.4.1668-1675.2000>.
- Ruamps LS, Nunan N, Chenu C. 2011. Microbial biogeography at the soil pore scale. *Soil Biology and Biochemistry*. 43:280-286. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.10.010>.
- Stroud J, Paton G, Semple KT. 2007. Microbe-aliphatic hydrocarbon interactions in soil: implications for biodegradation and bioremediation. *Journal of Applied Microbiology*. 102:1239-1253. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03401.x>.
- Torneman N, Yang X, Baath E, Bengtsson G. 2008. Spatial co-variation of microbial community composition and polycyclic aromatic hydrocarbon concentration in a creosote-polluted soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*. 27(5):1039-1046. <https://doi.org/10.1897/07-440.1>.
- Ventorino V, Pascale A, Adamo P, Rocco C, Fiorentino N, Mori M, Fagnano M. 2018. Comparative assessment of autochthonous bacterial and fungal communities and microbial biomarkers of polluted agricultural soils of the Terra dei Fuochi. *Scientific reports*, 8(1):14281. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-32688-5>.
- Vinas M, Sabaté J, Espuny MJ, Solanas AM. 2005. Bacterial community dynamics and polycyclic aromatic hydrocarbon degradation during bioremediation of heavily creosote-contaminated soil. *Applied and Environmental Microbiology*. 71(11):7008-7018. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.7008-7018.2005>.
- Zaady E, Ben-David EA, Sher Y, Tzirkin R, Nejdat A. 2010. Inferring biological soil crust successional stage using combined acids oil, DGGE, physical and biophysiological analyses. *Soil Biology and Biochemistry*. 42:842-849. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2010.02.002>.
- Zhang DC, Mortelmaier C, Margesin R. 2012. Characterization of the bacterial archaeal diversity in hydrocarbon-contaminated soil. *Science of the Total Environment*. 421-422:184-196. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.01.043>.
- Zhou E, Crawford RL. 1995. Effects of oxygen, nitrogen, and temperature on gasolina biodegradation in soil. *Biodegradation*. 6(2):127-140. <https://doi.org/10.1007/BF00695343>.
- Zytner R, Salb A, Stiver W. 2006. Bioremediation of diesel fuel contaminated soil: comparison of individual compounds to complex mixtures. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*. 15(3):277-297. <https://doi.org/10.1080/15320380600646332>.

Agradecimientos / Acknowledgments:

A la Facultad Regional Santa Cruz de la Universidad Tecnológica Nacional de Río Gallegos, Santa Cruz, Argentina, y a la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco de Comodoro Rivadavia, Chubut, Argentina por permitir llevar a cabo esta investigación.

Conflicto de intereses / Competing interests:

Los autores no incurren en conflictos de intereses.

Rol de los autores / Authors Roles:

AJA: Conceptualización, Investigación, Redacción: revisión y edición. LC: Metodología Investigación. GNP: Análisis formal, Curación de datos, Escritura- Preparación del borrador original, Redacción: revisión y edición.

Fuentes de financiamiento / Funding:

Financiado por la Universidad Tecnológica Nacional por intermedio del Proyecto de Investigación PID INN3942 y el Centro de Estudios e Investigaciones en Microbiología Aplicada (CEIMA) de la Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco.

Aspectos éticos / legales; Ethics / legals:

Los autores declaran no haber incurrido en aspectos antiéticos.