

**Aislamiento y caracterización de la comunidad bacteriana cultivable en el río
Almendares**

Isolation and characterization of cultivable bacterial community in Almendares river

Jeny Larrea, Marcia Rojas, Mayra Heydrich, Daysi Lugo

Departamento de Microbiología y Virología, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 25 No. 455 entre J e I Vedado. Ciudad de la Habana. Cuba. Teléfono: 8329241, Fax: 8321321, E-mail: adina@fbio.uh.cu, marcia@fbio.uh.cu, mayra@fbio.uh.cu, daysi@fbio.uh.cu

Aislamiento y caracterización de la comunidad bacteriana cultivable en el río Almendares

RESUMEN

La comunidad microbiana en los ecosistemas acuáticos juega un importante papel en la biodegradación de contaminantes y contribuye a la natural autopurificación. La ecología microbiana en áreas tropicales ha sido estudiada, pero el conocimiento actual es limitado. En el presente trabajo se estudiaron tres estaciones de muestreo del río Almendares (Río Cristal, Paila y Puente de Hierro), ecosistema altamente contaminado de la capital del país, con los objetivos de caracterizar la comunidad bacteriana acuática cultivable en estas estaciones de muestreo, comparar la frecuencia de aislamiento de los géneros identificados en las diferentes estaciones de muestreo y analizar la variabilidad temporal de la comunidad bacteriana. Para el aislamiento, diluciones seriadas de las muestras de agua fueron sembradas en Agar Nutriente a 30°C por 72h. Las colonias representativas de diferente morfología fueron aisladas y purificadas en Agar Nutriente. Se obtuvieron en total 41 aislados que se identificaron mediante pruebas bioquímicas como pertenecientes a los géneros *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Alcaligenes* y *Pseudomonas*, así como la familia Enterobacteriaceae; siendo los más frecuentes *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus* y *Alcaligenes*. En la estación de muestreo Paila se obtuvieron diferencias significativas entre las frecuencias de aislamientos de los géneros identificados, lo cual se atribuye a la gran contaminación presente en esta estación. Se obtuvieron diferencias significativas entre la frecuencia de aislamiento del género *Acinetobacter* en la estación Río Cristal y los géneros *Bacillus* y *Arthrobacter* en la estación Paila entre los meses de Abril y Octubre. La estación Paila fue la más contaminada de las estaciones analizadas.

Palabras clave: comunidad bacteriana, Río Almendares, agua

ABSTRACT

The microbial community in aquatic ecosystems plays an important role in the biodegradation of pollutants from human activity and contributes to the natural self-purification. Microbial ecology in tropical areas has been studied, but current knowledge is limited. In this paper we studied three sampling stations in Almendares River (Río Cristal, Paila and Puente de Hierro), a highly polluted ecosystem from Havana City, with the aims of characterizing the aquatic cultivable bacterial community in three sampling stations of Almendares river, compare the frequency of isolation of the genera identified in the different sampling stations and analyze the temporal variability of the bacterial community in those stations. For the isolation, serial dilutions of water sample were plated in Nutrient Agar and incubated at 30°C for 72h. The representative colonies from different morphology were isolated and purified in Nutrient Agar. The statistical analyses were carried out by Tukey test. We obtained a total of 41 isolates, and they were identified by biochemical tests as belonging to *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Alcaligenes*, *Pseudomonas* and Enterobacteriaceae, and the most frequent were *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus* and *Alcaligenes*. At the sampling station Paila were significant differences between the frequencies of isolates of the genera identified, which is attributed to the high pollution in this station. There were significant differences between the frequency of isolation of the genus *Acinetobacter* in Río Cristal station and the genera *Bacillus* and *Arthrobacter* at Paila station between the months of April and October. The station Paila was the most polluted of the stations analyzed.

Keywords: Bacterial community, Almendares River, water

INTRODUCCIÓN

Los ríos son la mayor fuente de agua potable, la cual es utilizada con diferentes fines, como el consumo, la industria y la agricultura; por lo que es necesaria su conservación. La comunidad microbiana juega un importante papel en la biodegradación de contaminantes derivados de la actividad humana y contribuye a la autopurificación natural. La ecología microbiana en áreas tropicales ha sido estudiada, pero el conocimiento actual aún es limitado¹.

Globalmente, existe un incremento en el interés de monitorear y restaurar los ecosistemas de agua dulce, con el objetivo de mejorar su valor ecológico, recreacional, cultural, educacional y económico². Un monitoreo exitoso requiere de la habilidad de describir cambios ecológicos significativos utilizando indicadores cuantitativos^{2,3}. Frecuentemente, una serie de parámetros se toman en consideración para determinar la calidad de un ecosistema acuático, los que incluyen las concentraciones de oxígeno disuelto, nitrógeno, fósforo, la turbidez, la conductividad, el pH, entre otros. Sin embargo, las comunidades bacterianas son indicadores que responden rápidamente a los cambios ambientales como consecuencia de su rápido ciclo de vida^{4,5} y pueden ser utilizadas para monitorear la variabilidad espacial y temporal presente naturalmente en sistemas de agua dulce; así como cambios persistentes en los ecosistemas debido a la contaminación derivada de la actividad humana o al cambio climático global⁵.

La mayoría de las bacterias encontradas en los ambientes acuáticos son de origen telúrico y son llevadas al agua debido a los procesos de arrastre y drenaje del suelo^{6,7}. Sin embargo, toda masa de agua tiene su comunidad bacteriana, aunque estas pueden variar grandemente en grupos presentes y en el número de células^{6,8}.

Entre las bacterias más encontradas en los ecosistemas acuáticos se encuentran las especies de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Citrobacter*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Proteus*, *Vibrio* y *Alcaligenes*^{6,9}.

Actualmente en Cuba existe un marcado interés por el rescate y la preservación de los ecosistemas acuáticos para el mejoramiento de la calidad ambiental. Por esta razón, se han realizado numerosos estudios en el río Almendares^{10,11,12} para evaluar la calidad de sus aguas y tomar medidas que permitan proteger la salud de la población que habita en sus márgenes, así como la de los visitantes que realizan actividades en sus áreas aledañas.

Sin embargo, no se ha estudiado lo suficiente la comunidad bacteriana de este ecosistema, lo que permitiría tener una idea del impacto que ha sufrido el río Almendares como consecuencia de la contaminación derivada de la actividad humana.

Teniendo en cuenta estos aspectos, los objetivos de este trabajo son:

Objetivos

- Aislar la comunidad bacteriana acuática cultivable en tres estaciones de muestreo del río Almendares.
- Comparar la frecuencia de aislamiento de los géneros identificados en las diferentes estaciones de muestreo.
- Analizar la variabilidad temporal de la comunidad bacteriana en las diferentes estaciones de muestreo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ecosistema fluvial muestreado

Los muestreos se efectuaron en los meses de Abril (época poco lluviosa) y Octubre (época lluviosa) del 2009 en el río Almendares. Estos meses fueron seleccionados para establecer comparaciones entre ellos en cuanto a la influencia de las lluvias en la variación de la comunidad bacteriana cultivable.

Toma de muestra

Las muestras se colectaron a partir de tres estaciones de muestreo previamente establecidas ¹⁰. En la Tabla 1 se relacionan las estaciones de muestreo evaluadas en este estudio, así como la localización de las mismas. Las colectas se realizaron en horas de la mañana y se trasladaron al laboratorio en frascos plásticos estériles de 2L que se colocaron en una nevera refrigerada. Las mismas se procesaron en un período de tiempo menor a las 4 horas.

Tabla 1. Estaciones de muestreo río Almendares

ESTACIONES DE MUESTREO	DESCRIPCIÓN	LATITUD	LONGITUD
A	Río Cristal	23°01'59.99"	82°24'03.77"
P	Paila	23°03'23.94"	82°24'09.75"
I	Puente de Hierro	23°07'36.55"	82°24'40.22"

Aislamiento e identificación de los aislados

Para el aislamiento a partir de las muestras de aguas, se realizaron diluciones seriadas desde 10^{-1} hasta 10^{-6} en solución salina (0.8%) y se sembraron por diseminación con espátula de Drigalski en Agar Nutriente las diluciones 10^{-5} y 10^{-6} en el caso de las estaciones Paila y Puente de Hierro y 10^{-3} y 10^{-4} en el caso de la estación Río Cristal. En todos los casos se sembraron 0.1 mL de las diluciones y se realizaron 3 repeticiones por dilución en cada estación de muestreo. Las placas fueron incubadas por 48-72 h a 30°C.

Después de la incubación, las colonias representativas de diferente morfología presente en cada placa fueron aisladas y resembradas en nuevas placas de Agar Nutriente hasta su purificación.

Los cultivos puros de cada bacteria aislada fueron sometidos a pruebas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas y la identificación taxonómica de cada aislado fue determinada por el Manual de Bergey ¹³.

Análisis estadísticos

Para verificar la distribución normal y la homogeneidad de varianza de los datos, se realizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov y la prueba de Cochran-Bartlett respectivamente, y se les aplicó la prueba de comparación múltiple de proporciones para analizar si existían diferencias significativas entre las frecuencias de aislamientos de los géneros identificados en las distintas estaciones de muestreo. Lo mismo fue realizado para analizar si existían diferencias significativas entre los miembros de las comunidades bacterianas cultivables identificadas entre los meses de Abril y Octubre, lo cual se realizó utilizando el paquete estadístico Tonystat ¹⁴.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comparación entre la frecuencia de aislamiento de los géneros identificados en las diferentes estaciones de muestreo.

En la Figura 1 se muestra la comparación entre la frecuencia de aislamiento de los géneros bacterianos obtenidos en las tres estaciones del río Almendares. Como se puede apreciar no se encontraron diferencias significativas entre la frecuencia de aislamiento de los géneros identificados en las estaciones Río Cristal y Puente de Hierro. Sin embargo, se encontraron diferencias altamente significativas ($p < 0.001$) entre la frecuencia de aislamientos de los géneros identificados en la estación Paila, siendo el género *Arthrobacter* el más aislado.

La estación Paila, constituye un afluente del río Almendares, el cual presenta serios problemas de contaminación, donde se han detectado concentraciones de coliformes fecales (indicadores bacterianos de contaminación fecal) de 1.4×10^6 UFC/100mL ¹⁰. En este afluente se vierten directamente los residuales y las aguas albañales procedentes del

Laboratorio Farmacéutico Reynaldo Gutiérrez, lo que contribuye a la contaminación de este ecosistema, aportando bacterias de origen fecal a esta agua como los coliformes, miembros de la Familia Enterobacteriaceae, aislados en esta estación de muestreo. El afluente Paila se caracteriza por presentar aguas oscuras y fétidas (Figura 2) donde se han encontrado altas concentraciones de amonio, lo que corrobora la presencia de contaminación fecal ¹⁵. Normalmente se produce la oxidación de amonio a nitrito y de nitrito a nitrato sin acumulación de nitrito. En ambientes marinos estos pasos pueden ser llevados a cabo por *Nitrosomonas* y *Nitrosococcus* (oxidación del amonio) y *Nitrobacter*, *Nitrospira*, *Nitrospina* y *Nitrococcus* (oxidación del nitrito) ^{15, 16}.

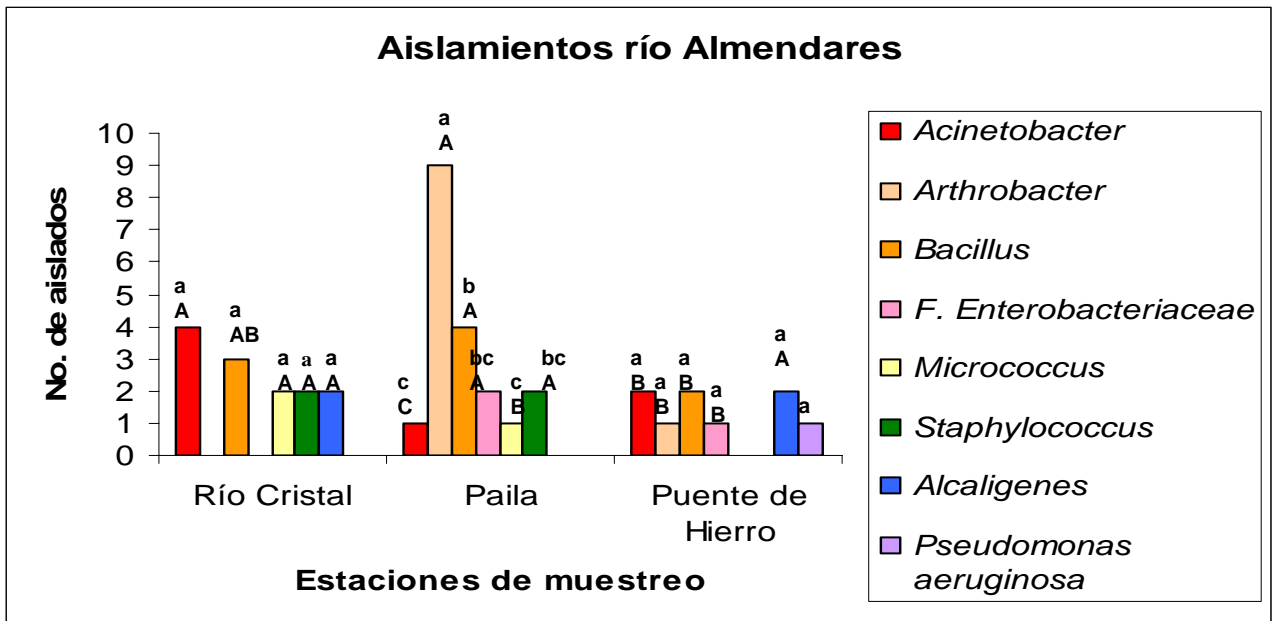


Figura 1. Comparación entre la frecuencia de aislamiento de los géneros bacterianos obtenidos en las estaciones del río Almendares. Letras minúsculas no comunes indican diferencias significativas para la prueba Tukey ($p < 0.001$) entre la frecuencia de aislamientos en una misma estación de muestreo. Letras mayúsculas no comunes indican diferencias significativas para la prueba Tukey ($p < 0.01$) entre la frecuencia de aislamientos de las distintas estaciones de muestreo.

En ausencia de oxígeno, el nitrato puede actuar como aceptor de electrones, y ocurre la reducción desasimilativa, ya que algunas bacterias anaerobias facultativas como *Alcaligenes*, *Escherichia*, *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Nocardia*, *Spirillum*, *Staphylococcus* y *Vibrio*, pueden también reducir nitrato a nitrito bajo condiciones de anaerobiosis, algunas de las cuales fueron aisladas en la estación de muestreo Paila. Algunas especies pueden reducir el nitrito a amonio produciéndose la amonificación del nitrato. La reducción desasimilativa, a diferencia de la asimilativa, no se inhibe por altas concentraciones de amonio ^{15,16}. Por lo que el hecho de ser aislados los géneros *Bacillus* y *Staphylococcus*, así como la familia Enterobacteriaceae corrobora las condiciones anoxigénicas del Paila producto de la alta contaminación.

En esta estación de muestreo, los géneros *Arthrobacter* y *Bacillus* y la Familia Enterobacteriaceae fueron aislados con mayor frecuencia comparado con la frecuencia de aislamiento de los mismos en la estación Puente de Hierro, encontrándose diferencias muy significativas ($p < 0.01$). Algunas especies del género *Arthrobacter* tienen la capacidad de crecer en ausencia de oxígeno provocando la reducción del nitrato a amonio ¹⁷. Lo mismo sucede con el género *Bacillus* y los miembros de la Familia Enterobacteriaceae, estos últimos pueden encontrarse en esta agua producto al vertimiento de aguas albañales procedentes del Laboratorio Reynaldo Gutiérrez ¹⁰, como se observa en la Figura 2.

Por otra parte el género *Acinetobacter* fue más aislado en la estación Río Cristal comparado con las otras estaciones, este género puede encontrarse en agua dulce, aguas residuales y suelos. Además, este género puede ser aislado con gran frecuencia en ecosistemas acuáticos eutroficados ¹⁸ como es el caso de la estación de muestreo Río Cristal, la cual presenta abundante crecimiento de plantas acuáticas (Figura 3).

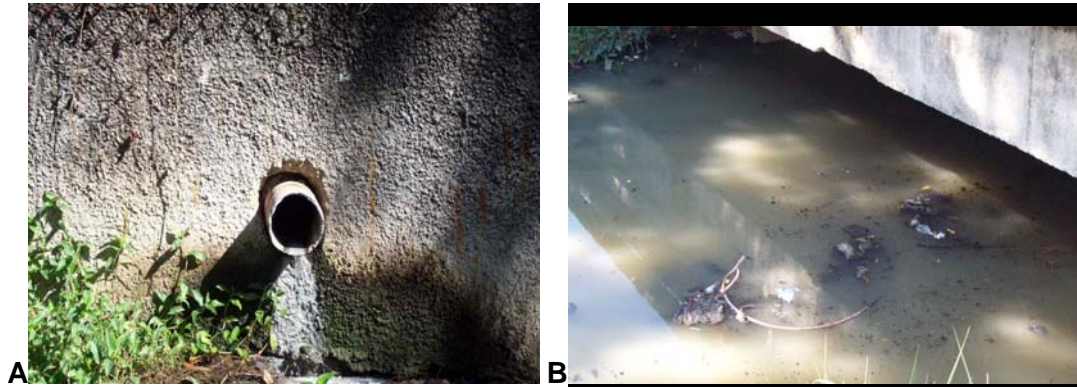


Figura 2. Estación de muestreo Paila. Desagüe procedente del Laboratorio Farmacéutico “Reynaldo Gutiérrez”(A) y aguas del Paila (B).

En sentido general los géneros más aislados en el río Almendares fueron *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus* y *Alcaligenes*, (Figura 4), lo cual está en correspondencia con lo planteado por Edwards *et al.* (2001), quienes aislaron fundamentalmente los géneros *Bacillus* y *Acinetobacter* en un lago eutroficado en Reino Unido. Por otra parte, los géneros *Arthrobacter*, *Staphylococcus* y *Alcaligenes* pueden ser aislados en ambientes acuáticos donde existen altas concentraciones de amonio ¹⁷, situación que se presenta fundamentalmente en la estación Paila



Figura 3. Estación de Río Cristal en el mes de Octubre

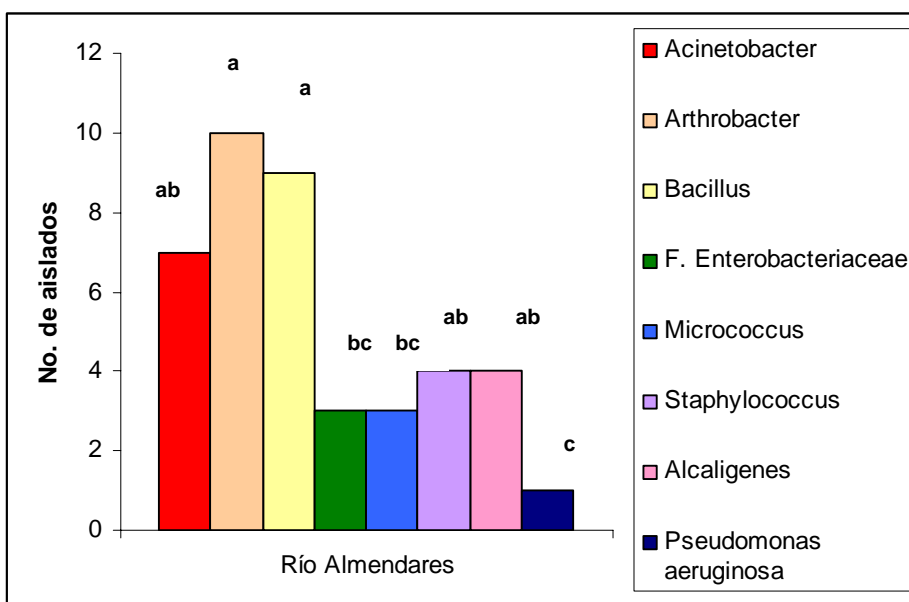


Figura 4. Comparación entre la frecuencia de aislamiento de los géneros bacterianos obtenidos en el río Almendares. Letras no comunes indican diferencias significativas para la prueba Tukey ($p < 0.05$).

Análisis de la variabilidad temporal de las comunidades bacterianas en las diferentes estaciones de muestreo.

En la Figura 5 se observa la comparación entre la frecuencia de aislamiento de los géneros bacterianos obtenidos entre los meses de Abril y Octubre en la estación Río Cristal. En esta estación en el mes de Octubre se observó poco caudal del río, el agua estaba muy oscura y había gran presencia de plantas acuáticas, evidenciándose la eutroficación de las aguas de Río Cristal (Figura 3) a diferencia del mes de Abril en el que había gran corriente de agua, la cual estaba transparente y se evidenció la presencia de peces.

Por otra parte tres días antes de la colecta de Octubre hubo abundantes precipitaciones con arrastre de suelo y plantas, lo que pudo haber influido en los cambios en la comunidad bacteriana cultivable encontrada en esta estación de muestreo. Los géneros encontrados durante el mes de Octubre se aíslan con frecuencia de las aguas ^{6,9}, los mismos pueden llegar a las aguas procedentes del suelo, a través de los procesos de arrastre y drenaje del mismo que se producen después de las precipitaciones ⁷.

Como se puede apreciar en la Figura 5 sólo se encontraron diferencias muy significativas ($p < 0.01$) en la frecuencia de aislamiento del género *Acinetobacter*, el cual fue el único aislado durante el mes de Abril. Este género se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y puede ser aislado del agua, el suelo, los organismos vivos e incluso de la piel de los humanos. Algunas cepas de este género están involucradas en la biodegradación de un número de diferentes contaminantes como el bifenilo y bifenilos clorados, aminoácidos (analina), fenol, benzoato, petróleo crudo, acetonitrilo, y en la eliminación de fosfato o metales pesados. Las cepas de *Acinetobacter* también pueden ser utilizadas para la producción de un número considerable de productos económicos extra e intracelulares como son las lipasas, proteasas, cianoficina, bioemulsificantes y numerosos polímeros ¹⁹. Considerando estos aspectos se presentan como buenos candidatos para la biorremediación de los ambientes acuáticos contaminados como el río Almendares.

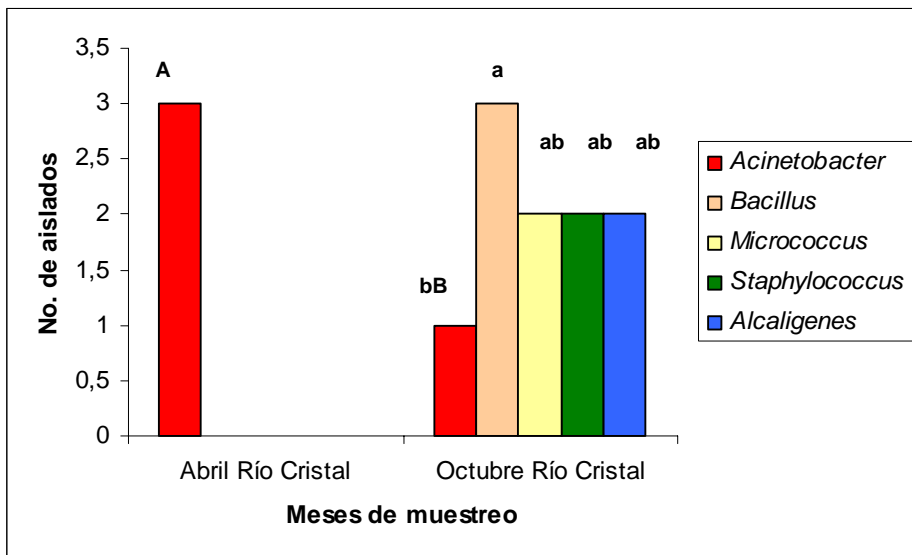


Figura 5. Comparación entre la frecuencia de aislamiento de los géneros bacterianos obtenidos entre los meses de Abril y Octubre en la estación Río Cristal. Letras minúsculas no comunes indican diferencias significativas para la prueba Tukey ($p < 0.01$). Letras mayúsculas no comunes indican la existencia de diferencias significativas para la prueba Tukey ($p < 0.05$) entre las frecuencias de aislamientos de los dos meses muestreados.

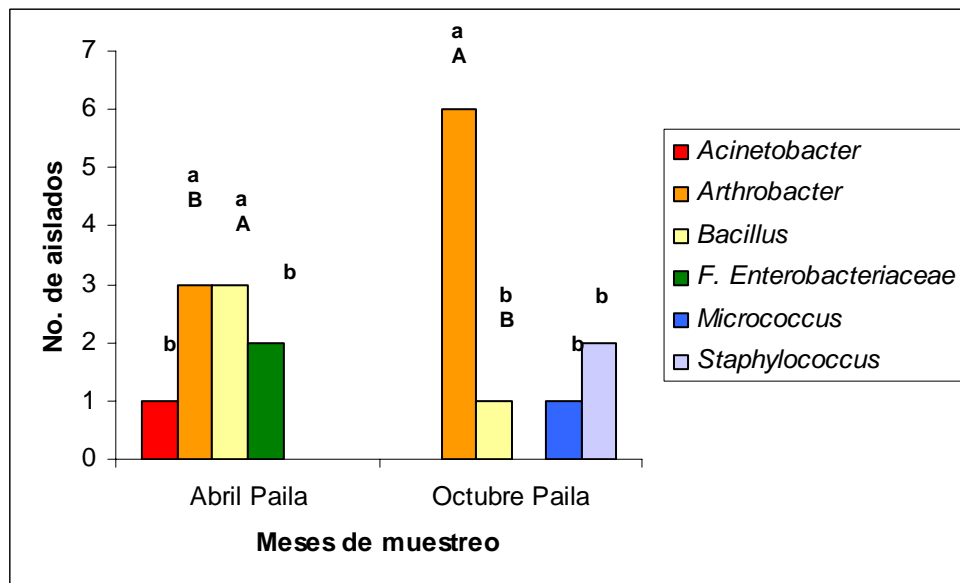


Figura 6. Comparación entre la frecuencia de aislamiento de los géneros bacterianos obtenidos entre los meses de Abril y Octubre en la estación de Paila. Letras minúsculas no comunes indican la existencia de diferencias significativas para la prueba Tukey ($p < 0.05$) entre las frecuencias de aislamientos dentro de un mismo mes. Letras mayúsculas no comunes indican la existencia de diferencias significativas para la prueba Tukey ($p < 0.05$) entre las frecuencias de aislamientos de los dos meses muestreados.

En el caso de la estación Paila (Figura 6) se observaron diferencias significativas en las frecuencias de aislamientos de los géneros obtenidos en los meses de Abril y Octubre. En el mes de Abril los géneros más aislados fueron *Arthrobacter* y *Bacillus*, mientras que en el mes

de Octubre el género más aislado fue *Arthrobacter*, además al compararse la comunidad bacteriana cultivable entre los meses muestreados, se encontraron diferencias significativas entre la frecuencia de aislamiento de los géneros *Bacillus* (más aislado en Abril) y *Arthrobacter* (más aislado en Octubre). El género *Arthrobacter* puede encontrarse fundamentalmente en el suelo donde representa una fracción importante de la comunidad bacteriana ¹⁷, por lo que el hecho de que este género se haya encontrado con mayor frecuencia durante el mes de Octubre puede deberse a los procesos de arrastre y drenaje del suelo que ocurrieron producto a las abundantes precipitaciones previas al muestreo. Los géneros aislados en esta estación de muestreo pueden adaptarse perfectamente a las condiciones adversas que se presentan en el Paila ya que tienen la capacidad de provocar la amonificación del nitrato en ausencia de oxígeno ^{15,16}.

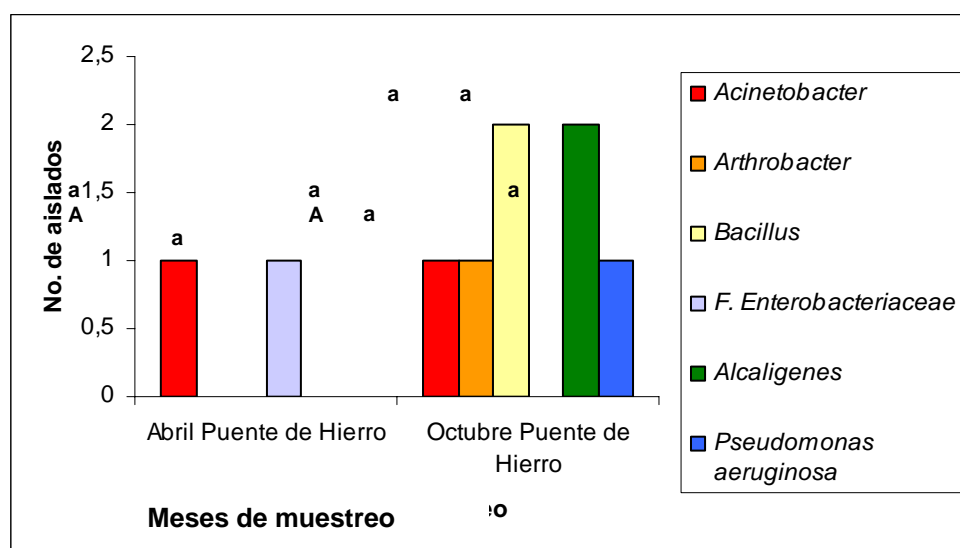


Figura 7. Comparación entre la frecuencia de aislamiento de los géneros bacterianos obtenidos entre los meses de Abril y Octubre en la estación de Puente de Hierro. Letras minúsculas comunes indican la no existencia de diferencias significativas para la prueba Tukey ($p > 0.05$) entre las frecuencias de aislamientos dentro de un mismo mes. Letras mayúsculas comunes indican la no existencia de diferencias significativas para la prueba Tukey ($p > 0.05$) entre las frecuencias de aislamientos de los dos meses muestreados.

En la estación Puente de Hierro (Figura 7) no se observaron diferencias significativas entre las frecuencias de aislamiento de los géneros obtenidos dentro de un mismo mes, ni tampoco entre la frecuencia de aislamiento del género *Acinetobacter* obtenido durante los meses de Abril y Octubre, que fue el único género en común entre estos dos meses. Durante el mes de Octubre se observó poco caudal en el río, después de una crecida de las aguas (tres días antes del muestreo), lo que pudo haber influido en la composición de la comunidad bacteriana cultivable, que pudo haber llegado a las mismas a través de los procesos de arrastre y drenaje del suelo ⁷, así como por las corrientes que se originan durante las crecidas de los ríos. Esta estación de muestreo constituye el estuario del río Almendares y se caracteriza por presentar una alta contaminación, la cual a pesar de la mezcla con el agua salada del mar no disminuye ¹⁰.

CONCLUSIONES

El río Almendares presenta una elevada contaminación, debido al constante vertimiento de aguas residuales de origen doméstico e industrial. En este ecosistema los géneros más

aislados fueron *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus* y *Alcaligenes*. De las tres estaciones muestreadas el afluente Paila presentó la mayor contaminación, lo que pudo evidenciarse a través de la composición de su comunidad bacteriana cultivable. En esta estación de muestreo se obtuvieron diferencias altamente significativas entre las frecuencias de aislamientos de los géneros identificados, siendo el género más aislado *Arthrobacter*, lo que se atribuye a la alta contaminación presente. Además, se obtuvieron diferencias significativas entre la frecuencia de aislamiento del género *Acinetobacter* en la estación Río Cristal y los géneros *Bacillus* y *Arthrobacter* en la estación Paila entre los meses de Abril y Octubre.

BIBLIOGRAFÍA

1. Kenzaka, T., Yamaguchi, N., Prapagdee, B., Mikami, E. and Naso, M. (2001): Bacterial Community composition and activity in urban rivers in Thailand and Malaysia. *Journal of Health Science* 47 (4): 353-361.
2. Lear, G. Boothroyd, I.K.G., Turner, S.J., Roberts, K and Lewis, G.D. (2009): A comparison of bacteria and benthic invertebrates as indicators of ecological health in stream. *Freshwater Biology*, 54: 1532-1543
3. Ryder, D.S. and Miller, W. (2005): Setting goals and measuring success: linking patters and processes in stream restoration. *Hydrobiologia*, 552: 147-158.
4. Paerl, H. and Pinckney, J. (1996): A mini-review of microbial consortia: their roles in aquatic production and biogeochemical cycling. *Microb. Ecol.* 31: 225-248.
5. Lear, G., Anderson, M.J., Smith, J.P., Boxen, K. and Lewis, G.D. (2008): Spatial and temporal heterogeneity of bacterial communities in Stream epilithic biofilms. *FEMS Microbiol Ecol.*, 65: 463-473.
6. de Sousa, J.A y Silva-Sousa, A.T. (2001): Bacterial community associated with fish and water from Congonhas River, Sertaneja, Paraná, Brasil. *Brazilian archives of Biology and Technology*, 44 (4): 373-381.
7. Larrea, J. Rojas, M.M., Romeu, B. Lugo, D., Rojas, N. Y Heydrich, M. (2009): Evaluación de la calidad microbiológica de las aguas del Complejo Turístico "las Terrazas". *Higiene y Sanidad Ambiental* 9: 492-504.
8. Sousa, J.A. (1996): Estudio epidemiológico em duas fruticulturas do norte de Portugal e caracterização dos agentes bacterianos e virais de maior impacto em aquacultura. PhD Thesis, Universidade do Porto, Porto, Portugal.
9. Obire, O., Tamuno, D.C., Wemedo, S.A. (2005): Bacteriological water quality of Elechi Creek in Port Harcourt, Nigeria. *Journal of Applied Sciences and Environmental Management* 9(1): 79-84.
10. Prats, J. (2006): Determinación de la contaminación microbiana del río Almendares y sus principales afluentes. Tesis para optar por el título académico de Master en Microbiología. Facultad de Biología. Universidad de La Habana.
11. Romeu, B. (2007): Caracterización higiénico-sanitaria de las aguas del río Almendares en la zona del Gran Parque Metropolitano de La Habana. Tesis para optar por el título académico de Master en Microbiología. Mención Microbiología Clínica. Facultad de Biología. Universidad de La Habana.
12. Chiroles, S., González, M. I., Torres, Rojas, T., Valdés, Águila, M., Domínguez, I. (2007): Bacterias indicadoras de contaminación fecal en aguas del río Almendares (Cuba). *Hig. Sanid. Ambient.* 7: 222-227.
13. *Bergey's Manual* (2004). Vol I Y ii. Williams and Wilkins. Baltimore, MD 21202, USA.
14. Sigarroa A. (1985): *Biometría y Diseño Experimental*. La Habana. Pueblo y Educación, 734 p.
15. Rodríguez, A.J., Arpajón, Y., Castaño, Z., Marsán, R., Lugo, D., Roevros, N., C., Chou, L., Rojas, N. y Heydrich, M. (2006): Análisis de contaminantes inorgánicos tóxicos en las aguas del río Almendares, Cuba. <file:///F:/ENMA/PDF%20CONYMA%202006/Data/HTML/Pag...20Análisis%20de%20contaminantes%20inorganicos.htm> (1 of 11)05/02/2008 10:01:07

16. Atlas, R.M. y Bartha, R. (1998): *Microbial Ecology: Fundamentals and applications*. 4ta Edición. Addison Wesley Longman.
17. Eschbach, M., Möbitz, H., Rompf, A. and Jahn, D. (2003): Members of the genus *Arthrobacter* grow anaerobically using nitrate ammonification and fermentative processes: anaerobic adaptation of aerobic bacteria abundant in soil. *FEMS Microbiology Letters* 223 : 227-230.
18. Edwards, M.L., Lilley, A.K., Timms-Wilson, T.H., Thompson, I.P. and Cooper, I. (2001): Characterisation of the culturable heterotrophic bacterial community in a small eutrophic lake (Priest Pot). *FEMS Microbiology Ecology* 35 : 295-304.
19. Abdel-El-Haleem, D. (2003): *Acinetobacter*: environmental and biotechnological applications. *African Journal of Biotechnology* Vol. 2 (4): 71-74.