

ARTÍCULO ORIGINAL

## ESTUDIO DE LA CONTAMINACIÓN CON HIDROCARBUROS DE UN ECOSISTEMA DE MANGLAR EN CAYO SANTA MARÍA, JARDINES DEL REY, CUBA

*Study of the Hydrocarbon's pollution of a mangrove ecosystem in Santa Maria Cay, Jardines del Rey, Cuba*

Jelvys Bermúdez Acosta<sup>1\*</sup>, Alejandro González Delgado<sup>1</sup>, Yoelvis Castro Hernández<sup>1</sup>, Eudalys Ortiz Guilarte<sup>2</sup>, Roberto Núñez Moreira<sup>2</sup>, Julio Oramas García<sup>2</sup>, Yaliany García García<sup>4</sup>.

<sup>1</sup> Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos, Calle 17 esq. Ave 46 s/n. Reparto Reina, CP 55 100, Cienfuegos, Cuba.

<sup>2</sup> Centro de Bioproductos Marinos, Calle Loma e/ 35 y 37 Alturas del Vedado, Plaza de la Revolución. CP10600, La Habana, Cuba.

<sup>3</sup> Empresa Eléctrica de Villa Clara, Finca Áncora / Subplanta y Fábrica de Pienso, CP 50100, Villa Clara, Cuba.

\* Autor para correspondencia: [jelvys@gestion.ceac.cu](mailto:jelvys@gestion.ceac.cu)

**Recibido: 26 octubre 2012**

**Aceptado: 5 marzo 2014**

### RESUMEN

El propósito de esta investigación fue estudiar la contaminación de un ecosistema de manglar impactado con hidrocarburos, en el sector centro sur de Cayo Santa María, Jardines del Rey, Cuba. Para el estudio de los indicadores microbiológicos y fisicoquímicos fue diseñado un muestreo estratificado, donde se seleccionaron dos estratos y diez estaciones de muestreo, considerando los patrones de flujos de marea en pleamar y bajamar, así como el impacto perceptible de la contaminación. La determinación de las poblaciones de microorganismos heterótrofos totales (BHT) y degradadores de petróleo (BDP) en agua y sedimentos, se realizó por el método de conteo de colonias, expresadas como UFC-mL-1 o UFC-g-1 según la matriz de análisis. El contenido de hidrocarburos totales del petróleo (HTP) y sus fracciones fundamentales (SARA) fue determinado por el método gravimétrico. Se obtuvo un incremento significativo de BHT y BDP en sedimentos con respecto al agua, los niveles de BDP fueron bajos en ambas matrices, obteniéndose relaciones medias de BDP/BHT inferiores al 1 %. Los niveles medios de HTP en agua, superaron el límite máximo permisible establecido por la Norma Cubana NC 521: 2007 (5mg-L-1). Los altos valores de concentración de HTP y SARA registrados en sedimentos en la totalidad del área de estudio, permiten clasificarla como altamente contaminada; registrándose un incremento significativo en la zona de vertimiento con respecto al resto del área. El análisis de los indicadores microbiológicos y fisicoquímicos demostró que el área presenta una baja capacidad de autodepuración natural.

**palabras clave:** : ASW, contaminación, Cuba, degradación, dispersión, hidrocarburos, microorganismos,

### ABSTRACT

*The purpose of this research was to evaluate the pollution of a mangrove ecosystem at the southern center sector of Santa Maria Cay, Jardines del Rey, Cuba. A stratified sampling was design. Considering the tidal flow in low tide and high tide, as well as the noticeable impact of pollution, two stratas and ten sampling*

stations were selected for the study of its physicochemical and microbiological parameters. Total heterotroph and hydrocarbon degrading bacteria concentration in water and sediments were determined by using the count of colonies method, expressed as UFC·mL<sup>-1</sup> or UFC·g<sup>-1</sup> according to the analyzed matrix. Total hydrocarbon concentration and their essential fractions were determined with the gravimetric method. A significant increment of BHT and BDP was obtained in sediments by means of water. Low levels of BDP were obtained in both matrix, whereas the mean relationship obtained between both populations, was lower than 1%. Total hydrocarbon concentration in water was above the maximum permissible limits established by the NC 521: 2007Cuban Standard (5mg·L<sup>-1</sup>). High levels of total hydrocarbon and their main fractions reported in the whole area, allow us classifying it as a highly polluted zone, locating their highest levels in areas close to the spill point. Finally, physicochemical and microbiological parameters prove their reduced capability of recuperation.

**keywords:** ASW, Cuba, degradation, dispersion, hydrocarbons, microorganisms, pollution

## INTRODUCCIÓN

Cayo Santa María se localiza en el extremo insular occidental del Archipiélago Jardines del Rey, en la costa norte de la provincia de Villa Clara, Cuba. Con una superficie de 21,4 km<sup>2</sup>, de los cuales 12,5 km constituyen tierras emergidas y el resto manglares y lagunas, es uno de los destinos turísticos de mayor importancia de Cuba. Por la riqueza, diversidad y fragilidad de su flora y fauna, caracterizada fundamentalmente por su endemismo, fue declarado Reserva de la Biosfera en el año 2000 (Herrera, 2001).

El desarrollo del polo turístico en el cayo y las actividades que sustentan este renglón económico, han provocado impactos negativos sobre sus ecosistemas marinos y terrestres. En 2009, como consecuencia de malas operaciones y el diseño inadecuado de la trampa de hidrocarburos de la Central Eléctrica "Cayo Santa María", localizada esta última en el sector centro-sur del cayo; se produjeron derrames progresivos de fuel oil que contaminaron un ecosistema de manglar; siendo además un peligro potencial para otras áreas marinas, por la posible dispersión del contaminante a través del sistema de canales naturales y canalizos que conforman el cayo.

En particular, los manglares son ecosistemas muy complejos con múltiples funciones

ecológicas y de un alto valor económico. Son ambientes especialmente sensibles a los derrames de petróleo, pues normalmente crecen bajo condiciones anaerobias y deben ventilar sus raíces a través del sistema de poros (Lenticelas), propensos a ser cubiertos y obstruidos (Citron *et al.*, 1982; citado en Gallegos, 1986), limitándose el intercambio de gases con la atmósfera. La vegetación de manglar puede morir por intoxicación directa con los compuestos aromáticos de bajo peso molecular cuando estos dañan las membranas celulares de las raíces y se impide el proceso normal de exclusión de la sal (Olguín *et al.*, 2007).

La formación de una película impermeable de hidrocarburos sobre el agua, afecta rápida y directamente a la flora y fauna ya que obstruye el intercambio gaseoso y desvía los rayos solares que aprovechan determinados organismos, para llevar a cabo el proceso de fotosíntesis (Hidalgo, 2009). Consecuentemente el exceso de materia orgánica, aumenta la actividad degradativa de las bacterias aerobias y con ella disminuyen los niveles necesarios de oxígeno para los mismos (Burns y Codi, 1998). Los efectos del crudo y sus derivados sobre los organismos acuáticos, son muy diversos y complejos, van desde un efecto letal en muchas especies marinas (crustáceos, decápodos, langostas,

bivalvos, etc.) hasta el crecimiento anormal de toda clase de estados larvales, especialmente de peces (Núñez, 2003).

La respuesta de los ecosistemas costeros y en especial de los manglares ante un derrame, depende de la concentración, el tipo de hidrocarburo y la intensidad de la contaminación. El proceso de atenuación natural está limitado entre otros, por la presencia de comunidades microbianas con capacidad de utilizar estos compuestos como fuentes de carbono y energía para la síntesis y multiplicación (Núñez, 2003). Bajo esta premisa, su importancia radica en la función que ellos pueden desempeñar en la autodepuración de los ecosistemas impactados con petróleo y sus derivados. El propósito de esta investigación fue estudiar la contaminación de la zona impactada con hidrocarburos, mediante su caracterización microbiológica y la estimación de los niveles de hidrocarburos del petróleo y sus fracciones fundamentales en agua y sedimentos.

El estudio permite evaluar la capacidad de autodepuración del ecosistema. Constituye una línea base para el diseño de una estrategia de biorremediación *in-situ* de la zona impactada, a partir del uso de microorganismos exógenos con capacidad de degradación de hidrocarburos y para verificar la recuperación del ecosistema, mediante la contrastación de los niveles del contaminante y de las poblaciones de microorganismos presentes, antes y después del tratamiento.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

El área de estudio se localiza al sur de las instalaciones de la Central Eléctrica "Cayo Santa María", entre las coordenadas

22°38'59,70"-22°39'02,42" latitud norte y 79°03'35,14"-79°03'27,05" longitud oeste; con una extensión promedio de 20 500 m<sup>2</sup> de área contaminada con hidrocarburos. Al sur colinda con un canal natural que en pleamar inunda la zona dos veces al día hasta 50 cm por encima del nivel del sedimento, a través de canalizos que dividen el área en secciones equidistantes. Al este y oeste limita con áreas de manglar.

### Muestreo

Para la determinación de los indicadores microbiológicos y fisicoquímicos fue diseñado un muestreo estratificado (Cochran, 2010), entendiéndose por estratos a unidades experimentales relativamente homogéneas. Se seleccionaron dos estratos, tomando como criterios de estratificación el impacto perceptible de la contaminación con hidrocarburos y los patrones de flujo de marea registrados en pleamar y bajamar

El muestreo fue realizado el 1 de junio de 2011. En el primer estrato, correspondiente a la zona de vertimiento fueron tomadas siete muestras simples de agua y sedimentos (estaciones de la 1 a la 7); mientras que en el segundo, correspondiente a la zona en la cual la contaminación con hidrocarburos debió llegar a través de la dispersión natural desde el sitio de vertimiento (estaciones 8, 9 y 10), se tomaron tres muestras integradas en ambas matrices. Por cada muestra integrada fueron colectadas cinco submuestras de 1 L y 1 kg en agua y sedimentos respectivamente. El área de estudio, sus estratos y estaciones de muestreo se representan en la Fig.1.

Para la determinación de microorganismos heterótrofos (BHT) y degradadores de petróleo (BDP) en la columna de agua y sedimentos, se emplearon frascos de vidrio estériles de 250 mL de capacidad, siendo

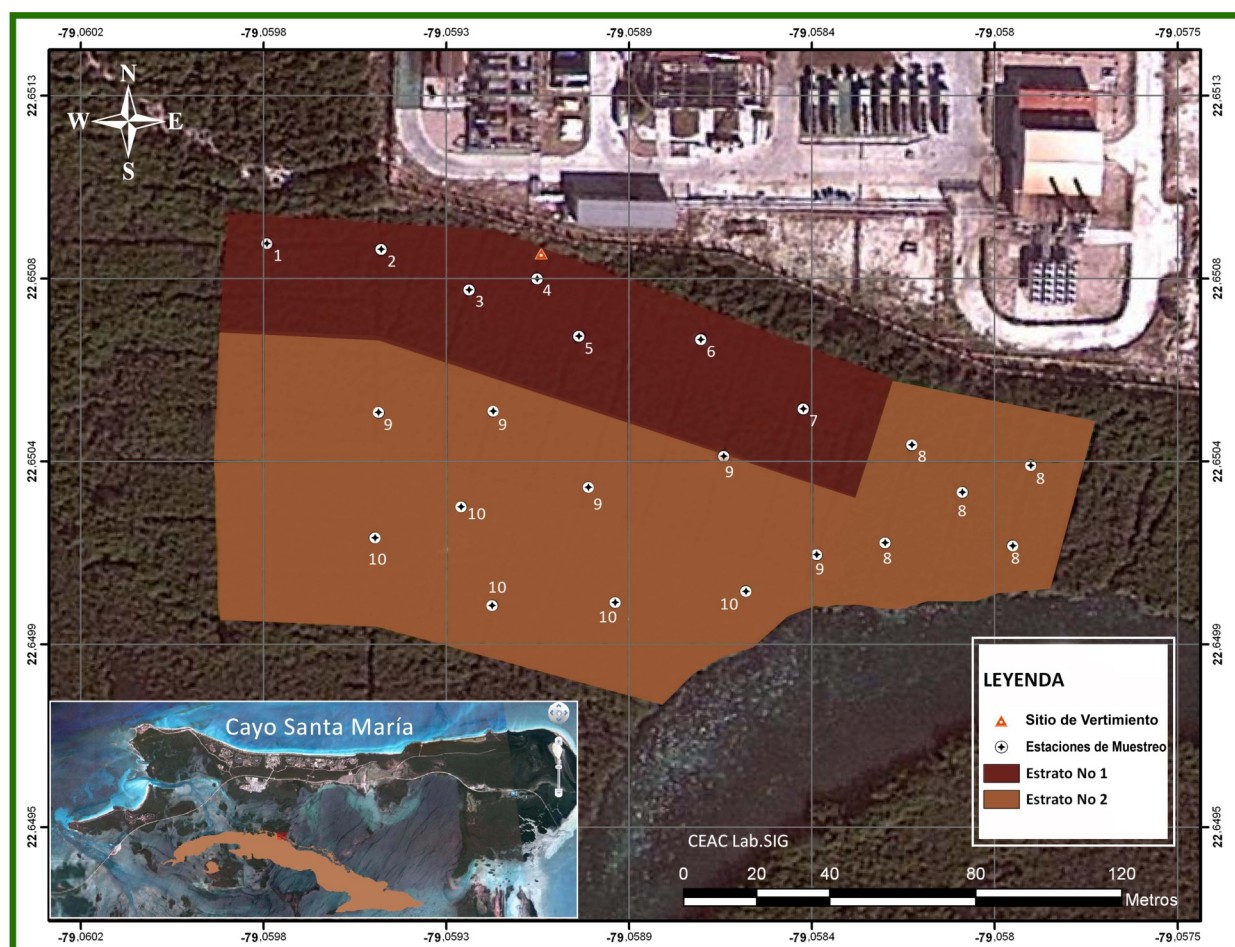


Figura 1. Sitio de vertimiento, estratos y estaciones de muestreo en una zona baja de manglar contaminada con hidrocarburos, Cayo Santa María, Jardines del Rey, Cuba.

procesadas las muestras durante las primeras horas de la colecta, según la metodología descrita por Harrigan y McCance (1968) y Miravet *et al.*, (2009b).

La colecta de muestras en agua para la determinación de los hidrocarburos totales del petróleo (HTP), se realizó a profundidad media con un colector apropiado para tal fin; conservadas añadiendo 3 mL de HCl concentrado en frascos de color ámbar de 1 L de capacidad y refrigeradas a 4 °C. Las muestras de sedimentos para la determinación de HTP y sus fracciones fundamentales fueron colectadas hasta 30 cm de profundidad, tamizadas y homogenizadas mediante el método

de cuarteo descrito en ONN (1998), posteriormente fueron conservadas a 4 °C en papel de aluminio y transportadas al laboratorio del Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos en un término no mayor de 24 h, de acuerdo a los requerimientos establecidos en CEAC (2008).

### Determinaciones analíticas

La concentración de BHT se determinó según la metodología descrita por las Normas ISO (1991) e ISO (1993). Bajo condiciones asépticas se realizaron diluciones seriadas en agua de mar estéril. Las diluciones seleccionadas se inocularon en superficie a razón de

100  $\mu$ L por placa Petri, en medios de cultivos específicos para bacterias heterótrofas y degradadoras de hidrocarburos. Para el caso de BHT se empleó el medio ZoBell 2216E (Oppenheimer y ZoBell, 1946) agarizado y para BDP se utilizó el medio Vela y Ralston (1978) agarizado con petróleo ligero (Nerey) al 1% como única fuente de carbono y energía. Las placas inoculadas fueron incubadas a temperatura ambiente por 72 h para BHT y por 10 días para BDP. La concentración de bacterias se determinó por el recuento total de colonias y los resultados fueron expresados en UFC·mL<sup>-1</sup> o UFC·g<sup>-1</sup> de acuerdo a la matriz de análisis.

La concentración de HTP en agua y sedimentos se determinó por el método gravimétrico EPA (1996b) y EPA (1998), utilizando como solvente de extracción hexano/acetona (CEAC, 2010a). La concentración de saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos (SARA) fue determinada por el método gravimétrico EPA (1996a) {Fernández, 2007 #19; Fernández, 2007 #19}, como solvente de extracción fue utilizado el diclorometano/acetona y hexano (CEAC, 2010b). Los resultados obtenidos fueron expresados como mg·L<sup>-1</sup> o mg·kg<sup>-1</sup> según el caso.

#### Tratamiento estadístico de los resultados

Para el análisis de las variables microbiológicas y fisicoquímicas, fue aplicado un diseño aleatorizado por bloques incompletos (Montgomery, 2004), considerando cada estrato como bloque fijo para minimizar el efecto de la dispersión natural de los hidrocarburos sobre las variables de respuesta. La idoneidad del modelo empleado fue verificada a partir del análisis del cumplimiento los supuestos de  $\mu=0$ , normalidad, homogeneidad de variancia e independencia de los

residuos. La prueba de igualdad de media y variancia entre los estratos se realizó con  $\alpha=0,05$ , realizándose el análisis de potencia de dódima ( $1-\beta$ ) para cada caso necesario. Con el objetivo de confirmar la influencia de los patrones de marea en la dispersión de los hidrocarburos desde la zona de vertimiento hacia el resto del área y su variabilidad, se realizó un análisis de correlación entre los niveles de hidrocarburos por estación y la distancia al sitio de vertimiento.

En el caso de las determinaciones correspondientes a los análisis microbiológicos se realizaron con tres repeticiones, cuyos datos fueron normalizados mediante una transformación logarítmica. Verificado el cumplimiento de los supuestos del modelo, se realizó un análisis de variancia de clasificación simple y la prueba de comparación de medias entre cada una de las estaciones de muestreo.

## RESULTADOS

### Análisis microbiológico

Los resultados obtenidos en la Fig. 2 (a) indican que no existen diferencias significativas de BHT entre el primer y segundo estrato para agua (*t*-Student,  $p=0,91$ ) y sedimentos (*t*-Student,  $p=0,75$ ). Se muestra además, un aumento significativo de los niveles de BHT en sedimentos (hasta 10<sup>6</sup>UFC·g<sup>-1</sup>) con respecto a los obtenidos en agua (en el orden de 10<sup>2</sup> y 10<sup>5</sup> UFC·mL<sup>-1</sup>), obteniéndose el mayor valor en la matriz sedimentos, correspondiente a la estación 2 (estrato I).

Análogo al grupo de microorganismos anterior, no se obtuvieron diferencias significativas de BDP entre el primer y segundo estrato para agua (*t*-Student,  $p=0,23$ ) y sedimentos (*t*-Student,  $p=0,99$ ). Los valores medidos de BDP obtenidos en sedimentos (Fig.

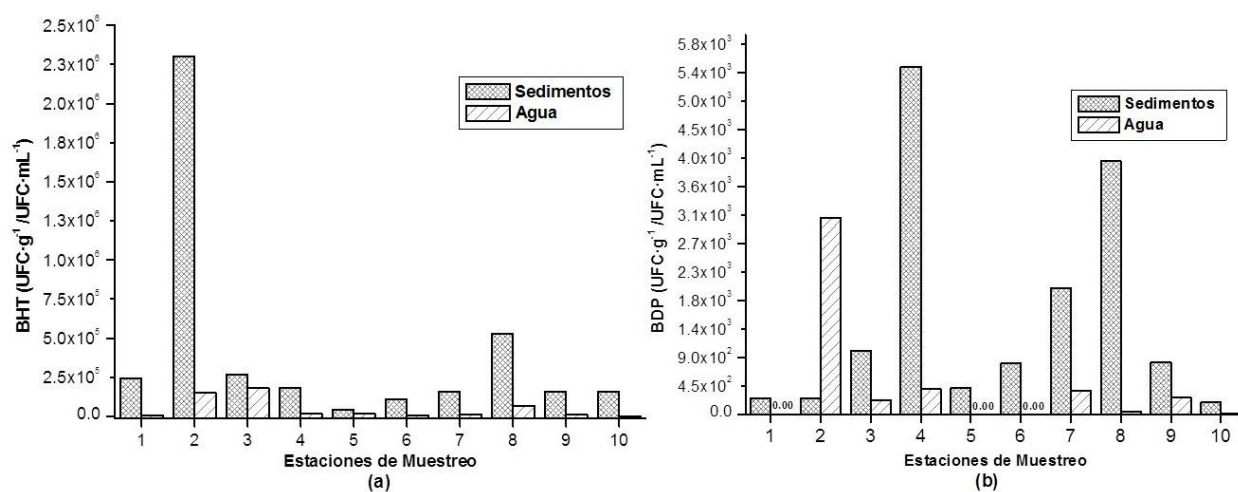


Figura 2. Concentración de BHT (a) y BDP (b) en agua y sedimentos, expresadas como UFC·mL<sup>-1</sup> y UFC·g<sup>-1</sup> respectivamente (*t*-Student,  $p=0.00$ ).

2 (b)) son significativamente superiores a los encontrados en agua, excepto en la estación 2. En las estaciones 1, 5 y 6 del primer estrato, no se registró este tipo de microorganismos en agua, mientras que el mayor valor de BDP se alcanzó en la matriz sedimentos, correspondiente a la estación 4 (estrato I). Se obtuvo además un incremento de las poblaciones en el sedimento desde la estación 5 (estrato I) hasta la 8 (estrato II).

La relación BDP/BHT fue superior al 1% en cinco de las estaciones estudiadas para la matriz agua: 2, 4 y 7 (estrato I); 9 y 10 (estrato II) mostrándose un comportamiento similar

en las estaciones 4 y 7 para sedimentos.

### Análisis fisicoquímico

Los resultados descritos en la Tabla 1, muestran un incremento significativo de la concentración de HTP en sedimentos con respecto a la matriz agua (*t*-Student,  $p=0,03$ ) en ambos estratos. Basado en los valores de  $1 - \beta$ , se evidencian diferencias significativas entre los valores medios de cada una de las variables de estudio de los estratos I y II, conteniendo el primero los mayores valores de concentración.

La Tabla 2 muestra diferencias significa-

Tabla 1. Valores de media ( $\mu$ ), límite inferior (LI) y superior (LS) para HTP en ambas matrices y SARA en sedimentos, expresados como mg·mL<sup>-1</sup> y mg·kg<sup>-1</sup> respectivamente (*t*-Student,  $p>0,05$ ). Potencia de la dócima ( $1-\beta$ ) para la prueba de comparación de medias entre estratos.

Variables de estudio	Estrato I			Estrato II			1- $\beta$
	$\mu$	LI	LS	$\mu$	LI	LS	
HTP (Agua)	160.10	3.00	960.00	8.60	8.30	8.90	0.06
HTP (Sedimentos)	9414.29	2300.00	37 000.00	3133.37	2100.00	3800.00	0.05
Saturados	5446.43	1121.00	22 000.00	1028.67	750.00	1356.92	0.05
Aromáticos	1836.43	2.99	7500.00	912.00	486.00	1356.00	0.08
Resinas	1848.14	950.00	5600.00	1150.00	950.00	1400.00	0.06
Asfaltenos	5571.43	3400.00	10 000.00	4033.33	2300.00	6000.00	0.07

Tabla 2. Valores de desviación estándar ( $\sigma$ ) para HTP en ambas matrices y SARA en sedimentos, expresados como mg·mL<sup>-1</sup> y mg·kg<sup>-1</sup> respectivamente (*F*-Fisher). P-valor para la prueba de comparación de desviaciones estándar.

Variables de estudio	$\sigma$		P-valor
	Estrato I	Estrato II	
HTP (Agua)	354.54	0.30	0.00
HTP (Sedimentos)	12374.60	907.38	0.01
Saturados	7418.92	305.92	0.00
Aromáticos	2530.53	435.28	0.05
Resinas	1772.31	229.13	0.03
Asfaltenos	2408.81	1861.00	0.83

tivas en la variabilidad de la concentración de HTP entre ambas matrices (*F*-Fisher,  $p=0,00$ ). Los valores de desviación estándar vasados en el P-valor, demuestran diferencias significativas en la variabilidad de las variables de estudio entre ambos estratos, excepto para las fracciones aromáticas y asfálticas. Sin embargo, vasado en los valores de  $1-\beta$  para ambas variables: 0,06 y 0,05 respectivamente, se puede asegurar que también presentan diferencias significativas entre los valores de cada estrato.

La Tabla 3 muestra la distancia entre cada estación de muestreo y el sitio de vertimiento de hidrocarburos, por su parte en la Tabla 4 se observa una ligera correlación negativa entre cada una de las variables de estudio y la distancia de cada estación de muestreo con respecto al punto de vertimiento de hidrocarburos.

Tabla 4. Coeficientes de correlación entre los niveles de HTP ambas matrices, SARA en sedimentos y la distancia de cada estación de muestreo con respecto al punto de vertimiento de hidrocarburos ( $p>0,05$ ,  $n=10$ ).

Variables de estudio	Coefficiente de correlación ( <i>r</i> )
HTP (Agua)	-0.50
HTP (Sedimentos)	-0.49
Saturados	-0.48
Aromáticos	-0.45
Resinas	-0.49
Asfaltenos	-0.35

## DISCUSIÓN

Los valores de concentración de bacterias heterótrofas en la matriz de agua resultaron similares a los referidos por Miravet *et al.* (1992) en los muestreos realizados en la bahía de Buenavista, archipiélago Sabana-Camagüey en los años 1990 y 1992. En general el archipiélago Sabana-Camagüey presenta un régimen débil de circulación y de intercambio limitado de aguas con el océano, determinado por la gran cantidad de obstáculos topográficos que presenta y la escasa profundidad. Todo esto propicia que en esta zona haya una mayor acumulación de materia orgánica tanto de origen terrestre (escurrimiento) como producida *in situ*, lo que favorece el aumento en la concentración de bacterias heterótrofas.

Estas condiciones pudieran estar influyendo marcadamente en la abundancia de estas bacterias en el área de estudio; que difieren de los valores medios históricos de

Tabla 3. Distancia entre cada estación de muestreo y el sitio de vertimiento de hidrocarburos.

Estaciones de muestreo	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Distancia al sitio de vertimiento (m)	69.53	41.55	21.76	7.15	24.77	45.78	77.64	141.7	78.14	97.57

concentración en la región noroeste de Cuba informados por Lugioyo (2003), determinado probablemente por un elevado intercambio con aguas oceánicas, ya que la región noroccidental presenta una plataforma estrecha, que favorece una efectiva renovación de sus aguas por efecto de la corriente de marea y de la deriva del viento (Rodas *et al.*, 1998).

El estado trófico de las aguas a partir de las concentraciones de bacterias heterótrofas aerobias mesófilas obtenidas refleja que ambos estratos presentan condiciones mesotróficas; con excepción de las estaciones 3, 5 y 8 que presentan condiciones mesotróficas con tendencias eutróficas; según el índice propuesto por Miravet *et al.*, (2009a).

Las altas concentraciones de BHT en los sedimentos están dadas por la acumulación de materia orgánica no degradada en la columna de agua; además del aporte autóctono de la macrovegetación y desechos de los organismos bentónicos, que contribuye a que los primeros centímetros de sedimento constituyan uno de las capas de mayor abundancia de bacterias heterótrofas. Según Ducklow (2000) la disponibilidad de materia orgánica en el ecosistema marino es el principal factor regulador del crecimiento de microorganismos heterótrofos, ya que son claves en el proceso de transformación y reciclaje de la materia orgánica en el medio marino (Herrera y Suárez, 2005). La abundancia de estas bacterias constituye un índice de la cantidad de materia orgánica presente, relación que establece un nexo entre la cantidad de materia orgánica disuelta fácilmente degradable (lábil), capaz de ser oxidada por la actividad bacteriana (Sieburth, 1979).

Dentro de las BHT se incluyen las BDP que tienen la capacidad de utilizar estos compuestos como fuentes de carbono y en-

ergía para la actividad metabólica celular. Bajo esta premisa, su importancia radica en la función que ellos pueden desempeñar en la autodepuración del ecosistema marino impactado con petróleo y sus derivados (Núñez *et al.*, 2003).

Se ha descrito que aunque los microorganismos degradadores comprenden hasta el 1% de la población heterótrofa total en ambientes no contaminados, éstos se incrementan hasta un 10% por un derrame de petróleo (Venosa *et al.*, 2000)

Bajo estas condiciones debió incrementarse la concentración de microorganismos degradadores, sin embargo las concentraciones detectadas constituyen niveles discretos para ambas matrices en ambientes impactados con hidrocarburos. Por ejemplo la carencia de este tipo de bacterias en agua, en las estaciones 1, 5 y 6 (estrato I) pudiera estar determinado por una baja concentración de hidrocarburos en esta matriz, tal y como lo demuestran los resultados de los ensayos fisicoquímicos descritos en la Tabla 1.

Teniendo en cuenta la escala cualitativa para clasificar estaciones de muestreo de acuerdo a la relación BDP/BHT propuesta por Lizárraga-Partida *et al.*, (1983) en el área de estudio se incluyen estaciones dentro de cada estrato no afectadas (BDP/BHT < 1%) y poco afectada (1-5%) respecto al impacto de la contaminación con hidrocarburos fósiles. Especialmente en sedimentos, estos resultados deben estar relacionados con la incidencia de factores que inhiben el proceso de síntesis y multiplicación celular de las BDP como son la composición y concentración de los hidrocarburos (Tabla 1). Esto constituye el factor limitante más importante del proceso de biorremediación natural, ya que es conocido que muchos microorganismos degradadores de hidrocarburos presentan



un nivel de tolerancia menor del 0.3% (v/v) (Sardessai y Bhosle, 2002).

De acuerdo a estas observaciones se infiere que las áreas contaminadas no presentan una alta capacidad de autodepuración debido a la magnitud del impacto del derrame y el tipo de hidrocarburo contaminante. Condiciones similares se describen luego de los accidentes ocurridos en las bahías de Cienfuegos en 1992 y Matanzas en 1998, así como en los ríos Bacunayagua en el 2008 y Salado en el 2011.

Las diferencias significativas de HTP entre ambas matrices se corresponden con los procesos naturales que inciden sobre la movilidad del contaminante en cada compartimiento ambiental. Los procesos fundamentales que debieron ocurrir en la primera etapa del derrame fueron la evaporación de los compuestos más volátiles, en cuyo caso la baja presión parcial del contaminante (0,009 psi) (AHC, 2001) indica una baja tasa de evaporación; el petróleo remanente en la superficie y la columna de agua, en su mayor parte queda sujeto a la degradación microbiana y a otros procesos generalmente lentos como la fotooxidación y la emulsificación agua-petróleo, que por consecuencia, y con la ayuda de procesos sedimentarios, tienen como destino final los sedimentos (Caporal, 2009). Este fenómeno se acentúa en áreas costeras someras donde es baja la acción de las olas y en cambio es alta la tasa de sedimentación. Así, la mayor parte del hidrocarburo derramado es depositado sobre el sedimento una vez concluida la bajamar; el hidrocarburo remanente en el agua, es dispersado desde el sitio de vertimiento (estrato I) al resto del área (estrato II), una parte es depositado sobre los sedimentos y el resto incorporado al canal en forma de emulsión o disuelta en el agua, donde la baja solu-

bilidad del contaminante incide en los niveles de HTP obtenidos en dicha matriz. Lo anterior se corrobora con los resultados obtenidos en el análisis de correlación, entre la distancia de cada estación de muestreo al punto de vertimiento y los valores de concentración de HTP y SARA en ambas matrices por cada estación. Como se observa en la Tabla 4 existe una ligera correlación negativa entre ambas variables, lo que sugiere una disminución progresiva de los niveles de HTP y SARA en agua y sedimentos, a medida que aumenta la distancia de las estaciones con respecto al punto de vertimiento.

Los valores de HTP en agua obtenidos en ambos estratos, exceden el límite máximo permisible establecido por la Norma Cubana NC521: 2007 "Vertimiento de aguas residuales a la zona costera y aguas marinas. Especificaciones" (ONN, 2007), la cual establece una concentración máxima de 5.00 mg·L<sup>-1</sup> para cuerpos receptores de categoría A, tal como es el caso; obteniéndose el mayor valor de concentración en el primer estrato, estación 4 (960 mg·mL<sup>-1</sup>), correspondiente al punto de vertimiento de hidrocarburos.

Los altos niveles de HTP obtenidos en los sedimentos de ambos estratos (valores entre 2100 mg·kg<sup>-1</sup> y 37000 mg·kg<sup>-1</sup>), donde el mayor valor de concentración pertenece al punto de vertimiento de hidrocarburos; también se corresponden con la alta productividad y abundancia de detritus orgánico en el mangar; que lo hacen un sitio preferencial para la acumulación de hidrocarburos (Suprayogi y Murray, 1999; Zhang *et al.*, 2004; citado en Olguín *et al.*, 2007); se ha reportado que la concentración de HPA en suelos de manglar en China, mostró una fuerte correlación con el contenido de carbono orgánico (Zhang *et al.*, 2004).

Los valores de concentración de HTP obtenidos, son superiores a los niveles reportados en estudios realizados en sedimentos de bosques de manglares contaminados por hidrocarburos ( $80 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), en Sheung Park Nai Swamp, Hong Kong (Tam *et al.*, 2005); y a los obtenidos por Burns y Codi (1998) en sedimentos de un manglar en Queensland, Australia, contaminados con desechos de aceites donde los niveles obtenidos alcanzaron hasta un 17 % del peso seco, en muestras de hasta 40 cm de profundidad. Además, los valores obtenidos superan en más de 7 veces los niveles descritos en la zona de Playa el Chivo, Bahía de la Habana, y la Bahía de Cienfuegos por Ruiz *et al.*, (2006), quienes las clasificaron de acuerdo a su calidad ambiental de muy contaminada y contaminada respectivamente.

Cada una de las fracciones fundamentales del petróleo en sedimentos, mostró un incremento significativo de concentración en el estrato I con respecto al estrato II, lo que conjuntamente con el análisis de correlación (Tabla 4), corrobora que en el último estrato, la contaminación ocurrió a partir de la dispersión natural de los hidrocarburos desde el sitio de vertimiento; donde se obtuvieron los mayores valores de concentración para cada una de las fracciones fundamentales (Tabla 1). Tanto los niveles medios de saturados como de aromáticos fueron 17 y 22 veces superiores a los obtenidos por Ortiz *et al.*, (2013) en los sedimentos del Rio Bacunayagua ( $189,78 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  y  $153,17 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  respectivamente), luego de un derrame fueoil; solo la presencia de aromáticos en los sedimentos estudiados, resulta un peligro potencial debido a su conocida peligrosidad para la biota marina y la salud humana (Botello *et al.*, 1996). Los valores medios de concentración de resinas y asfaltenos en el

área de estudio, fueron a su vez 2 y 13 veces superiores a los obtenidos por Ortiz *et al.*, (2013) en los sedimentos del Rio Bacunayagua ( $531,56 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  y  $346,3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  respectivamente). Ambas fracciones presentaron un comportamiento análogo a los HTP en sedimentos en el área de estudio, determinado por un proceso secuencial de degradación natural del petróleo en ecosistemas naturales: n-parafinas, isoparafinas, aromáticos, naftalenos, resinas y asfaltenos (Magot *et al.*, 2000) que limita su tasa de degradación como consecuencia de su complejidad estructural y elevado peso molecular, que las convierten en fracciones recalitrantes, de baja degradabilidad y alta persistencia.

Finalmente, las diferencias significativas obtenidas en la variabilidad de cada una de las variables de estudio entre ambos estratos (Tabla 2), demuestran que los resultados provienen de poblaciones diferentes, condicionadas por los procesos naturales que tuvieron lugar desde el vertimiento hasta su dispersión en el área de estudio. Estos resultados ratifican además la decisión de implementar un diseño aleatorizado por bloques incompletos, para reducir el error experimental al eliminar una fuente más de variabilidad, producida por la heterogeneidad entre ambos estratos (o bloques).

## CONCLUSIONES

El estudio de las variables microbiológicas demostró un incremento significativo de las concentraciones de BHT y BDP en sedimentos con respecto al agua. Los niveles de BDP fueron bajos en ambas matrices para la totalidad del área de estudio, obteniéndose relaciones medias de BDP/BHT inferiores al 1 %, valores que se corresponden con sitios altamente contaminados con hidrocarburos.

Los niveles medios de HTP obtenidos en agua, superaron más de 100 veces el límite máximo permisible establecido por la Norma Cubana NC 521: 2007 para cuerpos receptores de tipo A; mientras que los altos valores de concentración de HTP registrados en sedimentos en la totalidad del área de estudio, permiten clasificarla cómo altamente contaminada. En ambas matrices, este indicador resultó ser superior en el primer estrato, correspondiente a la zona de vertimiento de hidrocarburos.

Se obtuvieron altos valores de concentración de SARA en los sedimentos del área de estudio, registrándose un incremento significativo de estas fracciones en la zona de vertimiento (primer estrato) con respecto al resto del área. En especial las fracciones reinas y asfaltenos corroboran la presencia de compuestos de alto peso molecular y alta complejidad estructural, resistentes a la degradación natural.

Del análisis de los indicadores microbiológicos y fisicoquímicos en el área de estudio, se demostró que la misma presenta una baja capacidad de autodepuración natural, siendo necesaria la intervención mediante técnicas de biorremediación para minimizar el impacto de la contaminación con hidrocarburos y restablecer las condiciones ambientales existentes antes del derrame.

## AGRADECIMIENTOS

Agradecemos por su colaboración a la MSc. Liliana Toledo Iser por la revisión exhaustiva del manuscrito, al MSc. David Javier Castro Rodríguez por sus sugerencias en el desarrollo de la investigación y sus ideas en la discusión de los resultados, al Ing. José Reinol Poma Rodríguez por su participación y ayuda en los estudios de campo, a Laura

Castellanos Torres por su asistencia en la preparación de mapas.

## REFERENCIAS

AHC. (2001) Material Safety Data Sheet. Fueloil. In A. H. Corporation, *NFPA 704 (Section 16)* Woodbridge, NJ, 1-7.

Botello A.V., Rojas, J.L., Benítez, J.A., Zárata, D. (1996) Contaminación e impacto ambiental: Diagnóstico y tendencia. *EPOMEX, Serie Científica, Golfo de México 5*, 666 pp.

Burns K., Codi, S. (1998) Contrasting impacts of localized versus catastrophic oil spills in mangrove sediments. *Mangroves and Salt Marshes 2*, 63-74.

Caporal, A. (2009) *Determinación de hidrocarburos totales del petróleo en suelos y sedimentos de la cuenca del río Coatzacoalcos*. Tesis profesional, Facultad de Ciencia Químicas, Universidad Veracruzana, 77 pp.

CEAC (2008) Muestreo de Contaminantes Orgánicos, *L-SA-50*. Cienfuegos: Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos.

CEAC (2010a) Determinación de Hidrocarburos Totales en suelos. Método gravimétrico, *L-SA-507*. Cienfuegos: Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos.

CEAC (2010b) Determinación de SARA en aguas, suelos y sedimentos contaminados, *L-SA-510*. Cienfuegos: Centro de Estudios Ambientales de Cienfuegos.

Cochran, W. (2010) *Técnicas de muestro*. Compañía Editorial Continental S.A., México D.F., 252 pp.

Ducklow, H. (2000) Bacterioplankton production and biomass in the oceans. In D. Kirchman, editor, *Microbial Ecology of the Oceans*, New York: Wiley, 2000 pp.

EPA. (1996a) Alumina column cleanup and separation of petroleum wastes, *Method 3611B*. USS: Environmental Protection Agency.

- EPA (1996b) Revision A: n-Hexane Extractable Material (HEM; Oil and Grease) and Silica Gel Treated N-Hexane Extractable Material (SGTHEM; Non-polar Material) by Extraction and Gravimetry, *Method 1664*. USS: Environmental Protection Agency.
- EPA (1998) N-hexane extractable material (hem) for sludge, sediment, and solid samples, *Method 9071b*. USS: Environmental Protection Agency.
- Gallegos, M. (1986) *Petróleo y manglar*. Centro de Eco desarrolló, México, D.F., 104 pp.
- Harrigan, W., Mc Cance, M.E. (1968) *Métodos de Laboratorio en Microbiología*. Academia León. España, 254 pp.
- Herrera, A. (2001) *Reserva de la Biosfera de Cuba*. Comité Nacional, Programa MAB UNESCO, 53 pp.
- Herrera, A., Suárez, P. (2005) Indicadores bacterianos como herramientas para medir la calidad ambiental del agua costera. *Revista Interciencia* **30**, 2-14.
- Hidalgo, J.C. (2009) Efectos de los derrames de petróleo sobre los hábitats marinos. *Revista Ciencia Ahora* (24), 22-30.
- ISO (1991) Microbiology. General guidance for the enumeration of micro organism colony count technique at 30 °C, *ISO 4833*: International Standard.
- ISO (1993) Microbiology. General guidance for the preparation of dilutions for microbiological examination, *ISO 6887*: International Standard
- Lizárraga-Partida, L., Porráz-Aguirre, J., Izquierdo-Vicuña, F. (1983) Tasa bacteriana hidrocarbonoclástica/heterótrofas como índice de impacto ambiental por petróleo crudo en la Sonda de Campeche, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. Disponible en: <http://www.biblioweb.dgsca.unam.mx/cienciasdelmar/instituto/1983-1/articulo156.htm>, Consultada el 14 de abril de 2009.
- Lugioyo, G.M. (2003) *Distribución, relaciones trófi- cas y diversidad del bacterioplancton de las aguas oceánicas de Cuba*. Tesis de Doctorado, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, 140 pp.
- Magot, M., Ollivier, B., Patel, B. (2000) Microbiology of petroleum reservoirs. *Antonie van Leeuwenhoek. AMOP* **77**(12), 103-116.
- Miravet, M.E., Lugioyo, M., Pérez, G. (1992) Bacterias marinas heterótrofas. Distribución y actividad descomponedora en la macro laguna interior del Archipiélago Sabana-Camagüey (julio 1989 y febrero 1991)(Informe final), Ciudad de la Habana: Instituto de Oceanología.
- Miravet, M.E., Lugioyo, M., Loza, S., Enríquez, D., Delgado, Y., Carmenate, M., Pérez, D. (2009a) *Procedimientos para el Monitoreo de la Calidad Ambiental en la Zona Marino Costera a partir de Microorganismos*. Ediciones Centenario, Santo Domingo, República Dominicana, 95pp.
- Miravet, M.E., Lugioyo, M., Enríquez, D., Delgado, Y. (2009b) *Manual de Técnicas Microbiológicas para la evaluación de la calidad ambiental de ecosistemas marinos costeros*. Honorable Ayuntamiento de Solidaridad 2008-2009, México, D. F., 168pp.
- Núñez, R. (2003) *Obtención, caracterización y aplicación de un bioproducto bacteriano para la biorremediación de derrames de hidrocarburos*. Tesis Profesional, Facultad de Biología, Universidad de la Habana, 110 pp.
- Olgúin, E., Hernández, E.M., Sánchez, G. (2007) Contaminación de manglares por hidrocarburos y estrategias de biorremediación, fitorremediación y restauración. *Rev. Int. Contam. Ambient.* **23**(3), 139-154.
- ONN (1998) Geotecnia. Preparación de muestras de suelos. *NC 10 :1998* (pp. 1-13). Ciudad de la Habana: Oficina Nacional Normalización.
- ONN (2007) Vertimiento de aguas residuales a la zona costera y aguas marinas. Especificaciones, *NC 521: 2007*. Ciudad de la Habana: Oficina Nacional Normalización. pp. 1-15
- Oppenheimer, C.H., ZoBell, C.E. (1946) Symposium on Marine Microbiology. CC. Thomas,

Sprengfield. III, 3-24.

Ortiz, E., Núñez, R., Oramas, J., Fernández, B., Paneke, K., Barbán, O., Fonseca, O., Lorenzo, E., Morales, M., Garcés, G., Martínez, C., García, J.R., Caballero, V., Días, Y., Bermúdez, J. (2013) Biorremediación de la contaminación con petróleo del río y la ensenada de Bacunayagua con el producto Bioil-FC. *Memorias del Tercer Congreso Internacional Biotecnología Ambiental y Algal*. Ciudad de David, República de Panamá, 7-11 abril, 1:12-27.

Rodas, L., Martínez, J.C., García, G., García, P., Martínez, B., Espinosa, J. (1998) Estudio de factibilidad para la construcción del emisario submarino del Reparto. Flores (Informe final). Ciudad de la Habana: Instituto de Oceanología.

Sardesai, Y.N., Bhosle, S. (2002) Organic solvent-tolerant bacteria in mangrove ecosystem.

*Current Science* **82** (6), 1-25.

Sieburth, J. (1979) *Sea microbes*. Oxford University Press, New Cork, 491 pp.

Tam, N.Y., Wong, W.T., Wong, Y.S. (2005) A case study on fuel oil contamination in a mangrove swamp in Hong Kong. *Mar. Pollut. Bull.* **51**, 1092-1100.

Vela, G.R., Ralston, H.J. (1978) The effect of temperature on phenol degradation in waste water. *Can. J. Microbiol* **24**(11), 366-370.

Venosa, A.D., Macnaughton, S.J., Stephen, J.R., Chang, Y.J., White, D.C. (2000) Microbial Population Changes during Bioremediation of an Experimental Oil Spill. *Applied and Environmental Microbiology* **65**( 8), 1-10.

Zhang, J., Cai, L., D. Yuan, Chen, M. (2004) Distribution and sources of polynuclear aromatic hydrocarbons in mangrove superficial sediments of Deep Bay, China. *Mar. Pollut. Bull.* **49**, 479-486.