

COMUNICACIÓN BREVE / SHORT COMMUNICATION

BACTERIAS MARINAS TOLERANTES AL TRIBUTILESTAÑO EN LA BAHÍA DE MANZANILLO, COLIMA, MÉXICO

Tributyltin marine bacteria-tolerant in Manzanillo Bay, Colima, Mexico

Elizabeth AVILA-CASTRO¹, Leopoldo DÍAZ-PÉREZ¹, Manuel AYÓN-PARENTE¹,
Eduardo RÍOS-JARA¹, Joicye HERNÁNDEZ-ZULUETA²,
Alma Paola RODRÍGUEZ-TRONCOSO³ y Fabián Alejandro RODRÍGUEZ-ZARAGOZA^{1*}

¹ Departamento de Ecología Aplicada, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Camino Ramón Padilla Sánchez 2100, Nextipac, Zapopan, 45200, Jalisco, México.

² Departamento de Biología Celular y Molecular, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, Universidad de Guadalajara, Camino Ramón Padilla Sánchez 2100, Nextipac, Zapopan, 45200, Jalisco, México.

³ Departamento de Ciencias Biológicas, Centro Universitario de la Costa, Universidad de Guadalajara, Avenida Universidad 203, Delegación Ixtapa, Puerto Vallarta 48280, Jalisco, México.

*Autor para correspondencia: fabian.rzaragoza@academicos.udg.mx

(Recibido: febrero 2014; aceptado: junio 2024)

Palabras clave: contaminación, microorganismos, capacidad de resistencia, puertos marítimos, sedimento.

RESUMEN

El tributilestaño (TBT) es un compuesto altamente tóxico y persistente que representa una serie de riesgos para el ambiente, principalmente en los sedimentos de los puertos marítimos. La búsqueda de microorganismos con capacidad de tolerancia al compuesto tóxico genera un recurso importante como indicadores o incluso potenciales degradadores del compuesto. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de resistencia y la máxima concentración de tolerancia al TBT de aislados bacterianos de los sedimentos de la Bahía de Manzanillo. Se inocularon bacterias en diferentes concentraciones de TBT (0.42, 0.82, 1.26, 2.5, 3.75, 5 y 7.5 mM). Las especies *Cobetia* sp., *Pseudoalteromonas* sp., *Vibrio toranziae* y *V. alginolyticus* demostraron tener la capacidad de tolerar 420 µM, 820 µM, 1.26 mM, 2.5 mM, 3.75 mM, siendo esta última la concentración más alta. Nuestros resultados aportan información necesaria para evaluar si las bacterias tolerantes al TBT pueden reducir el compuesto a metabolitos menos tóxicos y facilitar la biorremediación de los ecosistemas contaminados.

Key words: pollution, microorganisms, resistance capacity, seaports, sediment.

ABSTRACT

Tributyltin (TBT) is a highly toxic and persistent compound representing a series of environmental risks, mainly in the sediments of maritime ports. The search for microorganisms that can tolerate the toxic compound generates an important resource as

indicators or even potential degraders of the compound. This work aimed to evaluate the resistance capacity and the maximum concentration of tolerance to TBT of bacterial strains isolated from the sediments of Manzanillo Bay. Strains were inoculated at different TBT concentrations (0.42, 0.82, 1.26, 2.5, 3.75, 5 y 7.5 mM). *Cobetia* sp., *Pseudoalteromonas* sp., *Vibrio toranzoniae*, and *V. alginolyticus* are species that showed the ability to resist 420 μ M, 820 μ M, 1.26 mM, 2.5 mM, 3.75 mM, the last one being the highest concentration. Our results provide the necessary information to evaluate whether TBT-tolerant bacteria could reduce the compound to less toxic metabolites and be potential for the bioremediation of contaminated ecosystems.

INTRODUCCIÓN

El tributilestaño (TBT) es un compuesto organoestañoso que se utilizó como principal aditivo en pinturas antiincrustantes desde la década de los años sesenta (Cruz et al. 2007). Fue causante de una contaminación importante en ambientes marinos al ser un compuesto poco hidrosoluble y de carácter lipofílico que ocasionó una persistencia alta en el ambiente (Barreiro et al. 2004, Rodríguez-Romero 2010). Esto produjo una bioacumulación del TBT en tejidos de invertebrados, peces, aves y mamíferos; particularmente en ostras este compuesto provoca una disminución en el grosor de su concha, mientras que en gasterópodos genera una disrupción endocrina conocida como imposex (Gibbs et al. 1987, Chacón et al. 2007). La Organización Marítima Internacional (OMI) adoptó medidas para controlar los impactos ambientales relacionados con el uso del tributilestaño en pinturas para embarcaciones, estableciendo la prohibición total de su uso en el año 2003 y haciéndose efectivo hasta el 2008 (Bigatti et al. 2013).

La toxicidad del compuesto y su gran persistencia en los ecosistemas, principalmente en sedimentos de puertos marítimos y zonas aledañas a ellos (de Castro et al. 2012, Bigatti et al. 2013), provocó el interés en la comunidad científica por aquellos microorganismos con la capacidad de tolerar e incluso degradar dicho contaminante (Wuertz et al. 1991, Jude et al. 1996, Dubey et al. 2006, Cruz et al. 2007, 2015, Mohamat-Yusuff et al. 2014, Ebah et al. 2016, Liu et al. 2019). Las bacterias han sido señaladas como uno de los principales microorganismos con capacidad de degradación (Dubey y Roy 2003, Cooney et al. 1995, Mohamat-Yusuff et al. 2014) y son consideradas como organismos potenciales para la biodegradación del TBT en sitios contaminados (Monteiro et al. 2021).

La tolerancia de las bacterias al TBT está limitada a la capacidad de la especie porque se ha

observado que el compuesto puede llegar a causar efectos negativos en ellas. Por ejemplo, Dubey et al. (2006) reportaron que la cepa bacteriana *Pseudomonas aeruginosa* 25W aislada del mar arábigo, es altamente resistente al TBT a una concentración de 50 μ M, sin embargo, en concentraciones altas (500 μ M) la bacteria presenta efectos transcripcionales, generando tensiones que darían lugar a una inhibición de la transcripción de genes involucrados en la traducción, post-traducción y degradación. Además, se ha reportado que especies de los géneros *Alteromonas*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Enterobacter*, *Kurthi*, *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas* y *Listeria* tienen la capacidad de resistir una concentración de 3 mM, la más alta reportada de TBT para bacterias (Cruz et al. 2007, Monteiro et al. 2021). Particularmente, se ha evidenciado que la mayoría de las bacterias tolerantes a compuestos organoestañosos son Gram negativas, posiblemente debido a que el grupo presenta mayor abundancia en ambientes marinos (Wuertz et al. 1991, Jude et al. 1996, Cruz et al. 2007, 2013).

El Puerto de Manzanillo se caracteriza por ser uno de los cuatro puertos más destacados en México y el más importante del litoral del Pacífico (ININVESTAM 2018); registra un intenso tráfico marítimo por ser área de influencia para rutas nacionales e internacionales (ASIPONA 2018). Debido a ello, el Puerto de Manzanillo es una zona potencial para la presencia de TBT y por consiguiente de bacterias con capacidad de tolerar tal contaminante. El objetivo de este trabajo fue evaluar la capacidad de tolerancia y la máxima concentración de tolerancia al TBT de las bacterias marinas heterótroficas aisladas del sedimento de la Bahía de Manzanillo, Colima, México. Los resultados aportarán información de línea base respecto a bacterias que toleran el TBT, las cuales podrían ser utilizadas para degradar el TBT en el Puerto de Manzanillo, como una estrategia de mitigación del contaminante y reducir los efectos dañinos en los ecosistemas marinos.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio fue la Bahía de Manzanillo, Colima, México ($19^{\circ}03'08''\text{N}$; $104^{\circ}18'57''\text{O}$), donde se seleccionaron tres sitios de muestreo en función a la cercanía con el puerto: i) Carrizales está localizado al noroeste de la bahía y presenta el menor impacto antrópico al considerarse lugar de pesca tradicional y actividades turísticas, posee una cobertura de coral considerable con estructuras arrecifales con un espesor >3 m y extensión de 4 ha. (Chávez-Comparán y Macías- Zamora 2006); ii) Punta Santiago se ubica en el centro de la bahía a seis kilómetros de la entrada al Puerto, la cual es un sitio impactado altamente por la pesca artesanal legal e ilegal, actividades turísticas, sedimentación generada por los aportes de la laguna de Juluapán y por contaminación de aguas residuales de la ciudad y del Puerto de Manzanillo; iii) La entrada al Puerto de Manzanillo es también un sitio impactado por aguas residuales, químicos y aceites de los barcos, así como por contaminantes que se encuentren en áreas de almacenaje (Fig. 1).

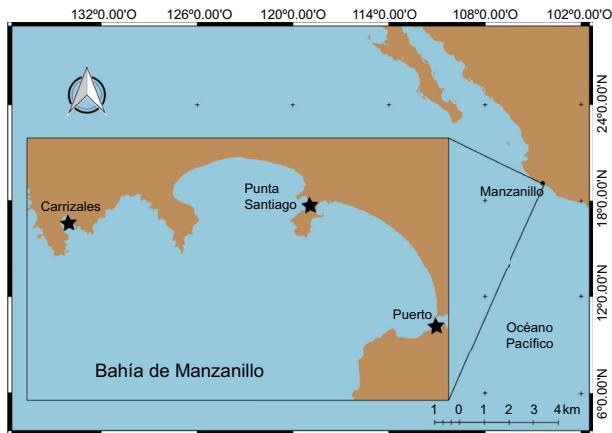


Fig. 1. Área de estudio y sitios de muestreo en la bahía de Manzanillo, Colima, México.

Los muestreos se realizaron en los meses de julio del 2016 y enero del 2017. En cada sitio de muestreo se recolectaron muestras por triplicado de la capa superficial del sedimento a profundidades entre 5 a 10 m. La distancia entre las réplicas fue entre 5 a 8 m para garantizar su independencia. En este trabajo se consideró que la variación temporal no fue importante para la identificación de bacterias tolerantes al TBT, lo que permitió incrementar el número de réplicas.

Para obtener la mayor cantidad de aislados posibles en el laboratorio se realizaron dos técnicas de

aislamiento bacteriano para cada réplica (o muestra): 1) Por agitación, donde cada muestra fue sometida a agitación constante en lapsos de un minuto con cuatro repeticiones por muestra. El líquido fue transferido a microtubos estériles de 1.5 mL. Posteriormente, las células fueron concentradas por centrifugación a 12 000 rpm durante dos minutos y el botón fue resuspendido en un 1 mL en agua de mar estéril. Despues se realizaron diluciones seriales de 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5} con agua de mar estéril para cada una de las muestras. Finalmente, se tomaron 100 μL de cada dilución y se sembraron por separado en medio Zobell marino. 2) Estampado en placa, donde una parte del sedimento fue transferida a una caja Petri estéril y con un algodón humedecido con agua de mar estéril se tomó sedimento de la placa y se estampó en otra caja de Petri con medio Zobell marino. El estampado se realizó varias veces en dirección de las manecillas del reloj a manera de dilución (Mincer et al. 2002, Becerril 2011). En ambas técnicas, las bacterias fueron sembradas en medio Zobell marino: levadura (1 g), bactopeptona (5 g), cloruro férreo a 1 % (1 mL), agar (13 g), en 1 L de agua de mar filtrada a través de filtros de poro a 0.22 micras e incubadas de cinco a siete días a 28°C para favorecer el crecimiento bacteriano. Los aislados bacterianos obtenidos se criopreservaron en glicerol a 45 %.

Prueba de tolerancia al TBT

Las bacterias aisladas fueron utilizadas para las pruebas de tolerancia al TBT. Para esto se prepararon cajas Petri con medio sólido Zobell marino sin TBT (testigo positivo) y con adición de TBT en diferentes concentraciones: 420 μM , 820 μM , 1.26 mM, 2.5 mM, 3.75 mM, 5 mM y 7.5 mM. Todos los aislados bacterianos se inocularon mediante estriado y se incubaron por cinco días a 28°C en la oscuridad. Posteriormente, se registraron los aislados que presentaron crecimiento en las diferentes concentraciones de TBT.

El diseño experimental utilizado para analizar los datos fue de dos vías con factores cruzados y de efecto fijo (modelo tipo I). El primer factor analizó la variación espacial de los sitios de muestreo (Carrizales, Punta Santiago y Puerto), mientras que el segundo corresponde a las concentraciones de TBT (420 μM , 820 μM , 1.26 mM, 2.5 mM, 3.75 mM). Las concentraciones de 5 y 7.5 mM no fueron consideradas en el análisis porque ninguna bacteria fue tolerante a estos niveles de TBT. Este diseño fue considerado de forma aditiva (sin interacción) por la gran cantidad de ceros encontrados debido a un número alto de bacterias intolerantes al TBT, el cual se expresó de la siguiente manera:

$$Y = \mu + S_i + C_j + e_{ij} \quad (1)$$

donde Y es la variable de respuesta; μ es la media; S_i es el factor espacial de los sitios de muestreo; C_j es el factor que corresponde a las concentraciones evaluadas del TBT; e_{ij} es el error acumulado de los factores S_i y M_j . Para analizar la variación del número de aislados bacterianos tolerantes al TBT se utilizó un análisis de varianza (Andeva) permutacional, ya que los datos no cumplieron con los supuestos estadísticos paramétricos. El Andeva permutacional se hizo con el diseño antes mencionado y con una matriz de distancia euclíadiana. La significancia estadística de la prueba global se probó con 10 000 permutaciones de residuales bajo un modelo reducido y la suma de cuadrados tipo III. Las pruebas a posteriori usaron un método Monte-Carlo para evaluar su significancia estadística debido a un número bajo de permutaciones (< 100). Además, visualmente se mostraron los resultados con gráficos de barras y bigotes, así como de barras apiladas. Estos análisis se hicieron en Primer 7 (Anderson et al. 2008, Clarke y Gorley 2015).

Identificación molecular

Aquellos aislados que demostraron capacidad de tolerancia en la mayoría de las concentraciones con TBT fueron identificados por la extracción de ADN genómico con el uso del kit de extracción Dneasy blood and tissue, Qiagen®, siguiendo las indicaciones del fabricante. Se amplificó el gen ribosomal 16S por la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), con el par de cebadores: 27F (5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3') y 1492R (5'-TAC CTT GTT ACG ACT T-3'). Todas las reacciones de PCR se realizaron a un volumen total de 25 μ L, con concentraciones finales de 1.5 μ g/mL de ADN, 0.8 mM de los cebadores, Dream Taq Green Master Mix (2X) (#K1081) de Thermo Scientific® (0.2 mM dNTPs y 2 mM Mg Cl₂), con base en las siguientes condiciones: 1) Desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 min; 2) 30 ciclos a 95 °C durante 1 min, 56 °C durante 1 min, y 72 °C durante 1 min; 3) Una extensión final de 10 min a 72 °C. Los productos de PCR se visualizaron en geles de agarosa al 1 %. Los fragmentos de PCR se purificaron mediante el kit "GenEluteTM Gel Extraction" (NA1111 Sigma-Aldrich®), siguiendo las indicaciones del fabricante. Despues, los fragmentos purificados se enviaron a secuenciar al Instituto de Biotecnología (IBT) de la Universidad Nacional Autónoma de México. Las secuencias obtenidas fueron analizadas para determinar su calidad mediante el programa Chromas (Technelysium, DNA Sequencing Software),

el alineamiento (Blast) se realizó en bases de datos de secuencias nucleótidas como el sitio web del GeneBank. Se consideró un porcentaje de similaridad de la secuencia por encima de 98 % para la especie y una similaridad de mínimo 90 % para el género.

RESULTADOS

Se obtuvo un total de 118 aislados bacterianos de los sedimentos de las tres localidades de Bahía de Manzanillo. Del total de aislados, 50 toleraron alguna concentración de TBT, 19 correspondieron a aislados del Puerto, 18 de Carrizales y 13 de Punta Santiago (**Fig. 2a** y **2b**). De los 50 tolerantes al TBT se seleccionaron siete que presentaron la capacidad de crecer en las cinco concentraciones 420 μ M, 820 μ M, 1.26 mM, 2.5 mM, 3.75 mM, siendo esta última la concentración más alta para este trabajo. Los resultados del Andeva permutacional mostraron diferencias significativas en el número de aislados bacterianos resistentes al TBT en los factores de Sitio (Pseudo-F = 5.1949, $p = 0.0335$) y Concentración (Pseudo-F = 4.1653, $p = 0.0394$) con una explicación total del modelo del 66 %. Sin embargo, en las pruebas a posteriori no se encontraron diferencias significativas en ambos factores por el número bajo de permutaciones. De manera general, la concentración de 420 μ M de TBT tuvo el mayor número de aislados tolerantes al TBT, mientras que las concentraciones de 2.5 mM y 3.75 mM tuvieron los valores más bajos (**Fig. 2c**). Cinco de estos aislados correspondieron a bacterias recolectadas del Puerto, una bacteria *Pseudoalteromonas* sp., dos de *Vibrio alginolyticus* y una correspondiente a *V. toranzoniae* y otro aislado P3MZ16.7. En cambio, las otras dos bacterias fueron aisladas de Carrizales, una fue *Cobetia* sp. y la otra *Pseudoalteromonas* sp. (**Cuadro I**).

DISCUSIÓN

La localidad del Puerto de Manzanillo es considerada, de manera indirecta, el sitio con el mayor grado de contaminación de TBT. Se sugiere que los puertos son fuentes de contaminación de compuestos de estaño debido a la alta actividad por el flujo de embarcaciones, tanto nacionales como internacionales, (Villegas et al. 2021). Aunado a lo anterior, Domínguez-Ojeda et al. (2015), demostraron una tendencia de aumento de los niveles de imposex (fenómeno causado por la presencia de compuestos organoestañosos) cerca a los puertos. Lo que indica

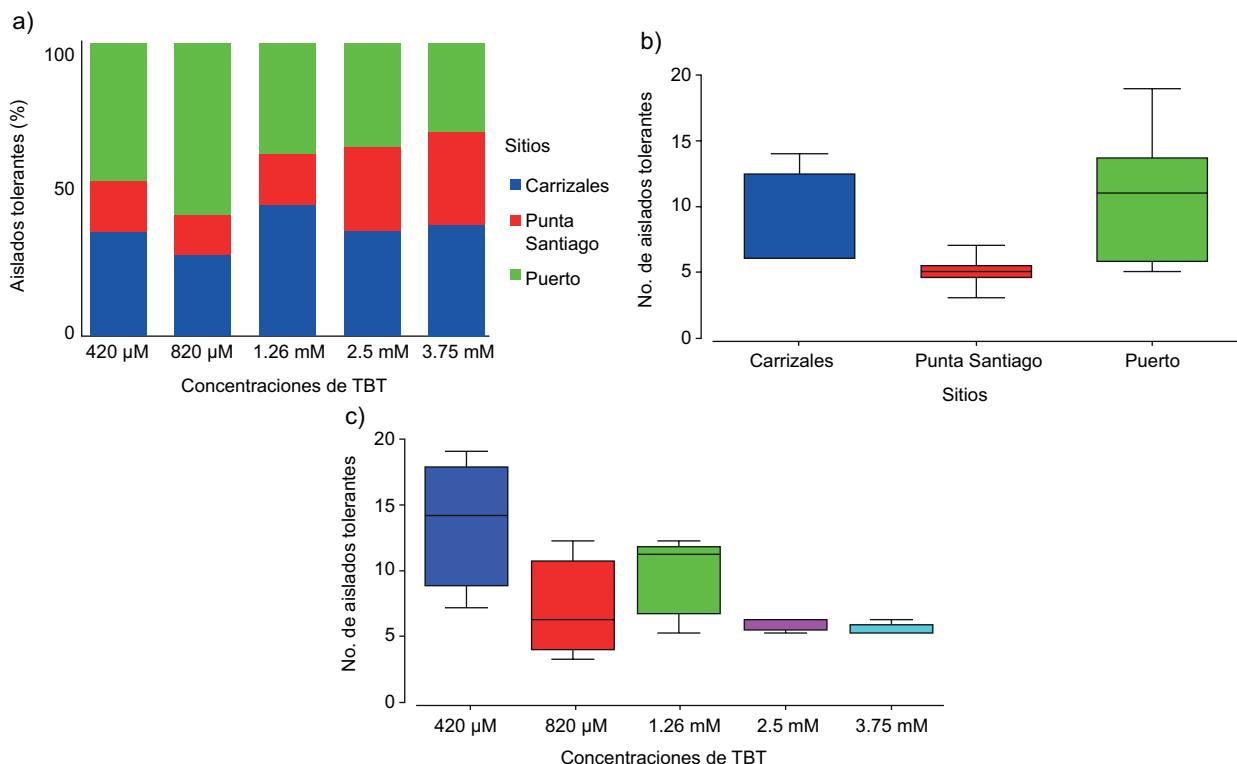


Fig. 2. Bacterias tolerantes al tributilestaño (TBT). a) porcentajes de los aislados a diferentes concentraciones de TBT en los sitios de muestreo. b) y c) número de aislados bacterianos entre sitios y concentraciones de TBT, respectivamente. Se muestran los percentiles del 95 % y 5 % como barras de error, la caja representa los percentiles del 75 % y 25 %, y la mediana se muestra como una línea continua

CUADRO I. BACTERIAS TOLERANTES AL TRIBUTILESTAÑO (TBT) (420 µM-3.75 mM), AISLADAS DE LOS SEDIMENTOS DE LA BAHÍA DE MANZANILLO COLIMA, MÉXICO.

Código del aislado	Año de colecta	Localidad	Especie	Número de acceso GenBank-NCBI
P1MZ16.9	2016	Puerto	<i>Vibrio toranzoniae</i>	SUB13862709/OR603035
P3MZ16.7	2016	Puerto	Sin identificar	
Ca1MZ17.6	2017	Carrizales	<i>Cobetia</i> sp.	SUB13862709/OR603034
P2MZ17.6	2017	Puerto	<i>Vibrio alginolyticus</i>	SUB13862709/OR603036
P1MZ17.12	2017	Puerto	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	SUB13862709/OR603032
Ca1MZ17.2	2017	Carrizales	<i>Pseudoalteromonas</i> sp.	SUB13862709/OR603033
P3MZ17.10	2017	Puerto	<i>Vibrio alginolyticus</i>	SUB13862709/OR603037

Nota: Los códigos de los aislados bacterianos representan la localidad (P es puerto, Ca es carrizales) y año (16 es 2016, 17 es 2017) de colecta en el Puerto de Manzanillo (MZ). Los números después de los códigos P y Ca corresponden al número de muestra recolectada en campo, mientras que el número seguido después de los códigos de los años (16 y 17), más un punto, corresponden al número de aislado bacteriano de una misma muestra.

que los puertos podrían estar siendo la fuente principal de contaminación de TBT.

Los sitios contaminados con TBT podrían actuar como un medio selectivo para bacterias resistentes

a este agente (Wuertz et al. 1991), caso que corroboramos en nuestro trabajo, donde el modelo indica diferencias entre el número de bacterias tolerantes entre los sitios. En el caso de la localidad Puerto

se encontró un mayor número de bacterias tolerantes, algunas con la capacidad de resistir todas las concentraciones hasta 375 mM. Carrizales, el sitio más alejado del Puerto, también registró un número considerable de aislados tolerantes al contaminante. Caso contrario de la localidad de Punta Santiago, que registró el menor número de bacterias y ninguna de ellas con la capacidad de resistir las cinco concentraciones de TBT (**Fig. 2b**). Esto podría deberse a que este último tiene la menor concentración de este agente tóxico, a pesar de su cercanía al Puerto. La dinámica de las corrientes marinas en la Bahía de Manzanillo se caracteriza por dirigirse hacia el exterior de la Bahía de Santiago a través de Punta Juluapan para luego dirigirse al sureste, rumbo a Punta Campos (Lancin y Carranza 1976), es decir, hacia el exterior de la Bahía de Manzanillo, lo que permite que los sedimentos no se acumulen en la Bahía de Santiago. Aunado a ello, Ahumada-Martínez et al. (2018) reportaron la presencia de moluscos con tumores debido a la presencia de monobutilestaño (MBT) en zonas cercanas al puerto de Manzanillo, siendo Carrizales una de ellas. Lo anterior explicaría porque encontramos la menor cantidad de aislados tolerantes a TBT en Punta Santiago a diferencia de las localidades como el Puerto y Carrizales.

La concentración máxima tolerante para algunas de las bacterias al TBT en este trabajo fue de 3.75 mM, un valor similar a lo reportado por Cruz et al. (2007), quienes encontraron 16 bacterias capaces de resistir una concentración de 3 mM, la mayoría de ellas aisladas del sedimento marino, y en menor proporción, de agua de mar. De igual forma, Montei-
ro et al. (2021) reportaron 157 aislados bacterianos tolerantes a 3 mM y dos con la capacidad de tolerar hasta 6 mM de TBT. Lo anterior hace evidente que las bacterias presentes de forma natural en los puertos pueden tolerar el TBT a niveles elevados y transformarlo en compuestos menos tóxicos, lo que contribuye a la restauración del ecosistema.

Las bacterias identificadas en este trabajo por su capacidad de tolerancia a cinco de las siete concentraciones de TBT, pertenecen a los géneros *Cobetia*, *Pseudoalteromonas* y *Vibrio*. El género *Pseudoalteromonas* ha sido reportado por presentar capacidad de resistencia a compuestos organoestañosos. Mimura et al. (2008) observaron en cultivos de medio líquido con cloruro de tributilestaño (TBT-Cl), moléculas de TBT absorbidas por las células bacterianas *Pseudoalteromonas* sp. en una concentración mayor a 10 μ M. De igual forma ocurre para el género *Vibrio*, Fukagawa et al. (1992) reportaron la tolerancia de la bacteria *Vibrio* M-1, aislada de agua de mar, a una

concentración de 125 μ M de TBT-Cl; además, en cultivos en medio líquido con la misma concentración de TBT-Cl, esta bacteria evidenció su capacidad de degradar el TBT-Cl, al encontrar menor porcentaje del contaminante en los bioensayos realizados. A diferencia de la concentración de TBT antes mencionada, en este trabajo *Pseudoalteromonas* y *Vibrio* son capaces de resistir hasta 3.75 mM de TBT. En el caso de *Cobetia*, no se tienen registros de este grupo con relación a compuestos de estaño. Sin embargo, Villela et al. (2023) resaltaron la importancia de grupos bacterianos en la biorremediación de sitios contaminados por hidrocarburos, entre ellos *Cobetia* sp.

La capacidad que desarrollaron estas bacterias al tolerar la presencia de compuestos organoestañosos, las convierte en un recurso importante como indicadoras o incluso como potenciales biorremediadoras de sitios contaminados, ya que es muy probable que tengan la capacidad de degradar el compuesto a metabolitos menos tóxicos y así disminuir las concentraciones del compuesto en las áreas naturales. A pesar de que en la literatura no se tienen reportes de la degradación de compuestos organoestañosos por parte de los géneros *Cobetia* y *Pseudoalteromonas*, podría ser el caso de nuevas bacterias con un papel relevante en la biodegradación. Por ello es importante continuar con los estudios e incrementar el conocimiento sobre bacterias degradadoras del TBT, con la finalidad de crear estrategias de eliminación de sustancias químicas y tóxicas del ambiente marino.

CONCLUSIÓN

Los puertos marítimos son lugares tradicionalmente contaminados y, por consiguiente, son medios selectivos para bacterias con mecanismos desarrollados para la tolerancia y degradación de compuestos tóxicos. En este trabajo encontramos bacterias con la capacidad de tolerar diferentes concentraciones de TBT, siendo la más alta de 3.75 mM, destacando los géneros *Cobetia*, *Pseudoalteromonas* y *Vibrio*. Cabe mencionar que este trabajo representa uno de los primeros acercamientos respecto al conocimiento de bacterias tolerantes al TBT en México. A pesar de la prohibición del TBT hace 15 años, la persistencia del contaminante y de subproductos del mismo, siguen siendo motivo de preocupación. Es necesario seguir con los estudios para las bacterias que demostraron capacidad de tolerancia al TBT y evaluar su posible potencial de utilizar el compuesto como fuente de carbono, y así confirmar su capacidad para su uso en biorremediación ambiental para las zonas contaminadas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos a Arizbeth Alonso Domínguez, María del Carmen Esqueda González y Cristian Galván Villa por su ayuda en la logística y apoyo durante los muestreos, así como a María Evangelina López Cisneros y Celeste Cervantes Castillo por su apoyo durante el trabajo de laboratorio. Se agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca de maestría (441038) otorgada a EAC.

REFERENCIAS

- Ahumada-Martínez O., Hernandez-López J. y A Liñán-Cabello M. (2018). Occurrence of tumors among gastropods *Plicopurpura pansa* (Gastropoda: Neogastropoda) in the Port of Manzanillo, México. Environmental Science and Pollution Research 25, 24064-24072. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2369-4>
- Anderson M.J., Gorely R.N., Clarke K.R. (2008). Permanova+Primer: Guide to Software and Statistical Methods. Primer-E, Plymouth, Reino Unido, 214 pp.
- ASIPONA (2018). Programa maestro de desarrollo portuario de los puertos de Manzanillo y laguna de Cuyutlán 2015-2020. Administración Portuaria Integral de Manzanillo S.A. de C.V. Manzanillo, México, 69 pp.
- Barreiro R., Quintela M. y Ruiz J. M. (2004). TBT e imposex en Galicia: los efectos de un disruptor endocrino en poblaciones de gasterópodos marinos. Ecosistemas 13 (3), 13-29.
- Becerril A. E. (2011). Actinobacterias aisladas del sedimento marino del Golfo de California y Bahía de Todos los Santos: diversidad, bioactividad y dominios cetosintetasa. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, México, 199 pp.
- Bigatti G., Averbuj A., Braga Castro I., Primost M., Caranza Á., Commendatore M., Fillmann G., Delgado E., Scarabino F., Franco M., Letamendía M., Martínez G., Sauco S. y Penchaszadeh PE. (2013). Situación de contaminación en las costas del sur de Brasil, Uruguay y Argentina, luego de la prohibición mundial del TBT. En: Nuevas miradas a la problemática de los ambientes costeros: sur de Brasil, Uruguay y Argentina. (R. Álvaro y S. Marcomini, Eds.). Croquis, Buenos Aires, Argentina, pp. 277-302.
- Chacón Ó., Cuevas F., De La Fuente C., Díaz F. y Huaquín L. (2007). Disrupción endocrina e imposex. Avances en Ciencias Veterinarias 22, 42-48. <http://doi.org/10.5354/0716-260X.2007.912>
- Chávez-Comparán J.C. y Macías-Zamora R. (2006). Structure of reef fish communities in the littoral of Colima, Mexico. Journal of Biological Sciences 6, 65-75. <http://doi.org/10.3923/jbs.2006.65.75>
- Clarke K.R. y Gorley R.N. (2015). Primer v7: User manual/tutorial. Primer-E, Plymouth, Reino Unido.
- Cooney J.J. (1995). Organotin compounds and aquatic bacteria: A review. Helgoländer Meeresuntersuchungen 49, 663-677. <http://doi.org/10.1007/BF02368390>
- Cruz A., Anselmo A.M., Suzuki S. y Mendo S. (2015). Tributyltin (TBT): A Review on Microbial Resistance and Degradation. Critical Reviews in Environmental Science and Technology 45 (9), 970-1006. <http://dx.doi.org/10.1080/10643389.2014.924181>
- Cruz A., Caetano T., Suzuki S. y Mendo S. (2007). *Aeromonas veronii*, a tributyltin (TBT)-degrading bacterium isolated from an estuarine environment, Ria de Aveiro in Portugal. Marine Environmental Research 64 (5), 639-650. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2007.06.006>
- Cruz A., Micaelo N., Félix V., Song J.Y., Kitamura S.I., Suzuki S. y Mendo S. (2013). sugE: a gene involved in tributyltin (TBT) resistance of *Aeromonas mолосcorум* Av27. The Journal of General and Applied Microbiology 59 (1), 39-47. <https://doi.org/10.2323/jgam.59.47>
- de Castro I.B., Perina F.C. y Fillmann G. (2012). Organotin contamination in South American coastal areas. Environmental Monitoring and Assessment 184, 1781-1799. <http://doi.org/10.1007/s10661-011-2078-7>
- Domínguez-Ojeda D., Patrón-Soberano O.A., Nieto-Navarro J.T., Robledo-Marencio M.D.L. y Velázquez-Fernández J.B. (2015). Imposex in *Plicopurpura pansa* (Neogastropoda: Thaididae) in Nayarit and Sinaloa, México. Revista Mexicana de Biodiversidad 86 (2), 531-534. <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmb.2015.04.018>
- Dubey S.K., Tokashiki T. y Suzuki S. (2006). Microarray-mediated transcriptome analysis of the tributyltin (TBT)-resistant bacterium *Pseudomonas aeruginosa* 25W in the presence of TBT. Journal of Microbiology Seoul 44 (2), 200.
- Dubey S.K. y Roy U. (2003). Biodegradation of tributyltins (organotins) by marine bacteria. Applied Organometallic Chemistry 17 (1), 3-8. <https://doi.org/10.1002/aoc.394>
- Ebah E., Ichor T. y Okpokwasili G.C. (2016). Isolation and biological characterization of tributyltin degrading bacterial from Onne port sediment. Open Journal of Marine Science 6 (2), 193-199. <http://dx.doi.org/10.4236/ojms.2016.62015>
- Fukagawa T., Suzuki S., Fukunaga K., Suzuki T. y Takama K. (1992). Isolation and characterization of

- tributyltin chloride-resistant marine *Vibrio*. FEMS Microbiology Letters 93 (1), 83-86. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1992.tb05044.x>
- Gibbs P.E., Bryan G.W., Pascoe P.L. y Burt G.R. (1987). The use of the dog-whelk, *Nucella lapillus*, as an indicator of tributyltin (TBT) contamination. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom 67 (3), 507-523. <https://doi.org/10.1017/S0025315400027260>
- ININVESTAM (2018). Análisis de funcionalidad del puerto de Manzanillo bajo el esquema de la administración portuaria integral. Instituto de Investigaciones Estratégicas de la Armada de México. Manzanillo, México, 25 pp.
- Jude F., Capdepuy M., Quentin C., Lascourrèges J.F. y Caumette P. (1996). Evaluation of tributyltin resistance in marine sediment bacteria. Canadian Journal of Microbiology 42 (6), 525-532. <https://doi.org/10.1139/m96-071>
- Lancin M. y Carranza A. (1976). Estudio geomorfológico de la bahía y de la playa de Santiago en Manzanillo, Colima. Revista Mexicana de Ciencias Geológicas (2), 43-66.
- Liu J., Lin H., Dong Y. y Li B. (2019). Elucidating the biodegradation mechanism of tributyl phosphate (TBP) by *Sphingomonas* sp. isolated from TBP-contaminated mine tailings. Environmental Pollution 250, 284-291. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.127>
- Mimura H., Sato R., Furuyama Y., Taniike A., Yagi M., Yoshida K. y Kitamura A. (2008). Adsorption of tributyltin by tributyltin resistant marine *Pseudoalteromonas* sp. cells. Marine Pollution Bulletin 57 (6-12), 877-882. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.03.029>
- Mincer C., Jensen P.R., Kauffman C.A. y Fenical W. (2002). Widespread and persistent populations of a major new marine Actinomycete taxon in ocean sediments. Applied Environmental Microbiology (68), 5005-5011. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.10.5005-5011.2002>
- Mohamat-yusuff F., Sien K.W., Lutfi W.A.N., Johari W.A.N., Ismail A., Zahmir S. y Mustafa M. (2014). Potential tributyl-tin (TBT) biodegradation agent in contaminated sediment. Malayan Nature Journal 66, 81-93.
- Monteiro H.R., Moutinho A.B., Campos M.J., Esteves A.C. y Lemos M.F. (2021). Insights into the restoration of tributyltin contaminated environments using marine bacteria from Portuguese fishing ports. Applied Sciences 11 (14), 6411. <https://doi.org/10.3390/app11146411>
- Rodríguez-Romero F. (2010). Imposex en la laguna de Términos, Campeche, México. Revista Científica UDO Agrícola 10 (1), 141-149.
- Villegas S., Iannacone J. y Villegas C.G. (2021). Riesgo ambiental marino por pinturas anti-incrustantes a base de TBT (tributilestaño), sobre el “caracol plomo” *Thaisella chocolata* (Duclos, 1832) empleando al imposex como un bioindicador, en el puerto de Paita, Perú. Luna Azul (53), 76-91. <https://doi.org/10.17151/luaz.2021.53.5>
- Villela H., Modolon F., Schultz J., Delgadillo-Ordoñez N., Carvalho S., Soriano A.U. y Peixoto R.S. (2023). Genome analysis of a coral-associated bacterial consortium highlights complementary hydrocarbon degradation ability and other beneficial mechanisms for the host. Scientific Reports 13 (1), 12273. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-38512-z>
- Wuertz S., Miller C.E., Pfister R.M. y Cooney J.J. (1991). Tributyltin-resistant bacteria from estuarine and freshwater sediments. Applied and Environmental Microbiology 57 (10), 2783-2789. <https://doi.org/10.1128/aem.57.10.2783-2789.1991>