

8. ESTUDIO FILOGENÉTICO DE CEPAS AISLADAS DEL LAGO-CRÁTER “RINCÓN DE PARANGUEO”

Rivera-Martínez, Laura-Guadalupe^{1✉}; *Bertin, Pierre*²; *Caretta, César-A.*³; *Guyoneaud, Rémy*⁴; *Goni, Marisol*⁴; *Malm, Olaf*⁵; *Valerdi-Negreros, Julio-César*⁶; *Souza-Brito, Elcia-Margareth*⁶.

¹Depto. de Biología, DCNyE, UG, ²U. Paris Sud, Francia, ³Depto. de Astronomía, DCNyE, UG, ⁴U. Pau et de Pays de L' Adours, Francia, ⁵Inst. Biofisica Carlos Chagas (LREPF-IBCC, URFJ), Brasil, ⁶Ing. Ambiental, DI, UG.

e-mail: ^{1✉}laguarima.91@hotmail.com

ABSTRACT

*Rincón de Parangueo is a Quaternary maar located in Valle de Santiago, Guanajuato inside the Michoacan-Guanajuato volcanic field in the central part of the Trans Mexican Volcanic Belt [2]. Rincón de Parangueo crater-lake is considered phreatomagmatic because was originated by the explosive interaction between magma and underground water. It can be deduced by its local geology that was formed by the eruption of six volcanoes. This maar is the largest crater lake in this volcanic region [2, 3]. In the last decades the crater lakes have presented dessication caused by the drawdown in the Valle de Santiago-Salamanca aquifer. Rincón de Parangueo crater lake water's showed high salinity, formation of carbonates/bicarbonates crystals and pH 9 to 12 (during the dry season) [1]. Moreover, geographic isolation and the physical-chemical parameters, the crater-lake is classified as an extreme habitat that allows the development of specialized microorganisms that tolerate osmotic stress. These extreme habitats are of biotechnological interest, for microbial diversity studies and for physiological studies in extreme conditions, due to the characteristics they can present [4]. In the present project the bioprospection of anaerobic microorganisms of Rincon de Parangueo crater-lake was performed, especially with regard to the isolation of Sulfate-Reducing Bacteria (SRB). In addition, the chemical (concentrations of Zn, Fe, Cu and Mn) and microbiological (bacterial biomass and exopolysaccharide 85.5% y 14.4% in weigh, respectively) characterization was made. And the total biodiversity was verified by NGS (MiSeq). The obtained isolates were related (by 16S rDNA gene sequencing) to *Tindallia californesis*, *Alkalibacterium psychrotolerans*, *Ectothiorhodospira variabilis* and *Clostridium bifermentans* species.*

Keywords: *Bioprospecting, biotechnology, SRB, NGS.*

RESUMEN

El Rincón de Parangueo es un maar Cuaternario localizado en Valle de Santiago, Guanajuato dentro del Campo Volcánico Michoacán-Guanajuato, en la parte central de la Faja Volcánica Transmexicana (FVTM). El cráter lago Rincón de Parangueo es considerado freatomagmático porque fue originado por una interacción explosiva entre el magma y el agua subterránea. Se puede deducir por su geología local que fue formado por la erupción de seis volcanes. Este es el cráter lago más grande en la región volcánica FVTM [2, 3]. En

las últimas décadas los cráteres lagos han presentado desecación causada por la sobreexplotación del acuífero del Valle de Santiago- Salamanca. La química del agua del lago cráter del Rincón de Parangueo muestra una alta salinidad, formación de cristales de carbonatos/bicarbonatos y un pH elevado de 9 a 12 (durante la estación seca) [1]. Sin embargo, el aislamiento geográfico y los parámetros físicoquímico, el cráter lago es clasificado como un habitat extremo que permite el desarrollo de microorganismos especializados que toleran el estrés osmótico. Estos hábitats extremos son de interés biotecnológico, la diversidad microbiana y las características fisiológicas que presentan [4]. En este proyecto se abordó la biospección de microorganismos anaeróbicos del cráter lago Rincón de Parangueo, especialmente el aislamiento de Bacterias Sulfato Reductoras (BSR). Además, se realizó la caracterización química (concentraciones de Zn, Fe, Cu y Mn) y microbiológica (biomasa bacteriana y exopolisacáridos, 85.5% y 14.5% en peso, respectivamente). La biodiversidad total fue analizada por NGS (MiSeq). Los aislados obtenidos fueron identificados (por la secuenciación del gen 16S ADNr) a *Tindallia californesis*, *Alkalibacterium psychrotolerans*, *Ectothiorhodospira variabilis* y *Clostridium bif fermentans*

Palabras clave: *Biospección, biotecnología, BSR, SNG*

INTRODUCCIÓN

El agua de los lagos de cráteres en regiones subáridas y templado-áridas muestra una combinación de salinidad y pH elevados [1], lo cual hace que estos cuerpos acuáticos sean clasificados como hábitats extremos, en donde sólo pueden habitar microorganismos especializados llamados extremófilos [4]. De acuerdo a las condiciones en un hábitat extremo se tiene la posibilidad de encontrar microorganismos con una aplicación biotecnológica, por ejemplo, en la transformación de metales y de metaloides. Este ambiente es ideal para el desarrollo de las bacterias sulfato reductoras (BSR), muy importantes desde un punto de vista ecológico para la degradación de la materia orgánica. Estos microorganismos normalmente son organotróficos, con una gran plasticidad metabólica, o sea, pueden utilizar variedad de compuestos orgánicos como el piruvato, acetato, glicerol, lactato, ácidos orgánicos, etc. Además, en condiciones anaeróbicas, utilizan compuestos

de azufre como aceptores de electrones (por ejemplo, el SO_4^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, S^0 , entre otros). Los microorganismos son omnipresentes en el planeta, siendo encontrados en ambientes considerados extremos. A pesar de su omnipresencia, en el laboratorio son muy difíciles de ser cultivados e incluso, se estima que tan solo 1% de los microorganismos del suelo son cultivables en laboratorio, lo que limita el conocimiento de éstos. Por otro lado, actualmente existen herramientas moleculares que nos permite acceder a esa diversidad, como por ejemplo, la secuenciación masiva de los genes de una muestra ambiental. La ecología microbiana es poco explotada en México, aún menos de los ambientes extremos, destacándose algunos trabajos de Cuatreciénegas, lago Achichica y el lago de Texcoco. El lago cráter de Parangueo, también es un ambiente extremo y carece de información respecto de la biodiversidad microbiana presente en el sitio. Una descripción adicional, el interior del lago cráter Rincón de Parangueo albergan estromatolitos, y actualmente tiene riesgo de ser destruido

por las actividades antropogénicas y a la subsidencia del cráter [4]. Así, el objetivo del presente trabajo fue realizar un estudio de metagenómica del gen ADNr 16S por medio de la secuenciación masiva (Illumina MiSeq) para estudiar la biodiversidad bacteriana de los sedimentos superficiales de los lagos del cráter de Rincón de Parangueo. Adicionalmente, se aislaron BSR de este sitio y se realizó un estudio filogenético de estas cepas.

METODOLOGÍA

Colecta y caracterización de las muestras

En septiembre de 2013 se colectaron muestras de sedimento superficial y del agua del lago cráter del Rincón de Parangueo (20°25' N - 101°15' W y 1700 m s.n.m) Valle de Santiago, Guanajuato, Mexico. Se determinaron in situ los parámetros fisicoquímicos (conductividad eléctrica, pH, temperatura, oxígeno disuelto y salinidad) con instrumentos de campo. Para el análisis de los nutrientes [nitrógeno amoniacal (N-NH₃), nitrato (N-NO₃) y fosfatos (P-PO₄₃⁻)] se utilizó el kit comercial HACH®. Los metales se extrajeron por digestión ácida, y se determinaron por espectrofotometría de absorción atómica de flama (Malm y col, 1989). Se determinó la actividad microbiana activa a partir de determinación de las enzimas esterases (hidrólisis de diacetato de fluoresceína, FDA).

Aislamiento de las BSR

Se utilizó un medio mínimo mineral anaeróbico enriquecido con agua del sitio (filtrada y esterilizada a un proporción de 1:1), suplementada con FeSO₄ y S⁰ (acep-

tor de electrones), con lactato, piruvato, glicerol y acetato, como fuentes de carbono. Se adicionó al medio resazurina como indicador de oxidación-reducción. Se mezcló la muestra de agua del lago cráter del Rincón de Parangueo con el medio de cultivo en proporción 1:1 y de este medio de cultivo se le añadió al pre cultivo; después de un pre-cultivo (15 días de incubación) fue utilizado como inóculo preparando diluciones seriadas con medio de cultivo, las cuales se aplicaron en Roll- Tube para el aislamiento de las BSR anaeróbicas estrictas.

Extracción de DNA

Se extrajo DNA de las muestras de suelo con el Kit comercial MoBio y de las bacterias aisladas con el kit Wizard® Genomic DNA. Estos DNAs fueron utilizados como templado para amplificar el gen ADNr 16S por la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), utilizando los oligonucleótidos 8F (5'- GGA TCC AGA CTT TGA TYM TGG CTC AG -3') y 1513R (5'- ATC GGY TAC CTT GTT ACG ACT TC -3'). Las condiciones de amplificación se describen en Rivera-Martinez et al, (2014)[7]. El amplicón obtenido de los aislados se envió a secuenciar en el LANGEBIO-CINVESTAV, mientras que el DNA de las muestras de suelo se envió al Laboratorio de TANDEM (INRA, INP en Toulouse, Francia) para la secuenciación masiva del fragmento V3V4 del gen ADNr 16S.

Secuenciación masiva

El DNA total de las muestras de los sedimentos superficiales fue extraído con el kit comercial PowerSoil MoBio® Labo-

ratories; este DNA se utilizó como templado para la amplificación por PCR del gen ADNr 16S con los oligonucleótidos 8F y 1513R. Este, después de purificado, fue utilizado como templado para amplificar la región V3V4 con los oligonucleótidos 515F y 785R, éstos recibieron sus adaptadores para ser secuenciados en la plataforma Illumina MiSeq. Este análisis se realizó en el Laboratorio de TANDEM (INRA, INP Toulouse, Francia). Para el análisis de los datos se utilizaron los software libres Fastqc (<http://goo.gl/6TUqD>). Luego, se utilizó un conjunto de líneas de comando en secuencia (pipeline) desarrollado por el M. Pierre Bertin de la Université de Paris Sul (comunicación personal del asesor). Para procesar el análisis y el tratamiento de estos datos, la primera etapa consiste en un análisis previo con el *Userach* (Robert C. Edgar[©]). Se aplicó un filtro para eliminar las secuencias quiméricas, comparando nuestras secuencias con las del banco de datos gold.fa. Después, con la tabla de las OTUs resultantes, se realizó un análisis filogenético comparando (por BLAST) con los datos del NCBI para encontrar un perfil de repartición de la biodiversidad.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El cráter lago de Paranguero se caracteriza como extremo de pH, salinidad y conductividad (10, 22.35 g/L y 33.3 mS/cm, respectivamente). La concentración de metales varió entre no detectable para el Zn, hasta 500 mg/g de Fe (Rivera-Martínez et al 2014[7]). El Numero Mas Probable (NMP) de los sedimentos superficiales fue de 2×10^3 cel.ml⁻¹ y la actividad bacteriana de 9.5

$\times 10^3$ μ g de FDA hidrolizado min⁻¹g⁻¹ de muestra. Las muestras presentaron un 86.5% en peso de humedad, 85.5% en peso de biomasa celular y 14.4% de exopolisacáridos. Con respecto a la concentración de los nutrientes se determinó una concentración de 0.25 mg/L de N-NH₃, 0.265 mg/L N-NO₃ y 0.300 mg/L de PO₄³⁻. Basado en estos datos se puede concluir que el Lago de Paranguero es oligotrófico. Posiblemente, la entrada de nutrientes para este puede provenir desde el deslave de las lluvias o por la actividad antropogénica.

La secuenciación masiva (Illumina MiSeq) de los sedimentos superficiales de los lagos produjo 35 061 reads: 20 526 reads para la muestra LG y 14535 reads para LP, los cuales, después de aplicar el *Pipeline* desarrollado por Pierre Bertin (aún no publicado), se redujo a 18 994 reads para LG y 14 466 reads para LP. En este tratamiento se agruparon las secuencias idénticas y se eliminaron las secuencias que aparecen una vez (single-tones) y las quimeras, las últimas comparando nuestros resultados con los datos del *gold.fa* (<http://goo.gl/NUAxxn>). Finalmente, las secuencias resultantes con similitud 97% se agruparon como una unidad taxonómica (OTU's), obteniendo 353 OTUs. De estas mismas muestras, se logró aislar 5 cepas bacterianas anaeróbicas, las cuales, se identificaron similares (Figura 8.1) a las especies *Tindallia californensis* (99% de similitud), *Alkalibacterium psychrotolerans* (99% de similitud), *Ectothiorhodospira variabilis* (99% de similitud) y *Clostridium bifermentans* (99% de similitud).

Comparando la diversidad bacteriana de los dos lagos estudiados, y juntando en un único grupo las poblaciones minori-

tarias del <1% de abundancia relativa. Se pudo observar que estos lagos presentan pequeña diversidad total (6 clases en el lago grande y 8 en el lago pequeño), donde 5 de éstas son comunes a los dos la-

gos (Figura 8.2). Estos datos no difieren respecto a la clasificación de los géneros (9 y 11, respectivamente para lago grande y lago pequeño).

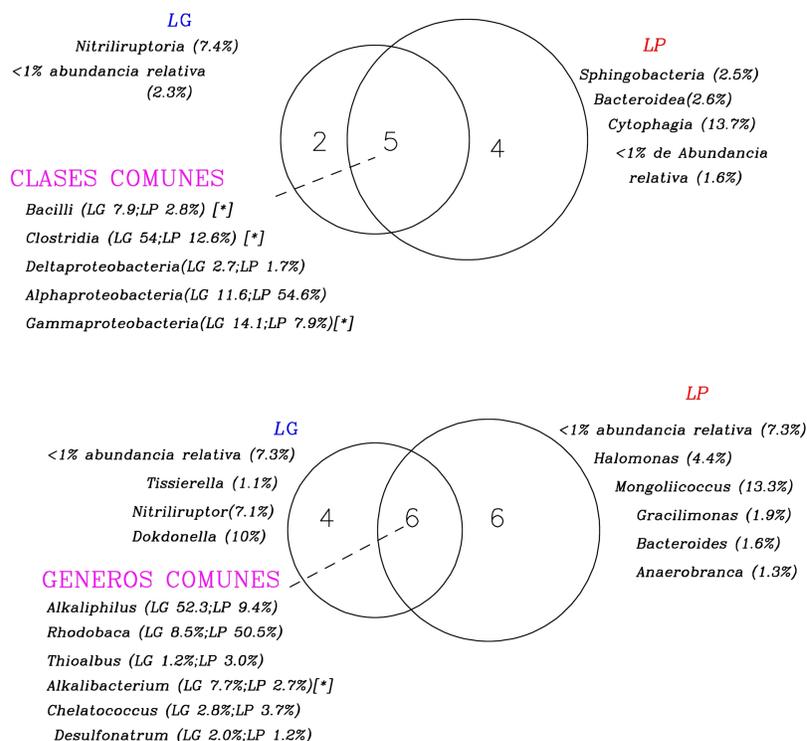


Figura 8.1: Diversidad bacteriana del lago grande (LG) y pequeño (LP) del cráter de Rincón de Parangueo. Se realizó la secuenciación masiva de las muestras y después del análisis se obtuvieron las distintas clases taxonómicas y su abundancia relativa. En la parte superior se construyó el diagrama de Venn con los datos de las clases y en la parte inferior con los datos de los géneros; en ambos casos, entre paréntesis se indica el porcentaje relativo de cada uno de éstos.

En el diagrama de Venn se ilustra que dentro de la diversidad bacteriana de la muestra de sedimento superficial, el grupo más abundante pertenece al filo Proteobacteria (LG 52.7%; LP 58.3%) y el segundo grupo es el filo Firmicutes (LG 61.9%; LP 15.4%).

El primero de éstos, el filo Proteobacteria, está dividido en cinco clases (alfaproteobacteria, betaproteobacteria, gammaproteobacteria, deltaproteobacteria y épsilonproteobacteria). Sin embargo, los datos obtenidos indicaron que en el lago de Parangueo no se encuentran

presentes las clases betaproteobacteria y épsilonproteobacteria. Todos los miembros de este grupo son gram negativos, y tienen distintas capacidades metabólicas (quimiolitotrofia, quimiorganotrofia y fototrofia) y fisiológicas (aeróbicos, microaerófilos y aeróbicos facultativos). Dentro del filo se encuentran el género *Ectothiorhodospira*, perteneciente al grupo de bacterias púrpuras del azufre y a la clase Gammaproteobacteria, las cuales realizan la fotosíntesis anoxigénica y contienen los pigmentos como la bacterioclorofila y carotenoides. Estos pigmentos son los que dan el color impresionante (rojo, morado y café) normalmente observados en lagos salinos, alcalinos y salmueras. Este color ha sido observado en el lago de Paranguero. Completando este resultado se ha logrado aislar una cepa bacteriana (**PSNZ04**) similar a *Ectothiorhodospira variabilis* que a su vez pertenece a familia Ectothiorhodospiraceae, la cual presentó una abundancia relativa 2.4% en LG y 3.1 % en LP. Desde un punto de vista biotecnológico, esta cepa

La familia Clostridiaceae (está dentro del orden Clostridiales, de la clase Clostridia) son anaerobios obligados y usualmente son gram positivos, las especies termófilas son especialmente gram negativas. Puesto que muchas especies de Clostridiaceae forma esporas resistentes al calor y a la desecación, los microorganismos de esa familia son omnipresente en distintos hábitats con dichas características; sin embargo, hay algunas especies que sólo se desarrollan en su hábitat, bajo condiciones muy específicas. Como se esperaba, esta familia tuvo representatividad dentro de la biodiversidad bacteria-

es interesante ya que es similar a especies reconocidas por su capacidad en la transformación de metales pesados e incluso se ha reportado [2] la presencia de una especie de *Ectothiorhodospira* con capacidad de transformar el arsenito a arseniato acoplado con el crecimiento autotrófico (fijación de CO₂).

El segundo grupo bacteriano más representativo en las muestras de sedimento pertenece al filo Firmicutes, representados por dos (Bacilli y Clostridia) de las tres clases de ese filo. El filo firmicutes es fenotípicamente diverso, donde es común observar microorganismos capaces de formar endosporas resistentes al calor. Existen aerobios facultativos y anaerobios estrictos, algunos son termófilos y/o halófilos. Más de ellos, son quimiorganótrofos, unos pocos son fotoheterótrofos.

La mayoría de los microorganismos de la clase Bacilli (separado por dos órdenes: Bacillales y Lactobacillales) es gram positivo, pero hay algunos que son gram negativos.

na total de las muestras, con 52.3% en LG y 9.5% en LP. Además, se aisló una cepa (**PSNZ02**) relacionada a esta familia perteneciente al género *Tindallia*. Respecto a éste, sus miembros son anaerobios estrictos u organótrofos, son capaces de degradar compuestos orgánicos de bajo peso molecular, los cuales son usados por los anaerobios secundarios (metanógenos, sulfato reductores y homoacetogénicos) en la cadena trófica ecológica, motivo por lo cual son considerados descomponedores primarios. Por ejemplo, en la descomposición de la materia orgánica realizada por *Tindallia ca-*

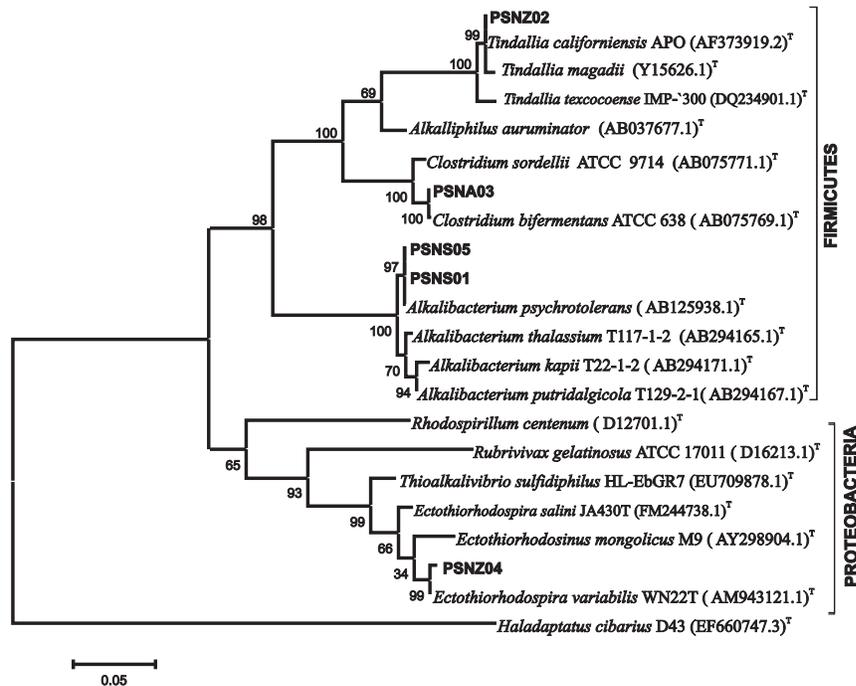


Figura 8.2: Árbol filogenético de los aislados de este trabajo, basado en la secuencia del gen ADN_r 16S. Aproximadamente 1200 pares de bases fueron utilizadas para la construcción del árbol con *bootstrap* de 1000 repeticiones, realizado con el modelo estadístico Máxima Verosimilitud y con el método Juker-Cantor.

liformnesis APO el principal producto final es el acetato, seguido por la producción del propianato, lactato y etanol. Además, estas bacterias requieren de extracto de levadura para su crecimiento. Similar a la *Ectothiorhodospira*, la *Tindallia californiensis* también fue un aislado del Mono Lake (USA); sin embargo, esta no presenta la capacidad de sulfato-reducción [6].

Los otros dos aislados (**PSNS01** y **PSNS05**) obtenidos en este trabajo pertenecen al género *Alkalibacterium*, el cual posee una representatividad no muy elevada (LG 7.7%; LP 2.7%). Estas cepas son similares a la especie *A. psychrotolerans*. Mientras que el aislado **PSNA03** es relacionado al orden Clostridiales (LG 53.8%; LP 11.6%) similar al *C. bifirmen-*

tans. Como ejemplo de una aplicación industrial de la especie *C. bifirmentans*, es su empleo en la producción de hidrógeno durante el tratamiento de aguas residuales [9]. De éstos, los aislados similares a *Alkalibacterium psychrotolerans* son interesantes porque tienen un papel muy importante en el ciclo del azufre y del carbono. Además, esta cepa, que fue aislada en Japón [8], es una bacteria alcalófila, anaerobia facultativa, gram positiva y es un psicrotolerante. Esta bacteria mostró ser capaz de reducir el tinte azul índigo (producido por una planta índigo japonesa, *Polygonum tinctorium Lour*). En el proceso, el tinte es fermentado bajo condiciones alcalinas (pH>10) y durante la oxidación del índigo se forma un producto insoluble, que es convertido

por estos microorganismos a una forma reducida soluble.

CONCLUSIONES

Los lagos del cráter de Rincón de Parangueo son hipersalinos e hiperalcalinos, albergan diversidad bacteriana relativamente baja. Destacan los filos Proteobacteria y Firmicutes, con especies reconocidas como extremófilas alcalófilas y alcalinas. Se obtuvieron 5 aislados anaerobios similares a las *Tindallia californensis*, *Alkalibacterium psychrotolerans*, *Ectothiorhodospira variabilis* y *Clostridium bifermentans*.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr César Caretta y al maestro Pierre Bertin por su apoyo y asesoría en el tema de bioinformática y a mis compañeros del laboratorio. Al financiamiento de la beca (C0011-CONACYT-ANR-188775).

REFERENCIAS

- [1] Armienta MA et al. (2008) J. Volcanology and Geothermal, 178(2): 249-258.
- [2] Budinoff, C. R et al (2008). The ISME journal, 2(3), 340-343.
- [3] Cifuentes RMU et al (1999). Geofísica Internacional Vol., 38, Num. 4, pp. 217-230
- [4] Gómez JJA, et al (2013). Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana, Volume 65, núm 1, 2013, p. 169-188
- [5] Jiménez B., Marín L. Edición Digital, Academia Mexicana de Ciencias, (2005). México, DF. Pp: 99-116.
- [6] Sorokin, D. Y et al (2014). Extremophiles, 18(5), 791-809.
- [7] Rivera-Martínez, L. G., et al. (2014). In Aplicaciones en Bioingeniería Ambiental, 2 ed., U. Guanajuato, ISBN:978-607-441-276-5.
- [8] Yumoto, I., Hirota et al. (2004). International journal of systematic and evolutionary microbiology, 54(6), 2379-2383.
- [9] Wang, C. C., Chang et al (2003). Journal of Biotechnology, 102(1), 83-92.
- [10] Malm, O. et al (1989). Environmental Technology Letters, 10(7):675-680.



UNIVERSIDAD
DE GUANAJUATO

Campus Guanajuato
División de Ingenierías



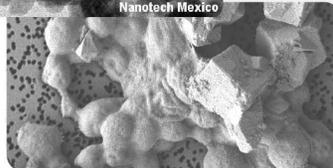
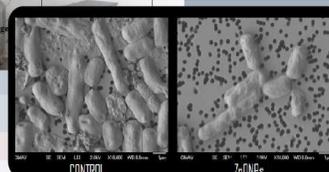
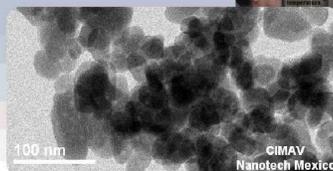
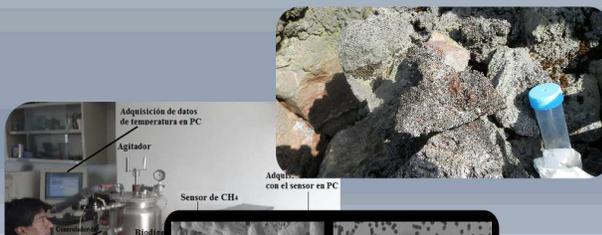
3er. Simposio Internacional de Tecnología y Biotecnología aplicada a la resolución de problemas ambientales

31 de Agosto a 2 de Septiembre de 2015

SIBA, el ambiente de discusión y de intercambio de conocimiento entre expertos, profesores y estudiantes, en el área de procesos aplicados en la Ingeniería Ambiental.



- Metodologías Innovadoras aplicadas a Bioprocesos
- Tratamiento de Residuos
- Tecnologías Aerobias y Anarobias
- Energía
- Bioprocesos
- Biorremediación
- Biotecnología
- Nanotecnología
- Tratamiento de Agua



Organización:



Cuerpo Académico de
Bioingeniería, Biotecnología y
Gestión Ambiental

Departamento de Ingeniería Civil
División de Ingenierías
Campus Guanajuato

www.ugto.mx

<http://www.di.ugto.mx/SIBA>



“TECNOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS AMBIENTALES”

ISBN: 978-607-441-446-2



D.R. © 2016 Universidad de Guanajuato

Memorias del Tercer Simposio Internacional de Bioingeniería Ambiental,
organizado por el “Grupo de investigación de Bioingeniería, Biotecnología y
Gestión Ambiental”

Guanajuato, Guanajuato. México
31 de Agosto a 2 de Septiembre de 2015

**“TECNOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA APLICADA A LA
RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS AMBIENTALES”**

Primera edición 2016

D.R. © 2016 Universidad de Guanajuato
Lascuráin de Retana 5, Zona Centro.
Guanajuato, Gto. CP. 3600

Edición: Grupo de Investigación “Bioingeniería, Biotecnología y Gestión Ambiental”
Julio César Valerdi Negreros
Arodi Bernal Martínez
Gemma Cervantes
Germán Cuevas Rodríguez
Sergio Antonio Silva Muñoz
Elcia Margareth Souza Brito

ISBN: 978-607-441-446-2

Índice

- 1** | CAPÍTULO 1
PREFACIO
- 3** | CAPÍTULO 2
LA BIOINFORMÁTICA Y SUS APLICACIONES EN LA ECOLOGÍA MICROBIANA
Bertin, P.
- 9** | CAPÍTULO 3
EFFECT OF CuONPs OVER BACTERIAL COMMUNITIES OF AGRICULTURAL SOIL
Concha-Guerrero, Sandra-I.; Souza-Brito, Elcia-Margareth; Gassie, C.; Bertin, P.; Caretta, César-A.; Durán, Robert; Orrantia-Borunda, Erasmo
- 19** | CAPÍTULO 4
MODELAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE UN BIODIGESTOR ANAEROBIO PARA PRODUCCIÓN DE BIOGÁS A PARTIR DE RESIDUOS DE CABRA Y DE CONEJO
M.-García, Martín-T.; G.-García, Jessica-J.; M.-Ramírez, Jose-L.
- 27** | CAPÍTULO 5
DEGRADACIÓN DE LIGNINA MEDIANTE EL PROCESO FENTON
Olivo-Toledo, Jenifer; Martínez-Herrera, Gabriel
- 33** | CAPÍTULO 6
PHYSIOLOGIC CHARACTERIZATION OF ANAEROBIC STRAINS ISOLATED FROM EXTREME SITES
Pérez-Bernal, María-Fernanda; Souza-Brito, Elcia-Margareth; Cuevas-Rodríguez, Germán; Hirschler-Réa, Agnès; Guyoneaud, Rémy
- 41** | CAPÍTULO 7
AISLMIENTO DE BACTERIAS ANAÉROBICAS DE FUMAROLAS DEL VOLCÁN PARICUTÍN
Romero Nuñez, Victor-Manuel; Souza-Brito, Elcia-Margareth; Caretta, César-Augusto

- 47** | CAPÍTULO 8
ESTUDIO FILOGENÉTICO DE CEPAS AISLADAS DEL LAGO-CRÁTER
"RINCÓN DE PARANGUEO"
Rivera-Martínez, Laura-Guadalupe; Bertin, Pierre; Caretta, César-Augusto;
Guyoneaud, Rémy; Goni, Marisol; Malm, Olaf; Valerdi-Negreros, Julio-
César; Souza-Brito, Elcia-Margareth
- 55** | CAPÍTULO 9
ESTUDIO DE BACTERIAS MAGNETOTÁCTICAS EN LAGOS-CRÁTER:
CÍNTORA Y LA JOYA
Zatarain-P., Eva-Cecilia; Pérez-Vázquez, Miriam-Evelia; Valerdi-Negreros,
Julio-César; Brito-S., Elcia-Margareth
- 63** | CAPÍTULO 10
STUDY OF MAGNETOTACTIC BACTERIA IN ALKALINE ENVIRO-
MENTS OF VOLCANIC CRATER LAKES FROM *LAS SIETE LUMI-
NARIAS*
Pérez-Vázquez, Miriam-Evelia; Zatarain-P., Eva-Cecilia; Valerdi-Negreros,
Julio-César; Souza-Brito, Elcia-Margareth
- 69** | CAPÍTULO 11
TOXICIDAD DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC EN AISLA-
DOS DE SUELOS AGRÍCOLAS
Rico-Herrera, Mauricio-I.; Concha-Guerrero, Sandra-I.; Orrantia, E.; Luna-
Velazco, Antonia; Souza-Brito, Elcia-Margareth
- 77** | CAPÍTULO 12
TOXICIDAD DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC (ZnO)
EN LEVADURAS PRESENTES EN UNA PLANTA DE TRATAMIENTO
DE AGUAS RESIDUALES
González-Paniagua, Yutzil; Cervantes-Avilés, Pabel-A.; Concha-Guerrero,
Sandra-I.; Luna-Velazco, Antonia, Souza-Brito, Elcia-Margareth
- 87** | CAPÍTULO 13
CONCRETO HIDRÁULICO CON PET DE BOTELLAS
Chávez-Valencia, L.-E.; Ruiz-Jaime, C.-L.; Sánchez-Cadena, L.-E.

- 91** | CAPÍTULO 14
PAPERCRATE
Chávez-Valencia, L.-E.; Saucedo-Estrada, C.-A.; Mendoza-Puga, L.-E.
- 95** | CAPÍTULO 15
MICROORGANISMOS NATIVOS EN UN PROCESO DE BIOLIXIVIACIÓN
PARA RECUPERACIÓN DE PLATA A PARTIR DE RELAVES MINEROS
CON ALTO CONTENIDO DE MANGANESO
Huerta-Rosas, Brenda; Cano-Rodríguez, I.; Gamiño-Arroyo, Z.; Gómez-
Castro, F.-I.; Carrillo-Pedroza, F.-R.; Romo-Rodríguez, P.; Gutiérrez-
Corona, F.; Santiago-Sernas, P.-I.
- 103** | CAPÍTULO 16
PURIFICATION AND CHARACTERIZATION OF THE SECRETABLE
GOX ENZYME FROM Ed8 STRAIN OF *A. TUBINGENSIS*
Flores-Amaro, Oscar-Abraham; Romo-Rodríguez, Pamela; Corrales-
Escobosa, Alma-Rosa; Wrobel, Kazimierz; Wrobe, Katarzyna; Villagómez-
Castro, Julio-Cesar; Gutiérrez-Corona, Félix