

## 11. TOXICIDAD DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC EN AISLADOS DE SUELOS AGRÍCOLAS

*Rico-Herrera, Mauricio-I.*<sup>1</sup>✉; *Concha-Guerrero, Sandra-I.*<sup>2</sup>; *Orrantia, Erasmo*<sup>2</sup>;  
*Luna-Velazco, Antonia*<sup>2</sup>; *Souza-Brito, Elcia-Margareth*<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Depto. De Ingeniería Civil y Ambiental, D.I., Campus Guanajuato, Universidad de Guanajuato, México. <sup>2</sup>Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV), Chihuahua, México

e-mail: <sup>1</sup>✉[maurihe-123@hotmail.com](mailto:maurihe-123@hotmail.com)

### RESUMEN

El aumento en el uso de nanomateriales en varios procesos es notoria y, por lo tanto su entrada en el medio ambiente. Las principales investigaciones actuales señalan la importancia de estudiar el comportamiento de las NPs óxido metálicas en el medio ambiente [1,2]. En el presente trabajo se aislaron diez y siete cepas bacterianas de un suelo nogalero, las cuales fueron utilizadas para estudiar la toxicidad de nanopartículas de óxido de zinc (ZnONP). Las NPs son de uso comercial (ID-nano), las cuales fueron caracterizadas en CIMAV Observando que estas son heterogéneas con tamaño promedio de  $63.5 \pm 6$  nm, (entre 26 y 116 nm), donde el análisis de MET, RX e IR sugirieron un elevado grado de pureza (detectando únicamente la presencia de Zn y O). De los 20 aislados, 17 fueron utilizadas para evaluar la citotoxicidad de ZnONPs y de estas 10 cepas mostraron resistencia a concentraciones superiores a  $1000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Se observó un aumento en el número de células a la concentración de  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , seguida de reducción drástica de ellas, y finalmente muerte celular. Además, se observó modificaciones en la superficie celular (por microscopía electrónica de barrido, MEB por sus siglas en inglés). A concentraciones de  $3000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  no se observó crecimiento celular, siendo esta considerada la concentración máxima inhibitoria para las condiciones utilizadas, mientras la concentración de  $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  se tomó como la concentración mínima inhibitoria (CMI). Las cepas expuestas a  $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de ZnONPs fueron observados con MEB verificando que el daño causado por las NPs fue principalmente por interacción con la pared celular, produciendo cambios en la morfología celular hasta la ruptura y lisis bacteriana. Probablemente estos efectos fueron debido a la interacción de iones de Zn, ya que únicamente 0,75% de las ZnONPs se encontraba en la fase dispersa. Como perspectiva se debe verificar si bajo estas condiciones ocurre la generación de especies reactivas de oxígeno para elucidar más puntualmente el posible mecanismo de daño que estas NPs pueden estar causando a estos microorganismos.

**Palabras clave:** *Nanotecnología, medio ambiente, ZnONPs, baterías, TEM, MET.*

## INTRODUCCIÓN

Un nanomaterial es un material con por lo menos una dimensión menor que 100 nm. Hoy en día, las nanopartículas (NPs) son un área de intensa investigación científica, debido a una amplia variedad de aplicaciones potenciales en los campos de biomédicos, ópticos, y electrónicos. Dependiendo de su composición se pueden clasificar en carbonosas, metálicas, cerámicas y poliméricas. Las NPs metálicas exhiben unas excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, que son intrínsecas a su tamaño [2]

El uso de NPs se ha incrementado en gran medida en los últimos años. La proyección prevista para la producción de nanomateriales artificiales está llegando a más de 58,000 toneladas de 2012 a 2020 [1]. Los residuos generados por la industria de los NPs han demostrado que afectan directamente al medio ambiente, sobre todo los ecosistemas del suelo, seguido por agua y aire [2-6]. Las implicaciones ambientales en relación a la toxicidad y la biodegradabilidad de las NPs, los efectos de éstas en la salud de la diversidad de especies (incluyendo la humana), en el corto y en el medio plazo, son considerables, puesto que se estima que podrían interferir en las funciones vitales de los seres vivos. Adicionalmente, la bioacumulación y persistencia de las NPs a lo largo de la cadena alimentaria es también un factor a tener en cuenta [1,2].

Las aplicaciones de las nanopartículas de zinc (ZnONP) giran en torno al perfeccionamiento de materiales existentes y a la innovación de nuevos materiales. Estas están siendo utilizadas

para la fabricación de neumáticos de alto rendimiento; para la fabricación de telas con propiedades antimanchas o antiarrugas; en cosméticos, fármacos y nuevos tratamientos terapéuticos; filtros-membranas de agua nanoestructurados; mejora de procesos productivos mediante la introducción de materiales más resistentes o eficientes; nuevos materiales para usos que van desde la electrónica, la aeronáutica y toda la industria del transporte.

Aunque el efecto ambiental de algunos nanomateriales como los nanotubos de carbono, metales, óxidos metálicos, y NP cero-valente han sido bien estudiados [7], la información sobre su interacción y daños en las comunidades bacterianas autóctonas es todavía escasa. Comunidades microbianas del suelo están involucrados en varios ciclos biogeoquímicos como el carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y otros [7,8]. Por lo tanto, incluso un poco de perturbación en la estructura y composición de las comunidades microbianas pueden inducir modificaciones en el medio ambiente circundante y viceversa. La protección de la biomasa microbiana del suelo y de la diversidad de estos microorganismos es uno de los principales retos para los próximos años. Sobre todo porque estos juegan un papel importante en el uso y en el mantenimiento del suelo. El uso sostenible de estos recursos no puede garantizarse si los ciclos de nutrientes cambian su correcto funcionamiento [9,10]. Por tanto, es urgente obtener información sobre cómo las NPs podrían afectar las comunidades bacterianas con el fin de mitigar su impacto ambiental.

La *Royal Society* suscribía en 2004 que “la evidencia sugiere que por lo menos

algunas NPs manufacturadas serán más tóxicas por unidad de masa que aquellas de la misma naturaleza pero de mayor dimensión”. Esta toxicidad está relacionada con el área superficial y la reactividad química de estas partículas. Tal reactividad química es la más preocupante, pues se piensa que las enzimas presentes en el ambiente pueden cambiar sus propiedades cuando en contacto con NPs y convertirse en coloides. Compuestos coloidales con NPs adheridas podrían ser ideales para el transporte a larga distancia de materiales tóxicos.

El principal objetivo de este trabajo fue evaluar la toxicidad de ZnONP en bacterias nativas de un suelo agrícola. Los microorganismos utilizados en estas pruebas fueron aislados de un suelo nogalero.

## METODOLOGÍA

### Sitio de muestreo y aislamiento de microorganismos

Se recogieron muestras de suelo de un terreno agrícola de Pecan en la Cd. de Delicias, Edo. de Chihuahua, México, en julio de 2012. La caracterización de ese suelo [11] se realizó en el Depto. de Ciencias Agrotecnológico de la Universidad de Chihuahua (FACIATEC). Estos fueron utilizados como inóculo para el aislamiento de bacterias de suelo con diferentes medios de cultivos (LB, YPS). Inicialmente se sembraron en medio sólido, se recuperando las cepas con morfología de colonia distintas. Después, de varias etapas de aislamiento, estas fueron recuperadas en medio LB líquido. Los cultivos que presentaban células con diferentes morfologías microscópicas se usó la técnica de microcultivos en placas de

Elisa en medio LB. Una vez confirmado que se trataban de cultivos auxenicos, estas se sembraron en medio sólido para su caracterización (morfología macroscópica y microscópica), y en medio líquido para la obtención de biomasa bacteriana para los estudios de toxicidad de ZnONP y de su caracterización filogenética. Estos aislados se conservaron en glicerol (70%) a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

### Caracterización de ZnONPs

Las ZnONPs fueron adquiridas de la empresa Investigación y Desarrollo de Nanomateriales (ID'NANO) (<http://www.id-nano.com.mx>) y fueron caracterizadas en el Centro de Investigación en Materiales Avanzados (CIMAV, Chihuahua). El tamaño y morfología de las ZnO NPs se verificó mediante microscopía electrónica de transmisión (MET), mientras que por medio de rayos X y espectrometría de infra-rojo (IR) se verificó la pureza química.

### Preparación de solución stock de ZnONPs

Se pesaron 0.8 g de ZnONPs, disolviéndolo en 40ml de agua desionizada estéril y sonicandolas aproximadamente 10min, obteniendo una concentración de  $20,000\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Esta se preparaba en el momento de utilizarla.

### Toxicidad de ZnONPs en los aislados

El efecto bactericida de ZnONPs se analizó en 17 cepas bacterianas. Los pre-cultivos de estas se realizaron en medio LB, y se incubaron durante 8h ( $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  a 200 rpm). Posteriormente, se tomó 1 mL

de este como inóculo para los ensayos de toxicidad realizados en tubos de ensayo de 10 mL. Las concentraciones probadas fueron de 50, 100, 500, 1000, 2000 y 3000  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de ZnO NP, y el control sin exposición a NPs, aforados a un volumen final de 6 mL con medio líquido R2A. Estos se incubaron durante 12 h a 37 °C en agitación constante (200 rpm). Finalmente se observaron las muestras en microscopía óptica. Con los resultados obtenidos se pudo determinar la concentración mínima y máxima inhibitoria de la NP de ZnO para cada una de estas cepas. Después de analizar el comportamiento de las ZnONPs en los aislados 9 de estas mostraron sensibilidad a concentraciones superiores a 1000  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . En las cepas donde se encontró un efecto tóxico fueron analizadas por MEB.

### Preparación de la muestra biológica para MEB

Las muestras para observar al MEB inicialmente fueron centrifugadas (3000 rpm durante 10 min.) hasta obtener una pastilla observable, después se resuspendió la pastilla en glutaraldehído al 3%, y se dejó en reposo entre 2 a 4 h a 4 °C. Después del tiempo de fijación, se centrifugó a (3000 rpm durante 10 min.) una segunda vez, se eliminó el sobrenadante y se resuspendió la pastilla en buffer de fosfato Milloning. Se realizaron 3 lavados con buffer Milloning en las mismas condiciones de centrifugado. Después, se filtraron sobre membrana de policarbonato (diámetro de poro 0,22 micras), y se deshidrataron sucesivamente en un gradiente de etanol (10 a 100%). Todas las muestras fueron montadas en soportes de metal y recubiertas con oro (Denton Vacuum Desk II). Las imágenes

fueron generadas mediante el uso del microscopio Jeol JSM 7401F. Para el análisis elemental se utilizaron rayos X de energía dispersiva (EDX, Oxford Inca Penta FETX3) acoplado a SEM [9].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización de ZnONPs

El tamaño promedio de las ZnONPs fue de  $63.5\pm 6$  nm, variando entre 26 y 116 nm (Figura 11.1 A). Estas fueron clasificadas como heterogéneas y con un elevado grado de pureza por sus altos porcentajes en peso de cada elemento: Oxígeno 37.90% y Zinc 32.3%. El carbono detectado es de la gradilla (Figuras 11.1 B). Para confirmar la pureza de las ZnONPs se realizó una espectroscopia de rayos x e infrarrojo donde nos arrojaron los espectros indicando la pureza de estas: Los espectros en su conjunto constituyen un criterio inequívoco para la identificación de una molécula y nos permitió identificar las sustancias presentes ya que cada compuesto tiene un espectro, comparándolo con otros espectros ya analizados (Figura 11.2).

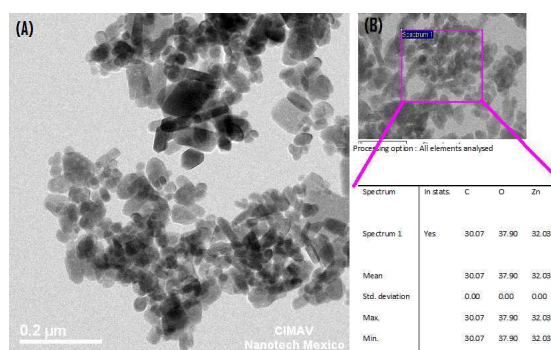


Figura 11.1: Caracterización de ZnONPs: (A) Micrografía MET (B) Espectro EDX que indica la composición.

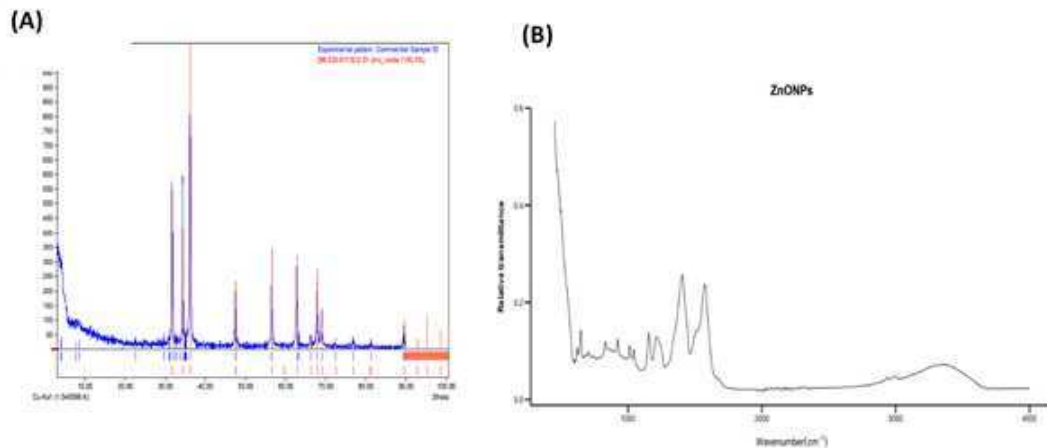


Figura 11.2: Espectros de rayos X (A) y (B) IR que indican la composición.

### Aislamiento de Cepas bacterianas

Se logró aislar 17 cepas con distintas morfologías (coco-bacilos, bacilos y bacilos alargados alargados), algunos se apreciaba la formación de esporas, y con movilidad (Figura 11.3), usando 5 medios de cultivo diferentes.



Figura 11.3: Aislados observados en el microscopio óptico de campo claro (aumento 1000×).

### Comportamiento de las ZnONPs en los aislados

Después de una evaluación previa respecto a su tasa de crecimiento (Figura 11.4), se seleccionaron los aislados con crecimiento más acelerados (H4, H5, H13, H17, H18, H20, H23, H25, H26 y H31) para evaluar la toxicidad de ZnONPs. Se observó un aumento en el número de células a  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Sin embargo, a concentraciones superiores se observó reducción drástica del número de células, además de presentar morfología celular modificada, como por ejemplo, células más alargadas o más pequeñas. A concentraciones de  $3000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  no se observó crecimiento celular, siendo esta considerada la concentración máxima inhibitoria para las condiciones utilizadas, y tomamos la concentración de  $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  como la concentración mínima inhibitoria (CMI).

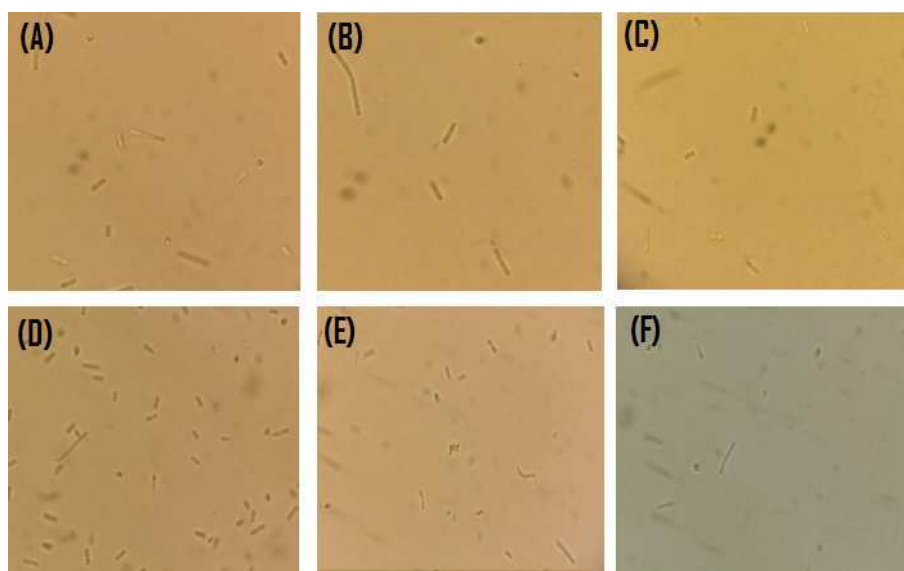


Figura 11.4: Observación de aislados (H13) con exposición a ZnONPs en el microscopio óptico de campo claro (aumento 1000×); (A) control; (B) 50 mg·L<sup>-1</sup>; (C) 100 mg·L<sup>-1</sup>; (D) 500 mg·L<sup>-1</sup>; (E) 1000 mg·L<sup>-1</sup>; (F) 2000 mg·L<sup>-1</sup>.

### Exposición de las células bacterianas a ZnONPs

Nueve aislados (H4, H5, H13, H17, H18, H20, H23, H25, H26 y H31) fueron observados al MEB, verificando que el daño causado por la NP era principalmente por la ruptura y lisis celular, además de

cambio de la morfología celular (Figura 11.5). Adicionalmente, al hacerles el análisis de EDX (la dispersión de energía de rayos X) sobre la célula (Figura 11.6) se detectó la presencia de Zn y de O, sugiriendo que el daño fuera resultado de la presencia de ZnONP.

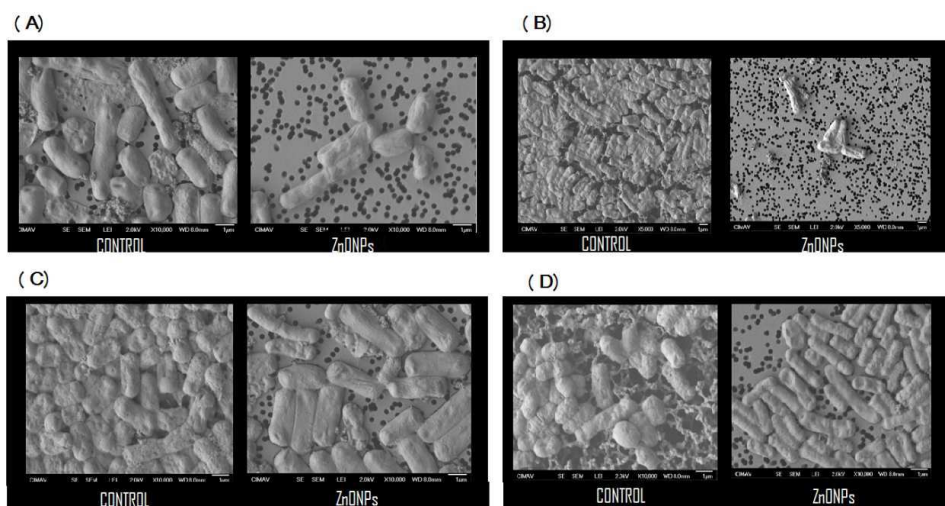


Figura 11.5: La microscopía electrónica de barrido (SEM) de (A) H4; (B) H13; (C) H20; (D) H25. Células expuestas y tratadas con ZnONPs a la derecha y los controles respectivos a la izquierda.

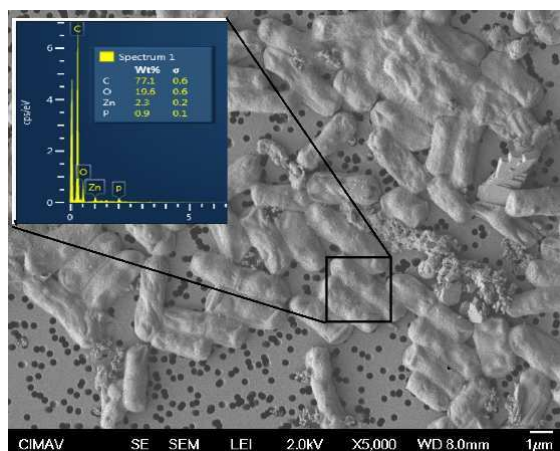


Figura 11.6: Micrografía del aislado H3 expuesto a ZnONPs ( $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) con el análisis elemental.

## CONCLUSIONES

Varios estudios de cultivos puros han mostrado que la interacción bacteriana con NPs puede producir citotoxicidad en diferentes partes de la célula [11]. Mostramos aquí que ZnONPs son tóxicas para las bacterias del suelo nativo. Aparentemente, la interacción de las ZnONPs con componentes de la pared celular a concentraciones de  $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  está modificando la morfología celular. Basado en datos de la literatura, se puede considerar que la citotoxicidad de esta NP contra las cepas estudiadas podría atribuirse a reacciones de óxido-reducción y a la generación de especies reactivas. Sin embargo, es necesario realizar más pruebas para probar esta hipótesis.

El Zn es un metal y como tal, a concentraciones elevadas, es tóxico. Sin embargo, él es esencial a bajas concentraciones al metabolismo de varios seres vivos. Esto podría explicar el aumento de crecimiento celular a  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  de

ZnONP. Se determinó  $2000 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  como la CMI para el ZnONP, bajo las condiciones trabajadas. A esta concentración los daños fueron sobretodo cambios en la morfología celular, reducción drástica del número de células, lisis y muerte celular. Para confirmar que el daño observado es únicamente causado por NP de ZnO es necesario realizar dichas pruebas con sales de ZnO, mientras que un análisis de TEM puede confirmar la entrada del ZnONP en la célula o si este se limita a una interacción a nivel de la superficie celular.

Estos resultados señalan que las cepas silvestres, pueden ser afectadas por nanocontaminantes. Por lo tanto, es fundamental intensificar los estudios sobre el daño y la toxicidad de los nanomateriales a las células vivas y las comunidades microbianas con el fin de establecer normas justas para la descarga de los parlamentos nacionales en el medio ambiente, en forma directa a través de los residuos de los productos que los contienen.

## AGRADECIMIENTOS

Al CIMAV, Chihuahua por el apoyo para el uso de sus instalaciones y las micrografías de SEM y TEM, al SIBA 2015 por el apoyo de impulsarme en la investigación, a la Dirección de Apoyo a la Investigación y al Posgrado (DAIP, UGTO) por la beca otorgada (proyecto “Impacto de Nps metálicas sobre la biodiversidad Bacteriana”) y al CONACyT por el apoyo financiero al proyecto C0010.2011.010.CNPQ.175089.

## REFERENCIAS

[1] A. D. Maynard, Nanotechnology: A Research Strategy for Addressing Risk,

- Woodrow Wilson International Center for Scholars, Washington, DC, USA, 2006.
- [2] F. Gottschalk, T. Sonderer, R. W. Scholz, and B. Nowack, “Modeled environmental concentrations of engineered nanomaterials (TiO<sub>2</sub>, ZnO, Ag, CNT, fullerenes) for different regions,” *Environmental Science and Technology*, vol. 43, no. 24, pp. 92169222, 2009. View at Publisher · View at Google Scholar · View at Scopus
- [3] S. J. Klaine, P. J. J. Alvarez, G. E. Batley et al., “Nanomaterials in the environment: behavior, fate, bioavailability, and effects,” *Environmental Toxicology and Chemistry*, vol. 27, no. 9, pp. 18251851, 2008. View at Publisher · View at Google Scholar · View at Scopus
- [4] P. A. Maurice and M. F. Hochella, “Nanoscale particles and processes: a new dimension in soil science,” *Advances in Agronomy*, vol. 100, pp. 123153, 2009. View at Publisher · View at Google Scholar · View at Scopus
- [5] K. Tiede, M. Hassellv, E. Breitbarth, Q. Chaudhry, and A. B. A. Boxall, “Considerations for environmental fate and ecotoxicity testing to support environmental risk assessments for engineered nanoparticles,” *Journal of Chromatography A*, vol. 1216, no. 3, pp. 503509, 2009. View at Publisher · View at Google Scholar · View at Scopus
- [6] L. Vittori Antisari, S. Carbone, A. Gatti, G. Vianello, and P. Nannipieri, “Toxicity of metal oxide (CeO<sub>2</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, SnO<sub>2</sub>) engineered nanoparticles on soil microbial biomass and their distribution in soil,” *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 60, pp. 8794, 2013. View at Publisher · View at Google Scholar · View at Scopus
- [7] H. Schwegmann and F. H. Frimmel, “Nanoparticles: interaction with microorganisms,” in *Nanoparticles in the Water Cycle*, F. H. Frimmel and R. Niessner, Eds., Springer, Berlin, Germany, 2010. View at Google Scholar
- [8] D. Y. Lyon, A. Thill, J. Rose, and P. J. J. Alvarez, “Alvarez, ecotoxicological impact of nanomaterials,” in *Environmental Nanotechnology: Application and Impacts of Nanomaterials*, M. R. Wiesner and J. Y. Bottero, Eds., McGraw-Hill, New York, NY, USA, 2007. View at Google Scholar
- [9] J. Maldonado, A. Solé, Z. M. Puyen, and I. Esteve, “Selection of bioindicators to detect lead pollution in Ebro delta microbial mats, using high-resolution microscopic techniques,” *Aquatic Toxicology*, vol. 104, no. 1-2, pp. 135144, 2011. View at Publisher · View at Google Scholar · View at Scopus
- [10] C.-N. Lok, C.-M. Ho, R. Chen et al., “Proteomic analysis of the mode of antibacterial action of silver nanoparticles,” *Journal of Proteome Research*, vol. 5, no. 4, pp. 916924, 2006. View at Publisher · View at Google Scholar · View at Scopus
- [11] S. I Concha-Guerrero, E. M. S Brito, H. A Piñón-Castillo, S. H Tarango-Rivero, C. A Caretta, A. Luna-Velasco, R. Duran, E. Orrantia-Borunda, (2014). Effect of CuO Nanoparticles over Isolated Bacterial Strains from Agricultural Soil. *Journal of Nanomaterials*, 2014.





UNIVERSIDAD  
DE GUANAJUATO

Campus Guanajuato  
División de Ingenierías



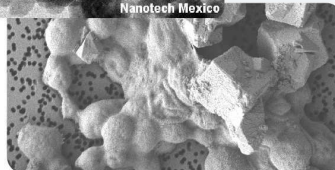
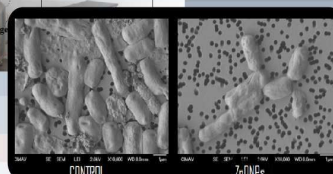
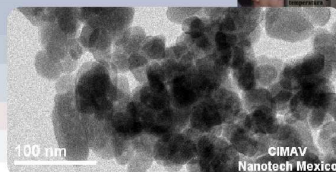
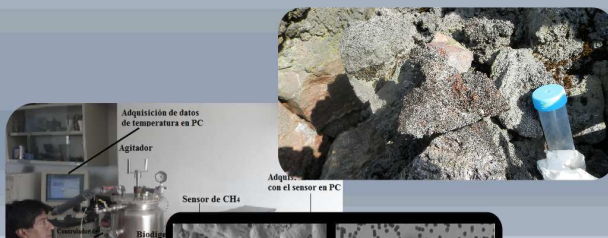
# 3er. Simposio Internacional de Tecnología y Biotecnología aplicada a la resolución de problemas ambientales

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

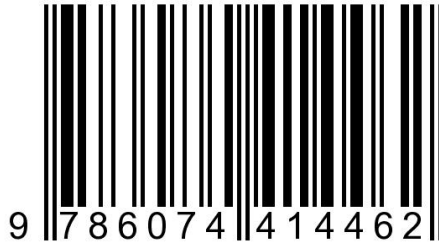
[www.ugto.mx](http://www.ugto.mx)

<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