

### 3. EFFECT OF CuONPs OVER BACTERIAL COMMUNITIES OF AGRICULTURAL SOIL

*Concha-Guerrero, Sandra-I.<sup>1</sup>✉; Souza-Brito, Elcia-Margareth<sup>2</sup>; Gassie, C.<sup>3</sup>; Bertin, P.<sup>4</sup>; Caretta, César-A.<sup>5</sup>; Durán, Robert<sup>3</sup>; Orrantia-Borunda, Erasmo<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Center for Research in Advanced Materials, Chihuahua, Chih., Mexico;

<sup>2</sup>Environmental Engineering, Department of University of Guanajuato, Guanajuato, Gto. , Mexico; <sup>3</sup>Equipe Environment et Microbiologie UMR IPREM5254, IBEAS Université de Pau et des Pays de l'Adour, Pau, France;

<sup>4</sup>Université Paris Sud XI, Orsay; <sup>5</sup>Departamento de Astronomía, DCNyE, Universidad de Guanajuato, Guanajuato, Gto., México.

e-mail: ✉[ixmucame.guerrero@gmail.com](mailto:ixmucame.guerrero@gmail.com)

#### ABSTRACT

*The copper oxide nanoparticles (CuONPs) are widely used in the industrial for their excellent physicochemical properties and cost effectiveness. Their produced wastes affect the microorganisms present in the soil triggering ecological imbalance. This study evaluates the effects of CuONPs over soil microbial communities. All microcosms triplicates (control and exposed to CuONPs) were made using 100g of soil and 250mg of CuONPs[Kg·soil]<sup>-1</sup>, the incubation was performed for 30 days and the analyses were carry out in 0, 15 y 30 days. We evaluated the total microbial activity and observed a light variation immediately after the exposition to NPs ( $19.2 \pm 0.038$  to  $33 \pm 0.094 \mu\text{gFDA} \cdot \text{mL}^{-1}$  for control and CuONPs microcosm, respectively). Small variation was observed in the determination of soil metabolic capacity (28/31 carbon sources was used) comparing the microcosm control to CuONPs exposed. Terminal restriction fragment length polymorphism analyses (T-RFLP) were performed to evaluate the response of the bacterial communities, this result showed a small change on soil microbial communities composition. The results suggest that the deposition of CuONPs over soils modified the bacterial communities presents even in short times, and confirm the importance of enhance the eco-toxicological studies in order to evaluated the possible damage in the different ecosystems.*

**Keywords:** *CuONPs, Soil, bacterial communities, T-RFLP, microcosm.*

#### RESUMEN

Las nanopartículas de óxido de cobre (CuONPs) son ampliamente usadas por sus excelentes propiedades físico-químicas y su bajo costo. Sus residuos producidos afectan a los microorganismos presentes en el suelo provocando un desequilibrio ecológico. Este estudio evalúa el efecto de las CuONPs sobre las comunidades microbianas de suelo. Todos los microcosmos (control y expuestos a CuONPs) se realizaron por triplicado usando 100g de suelo y 250mg of CuONPs[Kg·soil]<sup>-1</sup>, la incubación fue llevada a cabo por 30 días y los análisis se realizaron en los días 0, 15 y 30. Se evaluó la actividad microbiana total

y se observó una ligera variación inmediatamente después de la exposición a NPs ( $19.2 \pm 0.038$  a  $33 \pm 0.094 \mu\text{gFDA} \cdot \text{mL}^{-1}$  microcosmos control y CuONPs, respectivamente). Pequeñas variaciones se observaron en la determinación de la capacidad metabólica (28/31 fuentes de carbono fueron usadas) comparando los microcosmos control y los de CuONPs. Análisis de T-RFLP (Terminal restriction fragment length polymorphism) fueron realizados para evaluar la respuesta de las comunidades bacterianas, estos resultados mostraron cambios en la composición de las comunidades microbianas. Los resultados sugieren que la deposición de CuONPs en el suelo modifica las comunidades bacterianas presentes en cortos tiempos y reafirma la importancia de realizar mayores estudios ecotoxicológicos para evaluar el posible daño en los diferentes ecosistemas.

**Palabras clave:** *CuONPs, suelo, comunidades bacterianas, T-RFLP, microcosmos.*

## INTRODUCCIÓN

Se considera NPs aquellas partículas que son menores a 100nm en tamaño [1]. Estas pueden ser agrupadas dentro de 3 categorías principales: naturales, antropogénicas y fabricadas. Las NPs fabricadas son clasificadas de acuerdo al tipo de material base y/o sus usos, además poseen una amplia variedad de morfologías, estructuras cristalinas, tamaños, áreas, entre otras características que definen sus propiedades físicas y químicas[2].

Una de las NPs óxido metálicas que ha generado gran interés a nivel industrial son las NPs de CuO (Óxido de cobre) debido a que poseen propiedades como superconductor a altas temperaturas [3], agente microbiano [4], fungicida [5], entre otras aplicaciones. Sin embargo los residuos generados por las industrias así como el deslave y desgaste de productos, la deposición, etc., trae consigo un aumento importante de la entrada de NPs en los diferentes ecosistemas. El principal ecosistema afectado es el suelo junto con sus componentes. Este es considerado como el mayor reservorio de diversidad microbiana en el planeta, con

factores abióticos y bióticos y posee una diversidad microbiana compleja [6]. Las comunidades microbianas en suelos son importantes por su relación con la fertilidad del suelo y con los ciclos biogeoquímicos de los elementos. Una vez que las NPs son depositadas en el suelo, el daño a los microorganismos pueden alterar la estructura de las comunidades, modificando la biomasa bacteriana y la taxonomía asociada a los diferentes ciclos geoquímicos produciendo desequilibrios en los diferentes micro-ecosistemas.

El estudio de la Eco-nanotoxicidad ha contribuido a describir la toxicidad de NPs en los ecosistemas [7]. La mayoría de estos análisis se han realizado con Ag-NPs, los cuales mostraron efectos negativos en las comunidades bacterianas de suelo y han sido clasificadas como altamente tóxicas [2, 8-10]. Otros efectos negativos han sido descritos para NPs de cobre, y zinc ya que estas poseen efectos antimicrobianos [11-13]. Así mismo se conoce que las NPs de óxido de titanio y oro no producen efecto sobre las comunidades bacterianas en suelo [14]. Debido a que hay resultados contradictorios acerca del efecto de las NPs sobre las comu-

nidades nativas de suelo, es de gran relevancia evaluar el efecto de CuONPs sobre las comunidades bacterianas en suelos agrícolas para establecer si hay cambios en la conformación, abundancia así como establecer las posibles interacciones de las comunidades microbianas con los Nanomateriales.

## METODOLOGÍA

### Síntesis y Caracterización de CuONPs

La síntesis de CuONPs se llevó a cabo por precipitación química y la caracterización fue llevada a cabo previamente por Concha-Guerrero *et al.* (2014) [15]. Las CuONPs obtenidas fueron esféricas con un rango de tamaño primario de 10-17 nm. El perfil de SEM-EDX indicó una alta pureza ya que en el análisis elemental solo se detectó la presencia de Cu y O.

### Sitio de muestreo y estrategia experimental

Las muestras de suelo se colectaron de una huerta de nuez en el estado de Chihuahua. La caracterización fisicoquímica del suelo se realizó previamente por Concha-Guerrero *et al.* (2014)[15]. Para la realización de los microcosmos se utilizó 100g de suelo y se colocaron en viales de 1L conteniendo una capacidad de retención de agua (CRA) inicial ajustada al 18%. Posteriormente se adicionaron las CuONP (250 mg CuONP<sup>-1</sup>Kg<sup>-1</sup>suelo suspendidas en agua tridestilada). El volumen de agua requerido para ajustar la CRA fue usado para preparar la suspensión de NPs. Para los controles (sin NPs) se adicionó

agua tridestilada para ajustar la CRA en 18%. Cada microcosmo se realizó por triplicado y se incubó por 30 días a temperatura ambiente sin agitación.

### Determinación de la actividad microbiana total activa

La evaluación de la actividad microbiana total del suelo se midió mediante la determinación de esterasas, a través de la hidrólisis del Diacetato de Fluoresceína, siguiendo el protocolo descrito por Adam y Duncan (2001) [16].

### Determinación de la actividad metabólica

La actividad metabólica fue realizada utilizando el test Biolog<sup>®</sup> Ecoplates (Biolog, Inc., Hayward, CA, USA). Se utilizó el protocolo descrito por Floch *et al.* (2011)[17].

### Extracción de ADN total de suelo de microcosmos

La extracción del ADN genómico total del suelo mediante el kit comercial PowerSoil<sup>®</sup> DNA Isolation Kit (MoBio Lab. Inc.), siguiendo las instrucciones del fabricante. La extracción se realizó por triplicado en los tiempos de incubación 0, 15 y 30 días.

### Amplificación de ADN total del suelo y T-RFLP

El gen 16S rDNA fue amplificado por PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) usando los oligonucleótidos 8F (AGAGTTTGATCCTGGCTAG) marcado con FAM (Carboxifluoresceína) [18] y el oligonucleótido

1492R (GGTTACCTTGTTACGACTT) [19]. Las condiciones de PCR fueron las siguientes: un paso inicial de desnaturalización (95 °C por 10 min) seguido por 34 ciclos de desnaturalización (95 °C por 45s), alineamiento (55 °C por 45s) y elongación (72 °C por 1min) y finalmente un paso de elongación (72 °C por 10min). Los productos de PCR fueron purificados con el kit GFX PCR DNA and Gel Band Purification Kit (GE Healthcare). La amplificación se realizó de cada una de los ADN extraídos en los tiempos de incubación 0, 15 y 30 días. Para la creación de los perfiles del T-RFLP los productos de PCR purificados se sometieron a una restricción enzimática. Las enzimas utilizadas fueron AluI con sitio de reconocimiento AG/CT e HinfI con sitio de reconocimiento G/ANTC. Para llevar a cabo la restricción se prepararon 10L (volumen final) de mezcla de reacción conteniendo 3U de la enzima AluI e HinfI (Takara, Enzimas, bioLabs, Inc.), diluidos en el buffer recomendado por el fabricante. La mezcla se incubó por 3h a 37 °C. Las muestras digeridas (1L) se mezclaron con 8.75L de formamida ionizada y 0.25L de ROX (patrón de tamaños interno marcado con GS500, Applera, Italia). Volúmenes de 1.5L de las muestras se separaron mediante electroforesis capilar en un secuenciador ABI Prism 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystem), bajo condiciones no desnaturalizantes. Los perfiles de T-RFLP se analizaron usando el software Genescan (versión 3.1; Applied Biosystems, USA). El tamaño en pares de bases, de los fragmentos separados se estimó por comparación con el patrón interno ROX GS500. Los datos obtenidos por debajo del 0.05% de intensidad de fluorescencia

absoluta fueron eliminados debido a que se consideran ruido del instrumento. Después los datos de T-RFs fueron normalizados (removiendo aquellos <1% de fluorescencia) [20]. Los análisis estadísticos fueron llevados a cabo mediante el Software MVSP (Multi-Variance Statistical Package 3.1, Kovach Computing Services, UK).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Sitio de muestreo

Se realizó un muestreo en una huerta nogalera en el municipio de Delicias, Chihuahua. La caracterización fisicoquímica del sitio de muestreo fue reportada anteriormente por Concha-Guerrero *et al.*, 2014.

### Síntesis y caracterización de CuONPs

La síntesis de NPs se llevó a cabo usando el protocolo establecido por Concha-Guerrero *et al.*, 2014. El producto final obtenido fue un polvo de CuONPs el cual se caracterizó posteriormente. Las micrografías de MEB y MET de las CuONPs mostraron que estas presentaban una forma primaria esférica con un tamaño entre 10 y 17 nm. Los análisis elementales obtenidos por EDX mostraron que la síntesis de las nanopartículas no contenía ningún residuo de los componentes usados para la síntesis. Con estos resultados se comprueba que las NPs obtenidas fueron puras, ya que se encontró únicamente de cobre y oxígeno. El espectro de UV-Visible mostró un pico de emisión en 280nm. También se realizó un análisis por Rayos X para identificar la fase cristalina y al igual que el análisis de

EDX , se confirmó la presencia solamente de CuO.

### Determinación de la actividad microbiana total activa en microcosmos

La hidrólisis de FDA fue utilizada para evaluar el posible estrés generado por las CuONPs sobre las comunidades microbianas en los diferentes microcosmos. La determinación de la actividad de esterases no resultó significativa en los microcosmos control con respecto a los microcosmos expuestos a CuONPs en los tiempos 15 y 30 días de exposición. Sin embargo, al inicio del experimento, una vez que las NPs fueron agregadas a los microcosmos se observó un incremento en la actividad microbiana. Los microcosmos sin exposición a NPs tuvieron

una actividad de FDA de  $19.16 \pm 3.53 \mu\text{gFDA}\cdot\text{mL}^{-1}$  en comparación a los microcosmos expuestos a CuONPs en los cuales se observó un aumento hasta  $32.97 \pm 0.50 \mu\text{gFDA}\cdot\text{mL}^{-1}$  (Tabla 1). El aumento en la actividad de las comunidades es probablemente debido a una respuesta inmediata al estrés generado por las NPs. Posiblemente debido a la capacidad de adaptación que poseen los microorganismos, el efecto de las NPs en tiempos mas largos (15 y 30 días) no fue significativo para que pudiera detectarse una respuesta en la actividad enzimática de estas comunidades. Es posible que en el periodo estudiado las comunidades bacterianas de los microcosmos se encuentren adaptadas al nuevo microambiente impuesto y/o probablemente están en un periodo de resiliencia.

Tabla 3.1: Determinación de la actividad microbiana total.

Tiempo de incubación	$\mu\text{gFDA}[\text{mL}]^{-1}$	
	Control	CuONPs
0 días	$19.16 \pm 3.53$	$32.97 \pm 0.50$
15 días	$23.16 \pm 0.43$	$22.83 \pm 1.42$
30 días	$16.09 \pm 2.36$	$15.75 \pm 1.93$

### Actividad metabólica

Las placas *Biolog EcoPlate* contienen 31 de las más comunes fuentes de carbón utilizadas por las comunidades en suelo. Estas 31 fuentes de carbón se encuentran por triplicado para un análisis más preciso. La capacidad de degradación de las fuentes de carbón presentes en la muestra de suelo proporciona un patrón

característico que se denomina la huella metabólica de la muestra. Los resultados obtenidos mediante este test nos indican que las comunidades presentes en los microcosmos poseían una alta capacidad metabólica ya que fueron capaces de degradar 28 de las 31 fuentes de carbón presentes, independientemente de la presencia o ausencia de NPs. En-

tonces, las CuONPs afectaron la habilidad de las comunidades microbianas en degradar únicamente 3 fuentes de carbón: el ácido 2-hidroxibenzoico cuyo efecto fue observado después de los 15 días de incubación, el ácido -hidroxibutírico y el ácido -cetobutírico, en estos últimos el efecto se observó hasta los 30 días de exposición (Figura 3.1). Es probable que si las comunidades cambian con la presencia de CuONPs, otras que se encuentran formando parte de la comunidad sean capaces de complementar las funciones de las comunidades mas sensibles, que se

perdieron con la exposición a NPs. Es bien sabido que las comunidades microbianas que componen los diferentes tipos de suelo son diversas y heterogéneas y que la diversidad de estas depende de factores ambientales como el clima, el tipo de suelo, el pH, de las propiedades químicas de suelo, entre otros. Por lo que la capacidad de adaptación de las comunidades nativas de una muestra ambiental, probablemente es mayor que la observada en los microorganismos aislados, y mas aún en cepas de colección como las ATCC.

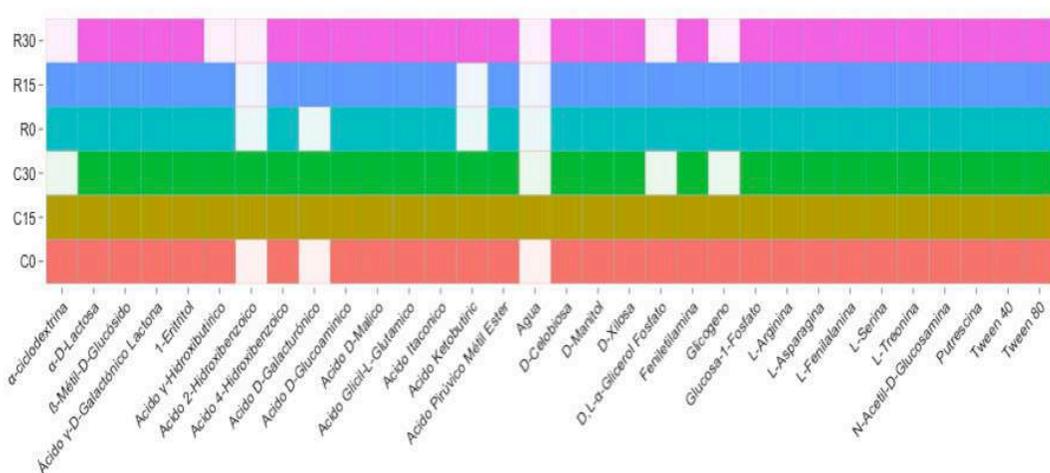


Figura 3.1: Huella metabólica de los microcosmos en tiempo 0, 15 y 30 días. C1, C2 y C3 representan las réplicas biológicas control sin exposición a NPs y R1, R2 y R3 son la réplicas biológicas expuestas a CuONPs. En el eje de las X se disponen las 31 fuentes de carbón disponibles en el ensayo.

### Análisis de comunidades microbianas en microcosmos – T-RFLP

El análisis de T-RFLP es una técnica útil para comparar cambios en las comu-

nidades microbianas sometidas a distintos tratamientos. Se estudió la diversidad bacteriana de microcosmos comparando aquellos que se expusieron a CuONPs con los que no fueron expuestos.

El T-RFLP se realizó a partir del ADN total extraído de las muestras de los microcosmos control (No expuestos a NPs) y los expuestos a CuONPs en los tiempos de 0, 15 y 30 días de incubación. Estos se utilizaron para amplificar el gen ADNr 16S con un total de 72 muestras. Se identificó el tamaño de los fragmentos los cuales fueron cuantificados en función de la intensidad de fluorescencia. En este análisis cada fragmento está relacionado a una unidad Taxonómica (OTU), mientras que la intensidad de fluorescencia equivale a la abundancia relativa de cada población presente en la muestra.

La enzimas de restricción *AluI* mostró ser más eficiente para la identificación de poblaciones bacterianas que la enzima *HinfI* (datos no mostrados). Por ejemplo con la enzima *AluI* se obtuvieron en los diferentes tiempos de incubación 74, 67 y 55 T-RFs para las muestras de los controles y 76, 71 y 34 T-RFs para los microcosmos expuestos a CuONPs, comparado con 32, 28 y 14 T-RFs en los controles y 36, 21 y 7 T-RFs en los expuestos a NPs, obtenidas con la enzima *HinfI*. La menor eficiencia observada por la enzima *HinfI* probablemente es porque para ésta enzima, el gen ADNr 16S de las diferentes poblaciones tiene el mismo

sitio de restricción terminal. De modo general, en todos los microcosmos se observó un decremento en las poblaciones con respecto al tiempo de exposición de las CuONPs. Se observó una disminución del 45% de las comunidades con la enzima *AluI* de los microcosmos control en el tiempo 0 días de incubación (74 T-RFs), con respecto a los microcosmos expuestos a CuONPs (34 T-RFs) a los 30 días de exposición. (datos no mostrados).

Se utilizó el Análisis de Componentes Principales (PCA) para evaluar todo el conjunto de datos obtenidos con el análisis de T-RFLP, con las dos enzimas (Figura 3.2). Este análisis construye una tabla de similitud, graficando los datos en dos dimensiones, por medio del cual se puede asumir que cuanto mas cercanas estén las muestras mas similares son entre sí. En nuestros resultados se puede observar una mayor similitud entre las comunidades bacterianas del control con respecto a las expuestas a NPs hasta los 15 días (Observar grupo 1C, 2R; 4C y 3R y el 5C de la Figura 2). Estos análisis también sugieren que las comunidades expuestas a 30 días formaron un grupo separado (Observar grupo: 6R: 31 y 32, 33 y 34, 35 y 36 de la Figura 30).

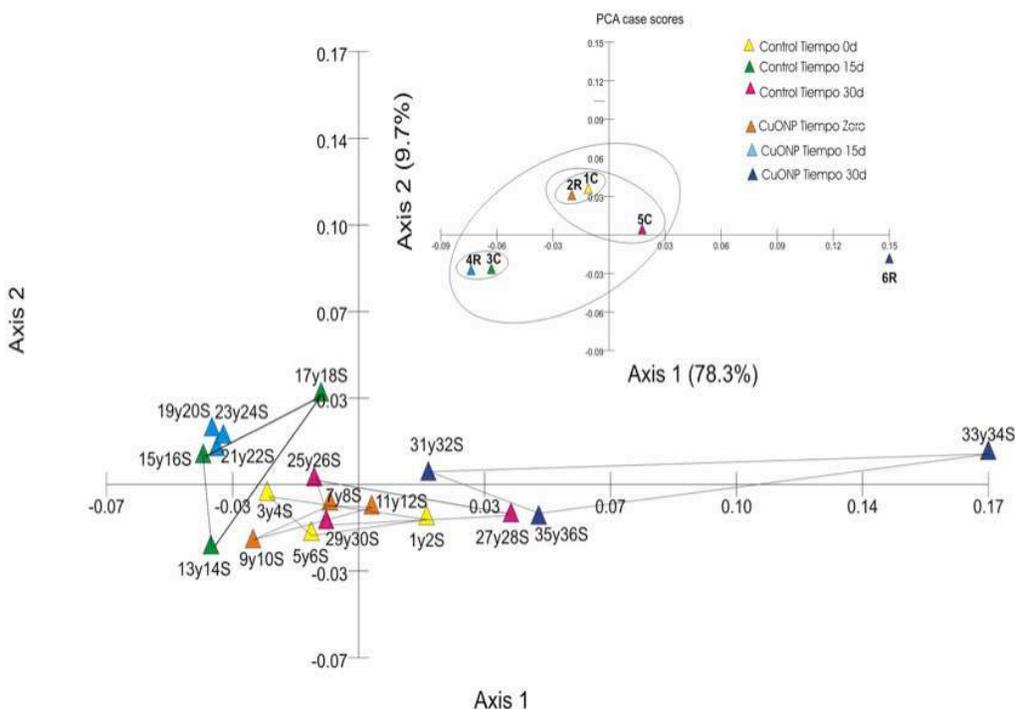


Figura 3.2: Análisis de componentes principales con datos de T-RFLP de los microcosmos control y los expuestos a CuONPs, digeridos con las enzimas *AluI* e *HinfI* I. El eje 1 representa el 78.3% de la variabilidad y el eje 2 el 9.7%.

## CONCLUSIONES

Este estudio evidencia los cambios en la composición de las comunidades microbianas debido a la exposición con CuONPs. Aún cuando los cambios producidos por el medio ambiente sobre las comunidades son importantes el efecto de las NPs es remarcable, lo que produce cambios en el microambiente del suelo. Es probable que la combinación de efectos ambientales y los producidos por las NPs sobre la composición del suelo puedan favorecer la disponibilidad del metal y en este sentido el exceso puede producir la citotoxicidad en los microorganismos del suelo.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo es financiado por el proyecto CONACYT- CNPq MOD.ORD.44/2012 (42-205000-CB3O040113), Universidad de Guanajuato-DAIP (0195/2013), y Sandra I. Concha Guerrero recibió beca por CONACYT. Los autores agradecen el apoyo del Regional Platform for Environmental Microbiology PREMICE apoyado por Aquitaine Regional Government Council and the urban community of Pau-Pyrénées (France).

## REFERENCIA

[1] Nowack, B., & Bucheli, T. D. (2007). Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental pol-*

- lution, 150(1), 5-22.
- [2] Kumar, S., Tamura, K., & Nei, M. (2004). MEGA3: integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment. *Briefings in bioinformatics*, 5(2), 150-163.
- [3] Jadhav, S., Gaikwad, S., Nimse, M., & Rajbhoj, A. (2011). Copper oxide nanoparticles: synthesis, characterization and their antibacterial activity. *Journal of Cluster Science*, 22(2), 121-129.
- [4] Ren, G., Hu, D., Cheng, E. W., Vargas-Reus, M. A., Reip, P., & Allaker, R. P. (2009). Characterisation of copper oxide nanoparticles for antimicrobial applications. *International journal of antimicrobial agents*, 33(6), 587-590.
- [5] He, L., Lui, Y., Mustapha, Z., Lin, M. Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles against *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum*. *Microb. Res.* (2011). 166, 207e215.
- [6] Stefanis, C., Alexopoulos, A., Voidarou, C., Vavias, S., & Bezirtzoglou, E. (2013). Principal methods for isolation and identification of soil microbial communities. *Folia microbiologica*, 58(1), 61-68.
- [7] Maurer-Jones, M. A., Gunsolus, I. L., Murphy, C. J., & Haynes, C. L. Toxicity of engineered nanoparticles in the environment. *Analytical chemistry*. (2013). 85(6), 3036-3049.
- [8] Bradford, A., Handy, R. D., Readman, J. W., Atfield, A., & M'uhling, M. (2009). Impact of silver nanoparticle contamination on the genetic diversity of natural bacterial assemblages in estuarine sediments. *Environmental science & technology*, 43(12), 4530-4536.
- [9] Chunjaturas, W., Ferguson, J. A., Rattanapichai, W., Sadowsky, M. J., & Sajjaphan, K. Shift of bacterial community structure in two Thai soil series affected by silver nanoparticles using ARISA. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. (2014). 30(7), 2119-2124.
- [10] Carbone, S., Antisari, L. V., Gaggia, F., Baffoni, L., Di Gioia, D., Vianello, G., & Nannipieri, P. Bioavailability and biological effect of engineered silver nanoparticles in a forest soil. *Journal of hazardous materials*. (2014). 280, 89-96.
- [11] Neal, A. L. (2008). What can be inferred from bacteriumnanoparticle interactions about the potential consequences of environmental exposure to nanoparticles?. *Ecotoxicology*, 17(5), 362-371.
- [12] Fabrega, J., Fawcett, S. R., Renshaw, J. C., & Lead, J. R. (2009). Silver nanoparticle impact on bacterial growth: effect of pH, concentration, and organic matter. *Environmental science & technology*, 43(19), 7285-7290.
- [13] Dinesh, R., Anandaraj, M., Srinivasan, V., & Hamza, S. (2012). Engineered nanoparticles in the soil and their potential implications to microbial activity. *Geoderma*, 173, 19-27.
- [14] Nogueira, V., Lopes, I., Rocha-Santos, T., Santos, A. L., Rasteiro, G. M., Antunes, F., & Pereira, R. (2012). Impact of organic and inorganic nanomaterials in the soil microbial community structure. *Science of the total environment*, 424, 344-350.
- [15] Concha-Guerrero, S. I., Brito, E. M. S., Piñón-Castillo, H. A., Tarango-Rivero, S. H., Caretta, C. A., Luna-Velasco, A., Duran, R. & Orrantia-Borunda, E. Effect of CuO Nanoparticles over Isolated Bacterial Strains from Agricultural Soil. *Journal of Nanomaterials*. (2014). Vol. 2014.
- [16] Adam, G., & Duncan, H. (2001). Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 33(7), 943-951.
- [17] Floch, C., Chevremont, A. C., Joanico, K., Capowiez, Y., & Criquet, S. (2011). Indicators of pesticide contamination: soil enzyme compared to functional diversity of bacterial communities via

- Biolog<sup>®</sup> Ecoplates. European Journal of Soil Biology, 47(4), 256-263.
- [18] Lane, D. J. (1991). rRNA sequencing, in Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematic, G. M. E. Stachenbradt, Wiley, Chichester, UK Ed., pp. 115-175.
- [19] Wang, L., Wang, W., Lai, Q., & Shao, Z. (2010). Gene diversity of CYP153A and AlkB alkane hydroxylases in oildegrading bacteria isolated from the Atlantic Ocean. Environmental microbiology, 12(5), 1230-1242.
- [20] Hewson, I., & Fuhrman, J. A. (2004). Richness and diversity of bacterioplankton species along an estuarine gradient in Moreton Bay, Australia. Applied and Environmental Microbiology, 70(6), 3425-3433.



UNIVERSIDAD  
DE GUANAJUATO

Campus Guanajuato  
División de Ingenierías



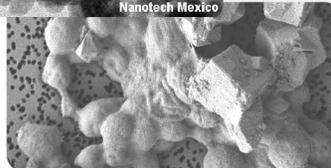
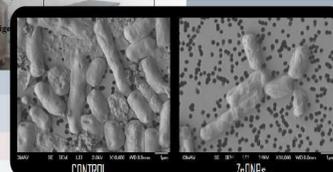
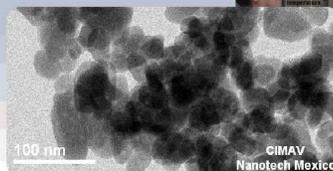
# 3er. Simposio Internacional de Tecnología y Biotecnología aplicada a la resolución de problemas ambientales

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

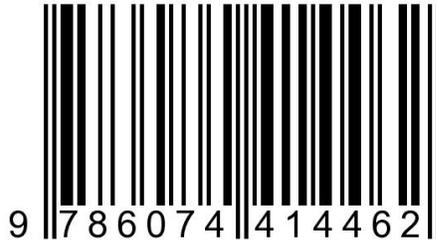
[www.ugto.mx](http://www.ugto.mx)

<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