

# BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL, APLICACIONES Y TENDENCIAS

CHICAIZA-ORTIZ, CRISTHIAN DAVID  
RIVADENEIRA-ARIAS, VIRGINIA DEL CARMEN  
HERRERA-FEIJOO, ROBINSON JASMANY  
ANDRADE, JEAN CARLO





# Biotecnología Ambiental, Aplicaciones y Tendencias

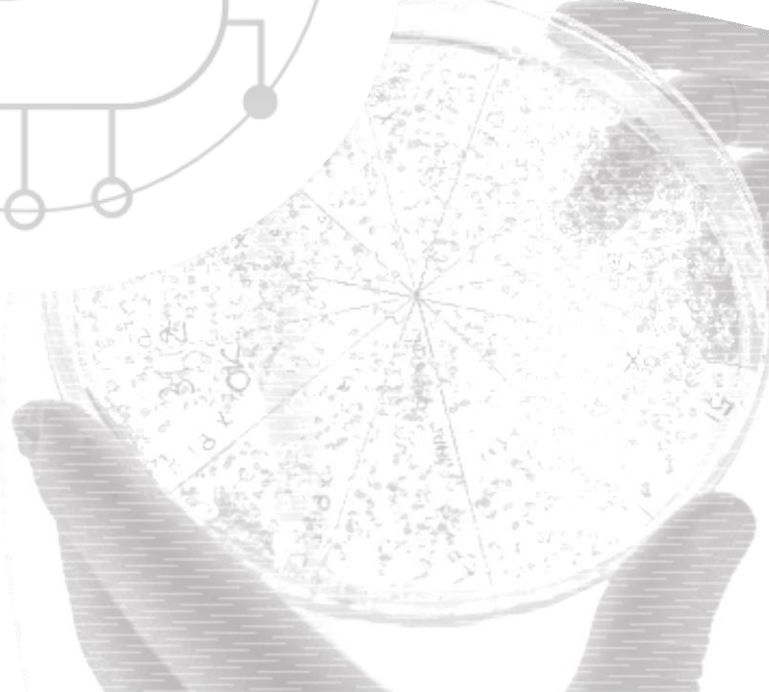
## Autor/es:

Chicaiza-Ortiz, Cristhian David

Rivadeneira-Arias, Virginia del Carmen

Herrera-Feijoo, Robinson Jasmany

Andrade, Jean Carlo





## Título del libro:

Biotecnología Ambiental, Aplicaciones y Tendencias

Primera Edición, 2023

Editado en Santo Domingo, Ecuador, 2023

ISBN: 978-9942-7119-2-2

© Mayo, 2023

© Editorial Grupo AEA, Santo Domingo - Ecuador

© Chicaiza Ortiz Cristhian David, Rivadeneira Arias Virginia del Carmen, Herrera Feijoo Robinson Jasmay, Andrade Jean Carlo.

Editado y diseñado por Comité Editorial del Grupo AEA

Hecho e impreso en Santo Domingo - Ecuador

## Cita.

Chicaiza-Ortiz, C. D., Rivadeneira-Arias, V. C., Herrera-Feijoo, R. J., Andrade, J. C. (2023). Biotecnología Ambiental, Aplicaciones y Tendencias. Editorial Grupo AEA.

**Cada uno de los textos de la Editorial Grupo AEA han sido sometido a un proceso de evaluación por pares doble ciego externos (double-blindpaperreview) con base en la normativa del editorial.**

Los libros publicados por “**Editorial Grupo AEA**” cuentan con varias indexaciones y repositorios internacionales lo que respalda la calidad de las obras. Lo puede revisar en los siguientes apartados:





## Grupo AEA

Grupo de Asesoría Empresarial y Académica

[www.grupo-aea.com](http://www.grupo-aea.com)

[www.editorialgrupo-aea.com](http://www.editorialgrupo-aea.com)



Grupo de Asesoría Empresarial & Académica



[Grupoaea.ecuador](https://www.instagram.com/grupoaea)



Editorial Grupo AEA

## Aviso Legal:

La información presentada, así como el contenido, fotografías, gráficos, cuadros, tablas y referencias de este manuscrito es de exclusiva responsabilidad del autor y no necesariamente reflejan el pensamiento de la Editorial Grupo AEA.

## Derechos de autor ©

Este documento se publica bajo los términos y condiciones de la licencia Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0).



El “copyright” y todos los derechos de propiedad intelectual y/o industrial sobre el contenido de esta edición son propiedad de la Editorial Grupo AEA y sus Autores. Se prohíbe rigurosamente, bajo las sanciones en las leyes, la producción o almacenamiento total y/o parcial de esta obra, ni su tratamiento informático de la presente publicación, incluyendo el diseño de la portada, así como la transmisión de la misma de ninguna forma o por cualquier medio, tanto si es electrónico, como químico, mecánico, óptico, de grabación o bien de fotocopia, sin la autorización de los titulares del copyright, salvo cuando se realice confines académicos o científicos y estrictamente no comerciales y gratuitos, debiendo citar en todo caso a la editorial.

## Reseña de Autores

### Chicaiza Ortiz Cristhian David

Shanghai Jiao Tong University, China-UK Low Carbon College, School of Environmental Science and Engineering.

Universidad Regional Amazónica IKIAM, Biomass to Resources group.

✉ Correo: [cristhianchicaiza@hotmail.com](mailto:cristhianchicaiza@hotmail.com)

🆔 Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-3970-4550>

Ingeniero en Biotecnología Ambiental, MSc en Ingeniería Ambiental, MSc (c) en Cambio Climático, Sustentabilidad y Desarrollo; además de continuar su doctorado en Environmental Science and Engineering. Cuenta con experiencia en consultoría ambiental e investigación enfocado en: eficiencia energética, gestión integral de residuos sólidos, digestión anaerobia, cuantificación de gases de efecto invernadero, análisis de ciclos de vida, biorremediación ambiental, cultivo de organismos fotosintéticos, etc. Ha colaborado con: Environmental Defense Fund en Shanghai, Hunan Agricultural University (China-Office), Universidad Estatal Amazónica, Universidad Regional Amazónica IKIAM; es miembro del grupo de Biomass to Resources, la Red Iberoamericana de Medio Ambiente (REIMA) y la Red de Análisis de Ciclo de vida de Ecuador.



### Rivadeneira Arias Virginia del Carmen

Universidad Regional Amazónica Ikiam, Facultad de Ciencias de la Vida.

✉ Correo: [virginia.rivadeneira@est.ikiam.edu.ec](mailto:virginia.rivadeneira@est.ikiam.edu.ec)

🆔 Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-6881-4236>

Egresada de la carrera de Ingeniería en Biotecnología, participante activa en el proyecto Nature-Based Living-Lab (NB-LAB) de la Universidad Regional Amazónica Ikiam, Ecuador. Acreditada al reconocimiento como mejor póster a nivel de pregrado en el Workshop NanoAndes Quito 2022 en la Escuela Politécnica Nacional, Ecuador.



### Herrera Feijoo Robinson Jasmany

Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales.

✉ Correo: [rherreraf2@uteq.edu.ec](mailto:rherreraf2@uteq.edu.ec)

🆔 Orcid: <https://orcid.org/0000-0003-3205-2350>

Ingeniero ambiental. Universidad Estatal Amazónica, Ecuador. MSc en Tecnologías de la Información Geográfica y Teledetección, Universidad de Extremadura, España. PhD (candidato) en Biología, Universidad Autónoma de Madrid, España. Personal Académico Ocasional - Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ).



## **Andrade Jean-Carlo**

Universidad Politécnica Salesiana, carrera de Ingeniería ambiental.

✉ Correo: [jandradet@ups.edu.ec](mailto:jandradet@ups.edu.ec)

🆔 Orcid: <https://orcid.org/0000-0001-9253-8657>

Ingeniero en Ciencias Ambientales y Ecodesarrollo por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra. MSc in Environmental Science, Applied Ecology mention por la Eötvös Loránd University, Budapest, Hungría. Docente ocasional en la Universidad Politécnica Salesiana, sede Guayaquil, carrera de Ingeniería Ambiental.





## Agradecimientos

A los técnicos de laboratorio de la Universidad Regional Amazónica Ikiám: Carolina Castro, Evelyn Oña y Maritza Yánez (ESPOCH); ayudantes de cátedra: Ruth Guevara, Lizeth García, Jessica Verdezoto, Camila Freire, Antonella Ortiz, Natasha Deleg y Harold López; docentes: Caroline Bacquet, Jaime Marti, Yaneth Villasana, María Victoria Reyes, Roldán Torres, Yeimy Rojas, Marco Viteri, Moisés Gualapuro, Karel Dieguez, Christian Camacho, Angel Chicaiza, Mery Jara y Roberto Morales (UE San José); estudiantes: Dilan Porras, Andrés Calderón, Daniela Chávez, Jordy Infante, Gabriela Sosa, Paula Iñiguez, Vicente Quezada, Jessica Quiñonez, Angel Morales, Mildreth Salazar, Samantha Guiñanzaca, Roy Cerda, Erika Jumbo, Juana Urdiales (UEA) y demás personas que han participado constantemente dentro y fuera de las aulas; finalmente un agradecimiento a Isaac Delgado por la maquetación del sitio web y Marco Pérez Celi por el diseño del logotipo de la portada.

## Índice

Reseña de Autores .....	VII
Agradecimientos .....	IX
Índice .....	1
Introducción .....	5
Capítulo I: Guía de Biotecnología Ambiental .....	6
1.1.    Introducción .....	9
1.1.1.    Historia.....	9
1.1.2.    Conceptos.....	10
1.1.3.    Aplicaciones.....	12
1.2.    Materiales y métodos.....	13
1.3.    Resultados .....	14
1.3.1.    Herramientas biotecnológicas aplicadas al monitoreo de la contaminación ambiental y a procesos de biorremediación .....	14
1.3.1.1.    Introducción y antecedentes .....	14
1.3.1.2.    Consideraciones técnicas .....	15
1.3.1.3.    Estrategias de recuperación y mitigación .....	15
1.3.1.4.    Investigaciones y proyectos en América Latina.....	16
1.3.1.5.    Evaluación de tecnologías de fitorremediación .....	21
1.3.1.6.    Selección del sistema de fitorremediación y consideraciones de diseño .....	27
1.3.1.7.    Casos de estudio.....	33
1.3.2.    Herramientas biotecnológicas para promover la agricultura sustentable.....	34
1.3.2.1.    Introducción .....	34
1.3.2.2.    Microorganismos como control biológico en la agricultura .	35
1.3.2.3.    Uso de los biofertilizantes en la agricultura sostenible .....	37

1.3.2.4. Nuevas tendencias biotecnológicas en el desarrollo de alimentos sustentables de próxima generación.....	38
1.3.2.5. Estudio de caso en la agricultura sostenible .....	40
1.3.3. Herramientas biotecnológicas en el desarrollo de la Biotecnología Ambiental.....	44
1.3.3.1. Aplicaciones para la mitigación del impacto ambiental generado por la actividad petrolera .....	44
1.3.3.2. Herramientas biotecnológicas y sus aplicaciones en la producción de nuevas fuentes de energía sustentable .....	50
1.3.3.3. Nuevas tendencias biotecnológicas en el desarrollo de biomateriales alternativos al cuero y al plástico .....	54
1.4. Discusión.....	57
1.5. Conclusiones .....	57
Referencias Bibliográficas .....	58
Capítulo II: Análisis bibliométrico como una Herramienta en la Biotecnología Ambiental .....	72
2.1. Introducción.....	75
2.2. Materiales y métodos.....	76
2.3. Resultados .....	77
2.3.1. Manual de uso: bibliometría en R para el mapeo de la ciencia y la revisión de literatura .....	77
2.3.1.1. PRIMER PASO. Instalar R y R Studio.....	78
2.3.1.2. SEGUNDO PASO. Instalación de bibliometrix y biblioshiny en el entorno R .....	78
2.3.1.3. TERCER PASO. Demostración de la base de datos bibliométricos: PudMed (búsqueda avanzada).....	78
2.3.1.4. CUARTO PASO. Análisis bibliométrico con biblioshiny.....	80
2.3.2. Estudio de caso sobre Biotecnología Ambiental.....	82

2.3.2.1. Producción científica anual y su distribución geográfica por afiliación de autores .....	82
2.3.2.2. Top 10 de las revistas con mayor número de documentos científicos.....	83
2.3.2.3. Top 10 de los documentos más citados en Biotecnología Ambiental en los últimos 10 años.....	85
2.3.2.4. Tendencia en el uso de palabras claves en publicaciones científicas.....	86
2.3.2.5. Redes de colaboración .....	87
2.4. Discusión.....	88
2.5. Conclusiones .....	88
Referencias Bibliográficas .....	89
Capítulo III: Prácticas de laboratorio y cuestionario sobre biotecnología ambiental.....	92
3.1. Introducción.....	95
3.2. Materiales y métodos.....	96
3.3. Resultados .....	96
3.3.1. Tema: Inoculación y aislamiento de microorganismos en diferentes muestras ambientales.....	96
3.3.1.1. Objetivos.....	96
3.3.1.2. Fundamento teórico .....	96
3.3.1.3. Materiales .....	97
3.3.1.4. Metodología .....	98
3.3.2. Tema: Identificación de microorganismos con el microscopio óptico mediante técnicas tintoriales .....	98
3.3.2.1. Objetivos.....	98
3.3.2.2. Fundamento teórico .....	98
3.3.2.3. Tinción Gram .....	99
3.3.2.4. Tinción de azul de metileno o de Loeffler .....	100

3.3.2.5. Tinción con rojo Congo .....	101
3.3.3. Tema: <i>Trichoderma</i> sp. como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá ( <i>Passiflora edulis</i> ).....	102
3.3.3.1. Objetivos.....	102
3.3.3.2. Fundamento teórico .....	102
3.3.3.3. Materiales .....	103
3.3.3.4. Metodología .....	103
3.3.4. Tema: Aislamiento de microalgas y cianobacterias en muestras de agua y suelo .....	105
3.3.4.1. Objetivos.....	105
3.3.4.2. Fundamento teórico .....	105
3.3.4.3. Materiales .....	106
3.3.4.4. Metodología .....	106
3.3.5. Tema: Fructificación del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> con potencial en la biodegradación de contaminantes .....	109
3.3.5.1. Objetivos.....	109
3.3.5.2. Fundamento teórico .....	109
3.3.5.3. Materiales .....	112
3.3.5.4. Metodología .....	113
3.4. Discusión.....	113
3.5. Conclusiones .....	114
Referencias Bibliográficas .....	114
Anexos .....	118
Cuestionarios de biotecnología ambiental.....	120
Solucionario de preguntas y/o ejercicios .....	123

## Introducción

La Biotecnología Ambiental emplea el uso de organismos para la prevención, monitoreo y remediación de los ecosistemas, al mismo tiempo permite la generación de bioproductos y energía limpia. El libro consistió en tres capítulos, en el primero se establece los fundamentos de la Biotecnología Ambiental y sus aplicaciones en entornos terrestre, acuático y aéreo; además, se presentan herramientas aplicadas como los biosensores en el monitoreo ambiental, la fitorremediación en varios contextos de América Latina y el fortalecimiento de la agricultura sustentable. En el segundo capítulo se describe la importancia de un estudio bibliométrico y el enfoque para las diversas investigaciones, se detalla un manual de uso, que permite su replicabilidad en otros contextos. Además de presentar un caso de estudio aplicado al tema central de este libro, que sistematiza los temas más estudiados, las tendencias, revistas y países con mayores contribuciones. En el tercer capítulo se presentan varias prácticas de laboratorio y una sección de preguntas, que pueden ser empleadas en otras instituciones educativas o de manera autónoma. En conclusión, los capítulos son complementarios entre sí, facilitando la comprensión e interés del lector. El área de mayor relevancia corresponde a la biorremediación en suelos contaminados por hidrocarburos y metales pesados, los grupos más frecuentes en la revisión fueron hongos, cianobacterias y organismos genéticamente modificados. Finalmente, existe una oportunidad del uso y la potencial combinación de las técnicas basadas en metagenómica, ADN ambiental, inteligencia artificial para el desarrollo de las nuevas tendencias de la Biotecnología Ambiental.



# **Capítulo I: Guía de Biotecnología Ambiental**





# Guía de Biotecnología Ambiental

## *Environmental Biotechnology Guide*

Chicaiza-Ortiz, Cristhian David <sup>1,2</sup>   Rivadeneira-Arias, Virginia del Carmen <sup>2</sup>  

Herrera-Feijoo, Robinson Jasmany<sup>3</sup>   Andrade, Jean Carlo <sup>4</sup>  

<sup>1</sup> Shanghai Jiao Tong University, <sup>2</sup> Universidad Regional Amazónica IKIAM, <sup>3</sup> Universidad Técnica Estatal de Quevedo, <sup>4</sup> Universidad Politécnica Salesiana

 DOI / URL: <https://doi.org/10.55813/egaea.cl.2022.16>

**Resumen:** El capítulo parte de un recorrido histórico sobre los acontecimientos de la Biotecnología Ambiental y se discuten varios conceptos esenciales. Se mencionan varias aplicaciones, tales como: biomarcadores, biosensores, biocombustibles, biorremediación, biotransformación. Además, se describe las principales herramientas biotecnológicas aplicadas al monitoreo de la contaminación ambiental y a procesos de biorremediación, de las cuales se toman en cuenta las consideraciones técnicas, las estrategias de recuperación y mitigación. Se destaca una de las herramientas de biorremediación como es la fitorremediación, que abarca: fitoextracción, rizofiltración, fitoestabilización, rizodegradación, fitodegradación y fitovolitización. Asimismo, se proyectan las investigaciones y los proyectos más destacados en el contexto de América Latina. Además, se da a conocer algunas herramientas biotecnológicas para promover la agricultura sustentable con el uso de microorganismos como control biológico, y uso de biofertilizantes. Por último, se presentan aplicaciones para la mitigación del impacto ambiental generado por la actividad petrolera como las técnicas de inyección de CO<sub>2</sub> en reservorios subsuperficiales. También se mencionan las aplicaciones en la producción de nuevas fuentes de energía sustentable y tendencias biotecnológicas en el desarrollo de biomateriales alternativos al cuero y al plástico, en el que se detalla el procesamiento de micelios para la industria textil. En conclusión, esta guía sirve de apoyo para los estudiantes que estén interesados en conocer la asignatura de Biotecnología Ambiental o que estén cursando dicha asignatura.

**Palabras clave:** Biorremediación, fitorremediación, biofertilizantes, América Latina, energía sustentable

### **Abstract:**

The chapter starts with a historical overview of the developments in environmental biotechnology and discusses several essential concepts. Several

applications are mentioned, such as: biomarkers, biosensors, biofuels, bioremediation, biotransformation. In addition, the main biotechnological tools applied to environmental pollution monitoring and bioremediation processes are described, of which technical considerations, remediation and mitigation strategies are taken into account. One of the bioremediation tools is highlighted as phytoremediation, which includes: phytoextraction, rhizofiltration, phytostabilization, rhizodegradation, phytodegradation and phytovolitization. The most outstanding research and projects in the Latin American context are also presented. In addition, some biotechnological tools are presented to promote sustainable agriculture with the use of microorganisms as biological control, and the use of biofertilizers. Finally, applications for the mitigation of the environmental impact generated by oil activity are presented, such as CO<sub>2</sub> injection techniques in subsurface reservoirs. Also mentioned are applications in the production of new sources of sustainable energy and biotechnological trends in the development of alternative biomaterials to leather and plastic, detailing the processing of mycelia for the textile industry. In conclusion, this guide serves as a support for students who are interested in learning about Environmental Biotechnology or who are taking this subject.

**Keywords:** Bioremediation, phytoremediation, biofertilizers, sustainable energy, Latin America

## 1.1. Introducción

### 1.1.1. Historia

**Figura 1**

*Breve cronología de los acontecimientos en el desarrollo de la biotecnología*



**Nota: Fuente:** Adaptado de Verma y Ravichandran, 2020

Las personas han definido el término biotecnología de diversas maneras. La comunidad científica está de acuerdo en que la ciencia, en su esencia, implica la aplicación de otras formas de vida para el progreso de la humanidad. Los procesos que utilizaban organismos enteros, como la levadura, eran necesarios para el procesamiento de alimentos crudos. La fermentación, por ejemplo, fue un conocimiento tradicional en varias civilizaciones utilizado para la preparación de alimentos como el pan, el queso, la masa, el vino, etc. Los agricultores de Asia Central han venido fabricando cuajada/yogur desde el 6000 a.C., el pueblo de iraquí aprendió a hacer vino con levadura y los antiguos egipcios la utilizaban para hacer pan desde el 4000 a.C. (Verma y Ravichandran, 2020).

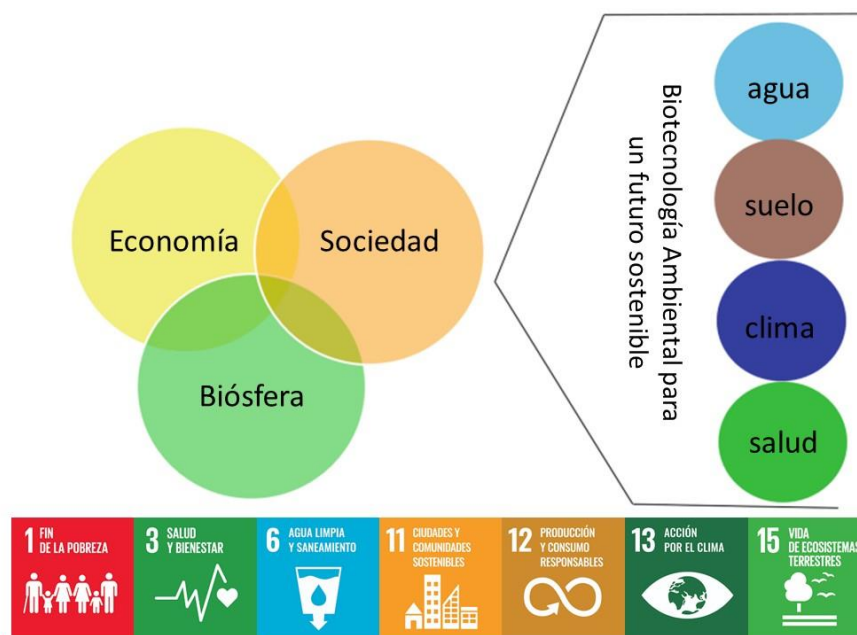
Siglos más tarde, se produjeron numerosos descubrimientos que marcaron un hito y permitieron mejorar nuestra comprensión en varios ámbitos de la herencia, causas y curas de las enfermedades, preservación de los alimentos, mejorar las prácticas agrícolas, etc. Importantes contribuciones en el campo de la biología ampliaron el horizonte del conocimiento, lo que permitió identificar su potencial traslativo (Figura 1). Muchos de los métodos más antiguos que se practicaban se explicaron mejor posteriormente, cuando se inició la búsqueda científica para entender los procesos naturales. Por ejemplo, la fermentación fue explicada por Louis Pasteur (1879), quien en múltiples experimentos demostró que las bacterias causaban la acidificación de la leche debido a la formación de ácido láctico. Por la misma época, el descubrimiento de la vacuna contra la viruela por parte de Edward Jenner se basó en la observación de la inmunidad adquirida y anunció una nueva era de la medicina preventiva basada en la inmunización. La curación de la infección de las heridas se realizaba mediante moldes de cuajada o de queso en la prehistoria sin saber que las cataplasmas hechas con ellos contenían antibióticos. Alexander Fleming (1928) purificó el antibiótico penicilina a partir de los moldes y demostró su capacidad para curar infecciones bacterianas. Este descubrimiento se considera uno de los mayores logros científicos de la época posterior a la Segunda Guerra Mundial, ya que pudo salvar innumerables vidas (Verma y Ravichandran, 2020).

### 1.1.2. Conceptos

El término “biotecnología medioambiental” se creó para describir la aplicación de sistemas biológicos, desde bacterias a plantas, para la limpieza de lugares contaminados, la reducción de la polución, la detección y vigilancia de contaminantes y, más recientemente, la conversión de residuos en biopolímeros, energía y otras ventajas (Sanabria, 2014).

**Figura 2**

*El papel de la biotecnología ambiental*



**Nota: Fuente:** Ghahari et al., 2021.

Esta ciencia es un conjunto de conocimientos científicos e ingeniería relacionados con el uso de organismos y sus productos para la prevención de la contaminación mediante el biotratamiento de residuos sólidos, líquidos y gaseosos (Scragg, 2005). Es decir, son métodos que usan las actividades naturales de las plantas o microorganismos como bacterias y hongos, para transformar, degradar, fijar, inmovilizar o promover la biorremediación de contaminantes y la biomonitorización del entorno y del proceso de tratamiento que consiste en evaluar la concentración de compuestos químicos o de sus metabolitos en muestras de biológicas, es decir, permite medir dosis de compuestos en el ambiente (Singh, 2017).

La vida humana depende de un delicado equilibrio entre el entorno y los organismos que lo necesitan para sobrevivir y desarrollarse en sociedades. La viabilidad a largo plazo del entorno físico indica cómo prospera una sociedad. Cada día, el tratamiento de sustancias peligrosas es un gran reto y la mejor manera de proteger el ambiente es reducir la producción de residuos y establecer esa armonía saludable entre la estética y la salud. La Biotecnología Ambiental está permitiendo avances significativos para alcanzar las metas propuestas en la agenda 2030 de la ONU (Figura 2), enmarcando siete de estos objetivos por medio de la mejora en las tecnologías de remediación en aguas superficiales y subterráneas, en suelos, en la estabilidad ecosistémica y climática y la salud de los organismos. Para satisfacer las necesidades de la generación actual sin poner en peligro las de las generaciones futuras, el desarrollo sostenible busca siempre una distribución equitativa de los recursos. La tecnología preventiva,

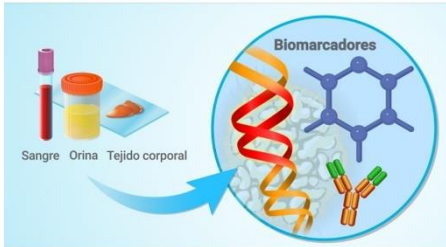
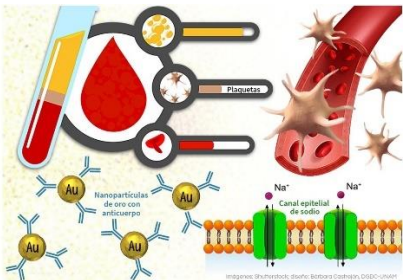
cuyo objetivo es fabricar productos con la menor cantidad de desechos y residuos generados para ser más eficaces y hacer realidad un marco de economía circular, es un buen ejemplo (Ghahari et al., 2021).

### 1.1.3. Aplicaciones

La Biotecnología Ambiental ha mejorado la prevención de la contaminación, el tratamiento de los residuos sólidos y las aguas residuales, una fabricación de diversos productos más eficiente en términos recursivos y la garantía de la salud ambiental a través de la biomonitorización y la ingeniería genética. Esta ciencia también puede utilizarse para reducir la toxicidad biomovilizando los residuos peligrosos, desarrollando materiales biodegradables para la sostenibilidad ambiental, produciendo combustibles a partir de biomasa y residuos orgánicos y previniendo la producción de residuos peligrosos (Singh, 2017).

A continuación, se describe en la Tabla 1 las principales aplicaciones de la Biotecnología Ambiental.

**Tabla 1**  
*Aplicaciones de la Biotecnología Ambiental y su descripción*

Aplicaciones	Descripción	Referencia
<p data-bbox="371 1061 555 1095">Biomarcadores</p> 	<p data-bbox="715 1061 1107 1552">Los biomarcadores son muchos cambios (biológicas, fisiológicas, metabólicas) que un organismo o población puede experimentar en respuesta al estrés ambiental. En consecuencia, el monitoreo biológico o biomonitoreo mediante estudios de biomarcadores se ha propuesto como un método directo para determinar las diversas respuestas biológicas de los organismos a los contaminantes ambientales.</p>	<p data-bbox="1131 1061 1361 1133">Wallace, Kormos, y Pleil (2016).</p> <p data-bbox="1131 1155 1361 1261">Recabarren, Ronda y Arias (2019)</p> <p data-bbox="1131 1283 1361 1350">A Breath of Hope (s.f.)</p>
<p data-bbox="387 1576 539 1610">Biosensores</p> 	<p data-bbox="715 1576 1107 1861">Un sistema analítico denominado biosensor ambiental combina un elemento biológico sensible con un transductor para detectar compuestos en el medio ambiente de forma rápida, proporcional, precisa y sensible.</p>	<p data-bbox="1131 1576 1361 1644">Castro, Luna y Villalobos (2007)</p> <p data-bbox="1131 1666 1361 1733">Nguyen, Kwon, y Gu (2017)</p> <p data-bbox="1131 1756 1361 1899">Universidad Nacional Autónoma de México (2021)</p>

Aplicaciones	Descripción	Referencia
<p data-bbox="363 264 564 293">Biocombustibles</p> 	<p data-bbox="715 264 1114 719">Dado que la generación de residuos agroindustriales durante la fase del proceso de producción es actualmente un problema mundial porque los subproductos no suelen procesarse adecuadamente, los biocombustibles que utilizan residuos agroindustriales tienen un impacto positivo en el medio ambiente y contribuyen significativamente al desarrollo sostenible.</p>	<p data-bbox="1137 264 1348 293">Chia <i>et al.</i> (2018)</p> <p data-bbox="1137 322 1348 383">Aguilar, Guevara, y Taboada (2021)</p> <p data-bbox="1137 412 1348 441">Shutterstock (s.f.)</p>
<p data-bbox="363 745 564 775">Biorremediación</p> 	<p data-bbox="715 745 1114 1133">Dado que utiliza los mismos microorganismos que existen en el suelo y el subsuelo, la biorremediación es un método especialmente práctico para limpiar suelos contaminados. Inicialmente, se afirmó que el suelo y el subsuelo están compuestos de sustancias inorgánicas y orgánicas, así como de agua, aire y microbios.</p>	<p data-bbox="1137 745 1348 806">Sharma, y Agrawal (2005)</p> <p data-bbox="1137 835 1348 896">Cisneros, y Luis (2021)</p> <p data-bbox="1137 925 1348 985">Rothschuh Osorio (2022)</p>
<p data-bbox="355 1171 572 1200">Biotransformación</p> 	<p data-bbox="715 1171 1114 1368">Los cambios que se producen en la biología del medio ambiente que son cambios del compuesto complejo a simple no tóxico o al revés se llama proceso de biotransformación.</p>	<p data-bbox="1137 1171 1348 1232">Smitha, Singh y Singh (2017)</p> <p data-bbox="1137 1261 1348 1357">Henning, Kunkel, Wick, y (Ternes, 2018)</p> <p data-bbox="1137 1386 1348 1447">Canal Diabetes (2017)</p>

**Nota: Fuente:** Autores de la tabla.

## 1.2. Materiales y métodos

Se realizó una búsqueda de los temas más relevantes en el área de Biotecnología Ambiental, especialmente con documentos en inglés y español. Las bases de datos empleadas fueron Scopus, Web of Science y Scielo. La búsqueda se enfocó en artículos, capítulos de libros y revisiones de los últimos 10 años. Se sistematizó la información encontrada en el formato de una guía académica.

## 1.3. Resultados

### 1.3.1. Herramientas biotecnológicas aplicadas al monitoreo de la contaminación ambiental y a procesos de biorremediación

#### 1.3.1.1. Introducción y antecedentes

El crecimiento de la población, el aumento del consumo de los recursos naturales, la expansión de las áreas urbanas, el cambio de dietas en los países en desarrollo y el aumento del consumo de energía son algunos de los principales impulsores del aumento de la demanda de tierras. Los demógrafos predicen una población mundial de 9 mil millones para 2050, con una población mundial de 9 a 12 mil millones para fines de siglo. Los ingresos personales aumentan a la par con el crecimiento de la población. Como resultado, la demanda mundial de cultivos aumentará entre un 100% y un 110% entre 2005 y 2050 que, según la ONU y la FAO, va a aumentar la producción agrícola en un 60% a nivel mundial y casi un 77% en las naciones en desarrollo. El potencial de expansión de la tierra cultivable es limitado. Alrededor de 33 M ha de suelos contaminados con elementos traza existen en todo el mundo. Esta estimación es conservadora debido a la falta de datos publicados sobre tierras contaminadas en países en desarrollo. Además, la mayoría de los países carecen de recursos para reparar o asegurar las tierras contaminadas (Evangelou et al., 2012).

El suelo es un recurso que posee un ecosistema frágil que se ha visto afectado por las actividades antropogénicas (Ferreira et al., 2018). La degradación del suelo afecta a más de 1.500 millones de personas en varios países (Kumar et al., 2016). La Comisión Europea menciona entre las más destacadas amenazas al suelo, las siguientes: 1) erosión; 2) disminución de la materia orgánica (MO); 3) contaminación del suelo; 4) sellado del suelo; 5) compactación del suelo; 6) disminución de la biodiversidad del suelo; 7) salinización; 8) inundaciones y 9) deslizamientos de tierra (Communication from the Commission to the Council, the European Parliament, the European Economic and Social Committee and the Committee of Regions. In: Thematic Strategy for Soil Protection [COM 2006.231], 2006). Estas amenazas son consecuencia de actividades humanas como la urbanización, la agricultura intensiva y las alteraciones en los entornos forestales. El uso de la tierra en un suelo determinado va a depender de sus características físicas, químicas y biológicas (García et al., 2012). Cada año se pierden entre 5 y 6 millones de hectáreas (Kumar et al., 2016). Por otro lado, la calidad del suelo permite la regulación de sus funciones necesarias para mantener la productividad animal y vegetal del suelo (Maurya et al., 2020).

### 1.3.1.2. Consideraciones técnicas

Cualquier alteración del suelo provoca cambios en sus características físicas (textura, densidad aparente, etc.), químicas (pH, salinidad, carbono orgánico, etc.) y biológicas (microbios y enzimas). Estas características sirven como indicadores de calidad para el suelo (Maurya et al., 2020), ya que la fuga de nutrientes del suelo lo vuelve incapaz de sustentar cultivos o plantas que previenen la desertificación (Aelion, 2017). Las cualidades intrínsecas del suelo no varían significativamente con el manejo; están determinadas por el clima, la topografía, el material parental, la biota y el tiempo; y los atributos dinámicos están influenciados por la gestión humana y las perturbaciones naturales a lo largo del tiempo (Soil Quality Indicators-Physical, Chemical, and Biological Indicators for Soil Quality Assessment and Management, 2015).

Hay que considerar que la vegetación tropical tiende a recuperarse, y los hábitats andinos presentan una dificultad particular. El ecosistema páramo no se recupera del daño a nivel del suelo porque tiene una capa muy delgada de materia orgánica y se descompone al introducir herramientas mecánicas, perdiendo su capacidad de renovación (Suquilanda, 2008).

La pérdida de la base nutricional del suelo, la acidificación, salinización, dosificación, el aumento de la toxicidad por liberación o concentración de elementos químicos, afecta la actividad de los microorganismos, contribuyen a la degradación del suelo. A esto se suma la contaminación del suelo provocada por las actividades petroleras y mineras, que ha perjudicado no solo a los ecosistemas sino también a la biodiversidad (Espinosa et al., 2018).

### 1.3.1.3. Estrategias de recuperación y mitigación

Si bien la explotación petrolera genera la mayor parte de los ingresos económicos de varios países, tiene una serie de consecuencias negativas para los suelos, incluida la alteración y fragmentación de ecosistemas y hábitats, la sobreexplotación de la flora silvestre y la introducción de especies, la contaminación ambiental, la falta de atención a los problemas de deforestación. La deforestación es necesaria para facilitar la producción de crudo en muchos aspectos. Adicionalmente, los residuos peligrosos generados por esta operación, que ocurre a mayor profundidad de extracción de crudo, contienen niveles más altos de toxicidad, incluyendo metales pesados, compuestos radioactivos y otros contaminantes (INIAP, 2018). Varios tipos de suelos son aptos para sistemas agroforestales porque consisten en cultivos permanentes, pastos y cobertura forestal (MAE, 2015). La agrosilvicultura y la fitorremediación son opciones viables para asegurar un manejo sostenible y prevenir la degradación de los suelos amazónicos por su fragilidad.

Existen estrategias de remediación que pueden resultar interesantes, como el Programa de Reparación Ambiental y Social (PRAS), que pueden ser



replicables. El PRAS brindó asistencia técnica a las operaciones de PETROAMAZONAS en la microcuenca Pacayacu que ha sido impactada por actividades hidrocarburíferas. La propuesta consistió en la erradicación de fuentes de contaminación en las fincas y aplicar sistemas agroforestales para proteger especies permanentes y semipermanentes. Además, esta técnica protege también los suelos no afectados. Posteriormente se contempló la mejora de los sistemas de producción de café, cacao y pastos para satisfacer las necesidades de los agricultores, compensaciones de carbono mediante el secuestro por la vegetación y la recuperación de la cubierta forestal, la restauración de cercas vivas, y el reemplazo del suelo con gramíneas y leguminosas que alimentan a los animales (MAE, 2015).

#### 1.3.1.4. Investigaciones y proyectos en América Latina

Como la mayoría de los países de América Latina, Ecuador es un país megadiverso con una gran riqueza natural, pero tiene un gran desafío respecto a la erosión del suelo. Los cambios ecológicos, los cambios en el uso de la tierra y la extensión de las fronteras agrícolas y ganaderas están afectando la productividad de los recursos naturales de Ecuador (Suquilanda, 2008). Algunas regiones de la cuenca del río Jubones están siendo desertificadas, lo que la convierte en uno de los principales problemas ambientales del país; algo similar ocurre en ciertas zonas de las provincias de Manabí, Tungurahua y Cotopaxi (Bravo et al., 2021). Los frágiles ecosistemas y las características geológicas únicas de la región amazónica de Ecuador la hacen particularmente vulnerable a la degradación severa del suelo, debido a una topografía irregular y pendientes pronunciadas, el ambiente es muy vulnerable a la erosión (Espinosa et al., 2018). Además, los suelos de esta zona tienen una composición química caracterizada por una alta acidez, la presencia de aluminio, alto contenido de materia orgánica y una baja disponibilidad de fósforo y bases intercambiables, como potasio, calcio y magnesio, que definen sus cualidades físicas, químicas y biológicas (Bravo et al., 2021).

#### Figura 3

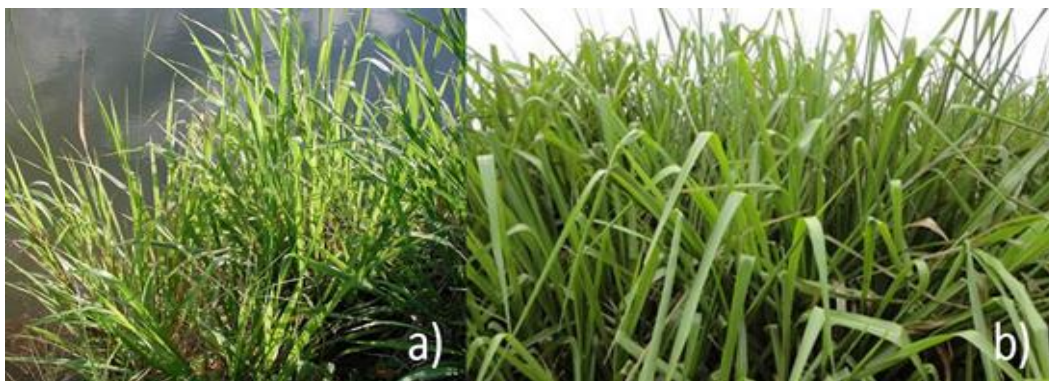
Especie vegetal (a) *Leersia hexandra* (b) con la capacidad de fitorremediar gleysoles



**Nota: Fuente:** Arias et al., 2017.

**Figura 4**

Especies utilizadas para fitorremediación: (a) *Panicum máximo*, (b) *Brachiaria brizantha*



**Nota: Fuente:** Hernández y Mager., 2003.

Un suelo contaminado con un hidrocarburo de petróleo a una concentración del 3% fue fitorremediado por Hernández-Valencia y Mager (2003), utilizando dos especies de gramíneas (Figura 3), *Panicum maximum* y *Brachiaria brizantha*. Aunque la biomasa extrema y foliar de las dos plántulas se vio muy afectada, a los 240 días estos pastos tenían menos contaminación que los suelos control sin vegetación. Por lo tanto, Hernández-Valencia y Mager (2003), clasificaron a estas especies como de potencial para la recuperación de bandadas pasivas, beneficiosas y estéticamente atractivas. Por otra parte, Arias et al. (2017), encontraron que *Leersia hexandra* puede fitorremediar Gleysoles (Figura 4) que contienen aceite tanto en entornos tropicales inundados, con tasas de descontaminación que van del 66% al 87% tanto para el aceite fresco como para el degradado, respectivamente.

Castaño (2018) investigó la capacidad de fitorremediación de *Brachiaria brizantha*, usándola para remediar crudos con diferentes densidades API y consiguió una disminución del 80% de los hidrocarburos en los suelos investigados. Sin embargo, se recomienda un mínimo de 4 meses para obtener resultados rentables, junto con un aumento de fertilizante y el considerar la edad de la planta al momento de la siembra. Zúñiga (2020) utilizó a *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms a menudo conocida como flor de agua, para eliminar cadmio (Cd) del suelo. El metal pesado se acumuló en sus componentes radiculares y aéreos con una concentración inferior a 100 mg/kg, por lo que no es una especie hiperacumulativa. Además, el uso de bioestimulación y fitorremediación puede remediar positivamente suelos contaminados con hidrocarburos, por ejemplo, se puede alcanzar una reducción del 75.7 % para hidrocarburos totales de petróleo (abreviados TPH en inglés) y una reducción del 65.95 %, y 70.27 % para Cd, y Pb, respectivamente (Veloz et al., 2015).

En cuanto a los casos en América Latina, son varios los estudios conducidos en diversos países como Brasil, Chile, Argentina, México o Colombia. el destacar el

hecho de la existencia de un factor común que muestra sin duda, una tendencia hacia la biorremediación; como una herramienta básica del tratamiento de problemas de contaminación ambiental en esta región.

Sin duda alguna la ubiquidad de los microorganismos es una cualidad única que les confiere habilidades potenciales para ser aprovechadas por la biotecnología. En Chile se llevan a cabo estudios progresivos sobre microorganismos extremófilos, los cuales son capaces de adaptarse, sobrevivir o desarrollarse en ambientes muy hostiles, que pueden resultar letales. Chile posee una amplia gama de este tipo de ambientes tales como: salares, manantiales geotérmicos, géiseres, montañas y campos de hielo, lagos, etc., de donde se han aislado extremófilos en diversas zonas con posibles aplicaciones biotecnológicas (p. ej., *Methanofollis tationis* de Tatio Geysers), acidófilos (p. ej., *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferriphilum* del desierto de Atacama y minerales de cobre de Chile Central), halófilos (p. ej., *Shewanella* sp. Asc-3 de Altiplano, *Streptomyces* sp. HKF-8 de la Patagonia), alcalófilos (*Exiguobacterium* sp. SH31 del Altiplano), bacterias xerotolerantes (*S. atacamensis* del Desierto de Atacama), bacterias resistentes a UV y Gamma (*Deinococcus peraridilitoris* del Desierto de Atacama) y psicrófilos (ej., *Pseudomonas putida* ATH-43 de la Antártida) (Orellana, et al., 2018). Los avances técnicos han convertido la biorremediación en un servicio ecosistémico a gran escala adecuado para el tratamiento de suelos contaminados en todo el mundo; sin embargo, su aplicación en Chile es escasa. El costo de la biorremediación en un estudio estimó cantidades entre USD 50.7 y USD 310.4 por m<sup>3</sup> de suelo contaminado. Además, se identificaron actividades que tuvieron los impactos más significativos en el costo final, como compost para bioestimulación y medios de crecimiento bacteriano para enfoques basados en bioaumentación. Los costos proyectados se compararon con una base de datos de 130 proyectos de biorremediación de suelos, concluyendo que los costos del se ubicaron dentro del 60% superior de los proyectos más costosos, lo que destaca el gran esfuerzo involucrado en la biorremediación de suelos crónicamente contaminados. Esto resulta en una gran ventaja para los tomadores de decisiones, consultores, investigadores y autoridades gubernamentales al momento de lanzar iniciativas para desarrollar la biorremediación por medio de la industria local y con capacidad para limpiar un alto número de sitios contaminados en Chile.

La importancia de este trabajo radica también en hacer notar que, hasta la fecha, no son vastas las investigaciones aplicadas que han utilizado técnicas de biorremediación para limpiar los ecosistemas. Por ejemplo, en Brasil, se han llevado a cabo algunos estudios sobre derramamiento de petróleo y las consecuencias sobre las costas del país. Por ejemplo, en la investigación de Rosa y Triguís (2007,) los resultados de una simulación encontraron una dosis correcta de NPK para estimular el proceso de biodegradación que no mostraba efectos tóxicos para la biota local y, por lo tanto, no comprometía la aplicabilidad

de la técnica. La metodología estuvo basada en el cultivo de bacterias responsables de reducir el impacto ambiental costero contaminado con derrames de petróleo. Demostraron que hubo una reducción en fracción saturada con un enriquecimiento relativo en compuestos polares (NSO, por sus siglas en inglés), una fracción aromática constante restante del petróleo. También se concluyó que aquellas muestras tomadas a 5 cm de profundidad se biodegradan más que en las superficies de las muestras, principalmente por la cantidad de humedad del suelo. En la fracción saturada, la reducción fue más expresiva en alcanos lineales que en isoprenoides, confirmando de esa manera un orden de susceptibilidad de biodegradación. Finalmente, las simulaciones de biorremediación fueron clasificada como moderada, alcanzando el nivel 5 en la escala de clasificación de Peters y Moldowan (1993).

En Argentina, por ejemplo, hay pocos estudios dedicados a técnicas de biorremediación como la bioestimulación, la cual es una metodología ampliamente utilizada para la biorremediación de hidrocarburos en un suelo. Un estudio estuvo enfocado en determinar las relaciones C:N:P, humedad y concentración y tipo de hidrocarburos para estudiar la viabilidad de un proceso de biodegradación de hidrocarburos en un suelo de la ciudad de Río Gallegos, Argentina. Para este propósito, se realizaron cuatro bioensayos utilizando microcosmos para determinar las condiciones de C:N:P (100:7.5:0.75, 100:5:0.5, 100:2.5:0.25 and 100:1:0.1), humedad (0% - 15 %), así también una concentración de hidrocarburos (0% - 5 %). La evaluación de los experimentos tomó en cuenta procesos como la mineralización y la cuantificación de hidrocarburos y de bacterias heterótrofas y degradadoras de hidrocarburos. Al final se concluyó que la relación C:N:P óptima fue de 100:2.5:0.25, con un rango de incorporación de humedad de entre 10-15% para un suelo con 3% de hidrocarburos. Los resultados mostraron que cuando los hidrocarburos de la nafta son eliminados del suelo en un 100%, la actividad bacteriana puede recuperarse y desarrollar la biodegradación del gasoil, y en menor medida los del aceite. Esto se resume en la gran aplicabilidad, escalabilidad y potencialidad de estas técnicas en la región (Cambarieri, Pucci, y Acuña, 2021).

En la región latinoamericana, varios países generan continuamente diversas propuestas de aplicabilidad de la biotecnología ambiental. Tal es el caso de México, uno de los países más biodiversos del mundo donde encontramos ecosistemas destacables como los arrecifes de coral, que proporcionan varios servicios a las comunidades costeras, como la recreación y la pesca comercial. Las fuentes de contaminación por hidrocarburos en Veracruz, México incluyen la industria petrolera, así como el turismo y las actividades marítimas. Una investigación evaluó la contaminación por hidrocarburos en arrecifes en el Golfo de México a lo largo de la costa de Veracruz contaminada con octano, nonano, hidrocarburos aromáticos incluyendo fenantreno, dotriacontano, tetratriacontano, hexatriacontano, octatriacontano, tetracontano y

tetratriacontano. Los análisis mostraron que la concentración de hidrocarburos en cuerpos de agua superaba el límite de descarga de aguas producidas de la industria petrolera de 15 ppm en agua dulce y 40 ppm en agua de mar. Para tal efecto se cultivó un consorcio microbiano compuesto por *Acinetobacter bouvetii*, *Defluviobacter lusatiensis*, *Xanthomonas* y *Shewanella* en un biorreactor con 20 g.L<sup>-1</sup> de diésel y gasolina como única fuente de carbono. Los resultados mostraron que aproximadamente el 91.39 % del diésel se degradó en medio de agua de mar y el 97.55 % en medio mineral después de 14 días. Además, el 95.05 % de la gasolina se degradó en un medio de agua de mar y el 98.79 % en un medio mineral durante el mismo período de tiempo. En todos los experimentos, el consorcio mostró que la actividad del emulsionante aumentó y el diámetro de las gotas de hidrocarburo disminuyó con el tiempo (Narciso-Ortiz, et al., 2020).

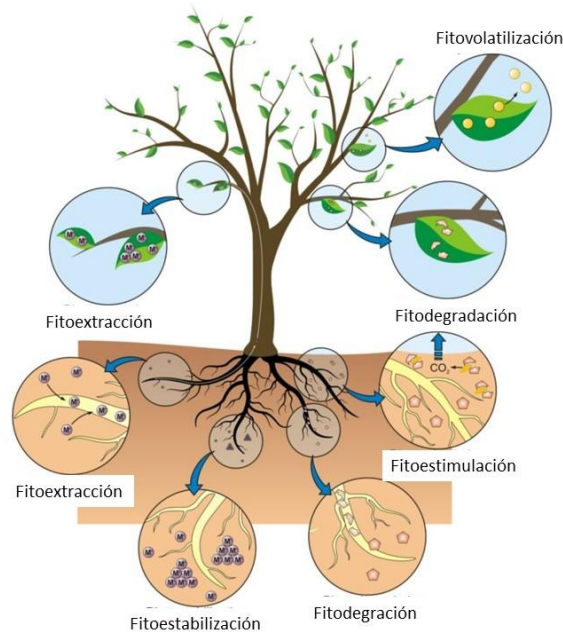
En Colombia se han reportado varios derrames de petróleo en antiguas áreas de extracción de petróleo y en infraestructura petrolera que causaron grandes daños en los ecosistemas. Mediante pruebas piloto de laboratorio de biorremediación de suelos contaminados con petróleo en Sylvania, Colombia, se investigaron tres tratamientos de Bioestimulación: Bioaumentación (B), Bioaumentación con Surfactante (SB), Bioestimulación (Bs), Bioestimulación con Surfactante (SBs) y Bioestimulación con Surfactante con D-Limonene (SBsDL). Además, se consideró el efecto del surfactante Tween 80 en la degradación de TPH en los tratamientos de biorremediación (Bioestimulación y Bioaumentación) en condiciones anaeróbicas. Para los tratamientos de Bioaumentación se incrementó la densidad bacteriana mediante compostaje y en los tratamientos de Bioestimulación se aplicaron nutrientes y enmiendas. Adicionalmente, se realizó el tratamiento de Atenuación Natural (NA) y el tratamiento de Control (C). Tras 90 días de evaluación, la degradación de TPHs en los resultados para cada tratamiento fueron: Control (53.8%), NA (57.7%) B (65.4%), SB (69.2%), Bs (75.0%), SBs (76.9%) y SBsDL (76.9%). Los resultados obtenidos mostraron que los tratamientos de biorremediación con surfactante tienen mayores porcentajes de biodegradación de TPHs, además de que el aumento de la población microbiana y la estimulación con nutrientes en los tratamientos de biorremediación en condiciones anaerobias tuvo un efecto positivo en los experimentos. Las pruebas de laboratorio finalmente ayudaron a concluir que hasta el 76.9 % de los contaminantes del petróleo se degradaron en 90 días, lo que indica la viabilidad de desarrollar un protocolo de biorremediación a gran escala (Delgado, Pérez, Cardona y Loaiza-Usuga, 2019).

Si bien es cierto en la región de América Latina se desarrollan varias propuestas, no se debe dejar de lado el hecho de ser prioritariamente consideradas opciones viables para la conservación de los ecosistemas; bajo costo y amigables con el ambiente y tienen la potencialidad de servir como herramientas eficientes para la gestión ambiental y restauración de ecosistemas.

### 1.3.1.5. Evaluación de tecnologías de fitorremediación

A continuación, se describe por medio de representaciones gráficas, los diferentes métodos de fitorremediación más exitosos a la fecha. En la figura 5, un esquema generalizado de las técnicas.

**Figura 5**  
*Esquema generalizado*

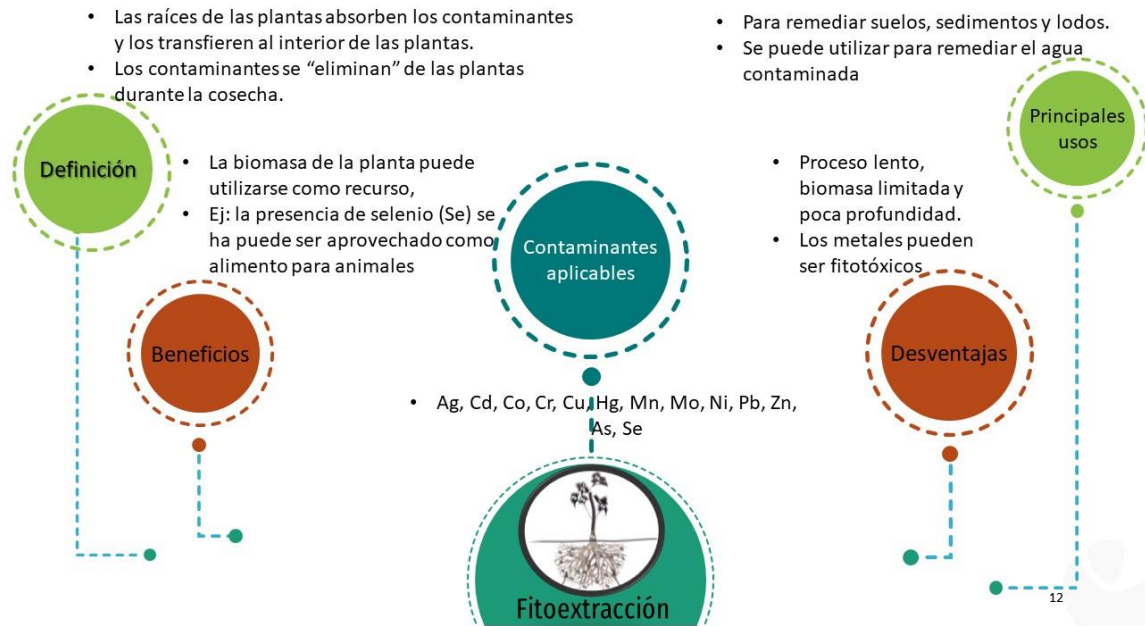


**Nota:** Esquema de resumen de las diferentes tecnologías de fitorremediación según la zona de interacción de la planta. **Fuente:** Bhat et al., 2021; Rigoletto., 2020; Chrobok, 2022

#### 1.3.1.5.1. Fitoextracción

En la figura 6 se observan conceptos relacionados a la fitoextracción, ventajas y desventajas, así como también un rango determinado de aplicabilidad a contaminantes. La plantación de un cultivo de una especie que se sabe que recoge los contaminantes en los brotes y hojas de la planta, la cosecha del cultivo y la posterior eliminación de la contaminación del lugar se conoce como fitoextracción. Este método crea un gran número de plantas y contaminantes (normalmente metales) que deben transportarse para su eliminación o reciclaje, a diferencia de los métodos de degradación destructiva. En comparación con la excavación y el vertido, este método de Biotecnología Medioambiental deja una cantidad significativamente menor por retirar (EPA, 2000).

**Figura 6**  
*Fitoextracción*



**Nota:** Adaptado de EPA **Fuente:** EPA., 2000.

### 1.3.1.5.2. Rizofiltración

En el sentido de que es una técnica de concentración que puede utilizarse en la rama de la biotecnología medioambiental, la rizofiltración es comparable a la fitoextracción. El método se basa en la acumulación de contaminantes en las raíces y su posterior recolección mediante técnicas de cultivo hidropónico (sin suelo), lo que lo diferencia de la fitoextracción. Es útil para eliminar los contaminantes metálicos del agua. La rizofiltración ha demostrado ser eficiente también para la remoción de radionúclidos (EPA, 2000). En la figura 7 se pueden observar algunos conceptos interesantes acerca de los beneficios, desventajas y el medio en el cual la técnica se puede desarrollar.

**Figura 7**  
*Rizofiltración*



**Nota:** Adaptado de EPA **Fuente:** EPA., 2000

### 1.3.1.5.3. Fitoestabilización

Un contaminante puede inmovilizarse en el suelo mediante la absorción y acumulación radicular, la adsorción radicular o la precipitación dentro de la zona radicular de las plantas. Este proceso se conoce como fitoestabilización. Para detener el movimiento de contaminantes a través de la dispersión del suelo, la lixiviación y la erosión eólica e hídrica, también es necesario utilizar las plantas y sus raíces. Esta técnica se produce a través del microbiota del suelo, la química de la zona de raíces y/o la alteración del entorno del suelo o la química de los contaminantes (EPA, 2000). En la figura 8 se observan varias consideraciones generales de la técnica, así como también sus ventajas y desventajas más relevantes.



**Figura 8**  
*Fitoestabilización*



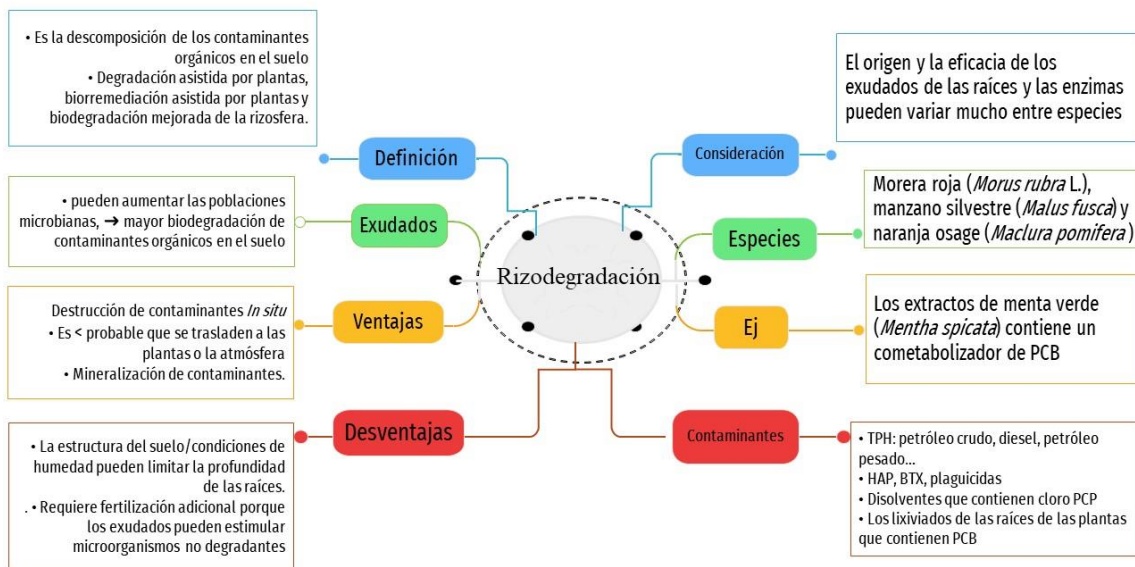
**Nota:** Adaptado de EPA **Fuente:** EPA., 2000.

#### 1.3.1.5.4. Rizodegradación

La rizodegradación, acelerada por la presencia de la zona radicular, es la actividad microbiana que descompone los contaminantes orgánicos del suelo. Este método es compatible con la biorremediación in situ asistida por plantas que se ayuda de la rizosfera y es un subconjunto de la biotecnología medioambiental. Así pues, el mecanismo para aplicar la rizodegradación es esta biodegradación de la zona radicular (EPA, 2000).

Los compuestos elaborados por las plantas y vertidos por las raíces de las plantas se conocen como exudados radiculares. Entre ellos se encuentran azúcares, aminoácidos, ácidos orgánicos, ácidos grasos, esteroides, factores de crecimiento, nucleótidos, flavanonas, enzimas y otras sustancias. Los exudados pueden estimular las poblaciones microbianas y la actividad en la rizosfera, lo que puede conducir a un aumento de la biodegradación de contaminantes orgánicos en el suelo. La rizosfera también aumenta significativamente la superficie en la que puede fomentarse la descomposición microbiana activa, o la biodisponibilidad del contaminante. Es importante destacar que el co-metabolismo de los contaminantes en la rizosfera podría ser el resultado de la descomposición de los exudados (EPA, 2000). En la figura 9 se puede observar de manera más práctica, lo mencionado en este apartado.

**Figura 9**  
*Rizodegradación*

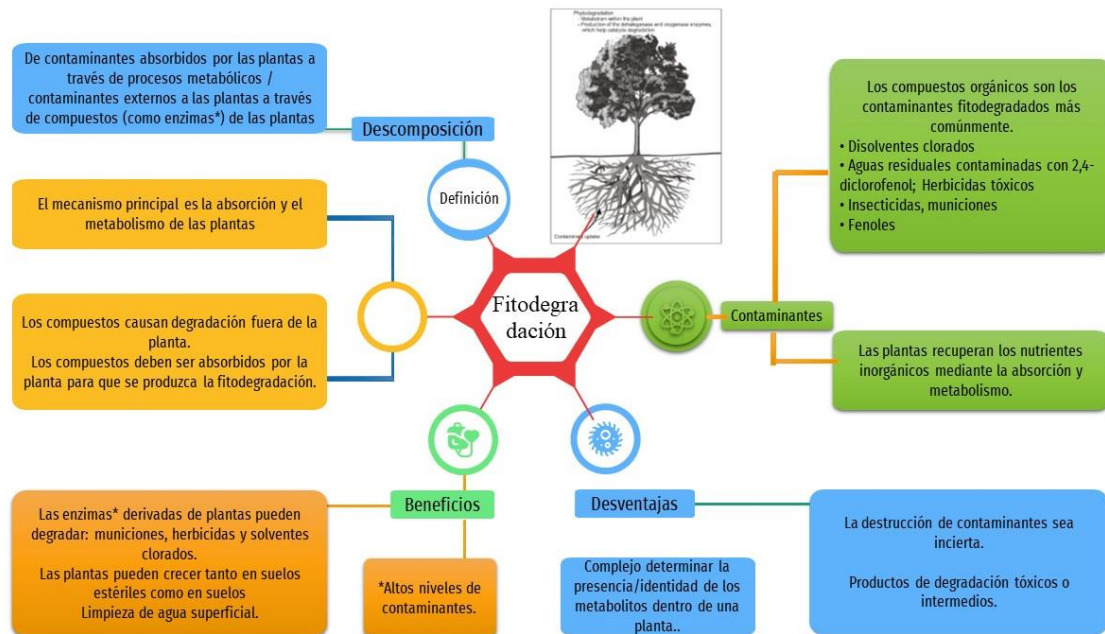


**Nota:** Adaptado de EPA **Fuente:** EPA., 2000.

### 1.3.1.5.5. Fitodegradación

La descomposición de los contaminantes ingeridos por las plantas mediante mecanismos metabólicos internos se conoce como fitodegradación o fitotransformación. Además, es la descomposición de contaminantes externos a la planta debido a la acción de sustancias químicas y exudados (como enzimas) fabricados por las plantas. En conclusión, el proceso primario es la absorción y transformación del contaminante, que están mediadas por el metabolismo de la planta. Además, como se liberan las sustancias químicas que catalizan la transformación, el deterioro puede tener lugar fuera de la planta. En resumen, podemos decir que cualquier deterioro provocado por microorganismos conectados a las raíces de las plantas o que las afectan se denomina rizodegradación (EPA, 2000). En la figura 10 se puede observar un breve resumen sobre los principales beneficios, desventajas y mecanismos de funcionamiento de la fitodegradación.

**Figura 10**  
*Fitodegradación*

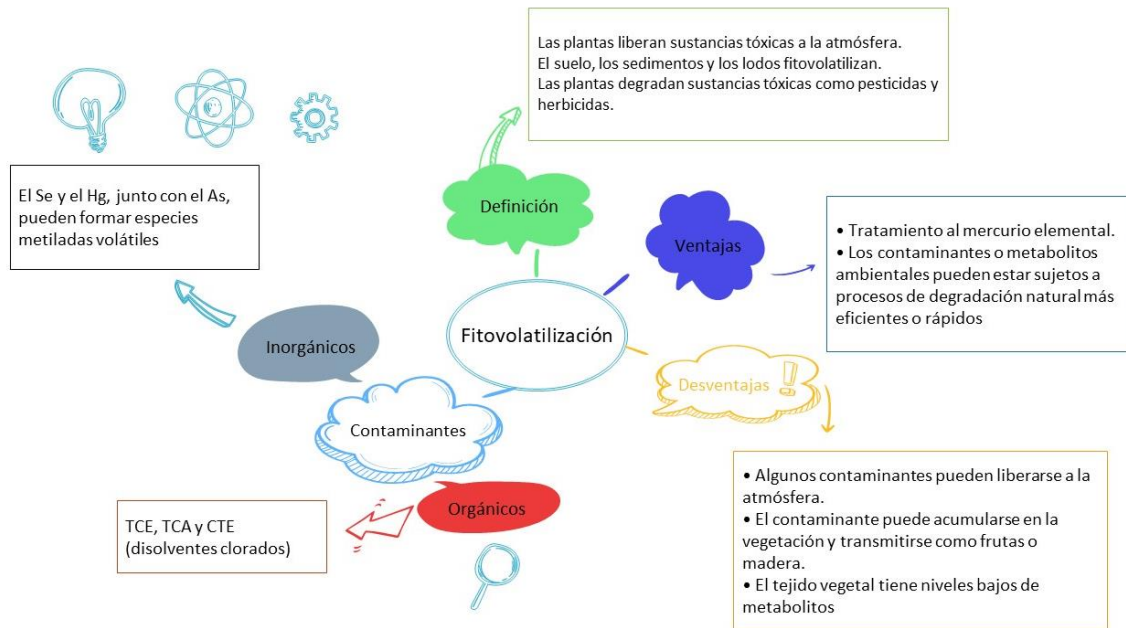


**Nota:** Adaptado de EPA **Fuente:** EPA., 2000.

### 1.3.1.5.6. Fitovolatilización

La fitovolatilización de un contaminante del suelo o el agua de un sitio promedio de las plantas hacia la atmósfera es otro mecanismo aplicable de la Biotecnología Ambiental. A menudo se plantea como una preocupación en respuesta a un proyecto de fitorremediación propuesto, pero no se ha demostrado que sea una vía real para un rango variado de contaminantes. Por otra parte, si se ha demostrado que el mercurio (Hg) se puede movilizar a través de una planta y luego hacia el aire, gracias a ensayos realizados en una planta que fue alterada genéticamente. La idea detrás de este cambio de medios es que el Hg elemental en el aire presenta menos riesgo que otras formas de Hg en el suelo (EPA, 2000). Tal como se aprecia en la figura 11, existen varias ventajas y desventajas derivadas de esta técnica, sin embargo, promete ser un área de la Biotecnología Ambiental prometedora y que necesita estudios a posterioridad.

**Figura 11**  
*Fitovolatilización*



**Nota:** Adaptado de EPA **Fuente:** EPA., 2000.

### 1.3.1.6. Selección del sistema de fitorremediación y consideraciones de diseño

#### 1.3.1.6.1. Consideraciones sobre contaminantes

Los elementos metálicos, metaloides, no metales, radionúclidos, hidrocarburos de petróleo, solventes clorados, pesticidas, conservantes, surfactantes y otros tipos de contaminantes son susceptibles de tratar por fitorremediación. Sin embargo, las altas concentraciones de contaminantes pueden limitar la fitorremediación porque producen toxicidad o reducen el crecimiento de las plantas. Los compuestos del suelo envejecidos pueden ser menos biodisponibles, esto reduce la fitotoxicidad, pero también reduce la eficacia de la fitorremediación. Las concentraciones fitotóxicas deben determinarse para un lugar específico, aunque los valores de la literatura pueden ayudar a tener un marco de referencia más amplio. Por ello es importante considerar que los datos de concentración de un sitio muestreado o del laboratorio, pueden no ser aplicables a otro sitio con diferentes condiciones de suelo y geoquímicas. El pH de un medio contaminado puede afectar el crecimiento de las plantas al alterar la biodisponibilidad de nutrientes o toxinas. También es posible que una sola planta o un método de fitorremediación no traten eficazmente diversos contaminantes, por ello pueden ser necesarias varias plantas o un tren de tratamiento con otras tecnologías. Finalmente, al aplicar los resultados de estudios de laboratorio individuales a mezclas de desechos, se deben considerar los efectos sinérgicos o antagónicos. Por ejemplo, el comportamiento de

fitorremediación de una planta (absorción de metales) puede ser diferente para las mezclas de metales que para un solo metal (Pivetz, 2015).

#### 1.3.1.6.2. Consideraciones de las plantas

La introducción de nuevas especies de plantas debe estudiarse y supervisarse cuidadosamente. Deshacerse de las plantas cosechadas puede resultar difícil si contienen metales pesados (Ram et al., 2018).

La morfología y la profundidad de las raíces son cruciales para la fitorremediación. Un sistema de raíces principales (como la alfalfa) tiene una raíz central grande. Muchos hiperacumuladores, como *Thlaspi caerulescens*, tienen raíces principales, lo que limita el contacto con el suelo. Debido a que se requiere un contacto cercano entre la raíz y el contaminante o el agua, la profundidad de la raíz impacta directamente en la profundidad del suelo que puede remediarse usando pozos de extracción, donde el agua subterránea se puede bombear a la superficie y aplicarse a un sistema de fitorremediación. Al plantar, se pueden usar tubos de plantación para restringir la infiltración de agua, lo que obliga a las raíces a extenderse más profundamente para obtener agua. La fertilidad del suelo, la presión del cultivo, la concentración de contaminantes y otros factores afectan la profundidad de las raíces. Las profundidades menores tienen más masa de raíces que las profundidades más profundas. Una gran masa de raíces y biomasa pueden ser beneficiosas para la fitorremediación, ya que permiten una mayor acumulación de metales, transpiración de agua, asimilación y metabolismo de contaminantes y producción de exudados y enzimas. Sin embargo, algunas características de las plantas, como los exudados de las raíces, pueden ser más importantes para la eficacia de la fitorremediación que la biomasa. Debido a sus sistemas de raíces más grandes, las plantas terrestres son fitorremediadores más efectivos que las plantas acuáticas. La planta y la variedad vegetal elegida deben ser adecuadas para las condiciones climáticas y del suelo del lugar, así como para la eficacia de la fitorremediación. Las plantas que puedan competir y adaptarse a las condiciones cambiantes tendrán una ventaja. Dependiendo del clima y las condiciones del suelo, la planta puede requerir resistencia o tolerancia a enfermedades. En suelos salinos o aguas subterráneas, se pueden requerir plantas resistentes a la sal (halófitas) como el cedro salado. El uso de freatófitos puede mejorar el control hidráulico de las aguas subterráneas. Otras consideraciones de selección de plantas incluyen plantas anuales o perennes, monocultivos o especies de plantas mixtas y árboles de hoja caduca. Las semillas o plantas (o variedad de plantas) deben ser nativas o adaptadas al sitio de fitorremediación. El establecimiento de vegetación requiere semillas viables y plantas libres de enfermedades (Ram et al., 2018).

**Figura 12**  
*Sorghum vulgare*



**Nota: Fuente:** Balderas-León & Sánchez-Yáñez., 2015.

La gramínea *Sorghum vulgare* es extensamente usada en procesos de fitorremediación (Balderas-León y Sánchez-Yáñez, 2015), se presenta un ejemplo de cultivo en la Figura 12; que se complementó con una bioestimulación con cepas bacterianas que promueven el crecimiento vegetal *Bacillus cereus* y *Burkholderia cepacia*. Ambos fueron usados en la degradación de aceite residual automotriz, detectado en un suelo contaminado con una concentración de 75 000 ppm del contaminante. Al finalizar, se redujo a 32 500 ppm durante todo el proceso de biorremediación, 10 100 ppm después de 90 días y 800 ppm durante la fase de floración. Si bien se logró la descomposición hasta una concentración de 210 ppm durante la etapa de bioestimulación con vermicompost y fitorremediación con *Sorghum vulgare*, después de agregar *B. cereus* y *R. etli*, la concentración del aceite residual se redujo a 260 ppm (Juarez-Cisneros y Sanchez-Yanez, 2014).

#### 1.3.1.6.3. Consideraciones del sitio

El éxito de la fitorremediación varía según la ubicación. Las condiciones climáticas también afectarán su eficacia. También depende del establecimiento de una comunidad vegetal y solo funciona en suelos superficiales. Además, es posible que se requiera riego durante varias temporadas para establecer las plantas. Durante este período inicial, se debe considerar la contaminación adicional del suelo y las aguas subterráneas. Las altas concentraciones de contaminantes pueden matar las plantas. La fitorremediación se usa típicamente en sitios poco contaminantes con suelos poco profundos, arroyos y contaminación de aguas subterráneas (Ram et al., 2018).

Debido a que las concentraciones de metales potencialmente tóxicos pueden acumularse en la parte aérea de la planta, el acceso a las plantas y los desechos de las plantas debe ser monitoreado constantemente y tomar precauciones

como restringir el acceso de los animales y desechar adecuadamente el material vegetal. Además, las condiciones del suelo deben ser adecuadas para el crecimiento de las plantas y la migración de contaminantes a la planta y al mismo tiempo, evitar la lixiviación de metales. Para aumentar la biodisponibilidad y la absorción de metales por las plantas, es posible que sea necesario ajustar el pH del suelo y/o agregar agentes quelantes. Se debe considerar que cuando se trata de la fitorremediación en aguas subterráneas, las consideraciones principales son la profundidad del agua subterránea y la profundidad de la zona de contaminación. La fitorremediación de las aguas subterráneas se limita en gran medida a los acuíferos no confinados con una capa freática al alcance de las raíces de las plantas. Los hiperacumuladores se encuentran con frecuencia en áreas geográficas limitadas y es posible que no puedan crecer en otras condiciones climáticas (EPA, 2000).

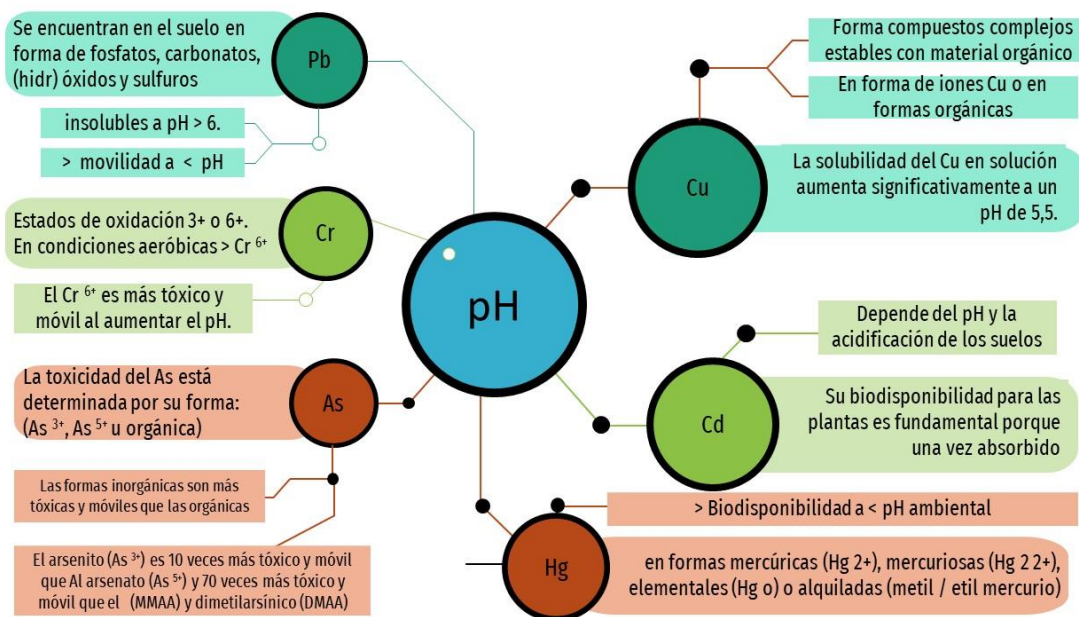
Los factores ambientales generalmente se dividen en dos categorías: bióticos (vivos) y abióticos (no vivos). Incluye todos los seres vivos y todos los factores abióticos como el clima (lluvia, insolación, temperatura, nubosidad, nieve), rocas, océanos y ríos, así como factores antropogénicos (todos los factores producidos por la actividad humana como contaminantes orgánicos y / o inorgánicos). Debido a que todos los factores están interrelacionados, cambiar uno puede afectar a todo el sistema. La evitación del estrés y la tolerancia son dos estrategias principales que utilizan las plantas para adaptarse a condiciones ambientales adversas (crecimiento en áreas muy contaminadas, sequía, salinidad). La selección de plantas es fundamental, pero las influencias externas (interacciones de elementos en suelos contaminados) son permanentes (factores abióticos). El rango de tolerancia, junto con los valores máximo, óptimo y mínimo de factores particulares, determina la tolerancia y adaptabilidad de la planta. Para las plantas con un pequeño aumento de crecimiento anual en áreas propensas a inundaciones (incluso más de la mitad de la altura de las plantas), un aumento prolongado en el nivel del agua da como resultado el marchitamiento de la mayoría de ellas. Zn, Ni y Cd están menos disponibles en suelos anegados debido a la disminución. Sin embargo, la eficacia de la fitorremediación depende en gran medida de la biodisponibilidad de los oligoelementos en el suelo, que depende por completo de las propiedades de la solución del suelo. Las propiedades químicas del suelo, como el pH, Eh y el contenido de nutrientes, tienen un efecto sobre las formas metálicas que existen en él y su acumulación. Sin embargo, es fundamental tener en cuenta que la mayoría de los metales en el suelo están inmovilizados debido a su asociación con componentes específicos de la matriz, y solo una pequeña proporción de metal del suelo está biodisponible para la absorción de las plantas. Los metales deben estar biodisponibles para las plantas (Magdziak et al., 2015).

El transporte de metales pesados en el suelo depende en gran medida del estado químico del metal. Las reacciones de los metales son rápidas durante la fase

inicial del contacto metal-suelo (minutos, horas). Como resultado, las consecuencias naturales incluyen las diversas formas químicas de los metales y su biodisponibilidad, movilidad y toxicidad variables. La distribución de metales en el suelo está influenciada por factores como reacciones de precipitación o disolución, intercambio iónico, adsorción y desorción, inmovilización de activación biológica y especies de plantas. No obstante, el valor del pH, que es uno de los parámetros que determina la especiación de metales en el suelo, influye en todos estos parámetros. El plomo (Pb), el cromo (Cr), el arsénico (As), el cadmio (Cd), el cobre (Cu), el mercurio (Hg) y el níquel son oligoelementos que se encuentran comúnmente como impurezas en el suelo y para los cuales juega el valor del pH. En la figura 13 se detallan varios factores que influyen en los metales más representativos (Magdziak et al., 2015).

**Figura 13**

*Consideraciones durante la fitorremediación para los metales más representativos*



**Nota:** Adaptado de EPA **Fuente:** EPA., 2000.

#### 1.3.1.6.4. Beneficios e inconvenientes de la fitorremediación

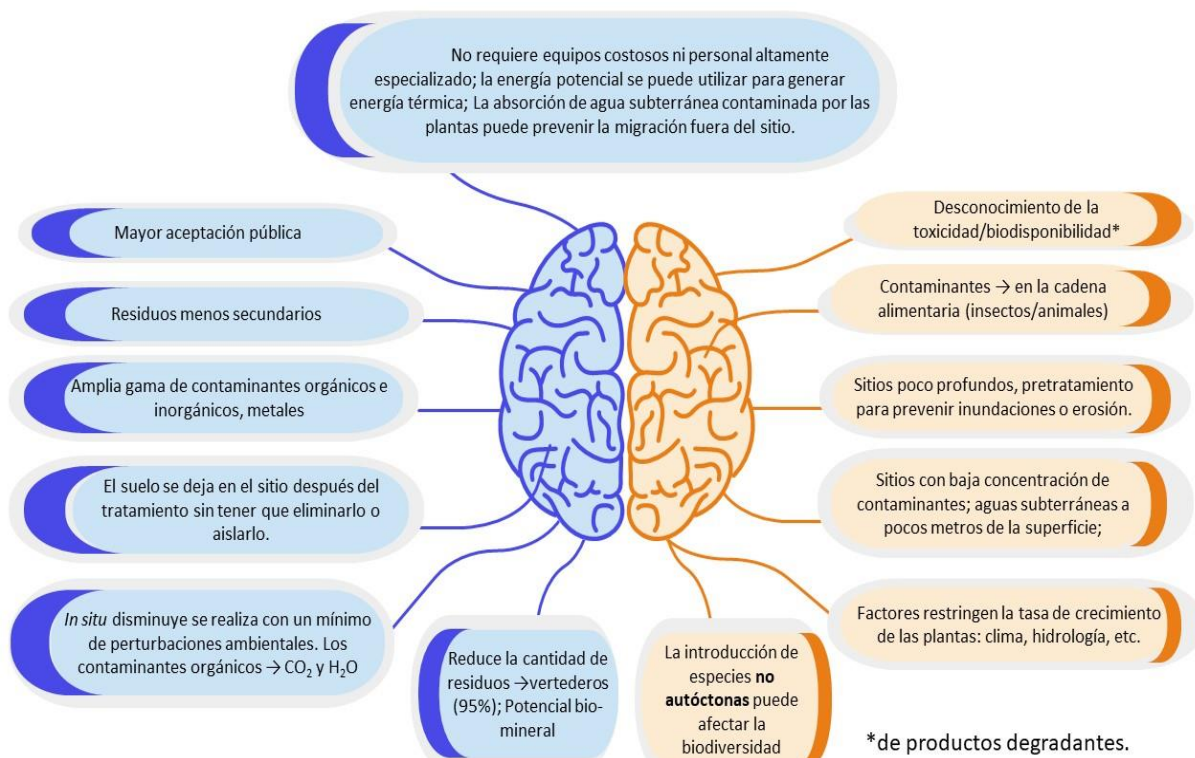
La fitorremediación, al igual que otras técnicas de rehabilitación, tiene ventajas e inconvenientes. La fitorremediación es más rentable, más respetuosa con el medio ambiente, más aplicable a una amplia gama de metales tóxicos y más agradable estéticamente. Sin embargo, la fitorremediación tiene algunas limitaciones. Es un proceso largo que puede tardar años en completarse y a veces se debe determinar si los contaminantes acumulados en las hojas y la madera se liberarán cuando las hojas caigan (Ram et al., 2018).



La fitorremediación de suelos contaminados será siempre una herramienta prometedora si no está ligada a la producción rentable de biomasa, además, requiere un enfoque multidisciplinario que combine el manejo de cultivos, el control de contaminantes, la evaluación de riesgos y la optimización económica. También, si es aceptada por los reguladores y los responsables de la toma de decisiones, podría ser una solución viable para utilizar y restaurar suelos contaminados. La fitorremediación de sitios contaminados podría proporcionar una fuente alternativa de ingresos para quienes perdieron sus trabajos debido a la contaminación (Evangelou et al., 2015).

La profundidad de los contaminantes limita el tratamiento y la profundidad de la raíz de la planta determina la zona de tratamiento. Por lo general, ocurre en suelos poco profundos, arroyos y aguas subterráneas. El bombeo de agua subterránea contaminada para regar las plantaciones de árboles puede tratar el agua subterránea contaminada a una profundidad considerable para que las raíces de las plantas alcancen, así que puede ser necesario un laboreo profundo para acercar los metales pesados a las raíces. El uso de árboles (en lugar de plantas más pequeñas) permite a los investigadores tratar la contaminación más profunda porque las raíces de los árboles penetran más profundamente en el suelo (Ram et al., 2018). En la figura 14 se muestra un resumen más detallado acerca de las ventajas y desventajas de la fitorremediación.

**Figura 14**  
*Ventajas y Desventajas de la Fitorremediación*



**Nota:** Ventajas (izquierda) y desventajas (derecha) de la técnica de fitorremediación de contaminantes **Fuente:** Ram et al., 2018.

1.3.1.7. Casos de estudio.

Tabla 2

Estudios de caso sobre la biorremediación de contaminantes emergentes

Tipo de contaminante	Técnica empleada	Resultados obtenidos	Referencias
<b>Productos farmacéuticos: ciprofloxacina, ibuprofeno, diclofenaco y acetaminofén</b>	Se evaluó el potencial de la especie vetiver ( <i>Chrysopogon zizanioides</i> ) para eliminar del medio acuoso productos farmacéuticos utilizando espectrofotometría UV-Vis para leer en forma directa las absorbancias de cada producto.	<i>C. zizanioides</i> removió ciprofloxacina (98,3%) en un tiempo de 149h, seguido por ibuprofeno y diclofenaco con un máximo de remoción de 73,33% y sulfametaxazol con 66,53%, y para acetaminofén de 38,49% a las 192h.	(Checa-Artos, Sosa, Vanegast, Ruiz-Barzola y Barcos-Arias, 2021).
<b>Plomo y Cadmio</b>	Se evaluó el efecto de las enmiendas orgánicas en forma de compost y vermicompost	La aplicación de las enmiendas orgánicas contribuye a solubilizar el Pb y Cd del suelo, además de contribuir en un mayor desarrollo del cultivo	(Munive, et al., 2020).
<b>Metales pesados: cadmio y plomo</b>	En base a una revisión de los trabajos realizados alrededor del mundo la revisión se muestran las técnicas de remediación (fitoremediación y bioremediación) que han obtenido buenos resultados respecto a la limpieza de suelos contaminados.	La importancia que tiene la implementación de un sistema integrado de remediación de suelos que incluya la incorporación gradual de árboles nativos, plantas herbáceas, plantas acuáticas, biochar, bacterias y micorrizas arbusculares.	(Castebianco, 2018)
<b>Comportamiento fotosintético de plantas</b>	Los componentes principales del agua se determinaron con test Nanocolor y los cambios fotosintéticos en las plantas durante la exposición al agua residual se determinaron por métodos espectrofotométricos	Así se puede concluir que la planta <i>E. crassipes</i> disminuyó la relación clorofila a/b como indicador de estrés, la planta <i>P. stratiotes</i> aumentó la relación carotenos/clorofila total aumentando la síntesis de carotenos para proteger los tejidos contra el estrés y la planta <i>S. auriculata</i> fue la menos afectada, lo que se traduce en una alta tolerancia o adaptación de	(Jaramillo, Marín & Ocampo, 2018)

Tipo de contaminante	Técnica empleada	Resultados obtenidos	Referencias
<b>Metales pesados: mercurio, arsénico, plomo y cromo</b>	Una alternativa para contribuir a la solución de este problema es el uso de especies vegetales para la remoción de metales pesados del suelo o “fitorremediación”.	esta última especie a los cambios ambientales.  Una alternativa para contribuir a la solución de este problema es el uso de especies vegetales para la remoción de metales pesados del suelo o “fitorremediación”. Una estrategia para mejorar el proceso de fitoextracción de metales es a través de la inoculación de microorganismos del suelo. Bacterias han mostrado resultados promisorios al ser empleados en estos tratamientos, así como el uso de hongos micorrízicos arbusculares específicamente del género <i>Glomus</i> .	<i>(Covarrubias &amp; Cabriales, 2017)</i>

**Nota: Fuente:** Autores. 2023.

### 1.3.2.Herramientas biotecnológicas para promover la agricultura sustentable

#### 1.3.2.1. Introducción

En la actualidad, la agricultura sostenible ofrece un suministro constante de alimentos, un medio ambiente sano, un rendimiento y una fertilidad del suelo sostenidos y un control natural de las plagas (Viera-Arroyo, 2020). Por lo tanto, su importancia se refleja en la evolución intelectual de los cultivos, que se utilizan para resolver problemas en diversas áreas de la producción y el procesamiento agrícola, como el fitomejoramiento para mejorar la resistencia a las plagas, los animales, aumentar el valor nutricional de los alimentos y las condiciones abióticas, que se producen a través de tecnologías autosostenibles para mejorar la agricultura (Hernández-Melchor, 2019). Según información de fuentes especializadas, se espera que la demanda de producción agrícola aumente en al menos un 70% para el año 2050, debido a que las prácticas agrícolas sostenibles son fundamentales para satisfacer las demandas agrícolas del mundo futuro (Barea, 2015).

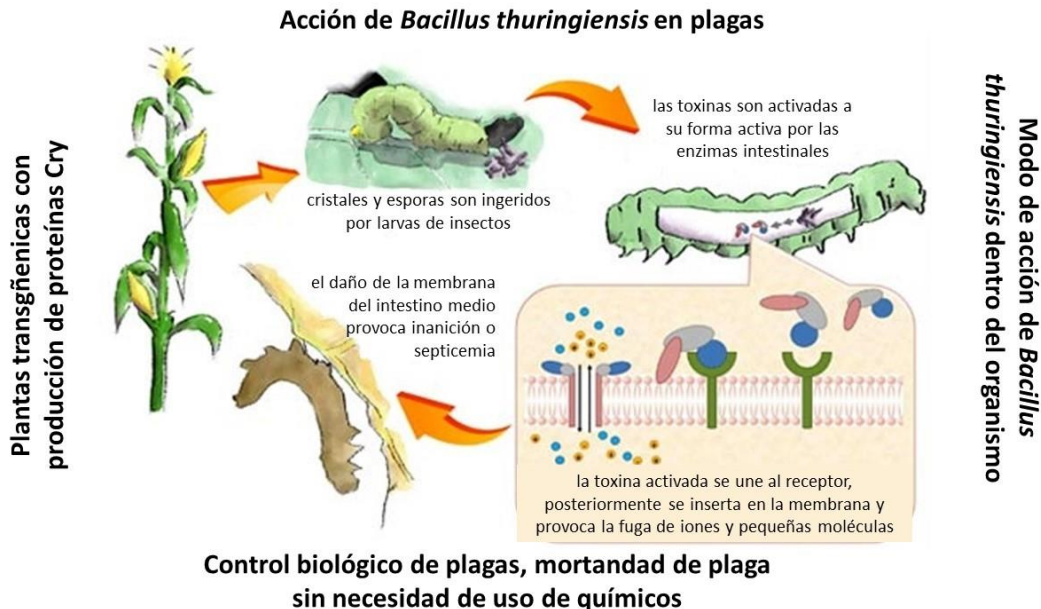
Una aplicación tecnológica conocida como biotecnología hace uso de sistemas biológicos, organismos vivos o sus derivados para desarrollar o alterar bienes o procedimientos para usos particulares, que ofrecen posibles soluciones a los problemas de producción agropecuaria, agrícola, entre otras áreas (Morera, 2021), siendo usada con el fin de crear nuevo material de plantación de bajo costo y libre de enfermedades en los cultivos.

### 1.3.2.2. Microorganismos como control biológico en la agricultura

#### 1.3.2.2.1. *Bacillus thuringiensis* como controlador biológico

Uno de los elementos del ciclo productivo donde los cultivos son necesarios a niveles económicamente aceptables a los daños causados por plagas es el manejo integrado de plagas y enfermedades (Bravo, 2019). *Bacillus thuringiensis* es uno de los microorganismos de importancia biotecnológica. Se distingue por su manejo biológico en el control de plagas en la invasión de fitopatógenos en larvas de lepidópteros, coleópteros, nematodos, ácaros y protozoarios en diversos cultivos, como maíz, papa, algodón y hortalizas, entre otros (ver figura 15).

**Figura 15**  
Mecanismo de acción de *Bacillus thuringiensis*



**Nota: Fuente:** Bravo., 2019.

Esta bacteria tiene esporas similares a las de un bacilo, es Gram positiva, anaerobia facultativa y forma inclusiones cristalinas parasporales compuestas de proteínas Cry. Tiene acción biológica contra los insectos, especialmente para las larvas de muchos insectos e invertebrados (Kahn, 2021). *B. thuringiensis* serotipo kustaki HD1 es la cepa que se utiliza con más frecuencia para este fin.

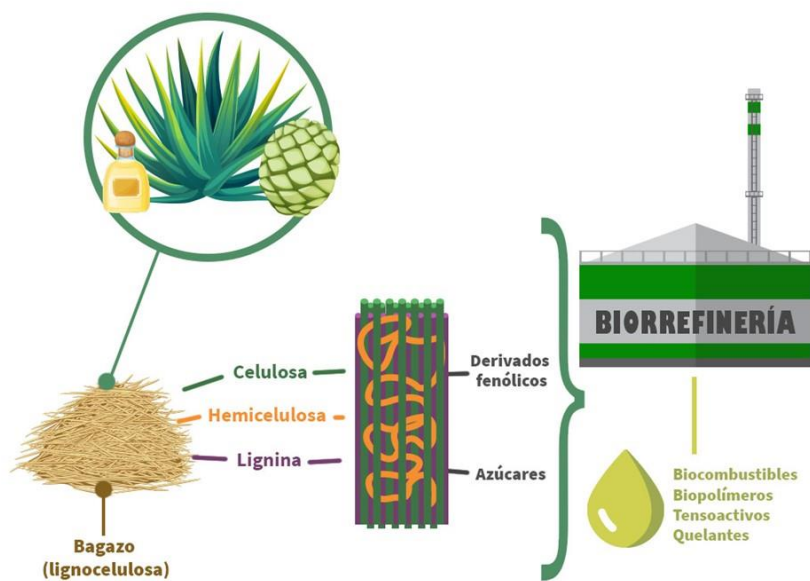
Debido a sus propiedades, que incluyen impedir e invadir el crecimiento de la germinación de esporas, crear una barrera física para evitar que los patógenos se asienten en la superficie de los tejidos vegetales, actuar como bioestimulante para el crecimiento de las raíces, fomentar la secreción de fitohormonas y mejorar la asimilación de agua y nutrientes, inducir a la planta a producir fitoalexinas y hacer que las plantas sean más resistentes a los ataques bacterianos y fúngicos (Viera-Arroyo, 2020).

**1.3.2.2. *Trichoderma*: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial**

El hongo *Trichoderma* es un organismo global, y su importancia radica en su capacidad de adaptación y creación de metabolitos, incluyendo sustancias químicas volátiles, enzimas y otras sustancias con valor biotecnológico y ambiental (Barea, 2015). Debido a sus diversos modos de acción, que incluyen antibiosis, micoparasitismo, competencia por espacio y recursos, y la síntesis de metabolitos secundarios, este género se utiliza como agente de biocontrol contra hongos fitopatógenos. En sistemas de fermentación ligada sobre sustratos sólidos o en cultivos sumergidos, se han empleado varias especies de *Trichoderma* para descomponer residuos lignocelulósicos y producir combustibles alternativos como el etanol (ver figura 16). Como sistemas de fermentación, los biorreactores optimizan el entorno de cultivo para fomentar la producción de biomasa y metabolitos (Hernández-Melchor, 2019).

**Figura 16**

*Productos de la hidrólisis enzimática de residuos lignocelulósicos*



Imágenes: Shutterstock; diseño: Bárbara Castrejón, DGDC-UNAM

**Nota: Fuente:** Hernández-Melchor, 2019; Castrejón, 2021

### 1.3.2.3. Uso de los biofertilizantes en la agricultura sostenible

La función principal de las bacterias en los biofertilizantes, que son productos elaborados con microorganismos como los hongos, es potenciar la disponibilidad de nutrientes en el suelo y en las plantas. Se emplean sobre todo en la agricultura ecológica y tienen beneficios como menores costes de producción, menor riesgo de contaminación ambiental, mayor fertilidad del suelo y mayor biodiversidad del suelo (Barea, 2015). Algunos de estos se describen en la Tabla 3.

**Tabla 3**

*Tipos de biofertilizantes y su función*

Tipo de fertilizante	Descripción	Fuente
<i>Azotobacter</i>	Este aporte permite fijar el nitrógeno en función de las sustancias biológicamente activas y de las necesidades, favoreciendo el crecimiento de las plantas y la resistencia a la floración y la fructificación, al tiempo que mejora la fotosíntesis. Además, acelera la germinación en un 40%.	Huamán-Castilla et al., (2021)
<i>Rhizobium</i>	Su principal objetivo es infectar las leguminosas y provocar el crecimiento de nódulos en las raíces que fijan el nitrógeno.	Cantaro-Segura, (2019)
<i>Micorrizas</i>	Este microorganismo intercambia nutrientes, agua y fomenta el desarrollo de compuestos que se defienden de los ataques del patógeno, lo que permite al hongo obtener de la planta los carbohidratos que no puede fabricar.	Rubio-Sanz et al., (2021)
<i>Fosforina</i>	Tienen una gran capacidad de producción de ácidos orgánicos, enzimas y otros compuestos. Además, tienen capacidad para solubilizar el fósforo del suelo y entregarlo a la planta.	Ortega et al., (2019)

**Nota: Fuente:** Autores de la tabla.

### 1.3.2.4. Nuevas tendencias biotecnológicas en el desarrollo de alimentos sustentables de próxima generación

#### 1.3.2.4.1. Introducción

El mantenimiento y la conservación de los recursos naturales han ayudado al desarrollo humano y, en la actualidad, mantener estos recursos es una de las mayores dificultades a las que se enfrenta el mundo. Definimos la sostenibilidad como el uso adecuado de los recursos para satisfacer las necesidades actuales sin poner en peligro las demandas futuras, de forma coordinada y como complemento del progreso social. A nivel económico, social y ecológico, esta novedosa idea se ha convertido poco a poco en una necesidad social (Domínguez et al., 2019).

De igual manera el desarrollo y crecimiento científico y tecnológico, de manera específica en las ciencias de la vida, el cual se ha generado desde los años cincuenta, ha permitida aplicar los principios de ingeniería y científicos transformando materiales, remediar suelos, degradación de materiales contaminantes, o producción de bioenergías con acción de agentes biológicos (microorganismos, enzimas, micro algas, etc.) con la finalidad de otorgar a nuestra sociedad bienes y servicios. Existen diferentes actividades biotecnológicas que están enfocadas en el ambiente, esto con el fin de responder los restos en cuanto desarrollo socioeconómico sostenible, respetando al medio ambiente y la conservación y preservación de los recursos naturales (Domínguez et al., 2019).

Los avances que permiten desarrollar esta área también dependen de otras ciencias al igual que el conocimiento de otros materiales, lo cual se ha ido adquiriendo con el transcurso del tiempo, además de que la Biotecnología Ambiental ha ganado un papel importante en las diferentes actividades de la biotecnología. En nuestra sociedad es importante disponer de suelo fértil y adecuado el cual se ajuste a los diferentes usos y demandas de la actividad humana, por lo que de forma inherente existe un compromiso de calidad el cual engloba distintos tratamientos para eliminar o disminuir la contaminación causada por distintos factores, además de mejorar sus características. Se estima que alrededor de un 33% del suelo a nivel mundial sufre de contaminación lo cual en un futuro será un inconveniente debido al crecimiento demográfico de la población y la gran demanda que habrá en un futuro de recursos provenientes del suelo (Zwolak et al. 2019).

El requerimiento energético es necesario en varios ámbitos que rodean al ser humano, como lo son las domesticas, industriales, agrícolas, las ganaderas o incluso las que están relacionadas con la forma de pasar nuestro tiempo libre. La disponibilidad de energía es de suma importancia para el avance de la sociedad humana, debido a que se ha convertido en una necesidad para que

podamos subsistir de manera cómoda Debido al alto incremento de la población mundial y de brindar una mejor calidad de vida se ha logrado presenciar un escenario de crisis energética a nivel global, provocando que el uso de energía en base a fuentes fósiles se haya acelerado y evidenciando una disponibilidad adecuada, por lo que emplear o desarrollar energías renovables resulta una buena alternativa (Landerá et al. 2020).

En cuanto Biotecnología Ambiental se refiere según Hernández (2022), se utilizan dos metodologías para la realización de los estudios:

1. Metodología basada en aislamiento de microorganismos de interés y caracterizar sus funciones metabólicas partiendo de un estudio en laboratorio realizando un cultivo puro. Una de las dificultades de esta metodología que muy bien se conoce es que muchos de los resultados obtenidos en el laboratorio no serán los esperados en un medio abierto, debido a que en el laboratorio se puede controlar muchos factores, no siendo lo mismo en un ecosistema, pero esto no quiere decir que esta metodología sea inservible, ya que esta limitación es solo una consecuencia de la complejidad de los consorcios microbianos y la interacción que estos tienen con el entorno del cual están rodeados.
2. Metodología basada en el análisis de consorcios microbianos tomándolos como una unidad fundamental, esta aplicación es más empírica más cuando no se tiene ningún conocimiento sobre el consorcio, pero no obstante esta metodología también presenta limitaciones como no lograr identificar las estructuras o grupos relevantes fisiológicamente.

Existen 5 ámbitos de aplicación de la Biotecnología Ambiental, en las cuales en años próximos podríamos observar grandes contribuciones, a continuación, nombraremos solo 2:

1. Energías alternativas: en este siglo se está tomando como objetivo de estudio a las energías renovables, tal como se mencionó con anterioridad. Uno de estos estudios son el uso de micro algas para producir biodiesel, el uso de las micro algas se debe a que estas pueden producir biomasa algal con un contenido elevado de lipídico, el cual puede ser aprovechado para la generación de biocombustible (Johnson, 2017). Muchas propuestas no han logrado superar las puertas del laboratorio o como mucho solo se realizan ensayos piloto, sin embargo, han presentado sucesos interesantes uno de ellos es la síntesis de nitrógeno.
2. Recursos hídricos: Las sociedades actuales deben utilizar y gestionar el agua con eficacia si quieren desarrollarse social y económicamente. El crecimiento económico y la demanda de agua están estrechamente relacionados, mientras que los recursos hídricos son también un factor clave. Por ello, mantener la calidad del agua potable, el saneamiento de las aguas residuales y su posible regeneración resulta cada vez más



difícil. La recuperación de acuíferos o la provisión de recursos hídricos alternativos en el suministro de agua potable para actividades recreativas e industriales son dos ejemplos de cómo la regeneración del agua es un factor medioambiental muy esencial y estratégico en muchas regiones (Jofre, 2017).

### **1.3.2.5. Estudio de caso en la agricultura sostenible**

#### **1.3.2.5.1. Soberanía alimentaria bajo el contexto de la agricultura 4.0 y la biotecnología en América Latina.**

Partiendo del hecho que la soberanía alimentaria es el derecho de las personas para alcanzar la autosuficiencia de alimentos sanos y culturalmente apropiados de forma estable (Santafe y Loring, 2021). Uno de los indicadores de insostenibilidad de la soberanía alimentaria es el hambre, considerado como uno de los desafíos más relevantes que enfrenta la humanidad, que lejos de acercarnos a una solución verdadera, los índices marcan una tendencia en ascenso de este fenómeno mundial (FAO, 2020). En este sentido, en América Latina existe altos niveles de hambre, que se puede explicar por diferentes razones como el acceso mercantil limitado y los altos costos, hechos que se traducen en un 10% de las personas con inseguridad alimentaria en la región (Flores 2020, 6). Irónicamente, en América Latina existe una abundancia de alimentos respecto a otras áreas geográficas, que se evidencia con los volúmenes de exportaciones a mercados internacionales (Flores 2020, 6), que encarece el precio de los alimentos en los mercados internos de los países exportadores (FAO, 2020).

Otro hecho que agudiza este desafío es que, aproximadamente un tercio de los alimentos se pierde o se desperdicia no solo en los hogares o centros comerciales, sino también hay desperdicios en el periodo de siembra hasta la cosecha; por lo expuesto previamente, se evidencian varios factores que afectan la soberanía alimentaria, con una importante afectación sobre el ambiente y pérdidas económicas (Gaudreau 2018, 10-11). Esta triada de la sustentabilidad se ve seriamente comprometida, que lleva a plantearnos alternativas emergentes, por ello en este ensayo se busca desarrollar una respuesta a: ¿Es posible alcanzar una soberanía alimentaria mediante la implementación de principios basados en la agricultura 4,0 y la biotecnología?, con particular énfasis en contextos de Ecuador y la región.

Entre las alternativas emergentes para dar respuesta a esta problemática alimentaria, se tienen opciones como: la optimización de sistemas de saneamiento, el desarrollo agrícola 4.0, los avances biotecnológicos, al igual que el refuerzo de la educación en todos los niveles (Vélez-Rolón et al. 2020, 106-109). Por la importancia, formación como ingeniero en Biotecnología Ambiental y nivel de profundidad requerido, se ha seleccionado únicamente dos áreas: el

uso de la biotecnología y la agricultura 4.0, evaluando sus limitaciones y potencialidades.

Conscientes de que la biotecnología abarca el uso de organismos vivos o sistemas biológicos en procesos industriales y plantas de tratamiento de residuos (Gupta et al. 2017, 1-21). La biotecnología permite el mejoramiento de alimentos, la valorización de los residuos generados por las personas como una alternativa eco-amigable con el fin de reducir y aprovechar la biomasa (Barcelos et al., 2018). El aporte de la biotecnología radica en su versatilidad en diferentes áreas, que no se ve limitada al procesamiento de alimentos (Hurtado et al. 2019, 902- 920), sino también la mejora genética, producción de transgénicos, incluso la valorización de subproductos y restos alimentarios (Zhang et al. 2022, 140-150). Lo que permite su aplicabilidad al cumplir varios de los principios de la soberanía alimentaria, protección de recursos naturales, eliminar la globalización del hambre (Pachon, 2018) de un país, desde alimentos modificados genéticamente, mejoramiento o resistencia ante factores ambientales que limitan la eficiencia de los cultivos como las sequías, las plagas, al igual que la posibilidad de tener mayor cantidad y mejor calidad de productos agrícolas y ganaderos en un área limitada. Por ejemplo, la carne producida sin necesidad de animales o carne in vitro es sin duda uno de los avances más importantes de la biotecnología, ya que estos análogos cárnicos buscan parecerse a la carne tanto en textura, sabor, aporte de nutrientes, grasas, etc. (Barreiro 2022, 32- 44).

Entre los beneficios de esta carne artificial: proviene del cultivo de tejidos con células en el laboratorio, procurando reducir su impacto en el ambiente (Ferreira et al., 2022), puesto que las emisiones de gases de efecto invernadero, principalmente metano, se verían seriamente reducidas, implicando cargas evitadas a la atmósfera; permite al mismo tiempo la preservación de la tierra y los cuerpos hídricos que se emplean para el ganado, lo que permite destinar dichos espacios en la conservación de recursos naturales u otras actividades (Post 2014, 1-2), evitando una de las prácticas más recurrentes en América Latina, la expansión de la frontera agrícola.

Por otro lado, este tipo de carne reduce al máximo la exposición a las enfermedades características de los animales, como la peste porcina, la fiebre aftosa, enfermedad de las vacas locas, entre otras (Bonny et al. 2015, 255–260). Finalmente, los componentes nutricionales pueden ser personalizados de acuerdo con los requerimientos nutritivos de ciertas poblaciones, por ejemplo, aumentar el contenido de ácidos grasos polisaturados para reducir el colesterol (Post, 2014, 1-2), estas características resultan particularmente interesantes para personas que están en un centro de salud donde se podría alcanzar con los estándares de condiciones de asepsia y dieta de los pacientes.

En contraste a lo expuesto, el procedimiento de elaboración de este tipo de carne sintética todavía presenta varias desventajas, como su alto coste de producción,

valores que deben ser asumidos por el consumidor final (Chriki y Hocquette, 2020). De igual manera, otra limitante es la no obtención de un sabor y textura tan apetecible como el de la carne convencional por algunas marcas comerciales. Cabe enfatizar que, desde el punto de vista de la seguridad alimentaria, la carne in vitro aún sigue siendo cuestionada, uno de los argumentos se base en si un cultivo de carne llegase a infectarse con cualquier patógeno, sería difícil responder de forma eficiente ante un problema de salud de este tipo. Finalmente, la aceptación de este tipo de productos por parte de la sociedad es limitada, porque los consumidores prefieren los animales y las plantas cultivados de forma natural (Zhang y Bai, 2020).

Por otro lado, la Agricultura 4.0 hace referencia a la cuarta revolución agrícola, la cual presenta una intervención tecnológica sobre la producción de alimentos, esta innovación muchas veces se la asocia a una solución al mejoramiento del crecimiento agrícola, permitiendo un mejor control económico sostenible; sin embargo es necesario enfatizar en el impacto brusco de los métodos manuales o impulsados por animales, que se han ido reemplazando por tecnologías automatizadas (Rose y Chilvers, 2018), que implican el uso de inteligencia artificial, monitoreo de los cultivos desde cualquier parte del mundo. Sin lugar a duda, los métodos en la agroalimentación se han ido transformando, fortaleciendo los sistemas de precisión e intervenciones en la agricultura, con el procesamiento analíticos de datos con información recopilada o transmitida a través de tecnologías avanzadas, evidenciadas en granjas conectadas, los equipos actuales agrícolas, nuevos métodos e implementos para mejorar la productividad, calidad y eficiencia con protección a la alimentación (Barrett y Rosal 2020, 162-189) (Qaim, 2017).

Asimismo, se evidencia una mayor productividad, gracias a la reducción de costes y el mejor uso de recursos, esto también apoyado por la mejor toma de decisiones que son adaptadas a las necesidades de cada plantación, decisiones que se toman en base a datos, se cree que la agricultura 4.0 contribuye en la disminución del impacto ambiental, por el manejo más eficiente de los recursos naturales (da Silveira et al. 2021, 189).

Sin embargo, existe una gran heterogeneidad de las tecnologías empleadas en la agricultura 4.0, porque los nuevos avances tecnológicos en esta área en su mayoría son patentados por transnacionales que están optimizando su cadena de producción, lo que deja a la deriva a pequeños campesinos y muchos grupos sociales; sin un apoyo sustancial al desarrollo de los pequeños agricultores, permitiendo así que países con mayor poder adquisitivo desarrollen de mejor manera la agricultura 4.0 (da Silveira et al. 2021, 189), y marcando la brecha de una manera más intensa en países del Sur Global.

Un punto en el que confluye la biotecnología y la Agricultura 4.0 es la producción de fertilizantes que, si bien ha sido fundamental para alimentar a la población

mundial, por cuanto el 30 % al 50 % del rendimiento de los cultivos es atribuible a los aportes de fertilizantes en las regiones templadas y su contribución es mucho mayor en los climas tropicales. Lo que ha generado una dependencia de los productos, por consecuente una monopolización de un número muy limitado de empresas, que se ve ligado a la revolución verde, desequilibrando las dosis de insumos, los balances de energía, pesticidas y agua (Marchiol 2019, 183-190).

El aumento de las opciones alimentarias, una mejor nutrición y la seguridad alimentaria son algunas de las promesas de la agricultura 4.0, pero también ha dado lugar a cosas como los derechos de propiedad intelectual sobre el ganado y los cultivos, las fusiones cruzadas entre semillas y pesticidas y la falta de competencia del sector público (Klerkx y Rose 2020, 24). Además, los fertilizantes convencionales que tienen una baja eficiencia de absorción de nutrientes y, a menudo, se asocian con grandes pérdidas para el medio ambiente y las consiguientes consecuencias negativas (Migliorini et al. 2020, 162-163).

Por otro lado, el punto clave de la fertilización de cultivos es evitar pérdidas de nutrientes y sincronizar la disponibilidad de nutrientes con su absorción por los cultivos. Justamente, implementar nanofertilizantes como materiales inteligentes va a permitir detectar y reaccionar cambiando su forma o comportamiento a través de influencias externas, que incluyen presión, temperatura, humedad, pH y campos eléctricos y magnéticos (Marchiol 2019, 186-190). Con sus propias políticas y estrategias sostenibles de producción, distribución y consumo de alimentos centradas en la pequeña y mediana producción y no en el agroextractivismo, estas tecnologías de cuarta generación ayudarían a mantener la soberanía alimentaria (Van den Berg, et al., 2017). Cabe señalar que una alternativa interesante a estos fertilizantes convencionales son los biofertilizantes que tienen un gran potencial en América Latina, al igual que los bioplaguicidas (Mahanty et al. 2016, 3315–3335).

En este sentido, aplicando lo expuesto a nuestro contexto, Ecuador ha sido uno de los principales países con deficiencia en la aplicación de los principios de la soberanía alimentaria; sin embargo, desde el año 2008 se ha notado un esfuerzo por investigar, analizar y comprender la soberanía alimentaria (Vergara-Romero et al. 2020, 498-510). Asimismo, en el año 2013, Ecuador reconoció el rol de pequeños y medianos productores que aportan aproximadamente el 70% de alimentos consumidos en el país, además que se planteó como derecho de elegir su propio sistema agroalimentario con fin de continuar el desarrollo local (Parraguez et al. 2018, 330-341).

Finalmente, la agricultura 4.0 y la biotecnología a pesar de las limitaciones que presentan, tienen ventajas interesantes en el marco de la contribución de la soberanía alimentaria, puesto que representa un menor gasto energético y mayor eficiencia para nuevos emprendedores a baja y media escala (startups),

con el propósito de brindar oportunidades a más personas hacia una soberanía alimentaria independiente de transnacionales y grupos de poder. Los países latinoamericanos en general no han estado preparados para las diversas revoluciones industriales, tecnológicas y agrícolas.

### **1.3.3.Herramientas biotecnológicas en el desarrollo de la Biotecnología Ambiental**

#### **1.3.3.1. Aplicaciones para la mitigación del impacto ambiental generado por la actividad petrolera**

##### **1.3.3.1.1. Introducción**

La actividad petrolera es un problema constante que atraviesan varios países, donde las extracciones conllevan a varios problemas ambientales afectando así la vida de los ciudadanos y su ecosistema, por tal razón se necesitan nuevos métodos que reduzcan estos impactos negativos al ambiente (Ramos Armella, 2023). Además de los impactos en las matrices de suelo, aire, y agua (Andrade, Lara-Basantes, Muñoz, Chicaiza-Ortiz, 2022), también se tiene afectaciones sobre los organismos vivos incluido el ser humano. En la búsqueda de alternativas para la biorremediación ambiental se han desarrollado estudios de fitorremediación (Mera & García, 2023), bioaumentación (Veloz, et al., 2015), landfarming (Kim, 2022), y la combinación de estas técnicas (Quillca Aldazabal & Rojas Ariza, 2022). En este sentido uno de los gases de efecto invernadero más estudiado, es el dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ), podría ser empleado para la recuperación mejorada de petróleo debido a su solubilidad en el petróleo crudo que se incrementa con un aumento de la presión (Tong et al., 2018). En los últimos años se han desarrollado técnicas de captura y utilización de carbono basados en procesos biológicos (microalgas, archaea, etc), procesos de geingeniería (captura directa en fuentes de emisión de  $\text{CO}_2$ , inyección en océanos, criogenización, etc) (Soares, et al., 2023).

En los yacimientos, el  $\text{CO}_2$  puede disolverse en el petróleo crudo para expandir su volumen, reducir su viscosidad y la tensión interfacial entre el petróleo y el gas, provocando así, una movilidad del petróleo crudo (Jin et al, 2017). El dióxido de carbono ha tomado relevancia para la recuperación mejorada de petróleo porque tiene un potencial para aumentar la recuperación final de las reservas de petróleo convencional, que puede reducir las emisiones globales de gases de efecto invernadero (GEI) mediante la captura de  $\text{CO}_2$  en las formaciones geológicas subterráneas (Massarweh y Abushaikha, 2021).

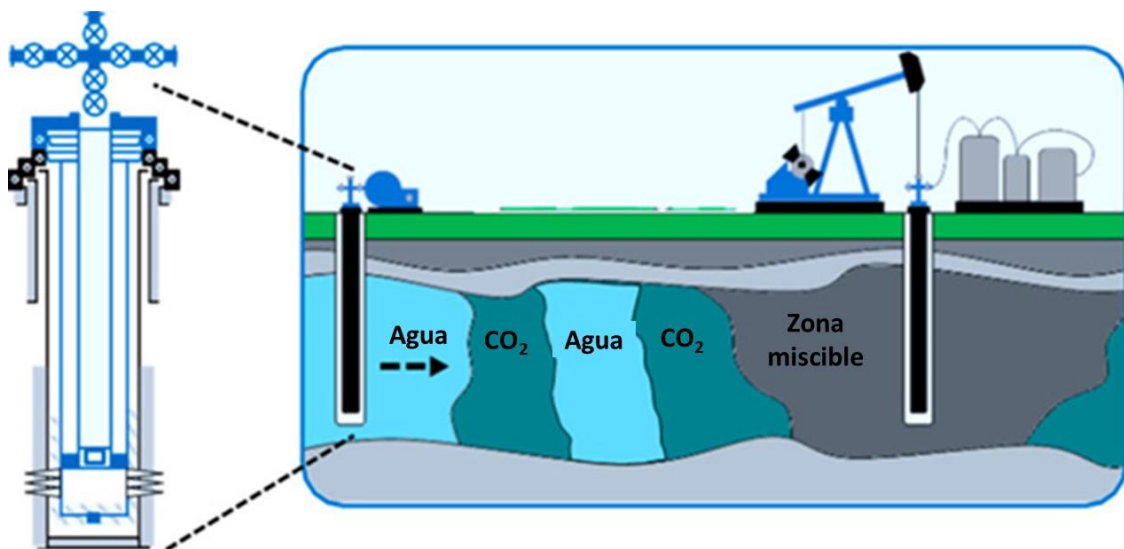
### 1.3.3.1.2. Técnicas de Inyección de CO<sub>2</sub> en Reservorios Subsuperficiales

Existen varias técnicas que permiten el desplazamiento del petróleo crudo de un yacimiento por CO<sub>2</sub>. Este es un proceso complejo que incluye transferencia de masa, fuerzas capilares y efectos gravitacionales. Por otra parte, las condiciones de saturación del fluido en el yacimiento y recuperación previos tendrán impactos significativos en los procesos de petróleo adicional con la aplicación de CO<sub>2</sub>. En el presente texto, se abordarán en particular dos métodos por inyección de CO<sub>2</sub> en reservorios subterráneos, que son usados para controlar la movilidad de CO<sub>2</sub>, para aumentar la recuperación de petróleo y para promover la disminución de los problemas ambientales por actividades petroleras (Grasso, 2019).

#### Inyección alternada de agua y gas (WAG)

##### Figura 17

*Diagrama esquemático del desplazamiento de petróleo en un yacimiento por inyección de CO<sub>2</sub> con gas alternante de agua*



**Nota: Fuente:** Al-Shargabi et al., 2022.

Este método consiste en la combinación de una inyección de gas de CO<sub>2</sub> con una inyección de agua convencional. El mecanismo tiene características que son aplicadas en sustancias miscibles o inmiscibles que sirven para el desplazamiento del CO<sub>2</sub> (ver figura 17). Cuando se realiza un desplazamiento miscible resulta una mayor eficiencia de la captación de aceite en comparación con las condiciones inmiscibles, sin embargo, este método implica un aumento en la resistencia de la filtración trifásica en la formación (Al-Shargabi, 2022). No obstante, la posibilidad de utilizar el desplazamiento inmiscible con CO<sub>2</sub> es menos efectivo, pero tiene menores costos de proceso y menores presiones de inyección (Fakher, 2020). Sin embargo, es un método que tiene varias

limitaciones en los equipos y tecnologías para alternar el bombeo de agua y gas de manera cíclica en volúmenes grandes de pozos de inyección (Massarweh, 2021).

### **Polímeros aditivos para el espesamiento directo de CO<sub>2</sub>**

Los polímeros son aplicados como espesantes de CO<sub>2</sub>. Estos deben disolverse completamente en el gas según las condiciones del yacimiento y lograr la viscosidad deseada del fluido introducido (Leimare et al, 2021). Según Zhang et al., (2021), existen dos tipos de polímeros utilizados para espesar la viscosidad del CO<sub>2</sub>. Están los polímeros de alto peso molecular como el polidimetilsiloxano (PDMS) y el polivinilacetato (PVAc) y también se encuentran los polímeros de bajo peso molecular como el polivinil-etil-eter (PVEE) y poli-1-deceno (P1D). Este método promueve la movilidad del CO<sub>2</sub> con un aumento directo de la viscosidad. Además, los polímeros son capaces de disolver el CO<sub>2</sub> formando soluciones monofásicas y termodinámicamente estables, optimizando así la densidad y la viscosidad del fluido inyectado. Sin embargo, este método tiene una limitación y es que cuando aumente el tiempo, provocara pérdida o reducción en la solubilidad. Para asegurarse de que el método tenga condiciones adecuadas se debe observar las presiones que sean predominantes en el yacimiento (Lemaire et al., 2021)

### **Inundación del depósito de CO<sub>2</sub> mejorado con Nano Partículas**

Las nanopartículas (NP) son excelentes para penetrar y movilizarse con una mayor agilidad por los espacios porosos y los canales de flujo dentro de las formaciones de los yacimientos de petróleo (Ab Rasid et al., 2022). Agregar NP a la espuma tensioactiva tiende a facilitar la estabilidad de la espuma y no se ven afectadas por algunas condiciones características que se encuentran en los yacimientos de petróleo. Algunos ejemplos de estas características pueden ser las altas temperaturas y la presencia de una variedad de hidrocarburos y/o sales. Otra gran ventaja de las NP es que, debido a su tamaño pequeño, no afecta el flujo del yacimiento a través de los medios porosos y estos no se ven obstaculizados físicamente, además, generan cambios mínimos en la permeabilidad de la formación (Yu y Kang, 2022).

- Problemas asociados con la retención de NP en un yacimiento

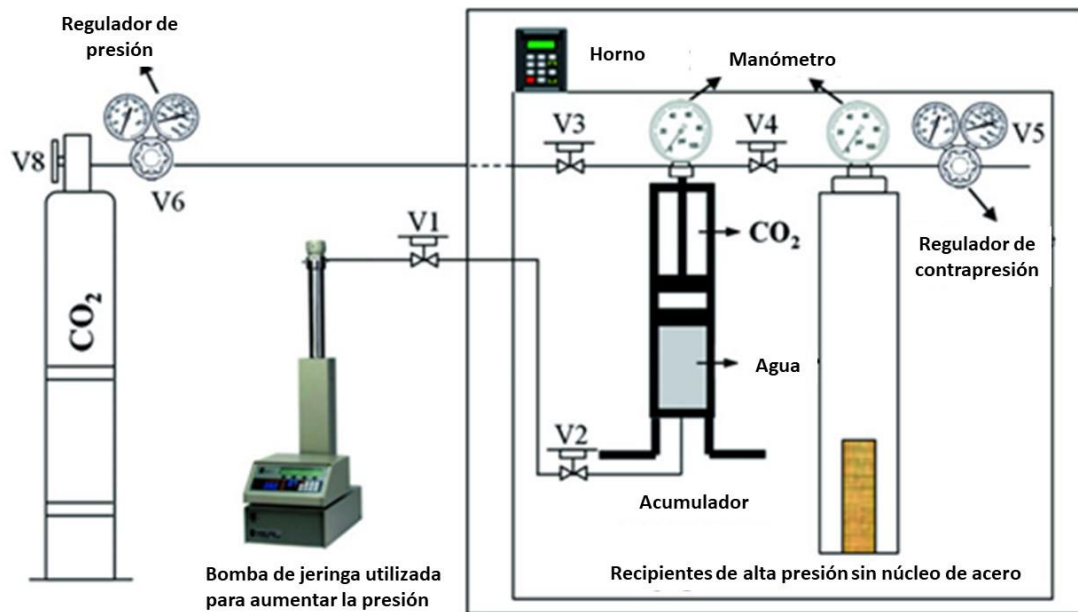
Los tensioactivos combinados con nanopartículas (NP) pueden tener algunos problemas que dificultan los métodos para la movilidad del petróleo. Algunos de estos problemas son el bloqueo de poros, que puede ser originado por dos mecanismos: taponamiento mecánico y contrastes de permeabilidad de fluidos (Yang et al., 2020). El desplazamiento descontrolado provoca que las partículas en los poros estrechos conduzcan a una retención de NP, que suelen acumularse debido a la adsorción y la interacción de la superficie transitoria, y así de esa manera, en los sitios de la superficie disponibles, se acumularán

partículas cargadas. Es importante mencionar que la retención de NP suele reducirse cuando la medida aumenta la permeabilidad de los medios porosos (Zhang et al., 2021).

### 1.3.3.1.3. Dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) con Huff-n-Puff (HnP)

**Figura 18**

*Esquema de la configuración para los experimentos de CO<sub>2</sub> HnP*



**Nota: Fuente:** Li et al., 2019.

El CO<sub>2</sub> con Huff-n-Puff (HnP) es una técnica que mejora la recuperación de petróleo (Li et al., 2019). Se debe tener en claro que existen dos tipos de inyección de CO<sub>2</sub> que consisten uno en la inyección clásica de CO<sub>2</sub> y el otro en la inyección huff-n-puff (HnP) (ver figura 18). Este último ocupa un pozo como pozo de inyección y pozo de producción para evitar la penetración de gas, se conoce que existen tres etapas conocidas como: etapa de inyección de gas, etapa de remojo del pozo y etapa de producción (Choi et al., 2013). Después de la realización del proceso se debe producir el petróleo bajo el control del pozo, este es un método económico, rápido y eficaz, debido a que se puede aplicar a los yacimientos de petróleo que tiene una baja productividad natural y una baja efectividad de agua.

### 1.3.3.1.4. Modelado de CO<sub>2</sub> -LPG WAG con deposición de asfaltenos

Según Hao et al., (2021), el proceso de inhalación de CO<sub>2</sub> es un método eficaz para mejorar la recuperación de petróleo, pero su utilización se ve afectada por reservorios heterogéneos de agua de borde debido a una severa canalización de agua.



Este trabajo recopiló algunos de los métodos actuales que podrían ser una alternativa viable y eco amigable para una recuperación y posterior extracción de petróleo en los yacimientos, donde la principal tecnología podría ser la utilización de dióxido de carbono debido a su solubilidad y su aumento mediante inyección de presión, estas alternativas son positivas para mitigar los impactos ambientales.

#### **1.3.3.1.5. Mecanismo de estimulación y secuestro de fracturamiento sin agua de CO<sub>2</sub> para reservorios continentales de petróleo compacto**

La fracturación con CO<sub>2</sub>, usa CO<sub>2</sub> como fluido de fracturación reemplazando al agua (Liu et al., 2014), se divide en dos etapas: la etapa de fracturamiento (suele durar 2 h) y la etapa de remojo (suele durar 3 a 14 días) (Tao et al., 2021). Se usa en el petróleo de arenas compactas que son yacimientos de baja porosidad y permeabilidad, donde la acumulación de petróleo crudo se produce en rocas generadoras, arenas compactas o intercalaciones de carbonato, sea libre o atrapada, sin movimiento de larga distancia (Zou et al., 2013).

Las reacciones con la roca del yacimiento y el fluido de formación de la fracturación con CO<sub>2</sub> pueden aumentar la porosidad y la permeabilidad de los yacimientos mejorando la fluidez del crudo. Esto permite yacimientos petrolíferos en depósitos continentales compactos con recuperación mejorada de petróleo (EOR), secuestro de CO<sub>2</sub> y conservación del agua. En comparación con técnicas de CO<sub>2</sub>-EOR (CO<sub>2</sub> huff and puff y CO<sub>2</sub> flooding) donde el CO<sub>2</sub> interactúa con la roca y el fluido del yacimiento a mayor presión durante la fracturación resultando en la estimulación y secuestro de CO<sub>2</sub> (Tao et al., 2021).

Para constatar lo teórico se realizaron experimentos para investigar sistemáticamente los mecanismos de interacción de CO<sub>2</sub>-roca y CO<sub>2</sub>-petróleo durante la fracturación con CO<sub>2</sub> en yacimientos continentales de petróleo compacto bajo condiciones de alta presión. Primero, se realizaron imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM), pruebas de adsorción de nitrógeno y tomografía computarizada (CT) para investigar la interacción entre el CO<sub>2</sub> y la roca del yacimiento. Después, las interacciones entre el CO<sub>2</sub> y el aceite se investigaron mediante pruebas de tubo delgado y experimentos de disolución de CO<sub>2</sub>. Mediante experimentos de desplazamiento del núcleo se comparó el efecto EOR entre la inundación de CO<sub>2</sub> y el CO<sub>2</sub> fracturado. Todo se llevó a cabo en condiciones de alta presión. Finalmente, se realizaron pruebas de campo para verificar el efecto de la fracturación por CO<sub>2</sub> (Tao et al., 2021).

Los experimentos de desplazamiento del núcleo indicaron que la recuperación de petróleo del proceso de remojo de CO<sub>2</sub> después de la fracturación con CO<sub>2</sub> es del 36 %, que es un 12 % y un 9 % más alto que los de CO<sub>2</sub> huff and puff y CO<sub>2</sub> flooding con 5 poros de volumen, respectivamente. Las pruebas de campo muestran que la producción promedio de petróleo después de la fracturación con

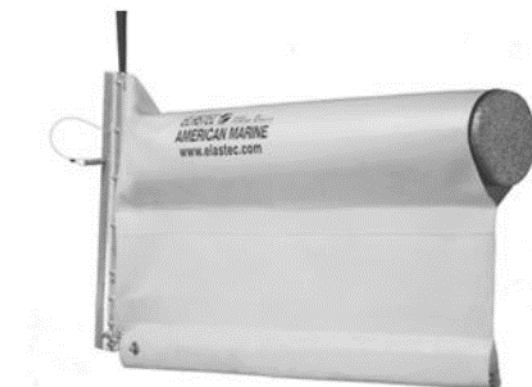
CO<sub>2</sub> es 1,42 veces más alta que después de la inundación con CO<sub>2</sub> (Tao et al., 2021).

### 1.3.3.1.6. Tecnologías recientes para mitigar los accidentes por vertidos de petróleo

#### Barreras petrolíferas

##### Figura 19

*Pluma de contención clásica rellena de espuma*



**Nota: Fuente:** Assad & Banihani., 2017.

Una barrera se compone de un dispositivo flotante (tubo inflable) y de un faldón flexible sumergido (Figura 19). En la parte inferior una cadena permite pesar verticalmente sobre la falda y atraer la tensión longitudinal de la misma (Muttin, 2016). Las barreras de contención flotantes se dividen en dos grupos: barrera de aire, son burbujas que salen para crear una pared de gas, y barrera física flotante de varios tipos, como el cuerpo flotante (por encima del nivel del agua), la barrera subacuática, el refuerzo longitudinal (cadena, cuerda de acero, banda de poliéster) y los elementos de conexión para la conexión y la posición vertical de la barrera flotante (Justin y Sokovic, 2011). Los materiales usados en la fabricación son caucho o cloruro de polivinilo (PVC), al añadirle poliuretano termoplástico (TUP) se obtiene una barrera petrolífera de PVC/TUP que es ligera, muy estable y no requiere ningún sistema de inflado, con volumen reducido para su transporte, sencilla y rápida de desplegar con una alta resistividad al petróleo (Assad y Banihani, 2017).

#### Nuevos sorbentes

En la fase de limpieza, cualquier material poroso es capaz de absorber el aceite del agua y asegurarlo en su interior, como la arena, pero debe ser adecuado para usarse en el agua (hidrofóbico). El material óptimo sería la hidrofobización de fibras de poliéster no tejidas con copolímeros de poli (metilhidro-dimetil) siloxano para producir absorbentes repelentes al agua para la limpieza de derrames de petróleo (Corneliu, Lucia, Samoila y Harabagiu, 2017). Los

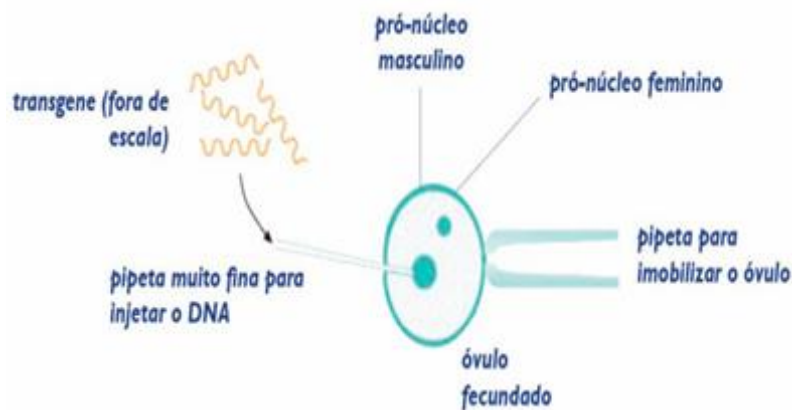
sorbentes hidrofóbicos producidos se caracterizaron y probaron para la absorción de petróleo en baño de aceite puro y agua y las pruebas de centrifugación se demostraron una alta capacidad de reciclaje de los sorbentes no tejidos gastados (Corneliu, Lucia, Samoila y Harabagiu, 2017). Existe otra sustancia lipofílica con capacidad de absorber aceite, en donde se preparan sorbentes atraídos por el aceite a base de propoxilato de glicerol mediante polimerización a granel (Kizil y Hayal, 2017).

### 1.3.3.2. Herramientas biotecnológicas y sus aplicaciones en la producción de nuevas fuentes de energía sustentable

#### 1.3.3.2.1. Transgenia-Microinyeccion

##### Figura 20

##### Microinyeccion



**Nota:** Adaptado de EIBE **Fuente:** EIBE, 1998.

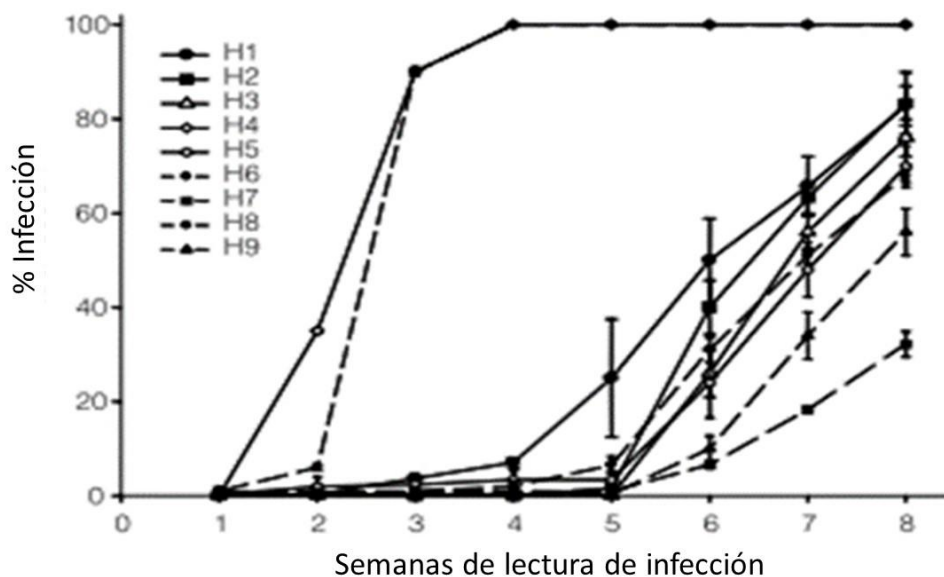
La transgénesis es la modificación del ADN usando diferentes tipos de genes, sean rasgo de un gen animal o planta, los cuales son insertados dentro de una célula animal o planta (Figura 20), en algunos casos utilizando el proceso de micro inyección, que consiste en la realización de un proceso muy meticuloso en el cual se utiliza micro agujas para la inserción de una sustancia en una célula viva (Garvin et al., s. f.).

La transgénesis es muy utilizada en áreas científicas para la modificación de su ADN tanto en la agricultura como la ganadería, en una de las investigaciones la Transgenia-Microinyeccion fue aplicada en la introducción de ADN directamente en el pronúcleo, donde se agrupo huevos de animales que han sido superovulados y fertilizados en vitro, que es una técnica donde se mantiene la fecundación fuera del organismo vivo, se utilizó una micro pipeta ultra fina de vidrio para inmovilizar el ovulo fertilizado, con ayuda de otra micro pipeta extremadamente fina que fue utilizada para la inserción de una sustancia la cual lleva varias copias de ADN exógeno. Estos huevos se introducen quirúrgicamente en las trompas de Falopio de hembras pseudo embarazadas

(dos Santos Lopes et al., 2019) con la introducción de ADN directamente en el pronúcleo de un ovocito recién fertilizado pero su mayor parte hablando en porcentajes hablamos de un 30% en oocitos (óvulos secundarios haploides) que son las células germinativas femenina, los oocitos primarios inician la meiosis pero se detienen en el estadio diploteno hasta la ovulación (Gomes-Filho et al., 2020) donde se manipula el ADN exógeno integrándose al genoma y los embriones, la micro inyección es una de las principales técnicas utilizadas para la producción de animales transgénicos a un que solo una pequeña parte de los animales son portadores del gen o se expresan y son suficientemente detectables. Los animales poseedores del gen pueden aparearse con animales no transgénicos para producir crías heterocigóticas (Aa) y aparearse entre sí para tener animales homocigotos (AA) para el gen exógeno (dos Santos Lopes et al., 2019).

### Figura 21

Curvas de progreso de la enfermedad. *h4*, clon de *katahdin* que no adquirió la transgenia; *H6*, variedad *Katahdin* sin transformada



**Nota:** Ver identidad del resto de los clones en Materiales y Métodos **Fuente:** Lozoya-Saldaña et al. 2010.

Además, la transgénesis se ha utilizado en varias regiones del mundo. Para desarrollar resistencia contra el culpable del tizón tardío del tomate y la patata, *Phytophthora infestans* Mont. De Bary, se utilizó la transgénesis en plantas del Valle de Toluca (México). Queríamos mejorar la genética de la patata utilizando una especie de planta silvestre del valle llamada *Solanum bulbocastanum*, por lo que creamos un híbrido somático entre *S. bulbocastanum* y *S. tuberosum*. México está considerado como el segundo centro de variación de las especies de *Solanum*, un género de plantas herbáceas, arbustivas o trepadoras, donde varias de las especies de *Solanum* han desarrollado genes de resistencia al

convivir con el patógeno causante del tizón tardío. Se exponen los diferentes clones a severas condiciones para comprobar su resistencia contra el tizón tardío en Toluca y la infección natural de la enfermedad del valle en el retro cruzamiento se ubicó la resistencia en el cromosoma 8, la transgénica en si se obtuvo por la introducción de genes resistentes RB y de leucina de *S. bulbocastanum* en *Agrobacterium tumefaciens* desarmado, una parte del plásmido inductor de tumores (T-DNA) es transferido al genoma de las plantas que infecta, han permitido utilizar esta bacteria como sistema de transformación vegetal (Santos, 2017), línea LBA4404, con el vector binario de transformación pBINPlus-ARS, incluyen el uso de secuencias promotoras y terminadoras no patentadas (Belknap et al., 2008). Como se aprecia en la figura 21, de los 9 genotipos incluidos las papas, cuatro de ellos adquirieron la transgenia (H1, SP904; H2, SP920; H3, SP925; y H5, SP951) pero uno no la adquirió (H4, SP946) tres de ellos fueron híbridos somáticos (H7, J101K6; H8, J103K7; y H9, J101k6A22), y por último se tuvo a la variedad Katahdin sin transformar, como testigo (H6) (Lozoya-Saldaña et al., 2010).

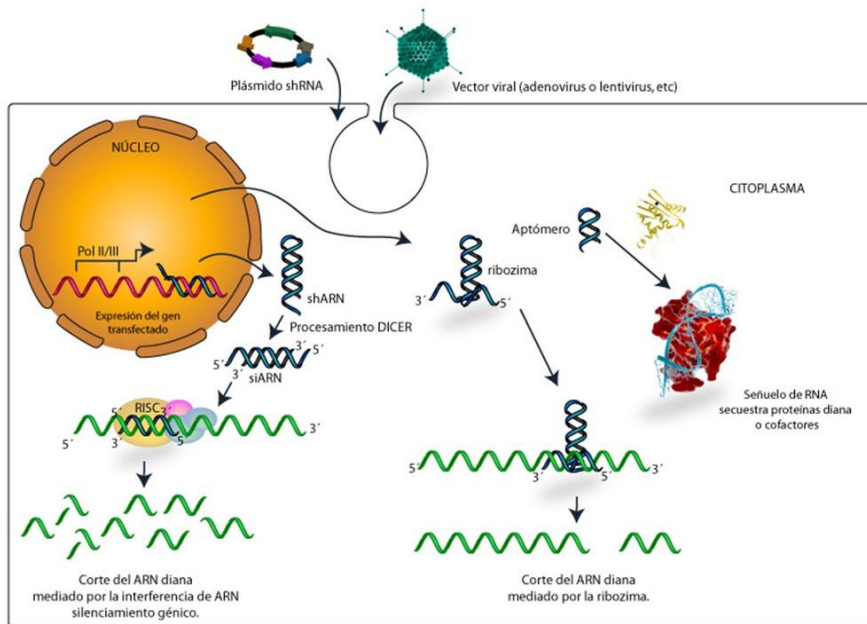
#### 1.3.3.2.2. ARN de interferencia

Los científicos pueden emplear el ARN de interferencia como una herramienta muy eficaz. Un método de silenciamiento génico postranscripcional conocido como ARN de interferencia utiliza diminutas moléculas de ARN para complementar un ARNm y provocar su destrucción, impidiendo que el ARNm se traduzca en proteínas (Ibarra, 2021).

El ARN de interferencia actualmente se ha utilizado en diferentes campos médicos y científicos, se ha encontrado que el ARN de interferencia es un potencial uso terapéutico contra la Covid-19 o también llamado SARS-CoV-2 que es una enfermedad respiratoria que se ha llevado a varias víctimas a escala global. Esta investigación puso en práctica el ARN de interferencia como alternativa terapéutica contra la Covid-19, ya que la ARN de interferencia (ARNi) se aplicó con éxito a los diferentes tratamientos antivirales, mostrando potencialidades en el contexto de enfermedades humanas causadas por Covid-19, el ARNi es una molécula ARN que hace parte de un mecanismo biológico procediendo al silenciamiento de los genes específicos a niveles post-transcripcional (Cuello Almarales et al., 2020).

Conociendo el mecanismo de los virus y demostrando que el SARS-CoV y el SARS-CoV-2 presentan similitudes significativas en su estructura genómica y su proceso patogénico, la aplicación del ARNi podría ser una opción terapéutica. La RNAi ha sido eficaz para la inhibición de la replicación viral en modelos celulares de hepatitis B, C, sida y SARS-CoV; se demostró que el uso de RNAi contra genes específicos y no estructurales, dando lugar a la inhibición de la replicación viral (Cuello et al., 2020).

**Figura 22**  
*Mecanismo de silenciamiento de genes específicos*



**Nota: Fuente:** Cuello Almarales et al., 2020.

Este mecanismo de silenciamiento (Ver Figura 22) de genes específicos cruza por una cierta secuencia de pasos, primero “iniciación”, en donde la proteína celular Dicer de una ribonucleasa dependiente de ATP y miembro de la familia de ARNasa-III, se une a un dsRNA largo y lo escinde en un fragmento dúplex de 21 a 23 nucleótidos, llamado ARN de interferencia. El complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC), que se forma en la segunda etapa, o "efector", por la interacción del siARN con multinucleasas, escinde la cadena pasajera del siARN mientras deja la cadena guía intacta y activa. La hibridación del siARN con el ARNm diana provoca la rotura de este último y evita su traducción en proteína (Cuello Almarales et al., 2020).

Este método también se ha utilizado en un estudio multidisciplinar de un modelo experimental de cicatrización corneal grave, en el que se crea un modelo de quemadura corneal grave para comprobar cómo la aplicación de un efecto farmacológico basado en el mecanismo de interferencia del ARN modifica el curso de la cicatrización. El estudio demuestra que la molécula diana del fármaco aplicado es silenciada por el tratamiento, como evidencia la disminución de la presencia de células TRPV1-positivas y de su número (Martín, 2021).

### 1.3.3.3. Nuevas tendencias biotecnológicas en el desarrollo de biomateriales alternativos al cuero y al plástico

#### 1.3.3.3.1. Introducción

Las industrias actuales consumen recursos naturales gran cantidad para cubrir la demanda poblacional, en especial, los plásticos sintetizados con polietileno, un material maleable y resistente de amplio uso y de rápido desecho; tiene dificultad para degradarse causando problemas de contaminación. Por otro lado, el cuero en la industria textil ha sido criticado por la crianza de animales en granja y su posterior sacrificio innecesario para aislar su piel que es empleada en la fabricación de prendas de vestir (Gonzales et al., 2022).

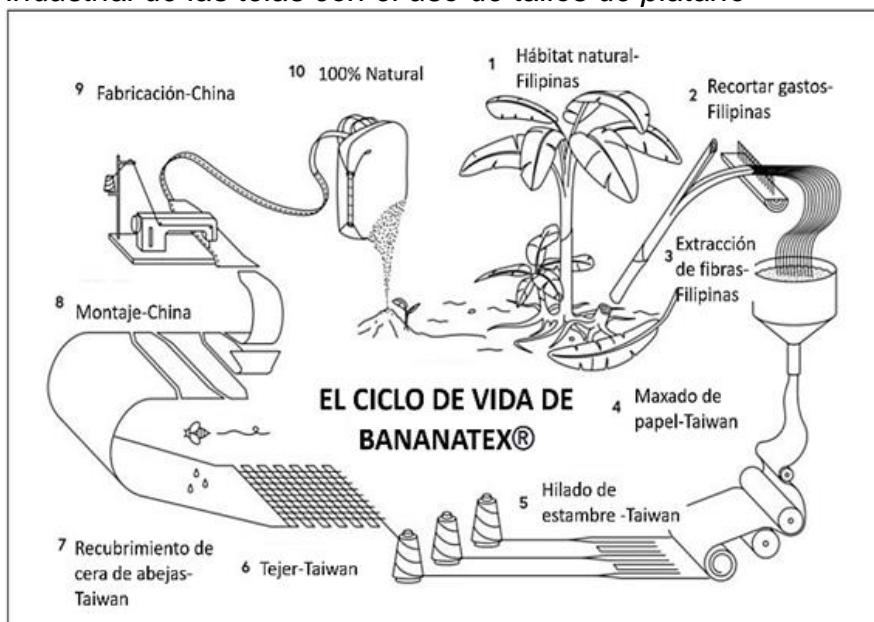
Algunas alternativas para la sostenibilidad en la producción de cueros y plásticos de gran demanda, está siendo cubierto por biomateriales, son materiales que interactúan con los seres vivos y reemplazan algunas de sus partes (Woody Oy, 2020), es decir, la obtención de materiales a partir de recursos que provienen de fuentes amigables con el ambiente conservando las mismas propiedades en los cueros y el plástico con el plus de degradarse naturalmente en el ecosistema en menor tiempo.

#### 1.3.3.3.2. Tendencias alternativas al cuero

Las tendencias en la industria de la moda según Gonzales et al., (2022) son el biocuero vegano hecho con micelios, pieles bioexóticas hechas de hojas de cactus y piña, pieles de semilla de uvas, tallos de plátano y agua de coco (Figura 23). A continuación, se detallan algunas alternativas:

#### Figura 23

*Proceso industrial de las telas con el uso de tallos de plátano*



**Nota:** Fuente: Gonzales et al., 2022.

**Abacá**, es una planta familia de las bananas originaria de Filipinas, se cortan los tallos laterales de la planta para extraer la materia prima (fibras) usado en la producción de telas, la planta sigue creciendo por 30 a 40 años, manteniendo la planta y la cosecha. También se ha probado el teñido de prendas con bacterias para evitar el uso de químicos tóxicos, una técnica que se debe continuar investigando.

Otras alternativas son la producción de pieles a nivel *in vitro*, se ha logrado producir lana cultivada sin ovejas, mediante el uso de células madre pluripotentes y muestras extraídas con biopsias de la piel provenientes de visones y ovejas merinas vivas, luego las células son cultivadas para producir folículos pilosos de la piel, con ayuda de los cultivos en placas Petri se producirán pieles y con esto se evita la deforestación al construir corrales y la explotación de animales en granja (Davidson, 2022).

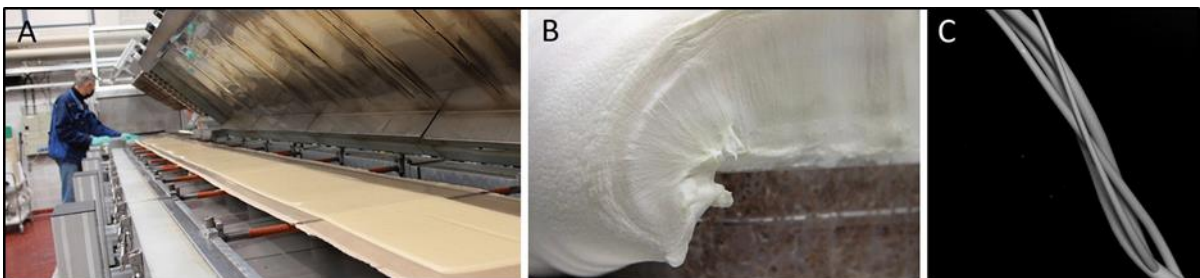
La empresa de biotecnología Bolt Threads® ha desarrollado un textil derivado del micelio con la estructura de la raíz de los hongos y el procesado en láminas similares al cuero, ¿cómo o por qué sucede? La parte vegetativa de un hongo es el micelio que son una masa de materiales compuestos ramificados, fibrosos y naturales con propiedades fisicoquímicas controladas. Luego, de tratamientos químicos y calientes se vuelve extremadamente duradero y resistente en el ambiente para obtener materiales idénticos al cuero (Raman et al., 2022).

#### 1.3.3.3.3. Procesamiento de micelios para la industria textil.

Los materiales de micelio puro se pueden producir con varias tecnologías de fermentación, por elección está la fermentación líquida que es usada para recuperar metabolitos, enzimas o la biomasa micelial y con el conocimiento extenso se logran mantener los parámetros de cultivo que permite el crecimiento óptimo (Vandelook et al., 2021).

#### Figura 24

*Modelos en la industria*



**Nota:** a) Planta piloto b) Hifas de *Ganoderma ssp.* con crecimiento externo por fermentación en estado sólido c) Modelamiento del crecimiento de hifas **Fuente:** Vandelook et al. 2021.

En la figura 24 se muestra el proceso de crecimiento de biomasa micelial puro obtenido mediante fermentación en estado sólido con condiciones óptimas para obtener abundantes hifas aéreas, quienes se caracterizan por crecer lejos del



sustrato, hacia el exterior, los parámetros de temperatura, concentración de CO<sub>2</sub> y humedad son controlados de manera que no se diferencien en cuerpos fructíferos (Vandelook et al., 2021). Una de las principales fuerzas impulsoras para que el micelio vaya hacia el exterior es por el gradiente de CO<sub>2</sub> inducido por la respiración celular. Los componentes básicos de los micelios son glucanos, la quitina/quitosano y glicoproteínas, cuyas composiciones varían según las especies, éstas pueden ser: *Ganoderma* ssp., *Trametes versicolor*, *Fomes* ssp., *Pycnoporus* ssp. y *Perenniporia* ssp. Este es un ejemplo de producción en la empresa Ecovative©.

#### 1.3.3.3.4. Bioplásticos

Una de las tendencias de biomateriales en los plásticos, es su fabricación a partir de almidón proveniente de los vegetales, esta molécula reemplazaría al polietileno, en el proceso se extrae el carbohidrato y luego es transformado en una molécula pequeña que es el ácido láctico por la acción de microorganismos, luego el producto obtenido es tratado para formar polímeros, quienes interactúan para formar poliácidos, es decir, plástico, de él se pueden fabricar macetas que se pueden enterrar, pañales desechables, hilos para sutura, etc. Otra alternativa biotecnológica es cultivar bacterias que producen en su interior gránulos de plásticos denominados polihidroxialcanoato y una vez obtenido el plástico se separa (ArgenBio, 2022).

La obtención de plásticos a partir de recursos biológicos usando materias primas renovables y las biorrefinerías mejoran la biomasa de primera y segunda generación (es decir, productos vegetales comestibles y biorresiduos no comestibles, respectivamente) en los mismos componentes básicos que los derivados del petróleo, una vez obtenidos los monómeros se pueden polimerizar de forma duradera como el furanoato de polietileno o en biodegradables como el ácido poliláctico. Otros como los polihidroxialcanoatos, se biosintetizan en microorganismos a partir de diversas materias primas (Rosenboom et al., 2022).

Las tecnologías de producción de microalgas son una fuente de biomateriales para el desarrollo de plásticos, esto debido a que tienen un rendimiento de crecimiento muy distintivo, en comparación con la biomasa lignocelulósica típica (Tetiana Shevchenko et al., 2022). Pedetti y Vaccaro (2017) publicaron un trabajo en donde propusieron la utilización de la microalga *Scenedesmus obliquus* modificada con un vector contenido la secuencia codificante de tres enzimas que le otorgan la capacidad a la bacteria *Ralstonia eutropha* de transformar lípidos en polihidroxialcanoatos, esto como alternativas a los almidones de maíz porque requieren de cultivos y deforestación, también alterno bacterias por su alto costo de mantenimiento.

## 1.4. Discusión

En este capítulo se abordaron 3 secciones enfocadas en brindar herramientas biotecnológicas para el monitoreo de la contaminación ambiental, seguidamente se consideraron herramientas para fortalecer la agricultura sustentable con el uso de microorganismos para fertilizantes, nuevos alimentos y tendencias en la agricultura 4.0; finalmente se consideraron estrategias de mitigación de impacto petrolero a través de la reducción de emisiones de gases de efecto invernadero, especialmente de dióxido de carbono en diferentes industrias. En el contexto de carbono neutralidad, los aportes que potencialmente puede brindar la biotecnología ambiental son diversos, desde sistemas de producción más limpia, alimentos con mejores características nutricionales, tratamiento de aguas y residuos sólidos urbanos, al mismo tiempo que se puede generar fuentes de energía como el biogás. Finalmente, la combinación de las herramientas propuestas en la guía y las nuevas tendencias como la inteligencia artificial y machine learning deben ser estudiadas a profundidad, no solo sus potenciales beneficios sino también sus riesgos.

## 1.5. Conclusiones

Los factores bióticos y abióticos deben ser considerados técnicamente al diseñar un plan de biorremediación. En este sentido, los organismos deben responder a las variables abióticas como el clima (precipitaciones, insolación, temperatura, nubosidad, nieve), las rocas, los océanos y los ríos, así como los factores antropogénicos (todos los factores causados por las actividades humanas como la contaminación orgánica y/o inorgánica). En este sentido, la explotación de petróleo, a pesar de los réditos económicos, fragmenta los ecosistemas, por lo que ciertos sistemas agroforestales funcionan bien en suelos con cultivos permanentes, pastoreo y cobertura forestal, dando paso a proceso de fitorremediación.

Además, se determinó que una tendencia en biomateriales plásticos es la fabricación de almidón a partir de vegetales, que tiene el potencial de sustituir al polietileno. Los microorganismos convierten el carbohidrato en ácido láctico, que luego se trata para formar polímeros, que interactúan para formar poliácidos, o plástico, que puede utilizarse para fabricar macetas enterradas, pañales desechables, hilos de sutura, etc. Otro método biotecnológico consiste en cultivar bacterias productoras de polihidroxialcanoato y separar el plástico.

Las materias primas renovables y las biorrefinerías convierten la biomasa de primera y segunda generación (productos vegetales comestibles y biorresiduos

no comestibles, respectivamente) en monómeros que pueden polimerizarse en furanoato de polietileno duradero o ácido poliláctico biodegradable. Adicionalmente, las microalgas y cianobacterias crecen de forma diferente a la biomasa lignocelulósica, pueden utilizarse para fabricar bioplásticos. Otra alternativa para la sostenibilidad en la producción de cueros y plásticos de gran demanda están siendo cubiertas por hongos.

## Referencias Bibliográficas

- ¿Qué es la biotecnología Ambiental? (2019, 28 octubre). Centro de Biotecnología. <https://www.centrobiotecnologia.cl/investigacion/que-es-la-biotecnologia-ambiental/>
- A Breath of Hope. (s.f.). Pruebas de biomarcadores en el cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). Recuperado de: <https://www.ustedycancerdepulmon.com/es-cp/view/m701-s10-comprender-las-pruebas-de-biomarcadores-de-c%C3%A1ncer-de-pulm%C3%B3n-de-c%C3%A9lulas-no-peque%C3%B1as-presentaci%C3%B3n-de-diapositivas>
- Ab Rasid S. A.; Mahmood S. M.; Kechut N. I.; Akbari S. A Review on Parameters Affecting Nanoparticles Stabilized Foam Performance Based on Recent Analyses. *J. Pet. Sci. Eng.* 2022, 208, 109475. 10.1016/j.petrol.2021.109475
- Adenle, A. A., Sowe, S. K., Parayil, G., & Aginam, O. (2012). Analysis of open-source biotechnology in developing countries: An emerging framework for sustainable agriculture. *Technology in Society*, 34(3), 256-269.
- Aguilar, R. C. G., Guevara, G. J. L., & Taboada, M. R. E. H. (2021). Biocombustibles mediante residuos agroindustriales: por un mejor cuidado del medio ambiente del planeta. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(6), 14443-14468.
- Al-Shargabi, M., Davoodi, S., Wood, D. A., Rukavishnikov, V. S., & Minaev, K. M. (2022). Carbon Dioxide Applications for Enhanced Oil Recovery Assisted by Nanoparticles: Recent Developments. *ACS omega*, 7(12), 9984–9994. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c07123>
- Andrade, J., Lara-Basantes, C., Muñoz, D., & Chicaiza-Ortiz, C. (2022). EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN EN LAS MATRICES

- AMBIENTALES AGUA, SUELO Y ATMÓSFERA. Colección Científica Educación, Empresa y Sociedad. doi: 10.5281/zenodo.6858572
- ArgenBio. (2022). Biotecnología y plásticos biodegradables. ArgenBio. <https://www.argenbio.org/biotecnologia/aplicaciones-de-la-biotecnologia/172-biotecnologia-y-plasticos-biodegradables>
- Assad, M., Banihani, E. (2017). Recent Technologies in Mitigating Oil Spill Accidents. *Petroleum & Petrochemical Engineering Journal*, 1(3), 2–7. <https://doi.org/10.23880/ppej-16000120>
- Barcelos, M. C. S., Lupki, F. B., Campolina, G. A., Nelson, D. L., & Molina, G. (2018). The Colors of Biotechnology: general overview and developments of White, Green and Blue areas. *FEMS Microbiology Letters*. doi:10.1093/femsle/fny239.
- Barea, J. M. (2015). Future challenges and perspectives for applying microbial biotechnology in sustainable agriculture based on a better understanding of plant-microbiome interactions. *Journal of soil science and plant nutrition*, 15(2), 261-282.
- Bravo, N. S. (2019). *Bacillus thuringiensis* como controlador biológico en la agricultura. *Agricolae & Habitat*.
- Barreiro, D. (2022). Objetivo: Parecerse a la carne. *Eurocarne: La revista internacional del sector cárnico*, (305), 32-44.
- Barrett, H., & Rosal, D. C. (2020). Perceptions of the Fourth Agricultural Revolution: What's In, What's Out, and What Consequences are Anticipated? *Journal of the European Society for rural sociology*, 62(2), 162-189. <https://doi.org/10.1111/soru.12324>
- Belknap, W. R., Rockhold, D. R., & McCue, K. F. (2008). pBINPLUS/ARS: An improved plant transformation vector based on pBINPLUS. *BioTechniques*, 44(6), 753-756. <https://doi.org/10.2144/000112731>
- Bonny, S. P. F., Gardner, G. E., Pethick, D. W., & Jean-Francois, H. (2015). What is artificial meat and what does it mean for the future of the meat industry. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(2), 255–263. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(14\)60888-1](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(14)60888-1).
- Bravo, N. S., & Agroambiental, E. E. B. *Bacillus thuringiensis* como controlador biológico en la agricultura.
- Cambarieri, L., Pucci, G. N., & Acuña, A. J. (2021). Optimización de un proceso de bioestimulación en un suelo de Río Gallegos, Argentina, para su utilización en biorremediación de hidrocarburos: . *Ecosistemas*, 30(1), 2084. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2084>

- Canal Diabetes. (2017). Nueva metodología permite rápidamente los flujos del metabolismo. Recuperado de: <https://canaldiabetes.com/flujos-del-metabolismo/>
- Cantaro-Segura, H., Huaranga-Joaquín, A., & Zúñiga-Dávil, D. (2019). Efectividad simbiótica de dos cepas de *Rhizobium* sp. en cuatro variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) en Perú. *Idesia (Arica)*, 37(4), 73-81.
- Castebianco, J. A. (2018). Técnicas de remediación de metales pesados con potencial aplicación en el cultivo de cacao. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, 27(1), 21-35.
- Castrejón, B. (2021). Bagazo de agave: de desecho agroindustrial a materia prima en las biorrefinerías. Recuperado de: <https://ciencia.unam.mx/leer/1112/bagazo-de-agave-de-desecho-agroindustrial-a-materia-prima-en-las-biorrefinerias->
- Castro-Ortíz, L. P., Luna Pabello, V. M., & Villalobos Pietrini, R. (2007). Estado del arte y perspectivas del uso de biosensores ambientales en México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 23(1), 35-45.
- Checa-Artos, M., Sosa del Castillo, D., Vanegast M.E., Ruiz-Barzola O. y Barcos-Arias, M. (2021). Remoción de cinco productos farmacéuticos catalogados como contaminantes emergentes en medio acuoso utilizando la especie vetiver (*Chrysopogon zizanioides*). *Latin American Journal of Biotechnology and Life Sciences Bionatura*. 6 (1), 1478-1485.
- Chia, S. R., Chew, K. W., Show, P. L., Yap, Y. J., Ong, H. C., Ling, T. C., & Chang, J. S. (2018). Analysis of economic and environmental aspects of microalgae biorefinery for biofuels production: a review. *Biotechnology journal*, 13(6), 1700618.
- Choi JW Nicot JP Hosseini SA et al. , contabilidad de reciclaje de CO 2 y programación de operaciones de EOR para ayudar en la evaluación de la capacidad de almacenamiento en un reservorio agotado en la costa del golfo de EE. UU. En t. J. Control de gases de efecto invernadero. 2013; 18 :474–484. doi: 10.1016/j.ijggc.2013.01.033.
- Chriki, S., & Hocquette, J. F. (2020). The myth of cultured meat: A review. *Frontiers in Nutrition*, 7, 7. <https://doi.org/10.3389/fnut.2020.00007>.
- Chrobok, D. (2022). La descontaminación de suelos mediante fitorremediación. Recuperado de: <https://www.aepjp.es/la-descontaminacion-de-suelos-mediante-fitorremediacion/>
- Cisneros, J. J., & Luis, G. O. (2021). La biorremediación como una alternativa de limpieza ambiental.

- Corneliu, C., Lucia, P., Samoila, P., Harabagiu, V. (2017). Surface hydrophobization of polyester fibers with poly (methylhydro-dimethyl) siloxane copolymers: Experimental design for testing of modified nonwoven materials as oil spill sorbents. *Polymer Testing* 59: 377-389.
- Covarrubias, S. A., & Cabriales, J. J. P. (2017). Contaminación ambiental por metales pesados en México: Problemática y estrategias de fitorremediación. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 33, 7-21.
- Cuello Almarales, D. A., Almaguer Mederos, L. E., & Almaguer Gotay, D. (2020). Potencial uso terapéutico del ARN de interferencia contra la COVID-19 TT - Potential therapeutic use of RNA interference against COVID-19. *Rev. habanera cienc. méd.*, 19(4), e3400-e3400. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2020000500004&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2020000500004&script=sci_arttext&tlng=en)
- da Silveira, F., Lermen, F. H., & Amaral, F. G. (2021). An overview of agriculture 4.0 development: Systematic review of descriptions, technologies, barriers, advantages, and disadvantages. *Computers and Electronics in Agriculture*, 189, 106405
- Davidson, L. (2022, January 26). Mycelium Materials Company Ecovative Launches Forager to Develop Mushroom Leather Products and Soft Goods. *Business Wire*. <https://www.businesswire.com/news/home/20220126005322/en/Myceliu-m-Materials-Company-Ecovative-Launches-Forager-to-Develop-Mushroom-Leather-Products-and-Soft-Goods>
- Delgado, A., Perez, J. C., Cardona Gallo, S., & Loaiza-Usuga, J. C. (2019). Bioremediation (Biostimulation And Bioaugmentation) Of Oil Spills Contaminated Soils Under Tropical Humid Forest. *Carpathian Journal Of Earth And Environmental Sciences*, 14(1), 165–170. <https://doi.org/10.26471/cjees/2019/014/068>
- Domínguez R. et al., (2019). Recursos naturales, medio ambiente y sostenibilidad: 70 años de pensamiento de la CEPAL, Libros de la CEPAL, N° 158 (LC/PUB.2019/18-P), Santiago, Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL). [https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/44785/1/S1900378\\_es.pdf](https://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/44785/1/S1900378_es.pdf)
- Dos Santos Lopes, J. C., Soares de Paula, R., Gonçalves dos Santos, K. J., Pinheiro Pales, A., da Silva Castro, C., & Ferreira Daniel Santos, J. (2019). Animais Transgênicos: Conceito, Metodologias y Aplicações. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63653009005>

- EPA [Environmental Protection Agency], 2000. Introduction to Phytoremediation. National Risk Management Research Laboratory Office of Research and Development U.S. Environmental Protection Agency Cincinnati, Ohio (EPA/600/R-99/107). <https://clu-in.org/download/remed/introphyto.pdf>
- Fakher S.; Imqam A. Application of Carbon Dioxide Injection in Shale Oil Reservoirs for Increasing Oil Recovery and Carbon Dioxide Storage. *Fuel* 2020, 265, 116944. 10.1016/j.fuel.2019.116944
- FAO. (2020). Hambre e inseguridad alimentaria. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura.
- Ferreira, C. S. R., Alves, E. S., Costa, J. C. M., Ferreira, C. M. R., Friedrichsen, J. S. A., Frigo, G., ... & Santos, O. O. (2022). Produção de carne artificial como uma alternativa sustentável: Revisão. *Research, Society and Development*, 11(7), e47011730346- e47011730346.
- Flores, C. S. (2020). America latina ante el flagelo del hambre y la integración regional. *Boletín integración regional. Una mirada crítica*. N° 9
- Garvin, W., Harms, U., Shearer, C., & Simonneaux, L. (s. f.). Animales transgénicos Animais transgênicos Iniciativa Europeia para o Ensino da Biotecnologia UNIDADE 11 Colaboradores desta Unidade.
- Gaudreau, M. (2018). State food security and people's food sovereignty: competing visions of agriculture in China. *Canadian Journal of Development Studies. Revue Canadienne D'études Du Développement*, 1, 1-17. doi:10.1080/02255189.2017.1410470
- Ghahari, S., Ghahari, S., Ghahari, S., Nematzadeh, G. A., & Sarma, H. (2021). Environmental Biotechnology: Toward a Sustainable Future. In *Biotechnology for Sustainable Environment* (pp. 1-31). Springer, Singapore.
- Gomes Filho, L. S., Silva, J. M. M., Santos, B. H. B., Piantino, V., Gonçalves, V. A., Manfroi, M. L., Albuquerque, V. C., Pereira, D., Albertino, L. F., & Mesquita, I. B. (2020). Vitriificação de oócitos: Relato De Caso. *Brazilian Journal of Health Review*, 3(3), 6653-6657. <https://doi.org/10.34119/bjhrv3n3-208>
- Gonzales, J., Butler, R., & Scherer, G. (2022, April 8). Sustainable fashion: Biomaterial revolution replacing fur and skins. *Mongabay*. <https://news.mongabay.com/2022/04/sustainable-fashion-biomaterial-revolution-replacing-fur-and-skins/>
- Grasso M. A Critical Assessment of the Oil and Gas Industry's Contribution to Climate Change. *E.R. S. Science* 2019, 50, 106–115. 10.1016/j.erss.2018.11.017.

- Gupta, V., Sengupta, M., Prakash, J., & Tripathy, B.C. (2017). An Introduction to Biotechnology. Basic and Applied Aspects of Biotechnology, 2, 1-21. 10.1007/978-981-10-0875-7\_1
- Hao, H., Hou, J., Zhao, F., Huang, H. y Liu, H. (2021). Proceso de huff-n-puff de CO<sub>2</sub> asistido por espuma de N<sub>2</sub> para la recuperación mejorada de petróleo en un yacimiento heterogéneo de agua de borde: experimentos y pruebas piloto. Avances RSC, 11 (2), 1134–1146. <https://doi.org/10.1039/d0ra09448j>
- Henning, N., Kunkel, U., Wick, A., & Ternes, T. A. (2018). Biotransformation of gabapentin in surface water matrices under different redox conditions and the occurrence of one major TP in the aquatic environment. Water research, 137, 290-300.
- Hernández, I. C., & Gouttefanjat, F. (2022). Sustentabilidad, tecnología ambiental y regeneración ecosistémica: retos y perspectivas para la vida. Universidad y Sociedad, 14(2), 142-157.
- Hernández-Melchor, D. J.-C. (2019). *Trichoderma*: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. Chilean journal of agricultural & animal sciences, 98-112.
- Huamán-Castilla, N. L., Allcca-Alca, E. E., Allcca-Alca, G. J., & Quispe-Pérez, M. L. (2021). Biopolímeros producidos por *Azotobacter*: síntesis y producción, propiedades físico-mecánicas, y potenciales aplicaciones industriales. Scientia Agropecuaria, 12(3), 369-377.
- Hurtado, I. L. S., Rivera, G. L. C., Macías, M. C. G., & Posligua, J. D. M. (2019). La ciencia de la biotecnología y sus aplicaciones. RECIAMUC, 3(3), 902-920.
- Ibarra, L. (2021). ARN de Interferencia. Science, 1(1), 40. <https://sylentis.com/index.php/es/tecnologia/2-uncategorised/15-arn-de-interferencia>
- Iraji B. Shadizadeh SR Riazi M. Investigación experimental de soplos y soplos de CO<sub>2</sub> en un sistema de fractura de matriz. Gasolina. 2015; 158 :105–112. doi: 10.1016/j.combustible.2015.04.069.
- Jaramillo-Salazar, M. T., Marín-Giraldo, Y., & Ocampo-Serna, D. M. (2018). Efectos en el nivel fotosintético en tres especies de plantas acuáticas sometidas a un tratamiento con agua residual de origen minero. Boletín Científico. Centro de Museos. Museo de Historia Natural, 22(1), 43-57.
- Jin L. Hawthorne S. Sorensen J. et al., Advancing CO<sub>2</sub> enhanced oil recovery and storage in unconventional oil play—experimental studies on Bakken



- shales. Appl. Energy. 2017;208:171–183. doi: 10.1016/j.apenergy.2017.10.054.
- Jofre, J. (2017). “Oportunitats relacionades amb el cicle integral de l’aigua per a les empreses de l’Àrea Metropolitana de Barcelona”. Pla estratègic Metropolità de Barcelona. Barcelona. Col·lecció estratègica, núm. 5}
- Johnson Matthey. (2017, 5 abril). “Algae and Environmental Sustainability”: Ingenta Connect. Ingenta. Recuperado 24 de mayo de 2022, de <https://www.ingentaconnect.com/content/matthey/jmtr/2017/00000061/0000002/art00008;jsessionid=4jn1hr6jm62t3.x-ic-live-02>
- Justin, R., Sokovic, M. (2011). Industrialization of Easy Boom. Archives of Materials Science and Engineering 47(2): 110-116.
- Kahn, T. W., Duck, N. B., McCarville, M. T., Schouten, L. C., Schweri, K., Zaitseva, J., & Daum, J. (2021). A Bacillus thuringiensis Cry protein controls soybean cyst nematode in transgenic soybean plants. Nature communications, 12(1), 1-12
- Kim, S. H., Woo, H., An, S., Chung, J., Lee, S., & Lee, S. (2022). What determines the efficacy of landfarming for petroleum-contaminated soils: Significance of contaminant characteristics. *Chemosphere*, 290, 133392.
- Kizil, S., Hayal, B. (2017). Oil loving hydrophobic gels made from glycerol propoxylate: Efficient and reusable sorbents for oil spill clean-up. J Environ Manage 196: 330-339.
- Klerkx, L., & Rose, D. (2020). Dealing with the game-changing technologies of Agriculture 4.0: How do we manage diversity and responsibility in food system transition pathways? *Global Food Security*, 24, 100347. doi: 10.1016/j.gfs.2019.100347
- La Biotecnología. (2021, 25 noviembre). ▷ Biotecnología Ambiental: Definición, Importancia, ventajas y desventajas. Recuperado 24 de mayo de 2022, de <https://labiotecnologia.com/biotecnologia-ambiental/>
- Landra, Y. A. G., Neves, F. A., Neto, R. C., Alonso, A. A. B., & Viltre, L. L. (2020). Revisão e comparação dos recentes requisitos de integração de fontes renováveis de energia/Review and comparison of recent requirements for the integration of renewable energy sources/Revisión y comparación de los actuales requisitos de integración de fuentes renovables de energía. *Ingeniería Energética*, 41(3).
- Lemaire P. C.; Alenzi A.; Lee J. J.; Beckman E. J.; Enick R. M. Thickening CO<sub>2</sub> with Direct Thickeners, CO<sub>2</sub>-in-Oil Emulsions, or Nanoparticle Dispersions: Literature Review and Experimental Validation. *Energy Fuels* 2021, 35 (10), 8510–8540. 10.1021/acs.energyfuels.1c00314.

- Li, L., Wang, C., Li, D., Fu, J., Su, Y., & Lv, Y. (2019). Experimental investigation of shale oil recovery from Qianjiang core samples by the CO<sub>2</sub> huff-n-puff EOR method. *RSC advances*, 9(49), 28857–28869. <https://doi.org/10.1039/c9ra05347f>
- Liu, H.; Wang, F.; Zhang, J.; Meng, S.; Duan, Y. (2014). Fracturación con dióxido de carbono: estado de aplicación y tendencia de desarrollo. *Mascota. Explorar desarrollo*. 41, 513 – 519, DOI: 10.1016/S1876-3804(14)60060-4
- Lozoya-Saldaña, H., Belmar-Díaz, C. R., Bradeen, J. M., & Helgeson, J. P. (2010). Caracterización de poblaciones de *Phytophthora infestans* (mont. de bary) obtenidas de *Solanum* transgénicas y de híbridos somáticos resistentes. *Interciencia*, 35(10), 784-788. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33915592013>
- Mahanty, T., Bhattacharjee, S., Goswami, M., Bhattacharyya, P., Das, B., Ghosh, A., & Tribedi, P. (2016). Biofertilizers: a potential approach for sustainable agriculture development. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(4), 3315–3335. doi:10.1007/s11356-016-8104-0
- Marchiol, L. (2019). Nanofertilisers. An outlook of crop nutrition in the fourth agricultural revolution. *Italian Journal of Agronomy*, 4(3), 183-190. [doi.org/10.4081/ija.2019.1367](https://doi.org/10.4081/ija.2019.1367)
- Martín, E. L. (2021). Estudio multidisciplinar de un modelo experimental de cicatrización corneal grave: efecto de un fármaco basado en el mecanismo del arn de interferencia - Dialnet. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=293418>
- Massarweh O.; Abushaikha A. S. A Review of Recent Developments in CO<sub>2</sub> Mobility Control in Enhanced Oil Recovery. *Petroleum* 2021, 10.1016/j.petlm.2021.05.002.
- Mera, B. E. D., & García, M. J. L. (2023). Fitorremediación con *Eichhornia crassipes* en aguas residuales del cantón Jipijapa, Ecuador. *Revista Iberoamericana Ambiente & Sustentabilidad*, 6, e221-e221.
- Migliorini, P., Bàrberi, P., Bellon, S., Gaifami, T., Gkisakis, V. D., Peeters, A., & Wezel, A. (2020). Controversial topics in agroecology: A European perspective. *Ciencia e investigación agraria: revista latinoamericana de ciencias de la agricultura*, 47(3), 159-173.
- Morera, F. A. (2021). USO DE LOS BIOFESTILIZANTES EN LA AGRICULTURA SOSTENIBLE. *Agricolae & Habitat*.
- Muller, B. (2020). Genetically modified food sovereignty? Willy street coop. <https://www.willystreet.coop/pages/genetically-modified-food-sovereignty>

- Munive Cerrón, R., Gamarra Sánchez, G., Munive Yachachi, Y., Puertas Ramos, F., Valdiviezo Gonzales, L., & Cabello Torres, R. (2020). Absorción de plomo y cadmio por girasol de un suelo contaminado, remediado con enmiendas orgánicas en forma de compost y vermicompost. *Scientia Agropecuaria*, 11(2), 177-186.
- Muttin, F. (2016). Oil spill boom modelling by the finite-element method. *Water pollution* 111: 383-392
- Narciso-Ortiz, Vargas-García, Vázquez-Larios, Quiñones-Muñoz, Hernández-Martínez, Lizardi-Jiménez, (2020). Coral reefs and watersheds of the Gulf of Mexico in Veracruz: Hydrocarbon pollution data and bioremediation proposal, *Regional Studies in Marine Science*, (35); 101155, <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2020.101155>.
- Nguyen, V. T., Kwon, Y. S., & Gu, M. B. (2017). Aptamer-based environmental biosensors for small molecule contaminants. *Current opinion in biotechnology*, 45, 15-23.
- Orellana R, Cumsille A, Piña-Gangas P, Rojas C, Arancibia A, Donghi S, Stuardo C, Cabrera P, Arancibia G, Cárdenas F, Salazar F, González M, Santis P, Abarca-Hurtado J, Mejías M, Seeger M. Economic Evaluation of Bioremediation of Hydrocarbon-Contaminated Urban Soils in Chile. *Sustainability*. (2022); 14(19):11854. <https://doi.org/10.3390/su14191185>
- Orellana R, Macaya C, Bravo G, Dorochesi F, Cumsille A, Valencia R, Rojas C y Seeger M (2018) . Living at the Frontiers of Life: Extremophiles in Chile and Their Potential for Bioremediation. *Frontiers in Microbiology*; (9) Recuperado de <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.02309>
- Ortega, Y. D. L. M. D., Gálvez, Y. F., Ramírez, E. R., Tomes, A. V., & Gort, D. G. (2019). Efecto de cinco bioestimulantes en el fortalecimiento de posturas de caña de azúcar y su resistencia al transplante. *Agrisost*, 25, 1-8.
- Pachon Romero, J. P. (2018). Principios de la soberanía alimentaria puestos en práctica por los actores de mercados campesinos, para la construcción de seguridad alimentaria y nutricional: Caso Sibaté (Cundinamarca). Facultad de Medicina.
- Parraguez Vergara, E., Contreras, B., Clavijo, N., Villegas, V., Paucar, N., & Ther, F. (2018). Does indigenous and campesino traditional agriculture have anything to contribute to food sovereignty in Latin America? Evidence from Chile, Peru, Ecuador, Colombia, Guatemala and Mexico. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 16(4-5), 326-341. <https://doi.org/10.1080/14735903.2018.1489361>

- Patel, P. J., Trivedi, G. R., Shah, R. K., & Saraf, M. (2018). Selenorhizobacteria: As biofortification tool in sustainable agriculture. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 14, 198-203.
- Pedetti, P., & Vaccaro, V. (2017). Utilización de microalgas para la potencial producción de polihidroxicanoatos. *Repositorio Académico Digital*. <https://dspace.ort.edu.uy/handle/20.500.11968/3570>
- Peters KE, Moldowan JM (1993): *The Biomarker Guide: Interpreting Molecular Fossil in Petroleum and Ancient Sediments*. Vol 1, Prentice Hall Press, New Jersey, pp 361
- Post, M. J. (2014). Cultured beef: Medical technology to produce food. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94(6), 1039–1041. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6474>.
- Qaim, M. (2017). Globalisation of agrifood systems and sustainable nutrition. *Proceedings of the Nutrition Society*, 76(1), 12-21. doi:10.1017/S0029665116000598
- Quillca Aldazabal, Y. X., & Rojas Ariza, Y. (2022). Bioremediación de suelos contaminados con compuestos orgánicos: fitorremediación y vermiremediación. *Revisión sistemática 2022*.
- Raman, J., Da -, K., Kim, H., & Shin, H. (2022, March 19). Mycofabrication of Mycelium-Based Leather from Brown-Rot Fungi. *MDPI*. <https://www.mdpi.com/2309-608X/8/3/317/htm>
- Ramos Armella, L. I. (2023). Mujeres que exponen vulnerabilidades generadas por la actividad hidrocarburífera en la Norpatagonia.
- Recabarren-Villalón, T., A. C. Ronda y A. H. Arias. (2019). Uso de biomarcadores en la evaluación ambiental de ecosistemas marinos en América. *JAINA Costas y Mares ante el Cambio Climático* 1( 2): 1-18. doi 10.26359/52462.0719
- Rosa, A.P., Triguís, J.A. Bioremediation process on Brazil shoreline. *Env Sci Poll Res Int* 14, 470–476 (2007). <https://bibliotecas.ups.edu.ec:2582/10.1065/espr2007.02.377>
- Rose, D. C., & Chilvers, J. (2018). Agriculture 4.0: Broadening Responsible Innovation in an Era of Smart Farming. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2. doi.org/10.3389/fsufs.2018.00087
- Rosenboom, J. G., Langer, R., & Traverso, G. (2022, January 20). Bioplastics for a circular economy. *Nature Reviews Materials*. <https://www.nature.com/articles/s41578-021-00407-8>

- Rothschuh Osorio, U. (2022). Biorremediación: qué es, tipos y ejemplos. Recuperado de: <https://www.bioenciclopedia.com/biorremediacion-que-es-tipos-y-ejemplos-769.html>
- Rubio-Sanz, L., Garzón-Molina, M., Arnés-García, M., & Jaizme-Vega, M. C. (2020). Optimización del desarrollo, nutrición y producción de semillas de *Moringa oleifera* mediante el uso de micorrizas bajo manejo agroecológico. *Agroecología*, 14(1), 81-90.
- Sanabria, J. (2014). Environmental biotechnology research: challenges and opportunities in Latin America. *Journal of agricultural and environmental ethics*, 27(4), 681-694.
- Santafe Troncoso, V., & Loring, P. A. (2021). Indigenous food sovereignty and tourism: the Chakra Route in the Amazon region of Ecuador. *Journal of Sustainable Tourism*, 29(2), 392-411. doi.org/10.1080/09669582.2020.1770769
- Santos R., J. (2017). Transformación de *Agrobacterium tumefaciens* CEPA LBA4404 con el vector binario pNOV022, selección in vitro y caracterización molecular. *Impact factor*, 7(1), 68-69. <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/view/26046>
- Scragg, A. H. (2005). *Environmental biotechnology*. New York: OXFORD university press.
- Sharma, R. K., & Agrawal, M. (2005). Biological effects of heavy metals: an overview. *Journal of environmental Biology*, 26(2), 301-313.
- Shutterstock. (s.f.). Biocombustible. Recuperado de: <https://www.shutterstock.com/es/search/biocombustible>
- Simon R. Graue D. J. Generalized correlations for predicting solubility, swelling and viscosity behavior of CO<sub>2</sub>-crude oil systems. *J. Pet. Technol.* 1965;17(1):102–106. doi: 10.2118/917-PA
- Singh, R. (2019). Microbial biotechnology: a promising implement for sustainable agriculture. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering* (pp. 107-114). Elsevier.
- Singh, R. L. (2017). Introduction to environmental biotechnology. In *Principles and Applications of Environmental Biotechnology for a Sustainable Future* (pp. 1-12). Springer, Singapore.
- Smitha, M. S., Singh, S., & Singh, R. (2017). Microbial biotransformation: a process for chemical alterations. *J Bacteriol Mycol Open Access*, 4(2), 85.

- Soares, G., Huff Theodoro, S., Carvalho, A. M., Burbano, D., & Ramos, C. (2023). Remineralizadores de suelos y sistemas agroforestales: una opción para la captura de CO<sub>2</sub>.
- Tao, J., Meng, S., Jin, X., Xu, J., Yang, Q., Wang, X., Liu, H., & Peng, B. (2021). Stimulation and Sequestration Mechanism of CO<sub>2</sub> Waterless Fracturing for Continental Tight Oil Reservoirs. *ACS omega*, 6(32), 20758–20767. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c01059>
- Tetiana Shevchenko, Ranjbari, M., Esfandabadi, Z. S., danko, y., & Danko, K. B. (2022, March 25). Promising Developments in Bio-Based Products as Alternatives to Conventional Plastics to Enable Circular Economy in Ukraine. MDPI. <https://www.mdpi.com/2313-4321/7/2/20/html>
- Tong X. Zhang G. Wang Z. Wen Z. Tian Z. Wang H. Ma F. Wu Y. Distribution and potential of global oil and gas resources. *Petrol. Explor. Dev.* 2018;45(04):219–229. doi: 10.1016/S1876-3804(18)30081-8.
- Universidad Nacional Autónoma de México. (2021). Biosensor de nanopartículas de oro para detectar hipertensión arterial. Recuperado de: <https://ciencia.unam.mx/leer/1118/biosensor-de-nanoparticulas-de-oro-para-detectar-hipertension-arterial>
- Van den BergGordillo, L., Goris, M., Mancini Teixeira, H., Cardoso, I. M., & Botelho, I. M. (2017). Agroecology for Food Sovereignty. *Farming Matters*. <https://www.ileia.org/2017/04/18/agroecology-food-sovereignty/>
- Vandelook, S., Elsacker, E., Wylick, A. V., Laet, L. D., & Peters, E. (2021, December 20). Current state and future prospects of pure mycelium materials - Fungal Biology and Biotechnology. *Fungal Biology and Biotechnology*. <https://fungalmolbiotech.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40694-021-00128-1>
- Vélez-Rolón, A. M., Pulido-López, A., Neira-Bermúdez, D., & Méndez-Pinzón, M. (2020). Hambre y seguridad alimentaria, desafío de la agenda 2030. Una mirada desde la integración latinoamericana. *Catálogo editorial*, 106-119.
- Veloz, N., Chicaiza-Ortiz, C., Arellano, D., Buenaño, J., Camacho, C., Duque, A., Echeverría, A., Mejía, B., Romero, J., & Yambay, C. (2015). Proceso de remediación de las muestras de suelo contaminados con hidrocarburos del CESTTA mediante las técnicas de bioestimulación, bioaumentación y fitorremediación. Doi: 10.13140/RG.2.1.2882.6083
- Vergara-Romero, A., Menor Campos, A., Arencibia Montero, O., & Jimber del Río, J. A. (2022). Soberanía alimentaria en Ecuador: descripción y análisis bibliométrico. *Revista Venezolana de Gerencia*, 27(98), 498-510.

- Verma, G., & Ravichandran, S. (2020). Evolution of biotechnology as a million dollar market: The Management and commerce of a biotech start-up. In *Biotechnology Business-Concept to Delivery* (pp. 161-178). Springer, Cham.
- Viera-Arroyo, W. F.-T.-S.-S.-R.-P. (2020). Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 128-149.
- Wallace, M. A. G., Kormos, T. M., & Pleil, J. D. (2016). Blood-borne biomarkers and bioindicators for linking exposure to health effects in environmental health science. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 19(8), 380-409.
- Woodly Oy. (2020). What are biomaterials? Woodly. [https://woodly.com/circular\\_economy/what-are-biomaterials/](https://woodly.com/circular_economy/what-are-biomaterials/)
- Yahya, N. (2018). Agricultural 4.0: Its Implementation Toward Future Sustainability. *Green Energy and Technology*, 125–145. doi:10.1007/978-981-10-7578-0\_5
- Yang X.; Cai J.; Jiang G.; Xie J.; Shi Y.; Chen S.; Yue Y.; Yu L.; He Y.; Xie K. Nanoparticle Plugging Prediction of Shale Pores: A Numerical and Experimental Study. *Energy* 2020, 208, 118337. 10.1016/j.energy.2020.118337.
- Yu W.; Kanj MY Revisión de la estabilidad de la espuma en medios porosos: el efecto del engrosamiento. *J. Mascota. ciencia Ing.* 2022, 208, 109698. 10.1016/j.petro.2021.109698.
- Zhang Y.; Liu Q.; Ye H.; Yang L. L.; Luo D.; Peng B. Nanoparticles as Foam Stabilizer: Mechanism, Control Parameters and Application in Foam Flooding for Enhanced Oil Recovery. *J. Pet. Sci. Eng.* 2021, 202, 108561. 10.1016/j.petro.2021.108561
- Zhang Y.; Zhu Z.; Tang J. Research on Polyether-Based Hydrocarbon Thickener for CO<sub>2</sub>. *Fluid Phase Equilib.* 2021, 532, 112932. 10.1016/j.fluid.2020.112932
- Zhang, M., Li, L., & Bai, J. (2020). Consumer acceptance of cultured meat in urban areas of three cities in China. *Food Control*, 107390. Doi: 10.1016/j.foodcont.2020.10739
- Zhang, P., Chicaiza, C. O., & Zhang, J. (2022). Additive strategies for enhanced anaerobic digestion for bioenergy and biochemicals. In *Biomass, Biofuels, Biochemicals* (pp. 131- 158). Elsevier.
- Zou, C.; Yang, Z.; Cui, J.; Zhu, R.; Hou, L.; Tao, S.; Yuan, X.; Wu, S.; Lin, S.; Wang, L.; Bai, B.; Yao, J. (2013). Mecanismo de formación, características

geológicas y estrategia de desarrollo del petróleo de esquisto no marino en China. *Mascota. Explorar Desarrollo*. 40, 15 – 27, DOI: 10.1016/S1876-3804(13)60002-6

Zwolak, A., Sarzyńska, M., Szpyrka, E., & Stawarczyk, K. (2019). Sources of soil pollution by heavy metals and their accumulation in vegetables: A review. *Water, air, & soil pollution*, 230(7), 1-9.













**Capítulo II: Análisis bibliométrico  
como una Herramienta en la  
Biotecnología Ambiental**



# Análisis bibliométrico como una herramienta en la biotecnología ambiental

## *Bibliometric analysis as a tool in environmental biotechnology*

Herrera-Feijoo, Robinson Jasmany<sup>1</sup>   Chicaiza-Ortiz, Cristhian David<sup>2,3</sup>    
Rivadeneira-Arias, Virginia del   Andrade, Jean Carlo<sup>4</sup>    
Carmen<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Universidad Técnica Estatal de Quevedo <sup>2</sup> Shanghai Jiao Tong University, <sup>3</sup> Universidad Regional Amazónica IKIAM, <sup>4</sup> Universidad Politécnica Salesiana

 DOI / URL: <https://doi.org/10.55813/egaea.cl.2022.17>

**Resumen:** El capítulo parte de la importancia del análisis bibliométrico en el contexto académico. posteriormente se presenta el manual de uso sobre la bibliometría en el software R para el mapeo de la literatura. Partiendo de la instalación de R y R Studio, las librerías bibliometrix y biblioshiny, la demostración de la base de datos bibliométricos a partir de PubMed. Además, se sustenta un estudio de caso sobre Biotecnología Ambiental y se detalla los principales resultados, tales como: búsqueda de publicaciones científicas, producción científica anual y su distribución geográfica por afiliación de autores, top 10 de las revistas con mayor número de documentos científicos, top 10 de los documentos más citados en Biotecnología Ambiental en los últimos 10 años, tendencia en el uso de palabras claves en publicaciones científicas, redes de colaboración. En conclusión, esta herramienta sirve de apoyo para los estudiantes que estén desarrollando su trabajo de investigación.

**Palabras clave:** Análisis bibliométrico, Biotecnología Ambiental, entorno R, tendencias.

### **Abstract:**

The chapter starts from the importance of bibliometric analysis in the academic context. The user's manual on bibliometrics in R software for literature mapping is then presented. Starting with the installation of R and R Studio, the libraries bibliometrix and biblioshiny, the demonstration of the bibliometric database from PubMed. In addition, a case study on Environmental Biotechnology is supported and the main results are detailed, such as: search of scientific publications, annual scientific production and its geographical distribution by author affiliation, top 10 journals with the highest number of scientific papers, top 10 most cited

papers in Environmental Biotechnology in the last 10 years, trend in the use of keywords in scientific publications, collaboration networks. In conclusion, this tool serves as a support for students who are developing their research work.

**Keywords:** Bibliometric analysis, Environmental Biotechnology, R environment, trends.

## 2.1. Introducción

Los análisis bibliométricos (AB) han ganado una amplia cobertura y el número de publicaciones científicas que utilizan estas técnicas han incrementado exponencialmente en los últimos años (Donthu et al., 2021; Ellegaard & Wallin, 2015). Los investigadores científicos utilizan los AB para analizar tendencias históricas y actuales de artículos y revistas, patrones de colaboración y componentes de investigación, y explorar la estructura intelectual de un dominio específico en la literatura existente (Donthu et al., 2021). La bibliometría también puede identificar literatura importante en el campo de investigación, proporcionar palabras clave, instituciones, vínculos entre países y características de distribución en forma de un mapa de conocimiento, y cuantificar el estado actual y las tendencias futuras del tema de investigación (Ellegaard & Wallin, 2015). En general, cuantas más referencias incorpora un método bibliométrico, más capaces somos de comprender el campo de investigación (Chen, 2017). Por lo tanto, la bibliometría es una herramienta poderosa para analizar el progreso de la investigación científica, ya que puede cuantificar la información derivada de las bases de datos de citas científicas en línea relacionadas con un tema de investigación específico, incluidos los autores en el campo, el número de publicaciones y la distribución de las instituciones de investigación.

En la academia, WOS y Scopus son las bases de datos científicas de mayor uso y accesibilidad en las últimas décadas (Pranckutė, 2021). Scopus entro en vigencia en 2004 a través de la editorial Elsevier Science y actualmente es reconocida como una de las bases de datos científicas de mayor relevancia en la academia (Zhu & Liu, 2020). Este reconocimiento se le asigna debido a que provee una amplia cobertura de temáticas en diversas disciplinas y proporciona un fácil acceso a la información científica para ser procesada posteriormente por múltiples softwares de bibliometría (Baas et al., 2020; Singh et al., 2021). A pesar que WOS dispone de servicios similares, esta presenta una cobertura menor en cuanto a disciplinas educativas al ser comparada con Scopus (Thelwall, 2018). Por esta razón, se utilizó Scopus, con el fin de generar una base de datos que incorporará la mayor cantidad de documentos que permitan comprender la evolución histórica de las investigaciones científicas enfocadas en Biotecnología Ambiental a nivel mundial.

## 2.2. Materiales y métodos

Este capítulo consta de dos secciones, en primer lugar, se propone un manual bibliométrico genérico para la búsqueda de publicaciones científicas; en la sección posterior se enfocó a recopilar los documentos científicos relacionados a la *Biotecnología Ambiental* a nivel global. Este análisis tuvo como objetivo el mostrar las tendencias e índices bibliométricos más actuales para la temática abordada. En este contexto, se consideró únicamente los últimos 10 años (periodo comprendido entre 2012 a 2022) de producción científica disponible en la base de datos de Scopus. Además, para asegurar que los documentos analizados sean de relevancia científica para el campo de la Biotecnología Ambiental, solo fueron tomados en cuenta artículos y documentos presentados conferencias científicas.

Para llevar a cabo este proceso, se utilizó la siguiente sintaxis en la configuración de búsqueda avanzada de la base científica de Scopus: TITLE-ABS-KEY ( "environmental biotechnology" OR "Biotechnology of environment" OR "Grey biotechnology" OR "Biotechnology of nature" ) AND ( EXCLUDE ( PUBYEAR , 2023 ) ) AND ( LIMIT-TO ( PUBSTAGE , "final" ) ) AND ( LIMIT-TO ( PUBYEAR , 2022 ) OR LIMIT-TO ( PUBYEAR , 2021 ) OR LIMIT-TO ( PUBYEAR , 2020 ) OR LIMIT-TO ( PUBYEAR , 2019 ) OR LIMIT-TO ( PUBYEAR , 2018 ) OR LIMIT-TO ( PUBYEAR , 2017 ) OR LIMIT-TO ( PUBYEAR , 2016 ) OR LIMIT-TO ( PUBYEAR , 2015 ) OR LIMIT-TO ( PUBYEAR , 2014 ) OR LIMIT-TO ( PUBYEAR , 2013 ) OR LIMIT-TO ( PUBYEAR , 2012 ) ) AND ( LIMIT-TO ( DOCTYPE , "ar" ) OR LIMIT-TO ( DOCTYPE , "cp" ) ) AND ( EXCLUDE ( SUBJAREA , "PHAR" ) OR EXCLUDE ( SUBJAREA , "PHYS" ) OR EXCLUDE ( SUBJAREA , "COMP" ) OR EXCLUDE ( SUBJAREA , "MATH" ) OR EXCLUDE ( SUBJAREA , "BUSI" ) OR EXCLUDE ( SUBJAREA , "SOCI" ) OR EXCLUDE ( SUBJAREA , "ECON" ) OR EXCLUDE ( SUBJAREA , "NEUR" ) OR EXCLUDE ( SUBJAREA , "NURS" ) ) AND ( LIMIT-TO ( LANGUAGE , "English" ) OR LIMIT-TO ( LANGUAGE , "Spanish" ) ) AND ( LIMIT-TO ( SRCTYPE , "j" ) OR LIMIT-TO ( SRCTYPE , "p" ) ). Finalmente, la base de datos contuvo un total de 218 documentos. Todos los documentos obtenidos en ambas búsquedas fueron exportados en formato BibTeX.

Para poder procesar y obtener los índices bibliométricos, se utilizó el paquete Bibliometrix, una nueva herramienta desarrollada para el entorno R (Aria & Cuccurullo, 2017). Este paquete brinda diferentes potencialidades para el empleo de diversos conjuntos bibliográficos obtenidos de bases de datos científicas, permitiendo consigo el desarrollo de múltiples análisis bibliométricos tomando en cuenta la información presentada en una gran variedad de artículos científicos. En este contexto, empleados bibliometrix para realizar un análisis

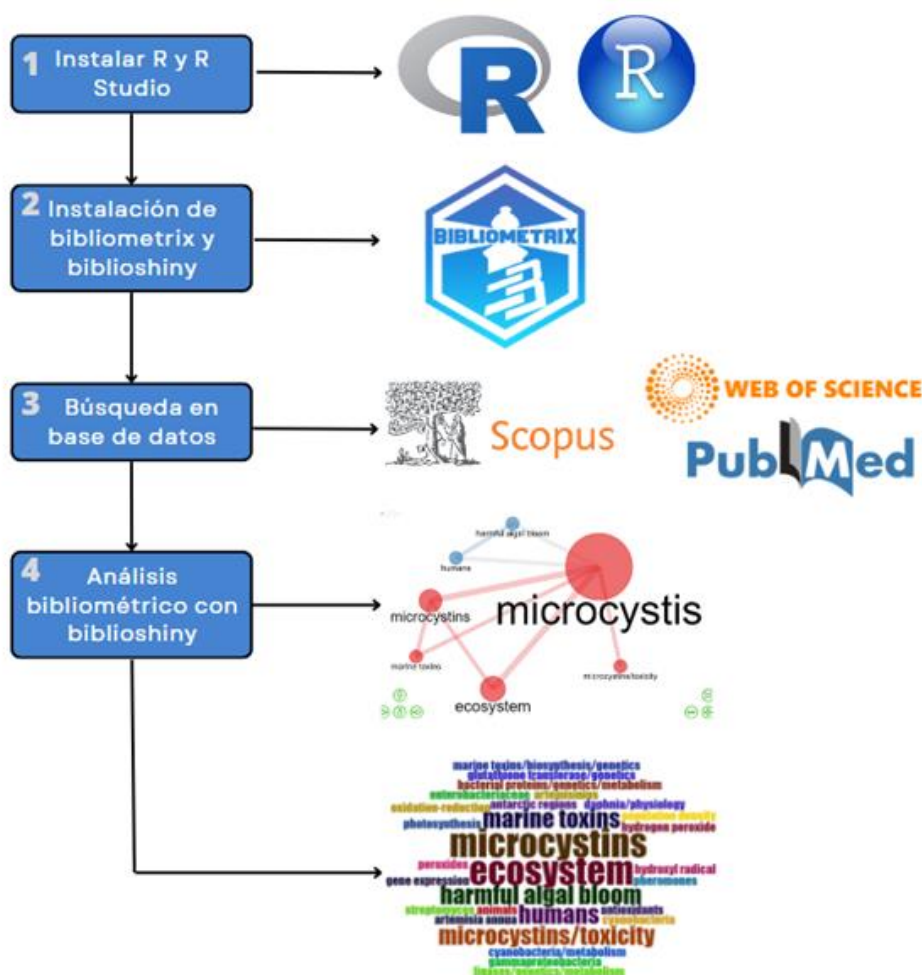
exhaustivo sobre el comportamiento anual de producción científica y los países relacionados con ella, principales instituciones académicas, documentos más citados en la temática, palabras clave y su tendencia temporal de uso en los documentos científicos abordados, red de colaboraciones científicas.

## 2.3. Resultados

### 2.3.1. Manual de uso: bibliometría en R para el mapeo de la ciencia y la revisión de literatura

Figura 1

Resumen gráfico del manual de uso bibliométrico



**Nota: Fuente:** Autores. 2023

El manual de uso consta de cuatro pasos para una profunda revisión bibliográfica como se aprecia en la figura 25. Estos se detallarán a continuación. Tomando en cuenta que:



El cuadrado tomate significa “click izquierdo”



Los tres puntos verdes significan “escribiendo”

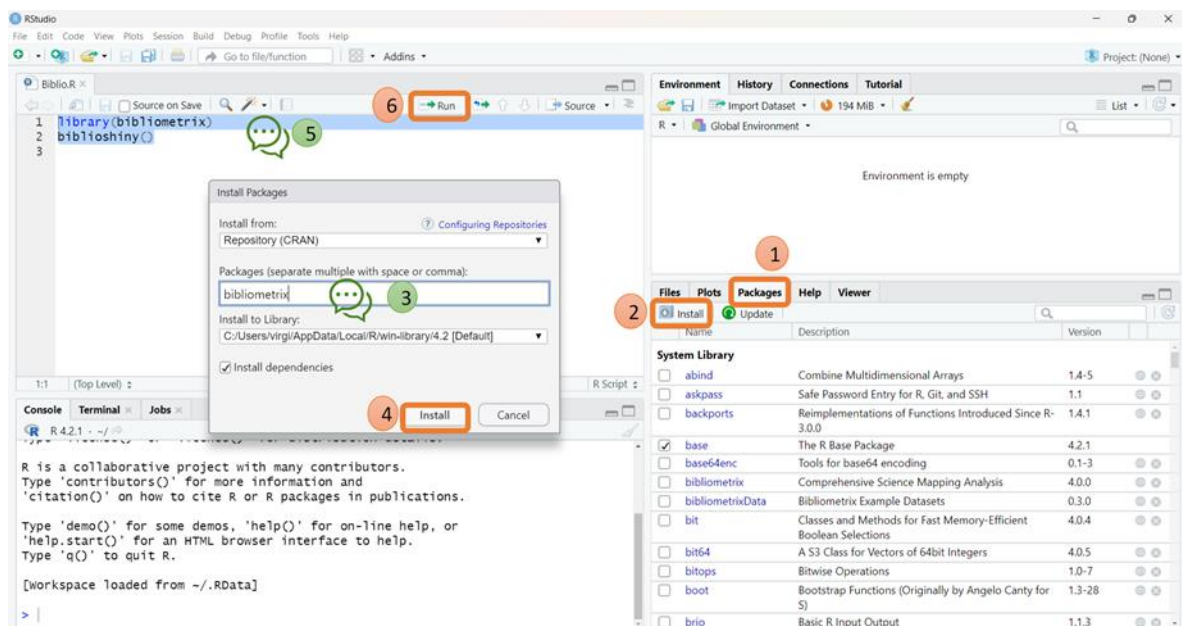
### 2.3.1.1. PRIMER PASO. Instalar R y R Studio

- Para realizar el primer paso se puede guiar por el siguiente tutorial: <https://youtu.be/Nmu4WPdJBRo>

### 2.3.1.2. SEGUNDO PASO. Instalación de bibliometrix y biblioshiny en el entorno R

Figura 2

Instalación de Bibliometrix y biblioshiny en el entorno R



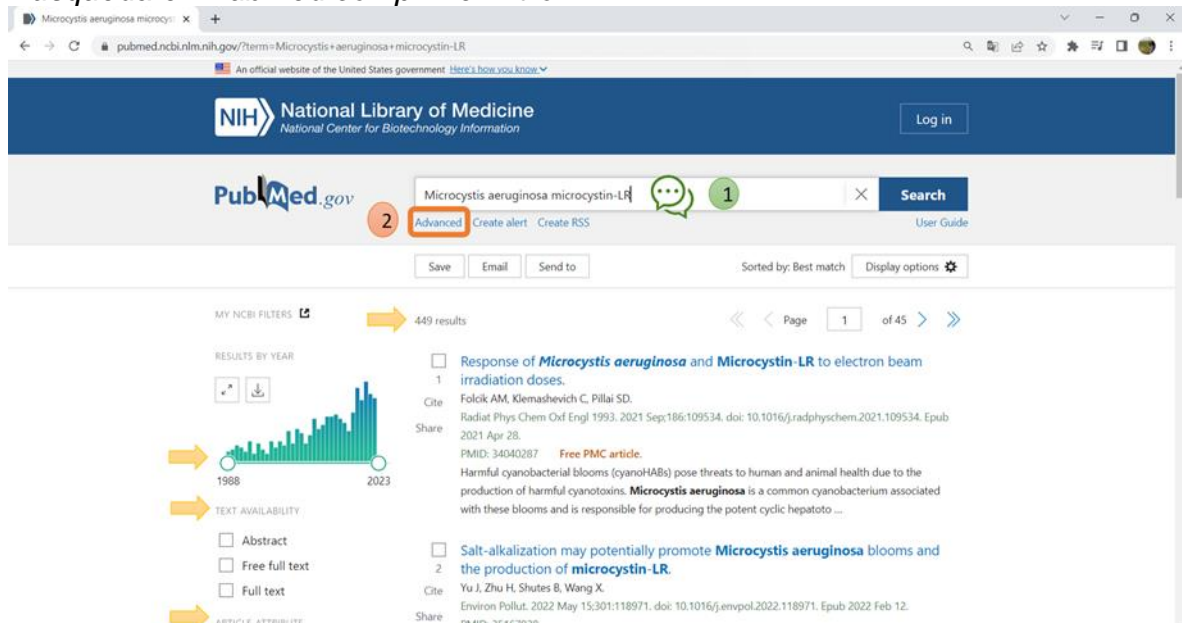
**Nota: Fuente:** Autores. 2023

Seguir los pasos que se reflejan en la figura 26, colocar los comandos que se muestran y seleccionar en Run (se va a abrir en una nueva ventana).

### 2.3.1.3. TERCER PASO. Demostración de la base de datos bibliométricos: PubMed (búsqueda avanzada)

El programa bibliometrix tiene la opción de analizar la base de datos de las siguientes búsquedas avanzadas: Web os Science, Scopus, Dimensions, Lens.org, PubMed, Cochrane Library.

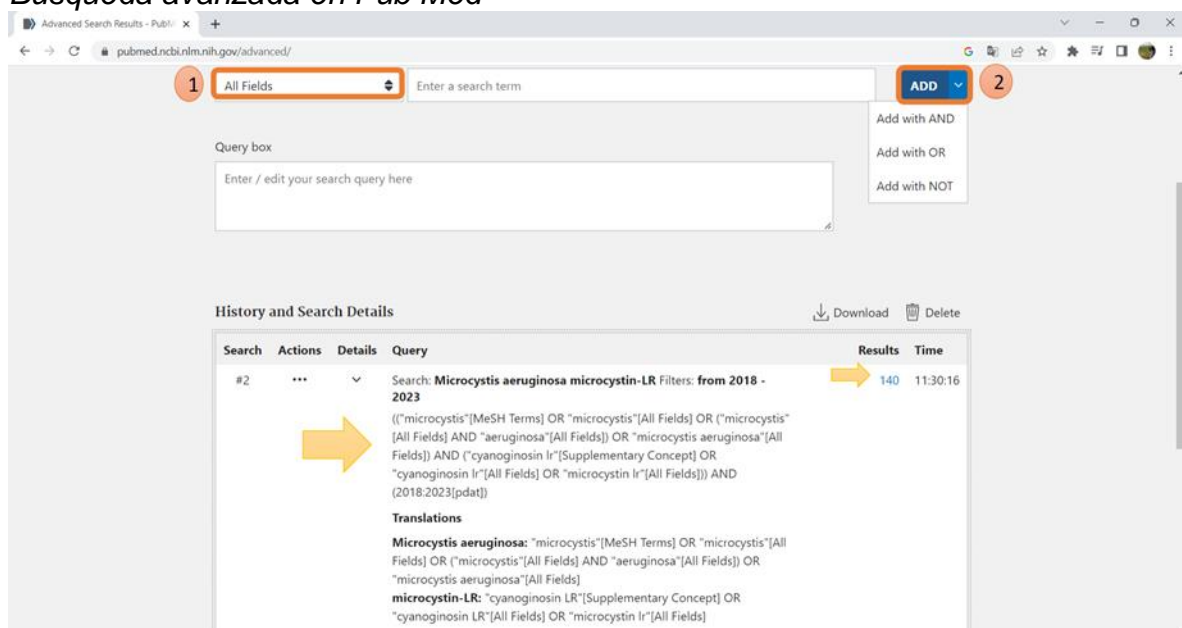
**Figura 3**  
*Búsqueda en PubMed con primer filtro*



**Nota: Fuente:** Autores. 2023

En esta sección se probó con PubMed. En la figura 27, se ingresa a la plataforma Scopus: PudMed y realizar una búsqueda normal. Observa el número de resultados, se tiene la opción de hacer un primer filtro con parámetros de tiempo u opciones de la parte izquierda (dependiendo a su objetivo de la búsqueda, con su debida justificación).

**Figura 4**  
*Búsqueda avanzada en Pub Med*



**Nota: Fuente:** Autores. 2023

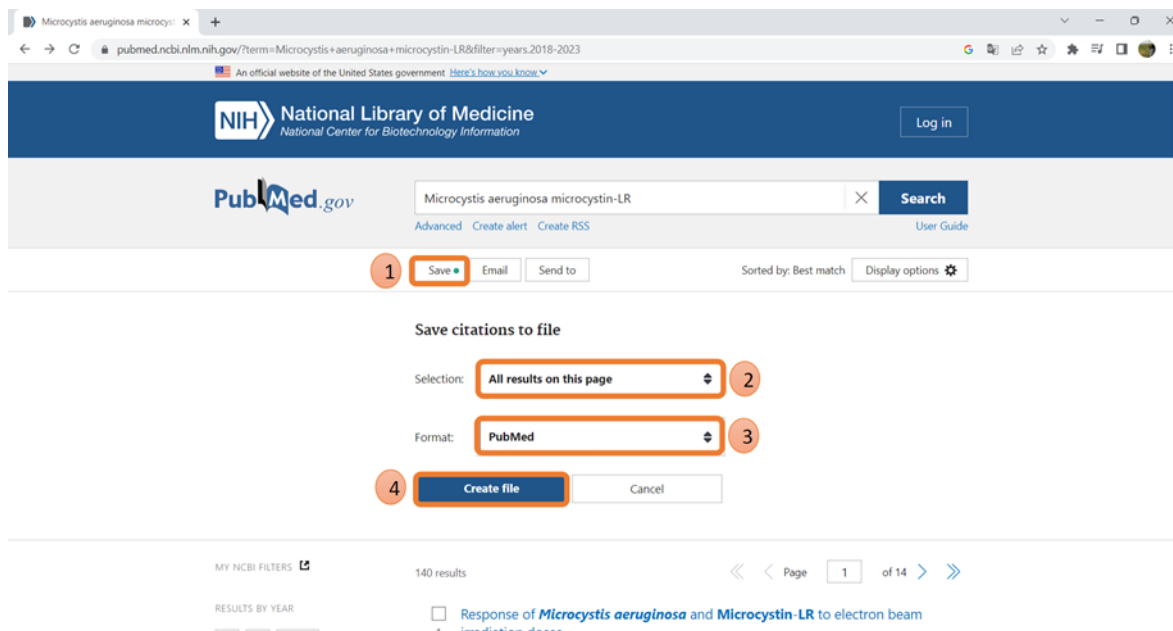
Sin embargo, se puede observar en la figura 28 que al seleccionar Advanced se puede hacer un segundo filtro (en el caso de ser necesario) usando los



operadores lógicos booleanos: AND, OR, NOT; considerando los comandos que aparecen en el History and Search Details. Con el fin de obtener un número de documentos delimitados con respecto a lo que se desea recopilar mediante una búsqueda avanzada. Por último, para descargar la recopilación de documentos seguir los pasos de la figura 29. En el caso de tener dudas observar el siguiente tutorial: [https://youtu.be/zvbgZDG\\_jTQ](https://youtu.be/zvbgZDG_jTQ)

### Figura 5

Descarga de la recopilación de archivos en PubMed

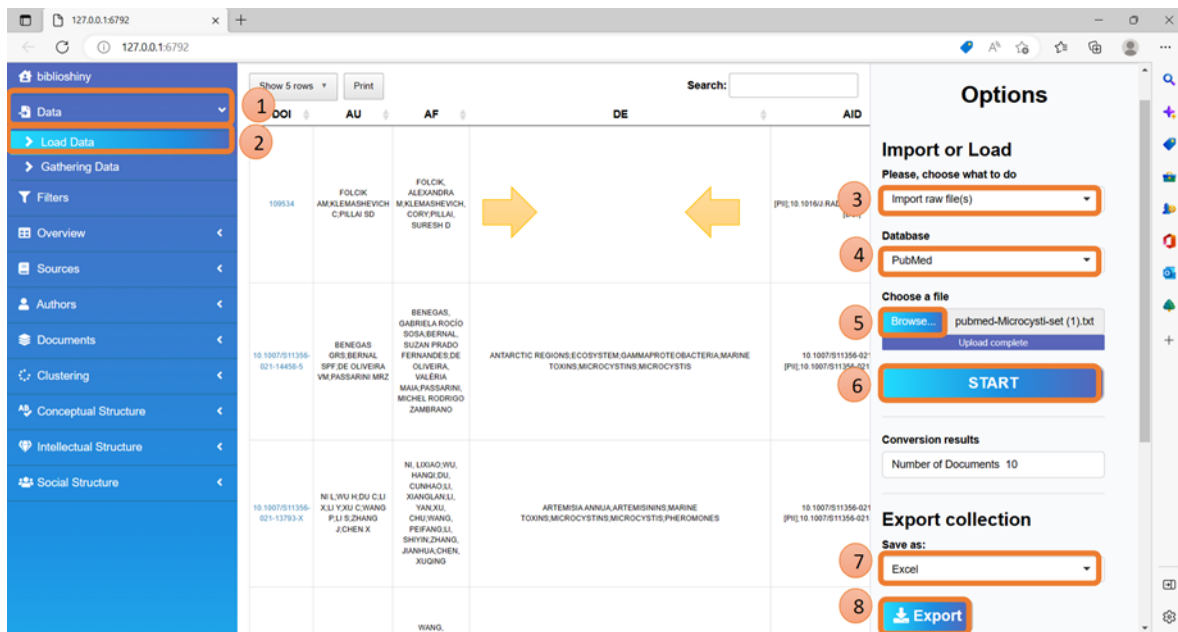


**Nota: Fuente:** Autores. 2023

#### 2.3.1.4. CUARTO PASO. Análisis bibliométrico con biblioshiny

Para este paso es necesario considerar la nueva ventana que se abrió en el segundo paso. Posteriormente debemos seguir los pasos que se observa en la figura 30.

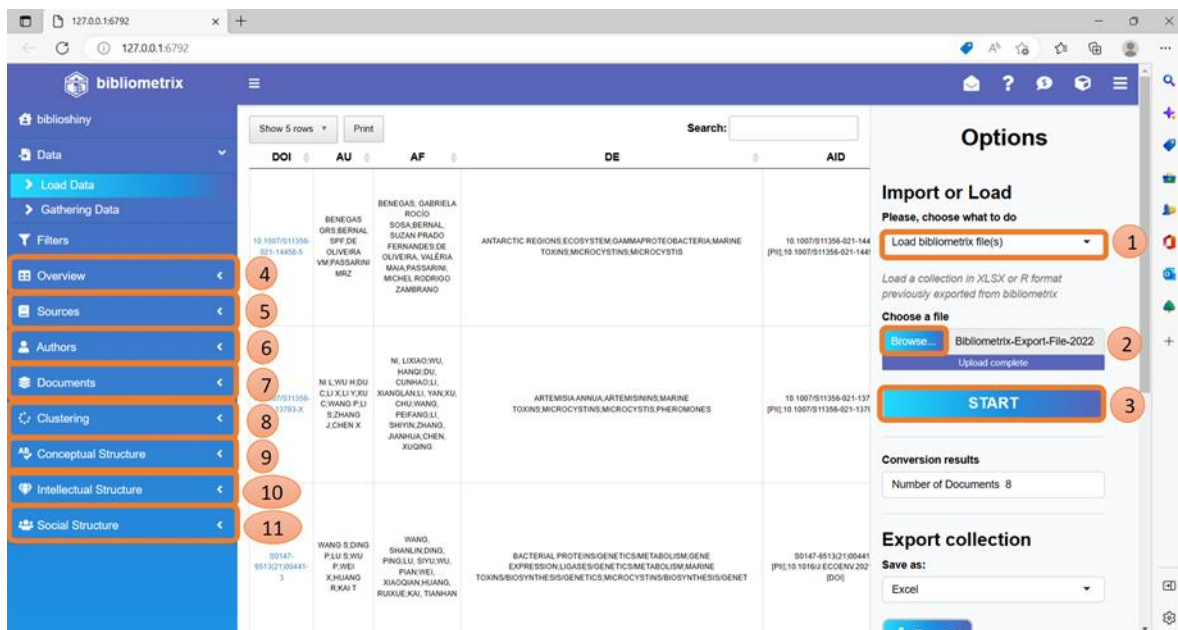
**Figura 6**  
*Depuración del documento para cargar en la plataforma biblioshiny*



**Nota: Fuente:** Autores. 2023

En el sexto paso de la anterior figura, en el caso que aparezca inconsistencias en la tabla que se despliega en la parte izquierda (flechas amarillas), es necesario exportar en un formato Excel para su adecuada depuración de datos.

**Figura 7**  
*Análisis bibliométrico de la recopilación de documentos PubMed*



**Nota: Fuente:** Autores. 2023

Después, en la figura 31 se selecciona Load bibliometrix, se carga el archivo y los siguientes pasos (4-11) permiten analizar bibliométricamente el número de documentos seleccionados en la base de datos. Para lo cual, se tiene varias opciones: la información principal (4:overview), el análisis de las fuentes bibliográficas (5:sources), autores (6:authors), documentos (7:documents), agrupaciones de referencias, palabras clave, títulos, autores y/o resúmenes (8:clustering), una estructura conceptual que permite obtener gráficos de coocurrencia (9:conceptual structure), gráficos de cocitación e historiografía (10:intellectual structure), y por último una estructura social que explora con redes y mapas de colaboraciones (11:social structure).

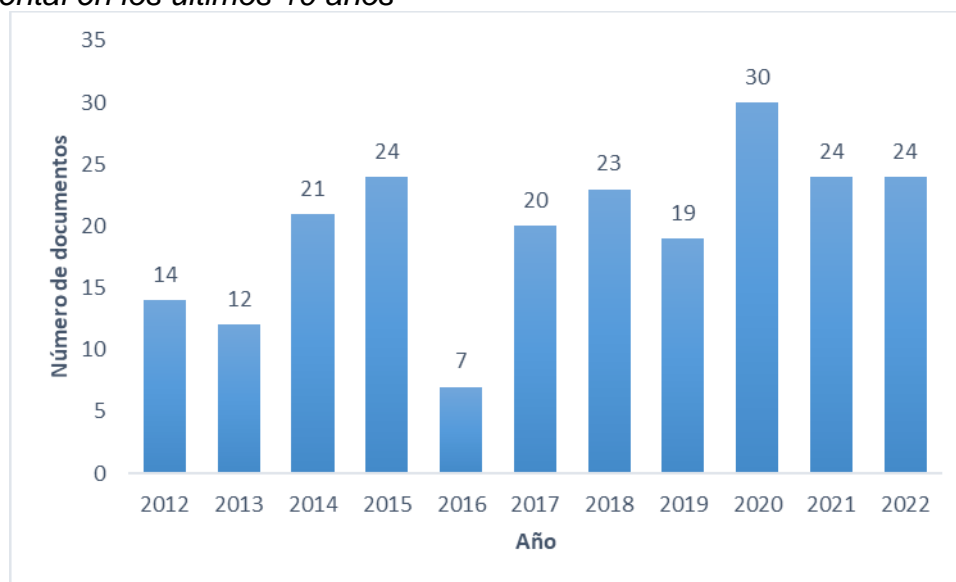
## 2.3.2. Estudio de caso sobre Biotecnología Ambiental

### 2.3.2.1. Producción científica anual y su distribución geográfica por afiliación de autores

Los 218 documentos científicos publicados en temas de Biotecnología Ambiental en los 10 años presentaron una tasa anual promedio de 5.54%, esta tendencia se muestra en la Figura 32. La tendencia de publicaciones, sugieren que los años 2012 (n=14), 2013 (n=12) y 2016 (n=7) han sido lo de menor producción científica en la última década. Por el contrario, en el año 2020 se alcanza la mayor cantidad de publicaciones con 30 documentos. Curiosamente, se pudo evidenciar un número similar de publicaciones reportadas tanto para el año 2021 y 2022 con 24 documentos respectivamente. No obstante, es necesario señalar que siendo fecha actual (14/09/2022), el número de publicaciones científicas podría superar la cifra reportada para el 2021.

#### Figura 8

*Producción anual de publicaciones científicas en la temática de Biotecnología Ambiental en los últimos 10 años*

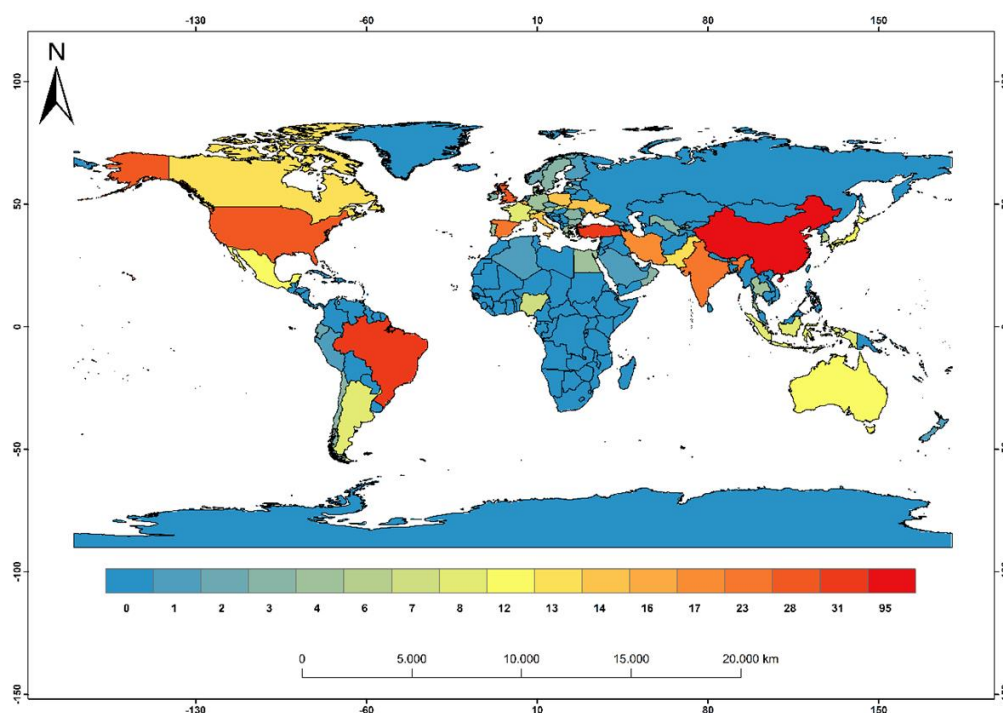


**Nota:** Fuente: Autores. 2023

Partiendo del número de veces (frecuencia) que tuvieron los países identificados en las afiliaciones de los autores de los documentos científicos, se elaboró un mapa que permite visualizar, cuales son países que mayor interés han tenido en la última década en investigar sobre Biotecnología Ambiental. La distribución geográfica mundial de esta frecuencia se muestra en la Figura 33. En términos generales, se pudo evidenciar que los autores de las publicaciones fueron son originarios de 54 países. En este sentido, los países que tuvieron una mayor frecuencia en todos los documentos científicos recopilados fueron China (n=95), Brasil (n=31), Turquía (n=31), Reino unido (n=28), Estados unidos (n=28), India (n=23), España (n=23), Irán (n=17), Bélgica (n=16), Italia (n=14).

**Figura 9**

*Mapa de frecuencia en función de los países de origen de los autores de las publicaciones científicas reportadas para Biotecnología Ambiental*



**Nota: Fuente:** Autores. 2023

### 2.3.2.2. Top 10 de las revistas con mayor número de documentos científicos

En general, en los 218 se identificaron 133 revistas científicas, de este total, únicamente se consideró las 10 revistas con mayor número de documentos publicados en los últimos 10 años. Las revistas de mayor relevancia científica para publicar actualmente en temas de Biotecnología Ambiental se muestran en la Tabla 7.

**Tabla 1**  
*Revistas con mayor número de poblaciones científicas a nivel mundial según Scopus.*

Revistas	Editorial	País	Número de documentos	Cuartil
Journal of Chemical Technology and Biotechnology	John Wiley and Sons Ltd	Reino unido	18	Q1
Applied Microbiology and Biotechnology	Springer Verlag	Alemania	6	Q1
Frontiers in Microbiology	Frontiers Media S.A.	Suiza	5	Q1
Applied and Environmental Microbiology	American Society for Microbiology	Estados unidos	4	Q1
Biochemical Engineering Journal	Elsevier	Países bajos	4	Q2
Chemosphere	Elsevier	Reino unido	4	Q1
Environmental Science and Technology	American Chemical Society	Estados unidos	4	Q1
New Biotechnology	Elsevier	Países bajos	4	Q1
Plos One	Public Library of Science	Estados unidos	4	Q1
Science of The Total Environment	Elsevier	Países bajos	4	Q1

**Nota: Fuente:** Scopus. 2022

Entre las 10 principales revistas, Journal of Chemical Technology and Biotechnology fue líder con 18 documentos publicados y representó el 8.3% del total de publicaciones. En segundo lugar, se encontró la revista Applied Microbiology and Biotechnology con 6 documentos que representan un 2.8% del total. Por otra parte, Frontiers in Microbiology se posicionó en el tercer lugar con 5 documentos atribuyéndose el 2.3% de la producción científica total. Un dato curioso, es que, de estas 10 revistas, 7 tuvieron igual número de publicaciones con 4 documentos por igual. En relación a los países de origen de estas revistas, se evidenció que Estados Unidos y Países Bajos cuenta con el mayor número de revistas con 3 por igual, seguido de Reino Unido con 2 y 1 revista para Alemania y Suiza respectivamente. En relación a las editoriales, se notó que la editorial

Elsevier es anfitriona de 4 de las 10 revistas con mayor número de documentos publicados, mientras tanto las 6 editoriales restantes tuvieron una revista cada una respectivamente. Finalmente, se importante señalar que 9 de las 10 revistas se encuentra dentro del primer cuartil (Q1) de revistas de mayor relevancia en el campo.

**2.3.2.3. Top 10 de los documentos más citados en Biotecnología Ambiental en los últimos 10 años.**

Teniendo en cuenta los 2018 documentos publicados para Biotecnología Ambiental en el periodo comprendido entre 2012 y 2022, se seleccionaron las publicaciones científicas con mayor impacto en relación al número de citas obtenidas, estas publicaciones se muestran en la tabla 8. En términos generales, la publicación “Tetracycline removal during wastewater treatment in high-rate algal ponds” (de Godos et al., 2012), ha sido las más utilizada en la redacción de documentos científicos enfocados en Biotecnología Ambiental en la última década según Scopus con 160 citas. En este estudio, los autores enfocaron en evaluar la eficiencia del tratamiento de aguas residuales de origen ganadero que presentaron antibióticos veterinarios, específicamente tetraciclina. Consecutivamente, en segundo lugar, se encontró “Optimization of single plate-serial dilution spotting (SP-SDS) with sample anchoring as an assured method for bacterial and yeast cfu enumeration and single colony isolation from diverse samples” (Thomas et al., 2015) con 97 citas. Este manuscrito, tuvo como fin mostrar una técnica simple para estimaciones de ufc de bacterias y levaduras a partir de diversas muestras sin idea previa de recuentos viables, designada como manchado de dilución en serie de placa única (SP-SDS). Por otra parte, en tercera posición destaca “Bacterial PAH degradation in marine and terrestrial habitats” (Vila et al., 2015) con 84 citas. En este documento, los autores llevaron a cabo una búsqueda bibliográfica exhaustiva enfocada en la biodegradación aeróbica de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) por bacterias, tanto en ambientes marinos como terrestres para el periodo comprendido entre 2010-2014. Finalmente, como dato interesante, se pudo observar ninguna publicación compartió una revista en común.

**Tabla 2**  
*Publicaciones científicas de Biotecnología Ambiental con mayor número de citas en los últimos 10 años (2012-2022) según Scopus.*

Revista	Título	Citaciones	Referencia
Journal of hazardous materials	Tetracycline removal during wastewater treatment in high-rate algal ponds	160	(de Godos et al., 2012)
Biotechnology Reports	Optimization of single plate-serial dilution spotting (SP-SDS) with sample anchoring as an assured	97	(Thomas et al., 2015)

Revista	Título	Citaciones	Referencia
	method for bacterial and yeast cfu enumeration and single colony isolation from diverse samples		
Current opinion in biotechnology	Bacterial PAH degradation in marine and terrestrial habitats	84	(Vila et al., 2015)
Chemosphere	Biosorption of heavy metals by obligate halophilic fungi	83	(Bano et al., 2018)
New biotechnology	In situ groundwater and sediment bioremediation: barriers and perspectives at European contaminated sites	79	(Majone et al., 2015)
Protein expression and purification	Purification and characterization of an extracellular keratinolytic protease from a new isolate of <i>Aspergillus parasiticus</i>	75	(Anitha & Palanivelu, 2013)
Environmental science & technology	Deterministic assembly and diversity gradient altered the biofilm community performances of bioreactors	71	(Zhang et al., 2019)
Journal of Biotechnology	Mineral–microbe interactions: Biotechnological potential of bioweathering	71	(Mapelli et al., 2012)
Biotechnology and Bioengineering	Enhancement of extracellular electron transfer and bioelectricity output by synthetic porin	69	(Yong et al., 2013)
Molecular ecology	The Sphagnum microbiome supports bog ecosystem functioning under extreme conditions	68	(Bragina et al., 2014)

**Nota: Fuente:** Scopus. 2022

#### 2.3.2.4. Tendencia en el uso de palabras claves en publicaciones científicas

En este estudio, detectamos 724 palabras clave de autor en los 218 artículos publicados sobre la investigación de Biotecnología Ambiental entre 2012 y 2022. Las 10 palabras claves con mayor frecuencia en los documentos científicos fueron Fermentation (n=115), Biofilm (n=98), Environmental biotechnology (n=77), Biodegradation (n=71), Bacteria (microorganisms) (n=60), Phosphorus (n=25), Bioreactor (n=25), Iron (n=24), Pollution (n=23). Mientras tanto, desde

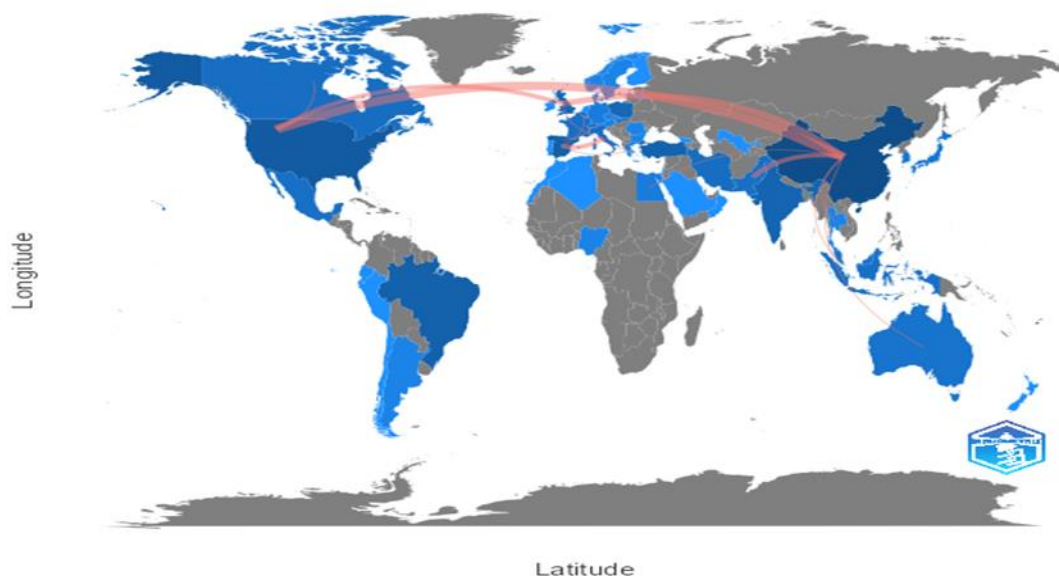
una perspectiva de su uso histórico, se evidenció que las palabras claves que recibieron la atención continua durante más tiempo fueron Cellulose (2015 hasta 2022), Metagenomics (2015 hasta 2022) y Cadmium (2016 hasta 2022). Por otra parte, también se evidenciaron nuevas palabras claves emergentes como Iron (desde 2021-presente, frecuencia=24) y Nitrification (desde 2022, frecuencia=16). La interpretación brindados en esta sección, permiten identificar de manera eficaz las tendencias de investigación hacia temas específicos directamente relacionados a las palabras claves.

### 2.3.2.5. Redes de colaboración

En la Figura 34, se muestran el mapeo de la red global de colaboraciones científicas entre países de diversas regiones del mundo. En general, nuestro mapeo mostró que existen 86 redes de colaboración. Los países con mayor número de redes establecidas fueron China (n=13) y Reino unido (n=12). En general, entre las 86 redes las de mayor frecuencia de colaboraciones tuvieron entre sí, fueron: China-Estados unidos (n=7), China-Reino unido (n=4); China-Paquistán (n=3), España-Italia (n=3), Reino unido-Estados unidos (n=3). Por otra parte, al agrupar las redes de colaboración se pudo constatar que 11 de estas presentaron al menos 2 colaboraciones y 70 redes disponen de 1 colaboraciones cada una.

#### Figura 10

*Red colaboraciones establecidas a nivel mundial para el desarrollo de estudios enfocados Biotecnología Ambiental*



**Nota:** El color azul más brillante indica una mayor tasa de colaboración. Los países con menos de tres documentos compartidos no se muestran mediante conectores rojos. **Fuente:** Autores. 2023.



## 2.4. Discusión

En este estudio se realizó una revisión bibliográfica sobre la producción científica en Biotecnología Ambiental durante los últimos 10 años. Se analizó la tasa anual de publicaciones, encontrando que el año 2020 tuvo la mayor cantidad de publicaciones (30), mientras que los años 2012, 2013 y 2016 tuvieron la menor cantidad de publicaciones. Los autores de las publicaciones provienen de 54 países diferentes, siendo China el país con mayor cantidad de publicaciones (95), seguido por Brasil, Turquía, Reino Unido, Estados Unidos, India, España, Irán, Bélgica e Italia. Se identificaron las 10 revistas con mayor número de publicaciones, siendo Journal of Chemical Technology and Biotechnology la revista líder. Por último, se presentan los 10 documentos más citados en Biotecnología Ambiental durante la última década, siendo "Tetracycline removal during wastewater treatment in high-rate algal ponds" el más citado. En este sentido, se demuestra que la producción científica tiene un ascenso importante y no solo se enfoca en el tratamiento por biorremediación de contaminantes convencionales como el petróleo, sino también a contaminantes emergentes; de igual manera cada región tiene una especialización en particular que responde a las necesidades de sus países.

## 2.5. Conclusiones

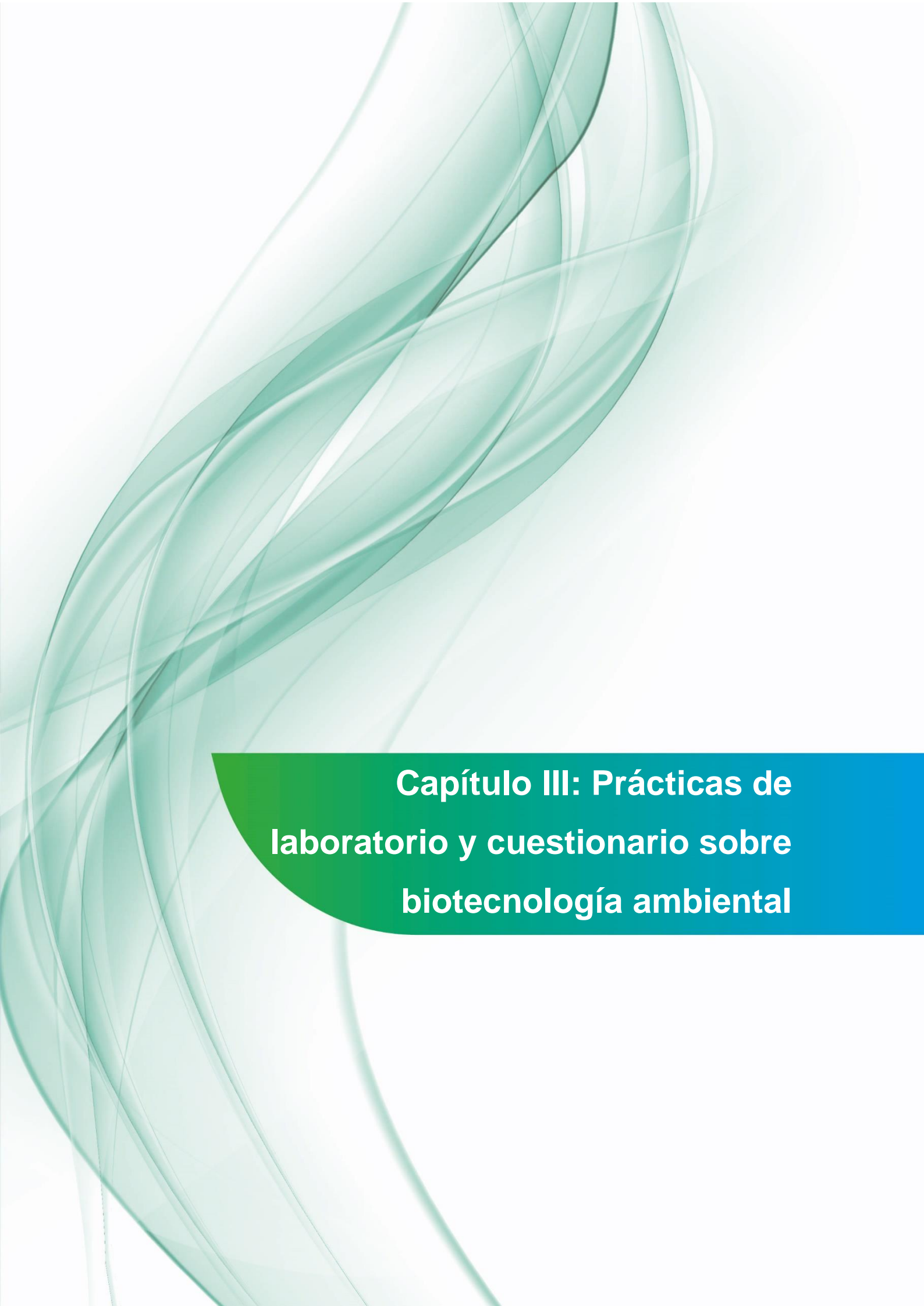
Este estudio se centró en analizar las tendencias de investigación y avances científicos, se pudo observar una producción constante y creciente que se refleja en 5.54% anual. Además, se observó que las investigaciones enfocadas en la temática analizada fueron desarrolladas por 54 países, entre ellos China tuvo la mayor producción científica con 95 documentos. Por otra parte, se detectó un total de 133 revistas científicas que han publicado documentos enfocados en el uso de biotecnología, entre ellas el Journal of Chemical Technology and Biotechnology fue líder con 18 documentos publicados y representó el 8.3% del total de publicaciones. Considerando estas revistas, la publicación titulada Tetracycline removal during wastewater treatment in high-rate algal ponds se reporta como la más citada en la última década con 160 citas. Por otro lado, se identificó que las palabras más frecuentes utilizadas por los autores en los documentos analizados fueron Fermentation, Biofilm, Environmental biotechnology. Finalmente, en relación a las redes de investigación se evidenció que China y Reino Unido posee el mayor número de redes conformadas con 13 y 12 respectivamente.

## Referencias Bibliográficas

- Anitha, T. S., & Palanivelu, P. (2013). Purification and characterization of an extracellular keratinolytic protease from a new isolate of *Aspergillus parasiticus*. *Protein Expression and Purification*, 88(2), 214–220.
- Aria, M., & Cuccurullo, C. (2017). bibliometrix: An R-tool for comprehensive science mapping analysis. *Journal of Informetrics*, 11(4), 959–975.
- Baas, J., Schotten, M., Plume, A., Côté, G., & Karimi, R. (2020). Scopus as a curated, high-quality bibliometric data source for academic research in quantitative science studies. *Quantitative Science Studies*, 1(1), 377–386.
- Bano, A., Hussain, J., Akbar, A., Mehmood, K., Anwar, M., Hasni, M. S., Ullah, S., Sajid, S., & Ali, I. (2018). Biosorption of heavy metals by obligate halophilic fungi. *Chemosphere*, 199, 218–222.
- Bragina, A., Oberauner-Wappis, L., Zachow, C., Halwachs, B., Thallinger, G. G., Müller, H., & Berg, G. (2014). The S phagnum microbiome supports bog ecosystem functioning under extreme conditions. *Molecular Ecology*, 23(18), 4498–4510.
- Chen, C. (2017). Science mapping: a systematic review of the literature. *Journal of Data and Information Science*, 2(2), 1–40.
- de Godos, I., Muñoz, R., & Guieysse, B. (2012). Tetracycline removal during wastewater treatment in high-rate algal ponds. *Journal of Hazardous Materials*, 229, 446–449.
- Donthu, N., Kumar, S., Mukherjee, D., Pandey, N., & Lim, W. M. (2021). How to conduct a bibliometric analysis: An overview and guidelines. *Journal of Business Research*, 133, 285–296.
- Ellegaard, O., & Wallin, J. A. (2015). The bibliometric analysis of scholarly production: How great is the impact? *Scientometrics*, 105(3), 1809–1831.
- Majone, M., Verdini, R., Aulenta, F., Rossetti, S., Tandoi, V., Kalogerakis, N., Agathos, S., Puig, S., Zanaroli, G., & Fava, F. (2015). In situ groundwater and sediment bioremediation: barriers and perspectives at European contaminated sites. *New Biotechnology*, 32(1), 133–146.
- Mapelli, F., Marasco, R., Balloi, A., Rolli, E., Cappitelli, F., Daffonchio, D., & Borin, S. (2012). Mineral–microbe interactions: biotechnological potential of bioweathering. *Journal of Biotechnology*, 157(4), 473–481.
- Pranckutė, R. (2021). Web of Science (WoS) and Scopus: The titans of bibliographic information in today's academic world. *Publications*, 9(1), 12.

- Singh, V. K., Singh, P., Karmakar, M., Leta, J., & Mayr, P. (2021). The journal coverage of Web of Science, Scopus and Dimensions: A comparative analysis. *Scientometrics*, 126(6), 5113–5142.
- Thelwall, M. (2018). Dimensions: A competitor to Scopus and the Web of Science? *Journal of Informetrics*, 12(2), 430–435.
- Thomas, P., Sekhar, A. C., Upreti, R., Mujawar, M. M., & Pasha, S. S. (2015). Optimization of single plate-serial dilution spotting (SP-SDS) with sample anchoring as an assured method for bacterial and yeast cfu enumeration and single colony isolation from diverse samples. *Biotechnology Reports*, 8, 45–55.
- Vila, J., Tauler, M., & Grifoll, M. (2015). Bacterial PAH degradation in marine and terrestrial habitats. *Current Opinion in Biotechnology*, 33, 95–102.
- Yong, Y., Yu, Y., Yang, Y., Liu, J., Wang, J., & Song, H. (2013). Enhancement of extracellular electron transfer and bioelectricity output by synthetic porin. *Biotechnology and Bioengineering*, 110(2), 408–416.
- Zhang, Z., Deng, Y., Feng, K., Cai, W., Li, S., Yin, H., Xu, M., Ning, D., & Qu, Y. (2019). Deterministic assembly and diversity gradient altered the biofilm community performances of bioreactors. *Environmental Science & Technology*, 53(3), 1315–1324.
- Zhu, J., & Liu, W. (2020). A tale of two databases: The use of Web of Science and Scopus in academic papers. *Scientometrics*, 123(1), 321–335.







**Capítulo III: Prácticas de  
laboratorio y cuestionario sobre  
biotecnología ambiental**



# Prácticas de laboratorio y cuestionario sobre biotecnología ambiental

## *Laboratory Practicals and Quiz on Environmental Biotechnology*

Chicaiza-Ortiz, Cristhian David <sup>1,2</sup>   Rivadeneira-Arias, Virginia del Carmen <sup>2</sup>  

Herrera-Feijoo, Robinson Jasmany<sup>3</sup>   Andrade, Jean Carlo <sup>4</sup>  

<sup>1</sup> Shanghai Jiao Tong University, <sup>2</sup> Universidad Regional Amazónica IKIAM, <sup>3</sup> Universidad Técnica Estatal de Quevedo, <sup>4</sup> Universidad Politécnica Salesiana

 DOI / URL: <https://doi.org/10.55813/egaea.cl.2022.18>

**Resumen:** El capítulo menciona varias prácticas de laboratorio, tales como: inoculación y aislamiento de microorganismos en diferentes muestras ambientales, identificación de microorganismos con el microscopio óptico mediante técnicas tintoriales, *Trichoderma* sp. como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis*), aislamiento de microalgas y cianobacterias en muestras de agua y suelo, fructificación del hongo *Pleurotus ostreatus* con potencial en la biodegradación de contaminantes. Además, se presentan cuestionarios de Biotecnología Ambiental con un total de 19 preguntas. En conclusión, este capítulo sirve de apoyo para los estudiantes, técnicos y/o docentes que estén interesados en realizar alguna práctica de laboratorio o a su vez estén en busca de respuestas típicas de Biotecnología Ambiental.

**Palabras clave:** Prácticas de laboratorio, cuestionarios, Biotecnología Ambiental, banco de preguntas.

### **Abstract:**

The chapter mentions several laboratory practices, such as: inoculation and isolation of microorganisms in different environmental samples, identification of microorganisms with the optical microscope using tintorial techniques, *Trichoderma* sp. as a promoter of plant growth of passion fruit (*Passiflora edulis*), isolation of microalgae and cyanobacteria in water and soil samples, fructification of the fungus *Pleurotus ostreatus* with potential in the biodegradation of pollutants. In addition, environmental biotechnology questionnaires with a total of 19 questions are presented. In conclusion, this chapter serves as a support for

students, technicians and/or teachers who are interested in doing some laboratory practice or who are looking for typical answers on Environmental Biotechnology.

**Keywords:** Lab practicals, Environmental Biotechnology, quizzes, question bank.

### 3.1. Introducción

La necesidad de eliminar o minimizar los impactos ambientales negativos hacen necesario que los profesionales en la disciplina de la Biotecnología Ambiental, conozcan cómo analizar, evaluar e interpretar la calidad del entorno y la precisión de las medidas realizadas en campo o laboratorio. Para ello, el aprendizaje y fundamento de las técnicas analíticas resulta esencial para poder obtener una mayor seguridad en la discriminación y validación de resultados. El presente capítulo pretende servir de guía para la buena realización de prácticas que se efectúan en un laboratorio de Biotecnología Ambiental y poner a disposición del lector un cuestionario para su uso. Se describe también detalladamente tanto los procedimientos a seguir como las principales técnicas analíticas utilizadas, y el material básico empleado (Martínez et al., 2017).

Quienes acceden a un laboratorio deben saber que van a estar en contacto con procesos y productos químicos que, en su mayoría, pueden ser un riesgo. Así, es indispensable conocer los procedimientos de trabajo y las normas básicas de comportamiento en un laboratorio, con el fin de evitar accidentes o situaciones de riesgo. Según Torres (2016), para conocer los riesgos y las normas de trabajo en un laboratorio, se debe impartir primeramente información general que introduzca los aspectos y las normas básicas de funcionamiento tales como:

- Riesgos que pueden presentarse durante la realización de las actividades profesionales o de formación;
- Normas, precauciones y prohibiciones para evitar riesgos;
- Equipos de protección individual y colectiva que es necesario utilizar;
- Significado de los símbolos de marcado, frases de riesgo y normas de utilización que aparecen en los productos químicos; utilización de fichas de seguridad de productos;
- Señalización, normas y dispositivos de emergencia y contra incendios;
- Normas de actuación en casos de incidentes o emergencias;
- Hábitos personales y de trabajo en el laboratorio.

El otro tipo de información debe tratar situaciones más específicas relacionadas al desarrollo de actividades concretas de un laboratorio, advertencias de los riesgos que conllevan dichas tareas y los equipos e instalaciones a utilizar, incluyendo la peligrosidad de los productos que se van a utilizar, así como el



procedimiento a seguir en caso de que se presente el riesgo (Martínez et al., 2017). En el Ecuador, existe normativa que se puede consultar para conocer las medidas que deben adoptarse en la adecuada protección de la salud y seguridad dentro de la Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria del Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN-1 700.

## 3.2. Materiales y métodos

Esta unidad tiene varias prácticas de laboratorio que pueden replicarse en el laboratorio. Cada protocolo cuenta con una sección específica de los objetivos, fundamento teórico, materiales y metodología.

## 3.3. Resultados

Los resultados se centraron en el desarrollo de varias prácticas de laboratorio replicables.

### 3.3.1. Tema: Inoculación y aislamiento de microorganismos en diferentes muestras ambientales.

#### 3.3.1.1. Objetivos

- Desarrollar las técnicas comunes de inoculación en medios de cultivo y las técnicas de aislamiento en: frutos en descomposición, abonos, etc.
- Desarrollar habilidades en los estudiantes sobre la manipulación de materiales de laboratorio relacionadas a Biotecnología Ambiental

#### 3.3.1.2. Fundamento teórico

Las bacterias crecen en la superficie de los medios de cultivo para producir colonias distintas. Las distintas bacterias producen colonias diferentes pero características, lo que permite una identificación presuntiva temprana y una fácil identificación de los cultivos mixtos. Hay muchos tipos diferentes de medios de cultivo. El agar se utiliza como agente gelificante al que se añade una variedad de nutrientes (por ejemplo, sangre, peptona y azúcares) y otros factores (tales como tampones, sales e indicadores). Algunos medios de cultivo no son selectivos (entre ellos; el agar sangre o el agar nutritivo) y en ellos crece una gran variedad de bacterias. Otros, como el agar MacConkey, son más selectivos mediante la adición de sales biliares que seleccionan las bacterias "tolerantes a la bilis" que se encuentran en el intestino grueso, como *Escherichia coli* y *Enterococcus faecalis*. Los medios pueden hacerse aún más selectivos mediante la adición de antibióticos u otras sustancias inhibidoras, y los sofisticados

sistemas indicadores pueden permitir la fácil detección de bacterias definidas a partir de poblaciones mixtas (Lagier et al. 2015).

Además, estos microorganismos desempeñan un papel importante en todos los ecosistemas, interactuando a diario con las plantas, los animales y las personas. Los microorganismos son esenciales para el buen funcionamiento de los sistemas biológicos y la supervivencia de la vida, ya que participan en diversas actividades metabólicas, ecológicas y biotecnológicas. Es importante cultivar un organismo concreto y extraerlo de la población mixta en la que se encuentra para investigarlo. Los procedimientos de aislamiento se emplean para obtener un cultivo para su posterior observación y análisis (Mejía y Álvarez 2017).

El inóculo es la sustancia que se inocula en el medio. Las células se separan individualmente cuando se inyecta un medio como el agar nutricional u otros medios de agar en placas de Petri utilizando el método de "siembra en placa cruzada". Las células microbianas individuales se reproducen tan rápidamente durante la incubación que las colonias, que son visibles a simple vista, se forman en 18 a 24 horas. Cada colonia con un aspecto distinto es probablemente un cultivo puro de un solo tipo de bacteria. La siembra por estrías permite aislar las bacterias que producen colonias distintas y, en consecuencia, permite aislar las bacterias.

### 3.3.1.3. Materiales

#### Equipos e insumos

- Espátula;
- Vidrio reloj o aluminio;
- Cajas de Petri;
- Pipetas de 10 ml;
- Autoclave;
- Juegos de micropipetas;
- Cámara de flujo laminar;
- Balanza analítica.

#### Reactivos

- Agua destilada;
- Agar Nutritivo;
- Medio Sabouraud;
- Agua peptona estéril.

#### Muestras ambientales

Usar guantes, registrar fotográficamente (muestreo/fecha) y sellar bien la muestra (una cantidad menor a ½ libra o ¼ litro).

- Fruta con moho;
- Pan con moho;
- Lodo (de una PTAR);
- Suelo contaminado (con pilas, aceite usado, petróleo, etc.);

- Agua estancada;
- Otra muestra que pueda ser de interés ambiental.

#### 3.3.1.4. Metodología

Se verifica que el material de cristalería está limpio y sin daños; colocar las cajas de Petri, tubos de ensayo, etc.; envolver adecuadamente y sellar los materiales.

Escriba su nombre en la parte posterior de la placa junto con el lugar de donde obtuvo la muestra, la fecha de inoculación y el medio de cultivo empleado.

La preparación de medios de cultivo (Agar nutritivo y SABOURAUD) y de agua peptona se lleva a cabo al preparar 350 ml de agar nutritivo y 350 ml de SABOURAUD. Se lleva a autoclave durante 25 minutos a 121 °C para la esterilización; se distribuye en las respectivas cajas de Petri; la preparación de Agua Peptona se prepara un volumen de 200 ml (6 tubos).

Aislamiento de microorganismos de suelo: se pesa 1 g de tierra/abono y se diluye en 9 ml de agua peptona estéril (10-1), se homogeniza y se deja reposar un momento para que los sólidos decantaran.

A partir de esta solución se realiza dos diluciones más (10-2 y 10-3) en agua peptona estéril. Para la inoculación se toma 1 ml de cada dilución y se siembra cada una en agar nutritivo con ayuda de un asa de Drigalsky. Finalmente se incuba las placas a temperatura ambiente por 4-7 días y se evalúa su crecimiento. Siembre por picadura en el centro, con una asa recta (sin anillo) las mismas bacterias por separado en tubos con medio sólido sin inclinar.

### 3.3.2. Tema: Identificación de microorganismos con el microscopio óptico mediante técnicas tintoriales

#### 3.3.2.1. Objetivos

- Desarrollar las técnicas comunes de identificación microscópica con tinción Gram, de azul de metileno y rojo Congo.
- Desarrollar habilidades en los estudiantes sobre la manipulación de materiales y reactivos de laboratorio relacionadas a Biotecnología Ambiental.

#### 3.3.2.2. Fundamento teórico

El microscopio óptico es un instrumento se utiliza para la identificación de los microorganismos. Entre su estructura es importante el poder de resolución que le caracteriza, el cual se define como la capacidad que posee un objetivo para distinguir la distancia mínima entre dos puntos del objeto. El poder de resolución de un objetivo es el responsable de la calidad, claridad, nitidez y fineza detallada de la imagen. Para aprovechar esta ventaja de los microscopios, se han

desarrollado técnicas tintoriales que destacan las características morfológicas de los microorganismos (López, et al. 2014).

Aunque los microorganismos vivos se pueden observar directamente en el microscopio óptico, la mayoría de las veces es necesario teñirlos para que sea mucho más fácil su identificación. Teñir ocasiona una reacción de intercambio de iones del colorante a lugares activos de la superficie o interior de las estructuras de la célula, esto va a permitir contrastar mucho más el microorganismo con respecto al medio que le rodea (González, et al. 2020). Así pues, el teñir tiene las siguientes funciones:

1. Permite hacer visibles a los objetos microscópicos y transparentes;
2. Revela su forma y tamaño;
3. Muestra la presencia de estructuras internas y externas;
4. Produce reacciones químicas específicas.

Las tinciones se pueden clasificar como simples cuando toda la muestra se tiñe del mismo color y se utiliza un sólo colorante (azul de lactofenol o tinta china); tinción diferencial, cuando se visualiza más de un color porque se utiliza más de un colorante (Gram o Ziehl-Neelsen). Algunas técnicas tintoriales como Gram o Ziehl Neelsen requieren antes de su proceso la fijación de las muestras, con la finalidad de preservar la arquitectura estructural y química de las células. Existen dos tipos de fijadores: físicos y químicos. Los métodos químicos ofrecen mejores resultados para la fijación, ya que son líquidos con potencial alto de difusión intracelular y detienen procesos enzimáticos que provocan autólisis (López, et al. 2014).

### **3.3.2.3. Tinción Gram**

#### **3.3.2.3.1. Materiales**

##### **Material**

- Asa bacteriológica;
- Portaobjetos;
- Mechero Bunsen con manguera;
- Piseta;
- Goteros para cada reactivo;
- Encendedor.

##### **Equipos**

- Microscopio;
- Cronómetro digital.

##### **Reactivos**

- Solución de cristal violeta;

- Solución de lugol;
- Solución de alcohol acetona;
- Safranina;
- Aceite de inmersión;
- Agua destilada.

### **3.3.2.3.2. Metodología**

- Colocar en el portaobjetos una microgota de agua;
- Realizar una extensión con el material a estudiar y homogeneizar con ayuda del asa bacteriológica;
- Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos de 3 a 4 veces por encima de la llama del mechero Bunsen, cuidando que no se exceda la temperatura de exposición al calor, empleando como referencia que el calor del portaobjetos pueda ser tolerable para la parte interna de la mano;
- Añadir la solución de cristal violeta hasta cubrir la muestra (área del frotis) y se deja actuar durante 10s;
- Lavar el portaobjetos, se cubre la preparación con Lugol y se deja actuar durante 10s antes de la decoloración con acetona;
- Lavar el exceso de yodo. Añadir las gotas suficientes de alcohol acetona, hasta decolorar (o máximo 10s);
- Lavar inmediatamente el portaobjetos con agua mediante el chorro de la piseta;
- Aplicar el colorante de contraste safranina cubriendo la muestra, durante 10s;
- Lavar con agua mediante el chorro de una piseta y dejar secar al aire;
- Observar al microscopio con objetivos de 40X y 100X.

### **3.3.2.4. Tinción de azul de metileno o de Loeffler**

#### **3.3.2.4.1. Materiales**

##### **Material**

- |                                |                               |
|--------------------------------|-------------------------------|
| • Asa bacteriológica;          | • Piseta;                     |
| • Portaobjetos;                | • Goteros para cada reactivo; |
| • Mechero Bunsen con manguera; | • Encendedor.                 |

##### **Equipos**

- Microscopio;
- Cronómetro digital.

##### **Reactivos**

- Azul de metileno;

- Agua destilada;
- Aceite de inmersión.

#### 3.3.2.4.2. Metodología

1. Colocar en el portaobjetos una microgota de agua;
2. Realizar una extensión con el material a estudiar y homogeneizar con ayuda del asa bacteriológica;
3. Fijar el frotis con calor pasando el portaobjetos de 3 a 4 veces por encima de la llama del mechero Bunsen, cuidando que no se exceda la temperatura de exposición al calor, empleando como referencia que el calor del portaobjetos pueda ser tolerable para la parte interna de la mano;
4. Cubrir el frotis con colorante azul de metileno durante 3 min;
5. Lavar con agua y dejar secando al aire;
6. Observar al microscopio con objetivos de 40X y 100X.

#### 3.3.2.5. Tinción con rojo Congo

##### 3.3.2.5.1. Materiales

###### Material

- Asa bacteriológica;
- Portaobjetos;
- Mechero Bunsen con manguera;
- Pisseta;
- Goteros para cada reactivo;
- Encendedor.

###### Equipos

- Microscopio;
- Cronómetro digital.

###### Reactivos

- Rojo Congo;
- Agua destilada;
- Mordente de cápsula.

##### 3.3.2.5.2. Metodología

1. Colocar en el portaobjetos una microgota de rojo Congo;
2. Realizar una extensión con el material a estudiar y homogeneizar con ayuda del asa bacteriológica;
3. Cubrir el frotis con mordente de cápsula por 3 min;
4. Lavar con agua y dejar secar al aire;

5. Observar al microscopio con objetivos de 40X y 100X.

### 3.3.3. Tema: *Trichoderma* sp. como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis*)

#### 3.3.3.1. Objetivos

- Evaluar el efecto de la cepa *Trichoderma harzianum* sobre la germinación y el crecimiento temprano del maracuyá.
- Desarrollar habilidades en los estudiantes sobre la manipulación de materiales de laboratorio relacionadas a Biotecnología Ambiental

#### 3.3.3.2. Fundamento teórico

El maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener) es un cultivo tropical promisorio para Colombia, que ocupa el segundo lugar en producción a nivel mundial. La zona bananera del departamento del Magdalena tiene características agroecológicas adecuadas para su cultivo. Sin embargo, desde el año 2006 se ha registrado una importante disminución de la producción en esta zona, originada por el desestímulo en el manejo agronómico del cultivo y el abandono por problemas fitosanitarios, provocados principalmente por patógenos (Cubillos, Valero y Mejía, 2009).

Para contrarrestar la incidencia de plagas y enfermedades se ha planteado la implementación de plaguicidas químicos; sin embargo, éstos resultan altamente tóxicos y dañinos para el medio ambiente, contaminando suelos, aire y los mantos acuíferos, además de crear resistencia genética en los fitopatógenos a los ingredientes activos (Morinigo et al., 2019). Teniendo en cuenta lo anterior, es necesaria la búsqueda de alternativas para el manejo de enfermedades en las plantas, cuyas acciones sean principalmente amigables con el medio ambiente y sean económicamente viables (Melo y Granada, 2021).

Además del efecto biocontrolador de patógenos, se ha comprobado que la inoculación del género *Trichoderma* aporta otros beneficios a las plantas; a través de la descomposición de materia orgánica, libera nutrientes en formas disponibles para la planta; por medio de la actividad solubilizadora de fosfatos, promueve el crecimiento y el desarrollo de los cultivos, produciendo metabolitos que estimulan los procesos de desarrollo vegetal, y la capacidad de multiplicarse en el suelo y colonizar las raíces de las plantas libera factores de crecimiento (auxinas, giberelinas y citoquininas) que estimulan la germinación y el desarrollo de las plantas. *T. harzianum* ha sido destacado como promotor del crecimiento vegetal en cultivos de berenjena, frijol, café, tomate, papa, maracuyá, entre otros (Camargo y Ávila, 2014).

### 3.3.3.3. Materiales

#### Material

- Asa bacteriológica
- Cajas Petri
- Papel filtro
- Algodón
- Semillas de maracuyá
- Cepa *Trichoderma* sp.
- Suelo abonado con lombricompuesto
- Cinta métrica

#### Equipos

- Autoclave
- Incubadora

#### Reactivos

- Alcohol al 70%
- Hipoclorito de sodio al 1%
- Agua destilada

### 3.3.3.4. Metodología

Previamente, reactivar las cepas en cajas Petri con agar avena, incubándose a una temperatura de 25°C durante 5 d. A partir de estos cultivos esporulados, se prepararon suspensiones del orden de  $10^4$ ,  $10^8$  conidios/mL en agua destilada estéril.

#### Germinación in vitro de semillas

1. En cajas Petri, colocar círculos de papel filtro sobre algodón y fueron esterilizadas en autoclave a 121°C con 15 PSI por 15 min.
2. Adicionar agua destilada estéril a cada caja hasta saturar el soporte.
3. Colocar 15 semillas de maracuyá obtenidas de frutos maduros previamente desinfectadas con alcohol al 70% e hipoclorito de sodio al 1%.
4. Seguir un diseño experimental de bloques al azar en arreglo factorial con dos repeticiones por tratamiento, tomando como factores la cepa *Trichoderma* sp. y dos concentraciones del inóculo ( $10^4$ ,  $10^8$  conidios/mL).
5. A cada unidad experimental, inocular con 1 ml de la suspensión de *Trichoderma* sp. de la cepa y la concentración correspondiente. Al tratamiento testigo (sin inocular) sólo agregar 1 ml de agua destilada estéril.
6. Mantener todas las cajas en oscuridad a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$ , en una incubadora.
7. Realizar observaciones diarias durante 15 días, registrando el número de semillas germinadas, considerando semillas germinadas aquellas cuya radícula alcanzó 2 mm de longitud.



8. A partir de los datos registrados, determinar el porcentaje de germinación (PG) expresado como el porcentaje total de semillas germinadas a los 15 d. A esta variable también se le llama capacidad de germinación. El índice de velocidad de germinación (IVG) se calculó de acuerdo con la fórmula propuesta por Brown y Mayer (1988):

$$IVG = \frac{P_1}{T_1} + \frac{P_2}{T_2} + \dots + \frac{P_n}{T_n}$$

dónde: P = número de semillas germinadas; T = tiempo en que germinaron; y n = d del último control.

9. El tiempo medio de germinación (TMG) calcular de acuerdo con García, et al. (1982):

$$TMG = \frac{[(x_1 d_1) + (x_2 d_2) + \dots + (x_{15} d_{15})]}{x_{15}}$$

donde: x<sub>1</sub>, x<sub>2</sub>, x<sub>15</sub> son las semillas germinadas en el d 1, 2, 15; d<sub>1</sub>, d<sub>2</sub>,... d<sub>15</sub> son los días de incubación, y X<sub>15</sub> es el número total de semillas germinadas en el d 15 cuando se realizó el conteo final de semillas germinadas.

### Desarrollo de plántulas

10. Tomar 2 semillas de cada tratamiento y cada una sembrar a 1 cm de profundidad en recipientes con 250 g de suelo abonado con lombricomposto previamente esterilizado en autoclave a 121°C con 15 PSI por 30 min.
11. Inocular nuevamente con 4 ml de las suspensiones de 10<sup>4</sup>, 10<sup>8</sup> conidios/mL de *Trichoderma* sp. y un testigo sin inocular.
12. Mantener las plántulas en condiciones de invernadero con humedad relativa de 70- 80% y temperatura de 31-34°C, donde el volumen de aire, luminosidad y ataque de plagas se controlen con riego diario por nebulización cada 30 min durante 10 s.
13. Utilizar un diseño de bloques completos al azar, con dos factores, conformado por la cepa *Trichoderma* sp., y las dos concentraciones del inóculo. Cada tratamiento contó con dos repeticiones.
14. Después de dos meses, registrar el número de hojas verdaderas, medir la altura, el grosor del tallo en la base y la longitud de la raíz con la ayuda de un metro, y determinar el peso seco total de cada una de las plantas.
15. Presentar los resultados en una tabla similar a la tabla 9 que se presenta a continuación, según el número de cepas disponibles en el laboratorio.

**Tabla 1**  
*Tabla de medias*

Tratamientos	LT (cm)	GTB (mm)	NHV	LR (cm)	PST (g)
TCN-014-10 <sup>4</sup>	17,4 bc	0,98 b	7,0 b	9,4 c	0,195 bc
TCN-014-10 <sup>6</sup>	19,5 b	1,32 a	7,0 b	12,2 b	0,243 ab
TCN-014-10 <sup>8</sup>	23,7 a	1,12 b	8,5 a	14,2 a	0,335 a
TCN-005-10 <sup>4</sup>	16,9 bc	0,93 bc	6,8 b	9,3 c	0,193 bc
TCN-005-10 <sup>4</sup>	18,4 bc	1,09 b	7,0 b	10,2 c	0,243 ab
TCN-005-10 <sup>4</sup>	20,1 ab	1,12 b	7,8 ab	13,0 ab	0,235 b
Testigo sin inocular	14,5 c	0,84 c	5,0 c	7,5 d	0,108 c

**Nota:** Medias para la longitud del tallo (LT), grosor del tallo en la base (GTB), número de hojas verdaderas (NHV), longitud de la raíz (LR) y peso seco total (PST); de las plántulas de maracuyá establecidas en el invernadero durante dos meses. **Fuente:** (Cubillos-Hinojosa, Valero & Mejía, 2009).

### 3.3.4.Tema: Aislamiento de microalgas y cianobacterias en muestras de agua y suelo

#### 3.3.4.1. Objetivos

- Identificar microalgas y cianobacterias de muestras terrestres y acuáticas.
- Cuantificar microalgas y cianobacterias que se encuentran en muestras de agua y tierra.

#### 3.3.4.2. Fundamento teórico

Las cianobacterias y microalgas son organismos, que han evolucionado desde el origen de la tierra adaptándose a diferentes ecosistemas, además de ser capaces de realizar fotosíntesis mediante pigmentos que les permiten usar la luz como fuente de energía (Hernández-Pérez y Labbé, 2014; Llopiz, 2016).

Asimismo, estos microorganismos poseen compuestos bioactivos con diversos usos potenciales, fundamentalmente en biomedicina, agropecuaria, cosmética (Llopiz, 2016), así como son de suma importancia dentro de la industria farmacéutica por los metabolitos secundarios producidos, mientras que en el campo de biorremediación generan combustibles, electricidad y son utilizados para el tratamiento de aguas residuales (Morales et al., 2022).

Los estudios de bioprospección de microorganismos fotosintéticos son utilizados como recursos biológicos para la producción de biofertilizantes, pigmentos y exopolisacáridos son de interés científico ya que pueden generar información

sobre biodiversidad, taxonomía, bioquímica, nutrición y biotecnología de cultivos de estos microorganismos fotosintéticos (Morales et al., 2022).

### 3.3.4.3. Materiales

- Asa bacteriológica;
- Cajas Petri;
- Muestras ambientales;
- Recipientes para recolección de muestras de orina;
- Cinta masking;
- Guantes;
- Portaobjetos;
- Cubreobjetos.

### Equipos

- Incubadora;
- Microscopio;
- Cámaras Neubauer.

### Reactivos

- Alcohol al 70%;
- Agua destilada;
- Nitrofoska foliar (NKP) 1% m/v.

### 3.3.4.4. Metodología

#### Recolección de muestra

Previo a la práctica se recogerán y etiquetarán las muestras ambientales, por lo que será necesario usar 2 frascos para recoger orina. El primero deberá ser llenado con una muestra de tierra y el segundo con una muestra de agua. Es importante tener en cuenta que las muestras deben ser recolectadas de zonas de colores verdosos, las cuales muestran presencia de organismos fotosintéticos. Paralelamente, se debe tomar datos de ubicación geográfica de los lugares donde las muestras serán recolectadas.

#### Preparación de cultivos

La preparación de medios de cultivo (Agar nutritivo, Nitrofoska foliar) y de agua peptona se lleva a cabo al preparar 350 ml de agar nutritivo y 350 ml de Nitrofoska foliar. Se lleva a autoclave durante 25 minutos a 121 °C para la esterilización; se distribuye en las respectivas cajas de Petri; la preparación de Agua Peptona se prepara un volumen de 200 ml (6 tubos).

Para preparar un litro de medio de cultivo Nitrofoska foliar se diluye 3 mL de Nitrofoska foliar en 997 mL de agua destilada estéril.

### **Aislamiento de microorganismos fotosintéticos del suelo**

1. Con la ayuda de unas tijeras, en condiciones de esterilidad junto al mechero, cortar las raíces de las plantas y colocarlas en dos cajas de Petri estériles;
2. Tomar 5 g del suelo de la rizósfera de las plantas leguminosas y se coloca en dos cajas de Petri estériles, a la una caja se le añadió 5 mL de medio de cultivo Nitrofoska foliar;
3. Incubar las cajas de Petri en condiciones de luminosidad bajo una lámpara fluorescente lateral marca Philips Daylight de 40 W. Después de transcurrido un mes aproximadamente, aparecen las primeras poblaciones de microalgas y cianobacterias;
4. Realizar réplicas hasta que la especie se encuentre pura.

### **Aislamiento de microorganismos fotosintéticos del suelo**

1. Se pesa 1 g de tierra y se diluye en 9 ml de agua peptona estéril (10-1), se homogeniza y se deja reposar un momento para que los sólidos decanten;
2. A partir de esta solución se realizarán dos diluciones más (10-2 y 10-3) en agua peptona estéril;
3. Para la inoculación se toma 1 ml de cada dilución y se siembra cada una en agar nutritivo con ayuda de un asa de Drigalsky. Finalmente se incuba las placas a temperatura ambiente y se evalúa su crecimiento.

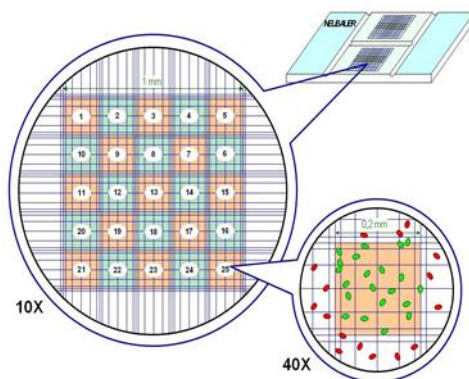
### **Aislamiento de microorganismos fotosintéticos de agua**

1. Agitar siempre de forma vigorosa la botella que contiene la muestra de agua antes de tomar cantidad alguna de la misma;
2. Preparar diluciones 1/10, 1/100, 1/1000 y 1/10.000 y usando una pipeta distinta y estéril para cada situación;
3. Sembrar 0,5 ml de la muestra original y 0,5 ml de las diluciones anteriormente preparadas en placas de agar nutritivo. Generalmente, es preferible usar las dos o tres últimas diluciones.

### **Conteo de microalgas y cianobacterias en cámara de Neubauer**

1. Se deben transferir entre 10 a 15 microlitros de la dilución hacia la cámara de recuento de Neubauer, pero lo más importante es que la cámara quede completamente llena pero no en exceso para evitar que la lámina que la cubre se mueva por acción de la dilución transferida (figura 35);
2. Hay que contar todas las células que están dentro de cada cuadrado mediano y aquellas que están tocando los lados superior y derecho de dicho cuadrado (aunque estén parcialmente fuera). Siguiendo este criterio, en la figura se contarían las células en color verde, y no se contarían las células en color rojo.

**Figura 1**  
 Conteo en la cámara de Neubauer



**Nota: Fuente:** Mikros testak.org. s.f.

3. Si hemos contabilizado  $N$  células en uno de los cuadrados grandes (o sea, en 25 cuadrados medianos), la concentración de nuestra muestra será:

$$N \times 10^4 \text{ cel/ml}$$

4. Si para hacer el recuento hemos tenido que concentrar o diluir la muestra inicial, hemos de tener en cuenta este factor de concentración-dilución ( $f$ ):

$$N \times 10^4 \times f \text{ cel/ml}$$

suspensión celular inicial = suspensión celular diluida x factor de concentración-dilución.

### Identificación de microorganismos fotosintéticos

Cada muestra recolectada se analiza usando el microscopio óptico para detectar los grupos de microalgas presentes. Para ello, se observa los caracteres morfológicos que fueron comparados con claves taxonómicas. Se recomienda consultar el “Catálogo de microalgas y cianobacterias de agua dulce del Ecuador”.

### Sistema de alto rendimiento para la determinación de concentración celular mediante espectrofotometría

La metodología propuesta se basa en el desarrollo de una curva de calibración que describe la relación entre la concentración celular de una muestra algal y su densidad óptica. Esta relación matemática permitirá evaluar la tasa de crecimiento de un cultivo de microalgas mediante mediciones rápidas por espectrofotometría.

1. Evaluar la densidad óptica de cada una muestra de microalgas mediante espectrofotometría.
2. Colocar 7 mL en la cubeta de cuarzo de 10 mL, y medir su absorbancia a 750nm usando un espectrofotómetro (Thermo Scientific, Spectronic).

3. Usar la siguiente ecuación para realizar mediciones rápidas de la concentración celular de una muestra de microalgas en base a su absorbancia (Chicaiza Ortiz, et al., 2021).

$$CC = 2 * 10^7 * A - 2,5 * 10^5$$

donde CC corresponde a la concentración celular de una muestra de microalgas y A representa la absorbancia medida a 750 nm para esa misma muestra.

### 3.3.5. Tema: Fructificación del hongo *Pleurotus ostreatus* con potencial en la biodegradación de contaminantes

#### 3.3.5.1. Objetivos

- Evaluar el crecimiento y producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos de cacao, bajo condiciones ambientales controladas temperatura, humedad, iluminación y aireación.
- Determinar el tiempo transcurrido a partir de la siembra hasta la fructificación y aparición de los primeros primordios.
- Establecer el tiempo transcurrido en la obtención de la primera cosecha, es decir, el tiempo a partir de la cual la muestra se colocó en producción hasta el primer corte de hongos en estado maduro.
- Controlar varios factores, como son la luz, temperatura, humedad, plagas, para obtener un completo desarrollo de *Pleurotus ostreatus* y fijar el número de cosechas obtenidas.
- Evaluar los cuerpos fructíferos producidos, mediante varios parámetros como son el color, sabor, olor, tamaño, peso fresco, la eficiencia biológica y la tasa de producción para establecer la calidad del hongo obtenido.
- Investigar sobre las posibles aplicaciones del hongo en diferentes campos, y la importancia de la producción del mismo.

#### 3.3.5.2. Fundamento teórico

El cultivo de hongos comestibles del género *Pleurotus* spp., comúnmente conocidos como hongos ostra u orellanas, fue realizado por primera vez en el mundo a principios del siglo pasado y se ha incrementado en las últimas cinco décadas, alcanzando el 14,2% de la producción total de hongos comestibles en el mundo en el año de 1997, siendo China el principal productor con el 86,8% (Garzón y Cuervo, 2008) de la producción mundial y con cerca de 800.000 toneladas producidas al año. Este mayor crecimiento se debe al valor nutricional del hongo, características organolépticas y fácil disponibilidad de materiales utilizados para el sustrato. En la tabla 10 se observa la taxonomía de *Pleurotus* spp.

### Clasificación taxonómica del hongo *Pleurotus ostreatus*

**Tabla 2**

*Clasificación taxonómica del hongo*

Reino	Fungi
Filo	Basidiomycota
Clase	Homobasidiomycetes
Orden	Agaricales
Familia	Pleurotaceae
Género	<i>Pleurotus</i>
Especie	<i>P. ostreatus</i>
Nombre binomial	<i>P. ostreatus</i> Champ.

**Nota: Fuente:** Garzón y Cuervo, 2008.

### Características fisiológicas

Es un hongo degradador de materia orgánica que se alimenta principalmente de lignina y celulosa, estas son azúcares que se encuentran disponibles en la materia muerta como paja, cacao, maíz, caña, trigo, cebada, etc; potencialmente también se ha determinado su degradación como materiales recalcitrantes (Urdiales Jarro, et al., 2022), lo que sugiere una potencial aplicación en biorremediación. Además, el micelio debe tener a su disposición la fuente de carbono que constituye la base nutricional de su crecimiento.

### Características morfológicas

Se encuentra constituido de: Sombrero (Pielo), Pie reducido (Estipite) y Láminas (Himenio). En la figura 36 se observa una ilustración de la morfología del hongo (Uribe, 2014).

- Sombrero: forma de paraguas, más o menos circular, su desarrollo se da en forma de una ostra u oreja;
- Láminas: dispuestas radialmente como varillas de un paraguas, que va desde el pie que lo sostiene, hasta el borde, son anchas, blancas o cremas;
- Pie: es firme, blanco, algo peludo en la base, ligeramente duro.

**Figura 2**  
*Morfología del hongo Pleurotus ostreatus*



**Nota:** Fuente: Uribe, 2014.

### Producción de hongos

El ciclo de vida de los hongos, inicia a partir de una espora la cual generará el micelio primario. Este micelio primario, comienza a desarrollarse y crecer de manera vegetativa, es decir, sin formar los cuerpos reproductores. Al finalizar este crecimiento, las células serán capaces de cambiar su estructura celular que finalmente se desarrollarán en los cuerpos reproductores.

En el momento de que la espora germina, un pequeño filamento inicial comienza a aparecer, este filamento es llamado hifa. Esta hifa continúa creciendo, generando una red más densa llamada micelio. Luego de estar desarrollado completamente el micelio, este estará listo para generar los cuerpos reproductores, los cuales son el producto que se cosechará, en este caso, la Orellana (Uribe, 2014).

Los pasos básicos en el cultivo de los hongos, en general, tienen parámetros similares para su producción, variando entre una especie y otra los requerimientos nutricionales, pH, temperatura, CO<sub>2</sub>, etc.

A continuación, se muestran los pasos generales que se deben tener en cuenta al producir hongos comestibles según Carvajal (2010):

1. Preparación del medio de propagación de las esporas en cajas de Petri o tubos de ensayo;
2. Germinación de las esporas en medios aislados de cualquier tipo de contaminación (asepsia completa), para desarrollar una excelente cepa madre;
3. Desarrollo completo del micelio en el medio de propagación que generalmente es agar;
4. Preparación de los granos de cereal donde se desarrollará la semilla del hongo a cultivar;



5. Mezcla de la semilla de granos inoculados, con el sustrato específico para el hongo a cultivar;
6. Etapa de incubación del sustrato en ambiente controlado con temperatura y humedades relativas entre los 23 – 27 °C y 90 – 100 % respectivamente. Esta hace referencia a la etapa vegetativa;
7. Etapa productiva del cultivo, se manejan temperaturas entre 16 – 20 °C, humedad relativa entre 80 – 90 % y CO<sub>2</sub> en mínimas concentraciones.

### Caracterización de la materia prima

Se muestran los parámetros óptimos que debe tener los residuos para el correcto desarrollo del Hongo, pero hay que tener en cuenta que dependen principalmente de las condiciones ambientales y del tipo de sustrato sobre el cual se desarrollan.

**Tabla 3**

*Parámetros para el crecimiento de Pleurotus ostreatus*

Parámetro	%
Contenido de agua	88,89
Carbohidratos totales	7,74
Proteínas	2,27
Lípidos	0,1
Cenizas totales	1,0

**Nota: Fuente:** Carvajal, 2010.

### Condiciones de incubación

La incubación tarda de 22 a 30 días y es necesario que la temperatura en el sitio de incubación permanezca de 23 a 24 °C, el área de incubación debe ser un lugar oscuro, fresco y cerrado para mantener la humedad de 70 a 80% (Carvajal, 2010).

### Condiciones de fructificación.

Se aumentó la humedad de un 80 a 93% para inducir a la formación de cuerpos fructíferos, esta etapa se puede realizar en el mismo cuarto de incubación, si tosa las bolsas están cubiertas por el micelio, asimismo se debe manejar una temperatura de 16 a 18 °C (Carvajal, 2010).

#### 3.3.5.3. Materiales

##### Material

- Sustrato de cacao;

- Fundas plásticas;
- Rotulador.

#### Reactivos

- Micelio de *Pleurotus ostreatus*;
- Agua destilada;
- Solución de Benomyl 0,02%.

#### 3.3.5.4. Metodología

1. Sembrar *Pleurotus ostreatus* en el sustrato seco de cacao previamente tratado con Benomyl al 0,6% por 30 minutos una vez que se ha desarrollado en el trigo (para la siembra el sustrato de cacao debe estar lo más finamente dividido con el objetivo de que el hongo pueda aprovechar al máximo los nutrientes que este necesita para su crecimiento);
2. Colocar una cantidad adecuada de sustrato sembrado, hasta llenar a la mitad una funda transparente;
3. Rotular las fundas y colocar en un lugar fresco que se encuentre completamente oscuro y con calefacción para lograr una temperatura de 28°C (estas condiciones se deben mantener por al menos 14 días);
4. Observar durante los 14 días como los micelios de *Pleurotus ostreatus* se han esparcido completamente rodeando todo el sustrato, logrando así una apariencia algodonosa;
5. Mantener el material en condiciones de humedad, luz por 12 horas y oscuridad por el mismo período de tiempo en el día, dependiendo de que tanto se mantengan estas condiciones se podrá observar en mayor o menor tiempo, la fructificación del hongo;
6. Mantener a las setas en un espacio suficiente para expandirse;
7. Regar agua frecuentemente para evitar que estas se deshidraten;
8. Cosechar las setas al cabo de 4 o 5 días, para ese procedimiento solo se necesita cortar el hongo fructificado con la ayuda de un bisturí. Si se mantienen nuevamente las condiciones antes mencionadas se puede lograr una segunda y hasta tercera cosecha.

### 3.4. Discusión

La inoculación y el aislamiento de microorganismos en distintas muestras ambientales es una etapa importante para entender la ecología microbiana, las ciencias ambientales y la biotecnología. Las prácticas propuestas consideran el crecimiento de microorganismos en condiciones específicas de laboratorio para su posterior aislamiento, incluyendo bacterias, microalgas u hongos con sus

usos potenciales en diversas áreas. La microscopía óptica es una técnica muy utilizada para identificar microorganismos, que se ve complementado con técnicas tintoriales, para la identificación de grupos específicos de microorganismos.

Se profundiza en *Trichoderma* sp, un género de hongos con propiedades promotoras del crecimiento de las plantas para ser utilizado como biofertilizante en el cultivo de maracuyá; también se destacó el uso de otro hongo, *Pleurotus ostreatus*, un hongo con potencial en la biodegradación de contaminantes recalcitrantes. Las prácticas de laboratorio implicadas en la inoculación y aislamiento de microorganismos, la identificación mediante microscopía óptica y tinción, y el estudio de *Trichoderma* sp., microalgas y cianobacterias, y *Pleurotus ostreatus* en procesos de biorremediación pueden reducir el impacto ambiental de los contaminantes y promover prácticas sostenibles, no solo a nivel laboratorio, sino que pueden ser escaladas en plantas pilotos o comerciales.

### 3.5. Conclusiones

Las prácticas de laboratorio descritas en este capítulo serán una herramienta de aprendizaje para los estudiantes, técnicas de laboratorio y docentes. Se explica en todas las prácticas un fundamento teórico en base al método científico, que permiten entender los fundamentos teóricos previos a la experimentación. Por otra parte, el banco de preguntas y respuestas sobre Biotecnología Ambiental resolverá algunas dudas para aquellas personas cuyos intereses estén relacionados a esta área de conocimiento, además sirve para generar una base de datos que se podría utilizar en cuestionarios. Asimismo, se crea un debate para el mundo de la ciencia, dado que las preguntas abiertas tienen distintas posibles respuestas.

## Referencias Bibliográficas

- Attias, N., Reid, M., Mijowska, S. C., Dobryden, I., Isaksson, M., Pokroy, B., ... & Abitbol, T. (2021). Biofabrication of nanocellulose–mycelium hybrid materials. *Advanced Sustainable Systems*, 5(2), 2000196.
- Cámara de conteo Neubauer improved. (s.f.). *Mikros testak.org*. Obtenido de [http://insilico.ehu.es/camara\\_contaje/neubauer\\_improved.php](http://insilico.ehu.es/camara_contaje/neubauer_improved.php)

- Camargo-Cepeda, D. F., & Ávila, E. R. (2014). Efectos del *Trichoderma* sp. sobre el crecimiento y desarrollo de la arveja (*Pisum sativum* L.). *Ciencia y Agricultura*, 11(1), 91-100.
- Carvajal-Millán. (2010). Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento in vitro y antagonismo contra hongos fitopatógenos. *Revista mexicana de fitopatología*, 28(2), 87-96.
- Chicaiza Ortiz, C., León Chimbolema, J., Godoy Ponce, S., Alvarado Ávila, G., & Chicaiza Ortíz, A. (2021). Ensayos de laboratorio para la obtención de biomasa algal en un fotobiorreactor discontinuo. *Revista Científica Y Tecnológica UPSE*, 8(1), 01-07. <https://doi.org/10.26423/rctu.v8i1.541>
- Cubillos-Hinojosa, J., Valero, N., & Mejía, L. (2009). *Trichoderma harzianum* as a plant growth promoter in yellow passion fruit (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener). *Agronomía Colombiana*, 27(1), 81-86.
- Forman, G. S., & Carvalho, C. (2018). Design of sustainable textiles through biological systems and materials—innovative narratives within the circular economy. In *Textiles, identity and innovation: Design the future* (pp. 373-378). CRC Press.
- Gaitán-Hernández, R., Salmones, D., Pérez-Merlo, R., & Mata, G. (2006). Manual práctico del cultivo de setas: aislamiento, siembra y producción. *Instituto de Ecología, AC, Xalapa, México*.
- Garzón Gómez, J. P., & Cuervo Andrade, J. L. (2008). Producción de *Pleurotus ostreatus* sobre residuos sólidos lignocelulósicos de diferente procedencia. *NOVA- Publicación Científica En Ciencias Biomédicas*, 6(10), 126–140.
- González-Meléndez, R., Cuevas, B., Cortes, M., & Sánchez, M. (2020). Las tinciones básicas en el Laboratorio de Microbiología: Un enfoque gráfico. Universidad Nacional Autónoma de México. ISBN: 978-607-30-3771-6
- H, Hector, Michelle Mejía, and María Álvarez. 2017. "Aislamiento de Microorganismos en diferentes ambientes (Suelo, Agua y Aire)." *Mente Joven* 6: 09-20. [https://doi.org/10.18041/2323-0312/mente\\_joven.0.2017.3666](https://doi.org/10.18041/2323-0312/mente_joven.0.2017.3666).
- Jones, M., Gandia, A., John, S., & Bismarck, A. (2021). Leather-like material biofabrication using fungi. *Nature Sustainability*, 4(1), 9-16.
- Lagier, Jean-Christophe, Sophie Edouard, Isabelle Pagnier, Oleg Mediannikov, Michel Drancourt, and Didier Raoult. 2015. "Current and past strategies for bacterial culture in clinical microbiology." *Clinical microbiology reviews* 28 (1): 208-236. <https://doi.org/10.1128/CMR.00110-14>. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25567228>
- López-Jácome, L. E., Hernández-Durán, M., Colín-Castro, C. A., Ortega-Peña, S., Cerón-González, G., & Franco-Cendejas, R. (2014). Las tinciones

básicas en el laboratorio de microbiología. *Investigación en discapacidad*, 3(1), 10-18.

- Martínez Guijarro, R. Aguado García, D. y Aguas Vivas Pachés Giner, M. (2017). Manual de prácticas de laboratorio: evaluación de la calidad ambiental. Valencia, Spain: Editorial de la Universidad Politécnica de Valencia. Recuperado de <https://bibliotecas.ups.edu.ec:3488/es/ereader/bibliotecaups/57455?page=13>.
- Melo, A., & Granada, D. (2021). Desarrollo de microeconomías regionales en la producción de aceites esenciales cosechados en suelos mineros-atn/rf 16110 Producto 16: Informe de implementación de ensayo piloto.
- Morinigo, I. A., Vega, G. D., Lesmo, N. D., Velázquez, J. A., Gennaro, K. H., y Alvarenga, J. D. (2019). Efecto del formulado comercial de *Trichoderma harzianum* en semillas de trigo. *Intropica*, 14(2), 104-111. <https://doi.org/10.21676/23897864.3095>
- Parmar, S., & Sharma, V. K. (2020). Endophytic fungi mediated biofabrication of nanoparticles and their potential applications. In *Microbial endophytes* (pp. 325-341). Woodhead Publishing.
- Torres Cartas, S. (2016). Química: prácticas de laboratorio. Valencia, Spain: Editorial de la Universidad Politécnica de Valencia. Recuperado de <https://bibliotecas.ups.edu.ec:3488/es/lc/bibliotecaups/titulos/57408>.
- Urdiales Jarro, J., Molina López, F., Chicaiza Ortiz, C., Alvarado Ávila, G., Navarrete Villa, V., & Ramos, I. (2022). Degradación de colillas de cigarrillos mediante *Pleurotus ostreatus* para su aprovechamiento como papel. Conferencia Congreso de Gestión Ambiental y Conservación de la Biodiversidad. <https://doi.org/10.5281/zenodo.6582177>
- URIBE, F. Y. D. S. (2014). *Cultivo de orellas (Pleurotus ostreatus) en cinco sustratos generados en los procesos productivos agropecuarios, en dos épocas de siembra, en el municipio de ituango*. 1–92





# Anexos





## Anexos

### Cuestionarios de biotecnología ambiental

**Pregunta 1.** Los biocombustibles son recursos energéticos en estado líquido, sólido o gaseoso, que los humanos obtienen a partir la biomasa. Su función principal es liberar la energía de su composición química en una reacción de combustión. Sí el resultado de esta combustión es el CO<sub>2</sub>, entonces el biocombustible se considera ecológico porque:

- a. Proviene de plantas
- b. No genera tanto CO<sub>2</sub>
- c. No consumen energía
- d. No generan metano

**Pregunta 2.** Aquel biocombustible que es producido biológicamente por fermentación enzimática de azúcares o almidones de ciertos cultivos como el trigo, maíz o caña se denomina:

- a. Biogás
- b. Biodiesel
- c. Bioetanol
- d. Biomasa

**Pregunta 3.** Seleccione Verdadero o Falso según corresponda en el siguiente enunciado: “La utilización de sistemas como la incineración, gasificación y pirólisis implican estrictamente el uso de organismos vivos para la remediación ambiental, la prevención de la contaminación, la detección y el seguimiento de los contaminantes y, más recientemente, la transformación de los residuos en energía, biopolímeros y otros beneficios”.

- a. Verdadero
- b. Falso

**Pregunta 4.** Relacionar las aplicaciones de la biotecnología con cada descripción.

Aplicaciones	Descripción	Respuesta
1. Biomarcadores	a. Es un sistema analítico que conecta componentes biológicos a transductores para lograr una	

	detección rápida en el medio ambiente.	
2. Biosensores	b. Estos son cambios que pueden ocurrir en un organismo o población en respuesta al estrés ambiental.	
3. Biocombustibles	c. Contribuyen a la sostenibilidad ya que en la mayoría de los casos los subproductos no se eliminan adecuadamente.	
4. Biorremediación	d. Cambios de un compuesto complejo a uno simple y que no es tóxico.	
5. Biotransformación	e. Es una técnica que utiliza los microorganismos que se encuentran en el suelo para limpiar un ambiente contaminado.	

**Pregunta 5.** ¿Cuál de estos gases es una fuente prometedora para la recuperación mejorada de petróleo, que también ayudaría a reducir los gases de efecto invernadero?

- a. Metano
- b. Dióxido de carbono
- c. Óxido nitroso
- d. Gases fluorados

**Pregunta 6.** Seleccione las opciones que considere correctas, máximo tres. ¿Qué métodos de los siguientes enlistados, reducen los impactos ambientales negativos derivados de la actividad petrolera y las técnicas de inyección de CO<sub>2</sub> en reservorios subsuperficiales?

Literales	Posibles respuestas
a) Inyección de CO <sub>2</sub> – agua alterna gas (WAG)	1. a,b,e
b) Nuevos sorbentes con CO <sub>2</sub>	2. a,b,d
c) Aditivos polímeros para espesamiento directo de CO <sub>2</sub>	3. a,c,d
d) Inundación del depósito de CO <sub>2</sub> mejorado con NP	4. a,c,e
e) Barreras petrolíferas con CO <sub>2</sub>	

**Pregunta 7.** Las biopilas se usan para tratar suelos contaminados con compuestos derivados de petróleo, se lo hace mediante pilas sucesivas, adición de elementos esenciales y la aireación que estimula la actividad microbiana, obteniendo finalmente la degradación. Un proceso similar a este es:

- a. Fitorremediación
- b. Vitrificación
- c. Landfarming
- d. Bioventeo

**Pregunta 8.** El tipo de plantas conocido como hiperacumuladoras son aquellas empleadas en los procesos de fitorremediación para solucionar generalmente la contaminación con:

- a. Metales pesados porque son elementos que se pueden degradar
- b. Hidrocarburos de bajo peso molecular porque son fáciles de degradar
- c. Metales pesados porque son elementos que no se pueden degradar
- d. Hidrocarburos de bajo peso molecular porque no son fáciles de degradar

**Pregunta 9.** La biorremediación pasiva o atenuación natural se presenta debido a:

- a. Los organismos utilizan sustancias químicas contaminantes como alimento, lo que la transforma en materiales tóxicos, en general
- b. Esta reacción espontánea implica una variedad de procesos naturales que no permiten la eliminación y/o transformación de los contaminantes
- c. Todos los ecosistemas presentan un cierto grado de resiliencia considerada como la capacidad para retornar a las condiciones previas a una perturbación
- d. La recuperación es la degradación por la actividad de los microorganismos externos, en general, por el concurso de poblaciones microbianas iguales

### **Cuestionarios de las lecturas sobre el reino fungi**

**Pregunta 10.** ¿Qué alternativas se podría proponer desde una perspectiva de economía circular para compensar el impacto ambiental negativo de la industria textil?

---

**Pregunta 11.** ¿Comenta sobre las alternativas prometedoras para la fabricación del cuero sintético y por qué?

---

**Pregunta 12. ¿Cuáles son los procesos que afectan la fabricación del cuero bovino y sintético en relación al impacto ambiental?**

---

**Pregunta 13. Escriba al menos 6 ventajas y desventajas entre el cuero bovino, sustitutos del cuero sintético y renovable.**

---

**Pregunta 14. ¿Cómo es el proceso de fabricación de sustitutos del cuero derivados de hongos?**

---

**Pregunta 15. Mencione 3 productos similares al cuero producidos a partir de micelio fúngico**

---

**Pregunta 16. ¿Cuáles son los tratamientos involucrados en la manufactura necesarios para convertir las esteras de micelio?**

---

**Pregunta 17. ¿Mencione los materiales de origen forestal que tienen la capacidad de interrumpir las prácticas de manufactura perjudiciales para el ambiente?**

---

**Pregunta 18. ¿Cuál es la función de los hongos de podredumbre blanca?**

---

**Pregunta 19. ¿Puede sintetizar nanopartículas en base a hongos? En caso de que su respuesta sea positiva explique cómo lo haría, o en caso de que su respuesta sea negativa explique las limitaciones del por qué no se podría.**

---

## **Solucionario de preguntas y/o ejercicios**

Usted puede encontrar las preguntas y respuestas mediante un cuestionario interactivo en la siguiente plataforma:

<https://view.genial.ly/64501e0b7030560012538949/interactive-content-cuestionario-ba>



Se puede obtener más información en la siguiente página donde estará disponible mayor contenido bibliográfico y recursos multimedia:

<https://www.biotecambiental.com/>

<https://www.facebook.com/BIOTAS.LATAM/>

<https://www.youtube.com/@biotecnologiaambientalsust8893/>



## Resumen:

La Biotecnología Ambiental emplea el uso de organismos para la prevención, monitoreo y remediación de los ecosistemas, al mismo tiempo permite la generación de bioproductos y energía limpia. El libro consistió en tres capítulos, en el primero se establece los fundamentos de la Biotecnología Ambiental y sus aplicaciones en entornos terrestre, acuático y aéreo; además, se presentan herramientas aplicadas como los biosensores en el monitoreo ambiental, la fitorremediación en varios contextos de América Latina y el fortalecimiento de la agricultura sustentable. En el segundo capítulo se describe la importancia de un estudio bibliométrico y el enfoque para las diversas investigaciones, se detalla un manual de uso, que permite su replicabilidad en otros contextos. Además de presentar un caso de estudio aplicado al tema central de este libro, que sistematiza los temas más estudiados, las tendencias, revistas y países con mayores contribuciones. En el tercer capítulo se presentan varias prácticas de laboratorio y una sección de preguntas, que pueden ser empleadas en otras instituciones educativas o de manera autónoma. En conclusión, los capítulos son complementarios entre sí, facilitando la comprensión e interés del lector. El área de mayor relevancia corresponde a la biorremediación en suelos contaminados por hidrocarburos y metales pesados, los grupos más frecuentes en la revisión fueron hongos, cianobacterias y organismos genéticamente modificados. Finalmente, existe una oportunidad del uso y la potencial combinación de las técnicas basadas en metagenómica, ADN ambiental, inteligencia artificial para el desarrollo de las nuevas tendencias de la Biotecnología Ambiental.

### Editorial Grupo AEA

[www.grupo-aea.com](http://www.grupo-aea.com)

[www.editorialgrupo-aea.com](http://www.editorialgrupo-aea.com)



Grupo de Asesoría Empresarial & Académica



[Grupoea.ecuador](https://twitter.com/Grupoea.ecuador)



Editorial Grupo AEA

ISBN: 978-9942-7119-2-2



9 789942 711922