

Contribuciones de la biotecnología a la regeneración ambiental para un desarrollo sostenible

Contributions of biotechnology to environmental regeneration for sustainable development

Zulma Francisca Pérez

Docente. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Centro de Investigación en Biotecnología. Managua, Nicaragua
zperez@unan.edu.ni
<https://orcid.org/0000-0002-1957-902X>

Martha Lorena Lacayo Romero

Docente. Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua. Centro de Investigación en Biotecnología. Managua, Nicaragua
mlacayor@unan.edu.ni
<https://orcid.org/0000-0002-6918-7796>

Recibido: 22-08-2024

Aceptado: 16/05/2025

Resumen

El presente artículo sintetiza los resultados de estudios realizados por el equipo de investigadores de diferentes áreas del Centro de Investigación en Biotecnología (CIB/UNAN-Managua). Las investigaciones iniciaron por una caracterización físico, química y microbiológica de sedimentos y agua en sitios expuestos a contaminación como consecuencia de la actividad minera artesanal y curtiduría. Al sintetizar estos hallazgos es posible visualizar que mediante la acción de microorganismos es posible plantear alternativas a los problemas ambientales identificados. Es por esta razón, que se hace énfasis en los métodos utilizados durante su realización y sus principales hallazgos. El CIB/UNAN-Managua pretende diseñar tecnologías de biorremediación, las cuales no son invasivas y son consideradas ambientalmente amigables a la vez contribuye al cumplimiento de los Objetivos de Desarrollo Sostenible. Los resultados sugieren que los consorcios fúngicos aislados de los depósitos de minería podrían ser utilizados para remover metales, según los investigadores la remoción podría ser mayor si se hace uso de fitolixiviación. Los microorganismos aislados del aceite vegetal usado podrían ser utilizados en el tratamiento de aguas residuales con altas concentraciones de aceites y grasas. Es importante mencionar que la ejecución de estas acciones de restauración vincula significativamente a la universidad y el estado.



© Copyright 2025.
Universidad Nacional
Autónoma de Nicaragua,
Managua (UNAN-Managua)

DOI: <https://doi.org/10.5377/recoso.v8i13.20585>

Palabras claves

*Biorremediación,
bioprospección,
inmovilización,
fitorremediación.*

Abstract

This article summarizes the results of studies carried out by a team of researchers from different areas of the Biotechnology Research Center (CIB/UNAN-Managua). The research began with a physical, chemical and microbiological characterization of sediments and water in sites exposed to contamination as a result of artisanal mining and tanning activities. By summarizing these findings, it is possible to visualize that through the action of microorganisms it is possible to propose alternatives to the identified environmental problems. For this reason, emphasis is placed on the methods used during its implementation and its main findings. The CIB/UNAN-Managua aims to design Bioremediation technologies, which are non-invasive and are considered environmentally friendly while contributing to the fulfillment of the Sustainable Development Goals. The results suggest that fungal consortia isolated from mining deposits could be used to remove metals; according to the researchers, removal could be greater if phytoleaching is used. Microorganisms isolated from used vegetable oil could be used in the treatment of wastewater with high concentrations of oils and fats. It is important to mention that the execution of these restoration actions significantly links the university and the state.

Keywords

Bioremediation, bioprospecting, immobilization, phytoremediation.

Introducción

Las investigaciones deben ser formuladas en consonancia con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS) del Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo (PNUD, 2015), los cuales establecen una serie de metas comunes para proteger el planeta y garantizar el bienestar social. Por esta razón, el CIB/UNAN-Managua se ha comprometido en propiciar, desarrollar y divulgar resultados de ensayos a escala de laboratorio en el área de biotecnología ambiental, con el objetivo de contribuir al diseño de tecnologías científicas innovadoras para revalorizar la diversidad microbiana y su incidencia en la restauración ambiental.

La presente publicación se centrará en los resultados obtenidos mediante la búsqueda de microorganismos con capacidad para recuperar suelos y cuerpos de agua contaminados por hidrocarburos y metales pesados.

Antecedentes

El tratamiento de sustancias peligrosas representa un gran desafío, siendo la reducción de la producción de residuos la mejor manera de proteger el medio ambiente. En este sentido, Chicaiza-Ortiz et al., (2023), señalan que:

La biotecnología ambiental propicia avances significativos para alcanzar las metas propuestas en la agenda 2030 de la ONU, enmarcando siete de estos objetivos por medio de la mejora en las tecnologías de remediación en aguas superficiales, subterráneas, suelos y en la estabilidad ecosistémica, climática y en la salud de los organismos (p. 11).

Por lo tanto, toda actividad debe satisfacer las necesidades de la generación actual sin comprometer las necesidades de las generaciones futuras; es decir, la solución reside en el desarrollo sostenible (Chicaiza-Ortiz et al., 2023).

Ante esta problemática, la remediación microbiana surge como una alternativa que consiste en aplicar microorganismos directamente en el sitio de la contaminación. Estos pueden pertenecer o no al entorno, en este sentido Casas-Martínez al. (2022) indican:

La descontaminación se produce debido a la capacidad natural que tienen ciertos organismos de transformar moléculas orgánicas en sustancias más pequeñas, que resultan menos tóxicas. Otra de las ventajas es que muchos contaminantes tienen estructuras similares a las presentes en compuestos naturales por lo que son fácilmente degradados por los microorganismos del suelo y del agua. No obstante, existen otros compuestos con estructuras o sustituyentes más complejos de origen xenobiótico, que son difícilmente catabolizados (p.100).

Es posible emplear otros mecanismos como es la degradación enzimática que consiste en la aplicación de enzimas en el sitio contaminado. Las enzimas provienen tanto de bacterias como de hongos los cuales generalmente han sido genéticamente modificados para aumentar su productividad, a través de compañías de biotecnología dedicadas a ello, es importante mencionar que pueden ser intracelular o extracelulares en ambos casos se requiere de un proceso de extracción y purificación enzimática (Casas-Martínez et al., 2022).

La sostenibilidad de los recursos naturales es también parte de los ODS, por lo tanto, propicia la bioprospección y la bioeconomía como herramientas principales para el uso razonable de los mismos (Durán-Izquierdo, 2022).

El CIB/UNAN-Managua se ha centrado en investigaciones dirigidas a la búsqueda de microorganismos con potencial para la recuperación de suelos y cuerpos de agua. Por consiguiente, se han caracterizado física, química y microbiológica diferentes lugares de Nicaragua donde se han identificado problemas ambientales relevantes. Tal es el caso del Río Chiquito, ubicado en la ciudad de León, donde la contaminación se ha agravado y este afluente natural se percibe como una amenaza para la salud pública.

Partiendo de esta situación Esquivel Quezada y Lacayo Romero (2020), evaluaron el impacto de las aguas residuales domésticas y semi industriales sobre la calidad fisicoquímica de este cuerpo de agua entre mayo 2016 - enero 2017. Al comparar las concentraciones de los metales estudiados y otros parámetros fisicoquímicos con los índices de calidad de agua se identificaron altos niveles de contaminación, como sólidos suspendidos, materia orgánica y metales como Al, Cr 3+, Cu, Mn, Se, V y Zn. Los resultados también sugieren que la principal fuente de contaminación probablemente se derive de descargas de aguas residuales municipales y de tenerías. En mayo, en el sitio identificado como aguas arriba se detectó cromo hexavalente, el cual se encuentra naturalmente en la corteza terrestre y está ampliamente distribuido en el aire, el agua, el suelo y los alimentos.

El cromo (III) es un oligoelemento esencial en los seres humanos. La exposición ambiental específicamente a compuestos de cromo (VI) es difícil de cuantificar, porque rara vez se identifican formas específicas de cromo en los estudios de exposición. Aunque sus compuestos en el medio ambiente pueden reducirse a compuestos de cromo (III), las formas hexavalentes pueden persistir en algunas condiciones. La población general puede estar expuesta a compuestos de cromo (VI) mediante la inhalación del aire, la ingestión de agua o el contacto dérmico con productos que lo contienen como la madera tratada a presión, personas que viven cerca de instalaciones industriales o cerca de sitios de eliminación de desechos de cromo. Los compuestos de cromo (VI) son utilizados ampliamente como inhibidores de la corrosión, en la fabricación de pigmentos, en el acabado de metales y cromado, en la producción de acero inoxidable, en el curtido del cuero y en conservantes de la madera. Además, los estudios revelan que puede causar cáncer de pulmón (National Toxicology Program, 2024).

Los microorganismos desempeñan un papel crucial en todo proceso de depuración del agua, debido a sus mecanismos de interacción con el ambiente. Por esta razón, los desechos líquidos de diferentes sectores, tanto industriales como municipales, son tratados por vía biológica. En la búsqueda de una respuesta a la contaminación de los cuerpos de agua, se realizó una bioprospección bacteriana en el Río Chiquito, recolectando muestras de sedimentos en los sitios previamente estudiados por Esquivel y Lacayo (2020). En otra investigación, se aislaron bacterias que, bajo condiciones controladas podrían ser utilizadas para la recuperación de cuerpos de agua (Pérez y Uriarte, 2022).

El CIB/UNAN-Managua ha aislado microorganismos fúngicos del aceite vegetal usado con el propósito de que sean utilizados en la biorremediación. Por lo que se colectaron muestras del laboratorio de productos verdes las cuales fueron inoculadas hasta lograr cultivos axénicos, se seleccionó el género con mayor actividad enzimática, este trabajo investigativo utilizó el aceite de cocinar usado, como única fuente de sustrato de los consorcios fúngicos aislados (Pérez et al., 2021).

Como se ha mencionado, toda actividad genera un impacto, por ejemplo, la actividad minera artesanal en Santo Domingo y La Libertad, Chontales. Dichas actividades han sido consideradas una actividad económica importante en la historia del territorio; y las universidades tienen la responsabilidad de contribuir a su sostenibilidad mediante estrategias de remediación que sean sostenibles y amigables con el ambiente. Al respecto, el CIB/UNAN-Managua realizó una caracterización físico químico y microbiológica en el sedimento del Río Artiguas y los lugares conocidos popularmente como Rastras donde se procesa el material para extraer el oro, simultáneamente se analizaron plantas (gramíneas y arbustivas) para conocer su potencial fitorremediador.

La biorremediación se enfoca en la restauración de los ecosistemas por lo que la fitorremediación, es una estrategia promisoría. Basado en este argumento fue evaluado el *Paspalum conjugatum* en diferentes condiciones, por ejemplo, su interacción con hongos autóctonos y micorrízicos, así

como textura del sustrato, el cual fue aislado del Botadero La Estrella en Santo Domingo, Chontales. La influencia de estos tratamientos sobre los patrones de acumulación, distribución y lixiviación de metales y metaloides, confirman que *P. conjugatum* tiene un alto potencial como fitorremediador, se determinó que acumula selenio, mercurio y zinc este patrón fue más notorio en la interacción con hongos autóctonos. Es importante mencionar, que este potencial se debe a las características fisiológicas de esta gramínea, los mecanismos que intervienen son conocidos como factores de translocación (FT) y bioconcentración (BCFs) los cuales consisten en remover los metales y metaloides del sedimento y distribuirlos a los diferentes órganos vegetativos aéreos (tallo + hojas) y a la raíz (Areas y Herrera, 2015).

Materiales y método

Es fundamental describir los materiales y métodos utilizados en las investigaciones destacadas en este documento, desde la recolección de muestras hasta los análisis realizados.

Antes de biorremediar un área contaminada es necesario caracterizarla física, química y microbiológica para identificar las posibles fuentes de contaminación y estimar la viabilidad de los microorganismos. Por esta razón, los investigadores llevaron a cabo el estudio de Bioprospección bacteriana en sedimento del Río Chiquito, en León, Nicaragua. Durante época seca y lluviosa, colectaron las muestras en dos períodos, en enero y octubre del 2021. Se seleccionaron dos sitios, considerando contaminación directa (ME) con las coordenadas 1373347 Norte y 0511241 y otro que aparentemente no estuviera expuesto (MR) 1374523 Norte y 0514025 Este. Se utilizó una draga Van Veen con capacidad de un kilogramo. Los análisis realizados se detallan en la Tabla 1. El aislamiento microbiológico se hizo en diluciones seriadas en solución salina (0.85 % p / v) y se inoculo en Agar estándar método, hasta obtener cultivos axénicos se incubo a 35°C durante 48 horas. La identificación estructural se realizó mediante la Tinción de Gram. (Pérez y Uriarte, 2022).

Tabla 1

Análisis realizados en sedimento del Río Chiquito

Parámetro	Método
pH acuoso	USEPA9045D
Conductividad eléctrica	USEPA9045D
Contenido de humedad	ASTM D 2974-87
Materia orgánica	Margesin and Schiner
Cromo hexavalente	USEPA 3060.A-1
Arsénico	USEPA 200-7
Hierro	USEPA 200-7
Manganeso	USEPA 200-7
Plomo	USEPA 200-7
Textura	ASTM 422-63 ASTM 854-02

Nota: Tomado de Pérez y Uriarte, (2022).

En la búsqueda de soluciones a problemas ambientales, los investigadores del CIB/UNAN-Managua proponen alternativas para contribuir a los objetivos de desarrollo sostenible, enfatizando en el reciclaje del aceite vegetal usado. Por esta razón, se aislaron macroorganismos de esta matriz.

El estudio titulado: Actividad lipolítica de hongos aislados del aceite de cocinar usado y de suelos de talleres mecánicos, obtuvo las muestras del laboratorio de productos verdes del CIB/UNAN-Managua. En cuando a las muestras de suelos contaminados con aceite, se seleccionó un sitio con mayor exposición a l derrame. Ambas fueron inoculadas en agar papa dextrosa. Se emplearon dos técnicas de inoculación: derrame en placa y extensión en superficie o por agotamiento. El sustrato fue aceite de cocinar usado, esterilizado con filtros de 0.22 μm , se incubaron durante 7 días a 35 $^{\circ}\text{C}$. (Pérez et al., 2021)

En el CIB/UNAN-Managua se realizó a escala de laboratorio un proyecto de investigación innovador y con mayores ventajas en comparación a la remoción de contaminantes con células libres. El trabajo consistió en evaluar la viabilidad de las esporas de *Aspergillus awamori* en Criogeles. Este microorganismo fue aislado de sedimentos provenientes de la actividad minera artesanal en Santo Domingo, Chontales. Los hongos se cultivaron en placas con agar papa dextrosa más Cloranfenicol a $27 \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante cinco días. Para el atrapamiento de las esporas se preparó una solución de alcohol polivinílico (peso molecular es de 85,000-124,000 99% + % des hidrolizado,) a diferentes concentraciones (p/v) de 10%, 12% y 15%, esterilizado a 121 $^{\circ}\text{C}$ por 15 minutos. La criogelización se efectuó a -18 $^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, en un termostato Fisher Scientific Isotemp 6200 R28 previamente calibrado a -18 $^{\circ}\text{C}$ y acondicionado con alcohol al 96%. Posteriormente se activaron las esporas en Erlenmeyer de 1000 mL, conteniendo 500 mL de medio de cultivo compuesto por (g/litro): Glucosa 120; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 3.0; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 0.3; $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 0.05; KH_2PO_4 , 0.2. Se ajustó a pH 6.0 y se esterilizó a 121 $^{\circ}\text{C}$ por 15 minutos. Las esporas viables (libres e inmovilizadas) se determinaron por conteo en placa, las muestras se colectaron cada 24 horas por cinco días (Plata Oviedo et al., 2021).

El proceso de biorremediación requiere la combinación de otras técnicas para mejorar su eficiencia, por ejemplo; la asociación de plantas herbáceas con micorrizas. Por lo tanto, se realizó un estudio donde se evaluó la estrategia de fitorremediación en diferentes condiciones. El diseño experimental consistió en un arreglo de tratamiento por conveniencia, no probabilístico utilizando 35 plantas de *Paspalum conjugatum* El ensayo tuvo una duración de 90 días: se saturó el sedimento para inducir al lixiviado el cual fue colectado y preservado para ser analizado por ICP-OES. La estimación del nivel de colonización de las micorrizas se realizó según Trouvelot y Gianinazzi (1986). Se realizaron siete tratamientos y sus respectivos controles. El análisis de metales metaloides, en sedimento, lixiviado y diferentes secciones de las plantas se hizo según metodología estandarizada de la USEPA 200-7 (Areas y Herrera, 2015).

Resultados y discusión

Las investigaciones incluidas en este artículo comparten un objetivo en común; proponer soluciones a los crecientes problemas ambientales mediante alternativas viables y amigables con el medio ambiente.

Los temas de investigación surgieron de estudios de caracterización de sitios en Nicaragua, predominantemente contaminados por actividades económicas artesanales, tales como la minería, las tenerías y residuos de aceite vegetal usado.

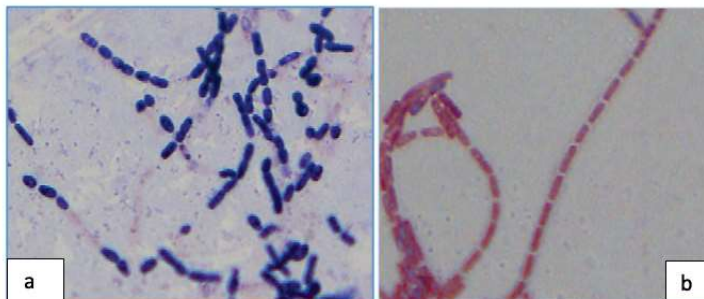
Para mitigar los efectos adversos en la salud humana y la contaminación ambiental, se optó por aislar consorcios fúngicos y bacterianos de sedimentos mineros y cuerpos de agua contaminados. Los resultados sugieren que estas cepas son capaces de tolerar las concentraciones de metales y metaloides, por lo que podrían ser ampliamente usados en la remoción de estos contaminantes. Incluso, su potencial podría incrementarse optimizando sus condiciones de cultivo, o modificando su composición genética mediante diversas tecnologías, de manera que puedan tolerar concentraciones mayores a las que naturalmente habitan.

Con respecto al consorcio fúngico aislado del aceite vegetal usado, estos hongos lipolíticos podrían ser una alternativa a las plantas de tratamientos de aguas residuales, las cuales enfrentan desafíos significativos en la remoción de grasas y aceites.

Los resultados de la bioprospección bacteriana realizada en el Río Chiquito indican que, a pesar de determinar concentraciones de manganeso y plomo las bacterias estaban viables y se confirma con el análisis de actividad enzimática (3219 μg de Pnp /g.10 min). Otro dato relevante de este estudio es que probablemente las concentraciones de plomo detectadas de 12 y 22 mg.kg^{-1} en invierno y verano respectivamente, podrían provocar afectaciones en la diversidad microbiana, no así en la densidad, lo que hace suponer que los microorganismos identificados han creado resistencia a la presencia del plomo, por los diversos mecanismos de interacción (Pérez y Uriarte, 2022). En la Figura 1, se puede observar bacterias gram positivas (a) y gram negativas (b) aisladas del sedimento del Río Chiquito.

Figura 1

Tinción de Gram de bacterias aisladas del Río Chiquito, León, Nicaragua.

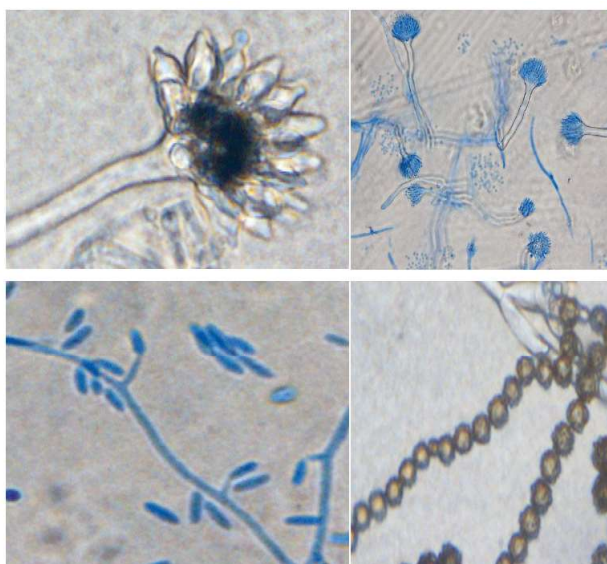


Nota: (a) gram positiva. (b) gram negativas. Tomado de archivo fotográfico del CIB/UNAN-Managua

El consorcio fúngico aislado del aceite vegetal usado generó resultados relevantes; debido a que se determinó actividad enzimática. Esto indica que podría ser considerado como una opción en la composición del medio de cultivo de hongos lipolíticos, el cual es altamente costoso. Además, podrían emplearse para bioaumentación en las plantas de tratamiento de aguas residuales, con el fin de incrementar los porcentajes de remoción de aceites y grasas. La mayor actividad enzimática de los géneros identificados del consorcio fue para *Aspergillus* 0.0777 (U/ml) se obtuvo a las 144 horas, cuando el cultivo fue evaluado con aireación y alimentación continua (Pérez et al., 2021). En la Figura 2 se presentan algunas estructuras de géneros aislados del aceite vegetal usado, los cuales forman parte del cepario del CIB/UNAN-Managua.

Figura 2

Identificación microscópica del género de hongos lipolíticos aislados del aceite vegetal usado.



Nota: Tomado de archivo fotográfico del CIB/UNAN-Managua

Las esporas de *Aspergillus awamori* inmovilizadas en alcohol polivinílico (PVA) a diferentes concentraciones (10, 12, y 15 % (p/v)), revelaron que es un método viable ya que no afecta al microorganismo; debido a que la viabilidad fue similar en esporas inmovilizadas y libres; además indica que las bajas temperaturas a las que fueron expuestas no dañan la estructura de las esporas. Esta tecnología de inmovilización pudiera ser aplicada en Biorremediación, al inmovilizar los microorganismos éstos pudieran ser reutilizados en diferentes áreas como, por ejemplo, biotecnología industrial esto aminora costos en los procesos de producción debido a que disminuye la cantidad de células en suspensión. (Plata Oviedo et al., 2021)

La investigación realizada por Areas y Herrera (2015), enfocada en la búsqueda de una gramínea con potencial fitorremediador produjo interesantes resultados:

Los factores de bio-concentración raíz/sustrato (BCF) y los patrones de acumulación de los metales y metaloides de interés permiten identificar un alto potencial de acumulación en *P. conjugatum* para Selenio (1.2-9.8), Mercurio (1.2-4.8) y Zinc (0.9-1.1). Los factores de Traslocación (FT) permiten identificar un alto potencial de distribución de la raíz a los órganos vegetativos aéreos (tallo + hojas) para selenio (0.1-5.4) y cromo (0.3-1.0). Por lo tanto, *Paspalum conjugatum* tiene potencial de fito-extracción importante para algunos metales y metaloides (pp.15, 54).

Conclusiones

Las recopilaciones de resultados de las últimas investigaciones realizadas en el CIB/UNAN-Managua en el área de Biotecnología ambiental aportan alternativas a los problemas ambientales generados por las tenerías, minería artesanal y residuos de aceite vegetal usado. La creación de innovadoras tecnologías de biorremediación es potencialmente viable desde el punto de vista ecológico debido que los microorganismos son aislados de los sitios contaminados esto se hace con el objetivo de que las técnicas a utilizar no sean invasivas al medio.

Es importante mencionar que las investigaciones contribuirán significativamente a la vinculación universidad estado sociedad, debido a que su finalidad es restaurar ambientes contaminados, de esta manera se aporta al desarrollo sostenible.

Recomendaciones

- Promover la vinculación de la IES con la empresa privada y gubernamental para aplicar a mayor escala los ensayos realizados en el Centro de Investigación en Biotecnología.
- Realizar campañas de concienciación mediante la Educación ambiental formal e informal.

Referencias bibliográficas

- Areas Bermúdez, V. M., y Herrera Gutiérrez, B. J. (2015) *Evaluación del potencial de fitorremediación de Paspalum conjugatum P. J. Bergius y hongos autóctonos en sedimentos contaminados por metales y metaloides del Botadero La Estrella, Santo Domingo, Chontales*. [Tesis, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Managua]. <http://repositorio.unan.edu.ni/id/eprint/13742>
- Casas-Martínez, Y. D. P., Fuquen-Fúquene, I. T. y Gómez-Rodríguez, A. M. (2022). *Avances en biotecnología ambiental: biorremediación de plásticos*. 13+, 4(2). <https://doi.org/10.24267/23462329.939>
- Chicaiza-Ortiz, C. D., Rivadeneira-Arias, V. del C., Herrera-Feijoo, R. J., y Andrade, J. C. (2023, May 10). *Biotecnología Ambiental, Aplicaciones y Tendencias*. Editorial Grupo AEA. <https://doi.org/10.55813/egaea.l.2022.25>
- Durán-Izquierdo, M. (2022). *Sierra Nevada de Santa Marta: Entre las presiones antrópicas y el uso sostenible de sus recursos*. [Tesis doctoral, Universidad de Cartagena]. <http://dx.doi.org/10.57799/11227/11887>
- Esquivel Quezada, J. L., y Lacayo Romero, M. (2020). *Evaluación del impacto de las aguas residuales domésticas y semi-industriales sobre la calidad físico-química del río Chiquito, León, en el periodo de mayo 2016-enero 2017*. Revista Torreón Universitario, 9(25), 58–76. <https://doi.org/10.5377/torreon.v9i25.9854>
- National Toxicology Program. (13 de febrero de 2024). *National Toxicology Program U.S. Department of Health and Human Services*. <https://doi.org/10.22427/NTP-OTHER-1003>
- Pérez, Z. F., y Uriarte Ortiz, R. B. (2022). *Bioprospección bacteriana en sedimento del Río Chiquito, en León, Nicaragua durante época seca y lluviosa*. Revista Torreón Universitario, 11(32). <https://doi.org/10.5377/rtu.v11i32.15034>
- Pérez, Z., Uriarte Ortiz, R., y Gazo, G. (2021). *Actividad lipolítica de hongos aislados del aceite de cocinar usado y de suelos de talleres mecánicos*. Revista Torreón Universitario, 10(27), 119–129. <https://doi.org/10.5377/torreon.v10i27.10845>
- Plata Oviedo, M., Pérez, Z., Lacayo Romero, M., y Gazo, G. (2021). *Viabilidad de esporas de Aspergillus awamori inmovilizado en Criogeles*. Revista Torreón Universitario, 10(29), 129–135. <https://doi.org/10.5377/rtu.v10i29.12739>
- Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo. (2015). *Objetivo del Desarrollo Sostenible*. <https://www.undp.org/es/sustainable-development-goals>

Trouvelot A, K. J., y Gianinazzi, P. V. (1986). *Mesure du taux de mycorhization VA d'un système racinaire*. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. INRA, Paris. <https://www2.dijon.inrae.fr/mychintec/Protocole/protoframe.html>

