

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

Evaluación de la diversidad de hongos microscópicos cultivables de la zona mínima de oxígeno de la costa del Pacífico mexicano

QUE PRESENTA LA ALUMNA

LAURA ALEJANDRA CALDERON WINGARTZ

Matrícula

2193028636

ASESORES

ASESOR INTERNO- Dr. JOSÉ ANTONIO MATA SOTRES

(No. Eco. 44314)

Laboratorio de microbiología acuática

ASESOR EXTERNO- Dra. PATRICIA VÉLEZ AGUILAR

Número de cédula: 09111434

Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México

Índice

Resumen.....	1
Introducción	2
Lugar donde se realizó el servicio social.....	3
Marco institucional.....	3
Objetivo de las actividades realizadas.....	5
<i>Objetivo General</i>	5
<i>Objetivos Particulares</i>	5
Descripción específica de las actividades desarrolladas.....	5
<i>Área de estudio</i>	5
<i>Revisión bibliográfica</i>	6
<i>Aislamiento de los hongos</i>	7
Descripción del vínculo de las actividades desarrolladas con los objetivos de formación del plan de estudios.	15
Referencias bibliográficas	16

Resumen

El estudio de la diversidad microbiana es crucial para comprender el funcionamiento de los ecosistemas, por su potencial bioprospección, y para la regulación de enfermedades. Una parte considerable de estos estudios se ha enfocado en analizar organismos procariontes (bacterias y arqueas) descuidando el entendimiento de las comunidades de organismos microeucariontes, como lo es el caso de los hongos marinos. Las zonas mínimas de oxígeno (ZMO) se definen como regiones del océano donde las concentraciones del oxígeno disuelto son significativamente bajas ($<20 \mu\text{mol O}_2$ por kg de agua). Se tiene registro de estos ambientes extremos desde 1960, debido al aumento de la temperatura y la eutrofización del océano. Las ZMO alteran la dinámica de las redes tróficas, los ciclos biogeoquímicos y son responsables de la producción de gases invernadero. En ese contexto, el análisis sobre expansión y ecología microbiana de las ZMO son necesarios para entender cómo se modificarán los ambientes marinos tras la desoxigenación. En consecuencia, el presente servicio social tuvo como objetivo general desarrollar una metodología y determinar la diversidad de hongos microscópicos cultivables de la ZMO del Océano Pacífico mexicano en la costa de Mazatlán. Para ello, se realizó una revisión bibliográfica sistemática con el fin de recopilar información de la diversidad fúngica presente en las ZMO del mundo. Adicionalmente, se desarrolló un sistema para obtener aislados fúngicos axénicos por medio del método de plaqueo directo con la construcción de una cámara anaerobia con materiales de fácil acceso. Los aislados se agruparon en morfotipos. Por último, se depositó el material en la colección de cultivos del laboratorio de ecología molecular y conservación de micromicetes del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. El diseño, recolección de materiales de fácil acceso y construcción de la construcción de la cámara anaerobia resultaron exitosos, logrando recrear el ambiente idóneo para el cultivo de los hongos obteniendo un total de 11 hongos con 19 individuos.

Palabras clave: cámara anaerobia, ambientes marinos, oxígeno, micromicetes, cultivo

Introducción

Las zonas mínimas de oxígeno (ZMO) son ambientes marinos extremos poco explorados. Se caracterizan por presentar concentraciones bajas de O₂ (<20 μmol O₂ por kg de agua). Estas zonas se forman cuando hay una alta demanda respiratoria durante degradación de la materia orgánica que excede la disponibilidad de O₂ en condiciones deficientes. Desde 1960 se registró su expansión impulsada en gran medida por el aumento de la temperatura del agua que disminuye la solubilidad del O₂, junto con las actividades antrópicas que promueven la eutrofización (Wright et al., 2012; Long et al., 2021).

La expansión de las ZMO tiene un impacto significativo en los procesos biogeoquímicos de los microbios marinos. Conforme el oxígeno disminuye, la energía se desvía de los niveles tróficos superiores hacia el metabolismo microbiano, lo que resulta en la pérdida de nitrógeno fijado y la producción de gases de efecto invernadero como el metano y el óxido nitroso que tienen efectos significativos en el clima (Wright, et al., 2012; Long et al., 2021).

Por lo tanto, el estudio de las ZMO es vital para comprender cómo el cambio climático puede alterar los entornos marinos. Adicionalmente, el análisis actual sobre la formación, expansión y ecología microbiana de las ZMO puede resultar útil para predecir cómo se modificarán los ambientes marinos tras la desoxigenación (Long et al., 2021).

No obstante, una parte importante de la literatura científica se ha centrado en describir el impacto de las comunidades microbianas en los ciclos biogeoquímicos en las bacterias y las arqueas, mientras que los microeucariontes, en particular los hongos, han recibido mucha menos atención a pesar de que se ha registrado que contribuyen a la producción de óxido nitroso (N₂O), en un intervalo del 18 y el 22% desde la oxiclina hasta la interfaz óxica-anóxica (Peng y Valentine, 2021).

El desconocimiento de la diversidad fúngica en ZMO es aún más evidente en el contexto de la microbiota mexicana. Ya que la mayoría de las investigaciones se

centran en la diversidad macroscópica, limitando de esta manera nuestro conocimiento en la diversidad fúngica y sus funciones en los ciclos biogeoquímicos oceánicos. Por ende, las especies que habitan en ambientes marinos extremos han sido menos descritas e incluso han recibido menor atención que los hongos terrestres (Valderrama et al., 2016; De Obeso y Scheckhuber, 2021; Gonçalves et al., 2022).

Sumado a esto, el estudio de la diversidad de organismos de ambientes extremos, como es el caso de los micromicetes de la ZMO más grande del mundo ubicada en el puerto de Sinaloa en Mazatlán, resulta ser costoso pues las cámaras anaerobias son demasiado caras (\$25,000 a \$50,000 dólares) limitando así nuestra comprensión de estos ambientes (Hong et al., 2021).

Por lo tanto, el presente servicio social se enfocó en contribuir al estudio de los hongos cultivables de ZMO mediante una cámara anaerobia casera, permitiendo así poner en práctica las habilidades adquiridas durante la licenciatura de Biología, cumpliendo con el perfil de egreso de la Universidad Autónoma Metropolitana establecido en 2016.

Como resultado realicé actividades científicas que me permitieron conocer la realidad a partir de un enfoque científico y metodológico, orientado a la resolución de problemas concretos mediante la comprensión de la biodiversidad y su entendimiento como el fundamento de los recursos naturales bióticos (UAM, 2016, 2019).

Lugar donde se realizó el servicio social

Las actividades relacionadas con la profesión se realizaron en el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (IBUNAM) fundada en 1929, en el laboratorio de ecología molecular y conservación de micromicetes, con dirección Cto. Zona Deportiva S/N, C.U., Coyoacán, 04510 Ciudad de México, CDMX.

Marco institucional

El IBUNAM en su esfuerzo por contribuir al conocimiento científico de la biodiversidad de México y del mundo, así como cumplir con su responsabilidad social a través de la investigación, docencia y extensión de la cultura, ha establecido, dentro del marco institucional, una misión y visión coherentes con su identidad.

Misión:

Llevar a cabo el descubrimiento, descripción y documentación sistematizada de la biodiversidad, realizando investigación científica sobre su origen, mantenimiento, distribución e interacciones. El conocimiento generado a partir de estas actividades se apoya en las colecciones biológicas nacionales las cuales se encuentran albergadas y protegidas para el estudio de sus acervos.

La misión también comprende generar conocimientos acerca de la conservación, el uso sostenible de los recursos naturales y la búsqueda de soluciones a problemas relativos a la biota nacional, contribuyendo así con el desarrollo de la sociedad mexicana. Por último, se establece aportar sustantivamente en la formación de recursos profesionales de alto nivel y participar en la difusión del conocimiento con el propósito de contribuir a la comprensión y conservación de la diversidad biológica (Hernández, 2003; *IBUNAM*, 2021).

Visión:

Aprovechar las capacidades y recursos existentes para consolidar al IB como una institución líder y referente global en la investigación de la biodiversidad, incorporando y mejorando los componentes analíticos. Bajo este contexto se utilizará la biota mesoamericana como modelo para comprender los procesos evolutivos involucrados en el origen y la conservación de la Biodiversidad, fomentando su preservación y uso sostenible en beneficio de la sociedad.

Esta visión científica se basa en la combinación sobresaliente de tres rasgos únicos del IB: la composición y competencias de su planta académica; las Colecciones Biológicas Nacionales; y estar asentado en un foco mundial de biodiversidad.

Compromiso con la sociedad:

El IBUNAM es una institución que realiza investigaciones y descubrimientos enfocados en la biodiversidad y la gestión ambiental apoyándose en múltiples colecciones biológicas. Por ende, su compromiso con la sociedad abarca desde formar profesionistas, investigadores y técnicos útiles a la nación hasta la difusión del conocimiento, con la mayor amplitud posible, de los beneficios de la cultura biológica y la conciencia de su importancia (Hernández, 2003).

Objetivo de las actividades realizadas

Objetivo General.

Desarrollar una metodología y determinar la diversidad de hongos microscópicos cultivables de la ZMO del Océano Pacífico mexicano en la costa de Mazatlán.

Objetivos Particulares.

1. Obtener aislados axénicos de micromicetes a partir de muestras de sedimento de la zona mínima de oxígeno de la costa del Pacífico mexicano, recreando condiciones anaeróbicas para su cultivo.
2. Agrupar los aislados en morfotipos con base en sus características macroscópicas.
3. Estimar de la riqueza y abundancia de especie

Descripción específica de las actividades desarrolladas

Área de estudio

La ZMO del Pacífico mexicano, localizada frente al puerto de Mazatlán en el estado de Sinaloa (23.2329 N, -106.4062 O) forma parte del Pacífico norte oriental. Esta región es el hogar de la ZMO más grande del mundo cuyo espesor ha aumentado 300 m desde 1965, posee condiciones redox prevalentes que no solo influyen en los ecosistemas marinos y la dinámica de la vida marina, sino que también favorecen procesos biogeoquímicos clave como la desnitrificación y los ciclos del azufre y el metano (Bakker, 2017; Long et al., 2021; Posadas, et al., 2024) (Figura 1).

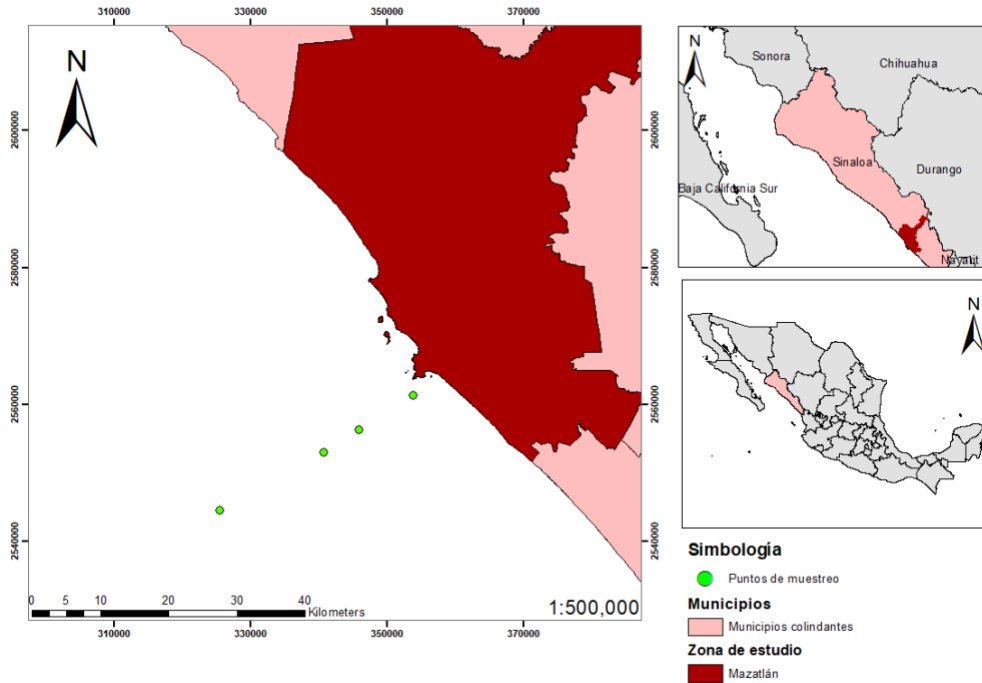


Figura 1. ZMO de puerto de Mazatlán modificada de Posadas et al., 2024

Revisión bibliográfica

Se llevó a cabo una revisión bibliográfica sistemática para identificar y recopilar información relevante sobre la diversidad fúngica de la ZMO de la costa del Pacífico mexicano, así como los procesos de elaborar un cámara anaerobia cacera, mediante el uso de plataformas como Google académico, Elsevier y Springer. Se utilizó una serie de palabras clave específicas para optimizar la búsqueda como: “zona mínima de oxígeno”, “hongos”, “Eastern Tropical Pacific”, “biodiversidad”, “biotecnología”, “hongos marinos”, “rol ecológico”, “desnitrificación”, “anaerobic chamber”.

Se consideraron los siguientes criterios de inclusión para la selección de la literatura:

- a) Título, resumen y palabras clave: Se revisarán estos elementos para determinar si el artículo aborda temas del rol ecológico de los hongos de las ZMO en la desnitrificación junto con su potencial biotecnológico.

- b) Fecha de publicación: Se limitará la búsqueda a trabajos publicados en un período 15 años aproximadamente para garantizar la actualidad de los datos.
- c) Idioma: Se incluirán artículos en español e inglés, ya que estos son los idiomas de relevancia en México y en la literatura científica internacional.

La búsqueda de información arrojó como resultado 23 artículos. La mayoría de ellos, en inglés y abordan temáticas que van desde el potencial biotecnológico de los hongos, sus propiedades fisiológicas y su capacidad para reducir de nitrógeno en las ZMO, hasta las características generales de dichas zonas y su ecología. Asimismo, se encontró información de la construcción y operación de distintas cámaras anaerobias. Gran parte de la literatura consultada se conforma por artículos de análisis cuantitativos y cualitativos, a expresión de 2 capítulos de libro.

Se hallaron 8 artículos sobre ZMO, dentro de estas referencias destacan 3 que hablan directamente de la ZMO del Océano Pacífico mexicano. En cuanto a referencias sobre la construcción de cámaras anaerobias caseras se detectaron dos trabajos fundamentales para plantear el diseño más óptimo con los materiales accesibles (Maiti et al., 2013; Instructables; 2013; Tetragrowth 2020.).

Aislamiento de los hongos.

El diseño de la cámara está influenciado por Maiti y colaboradores (2013), quienes comprobaron que se lograban concentraciones bajas de oxígeno con una reacción de combustión de una vela dentro de un frasco para el cultivo de bacterias.

La recolección de materiales para la construcción de la cámara anaerobia casera fue exitosa. A pesar de que existe poca literatura sobre su elaboración se logró plantear cuáles serían los mejores para su diseño (Figura 2). Se estableció que la mejor manera de sellar la cámara y mantener un ambiente anóxico sería sellándola

con cinta aislante para sellar ventanas de espuma de polietileno, junto con pegamento epóxico JB weld, así como 6 piezas o abrazaderas tipo C.

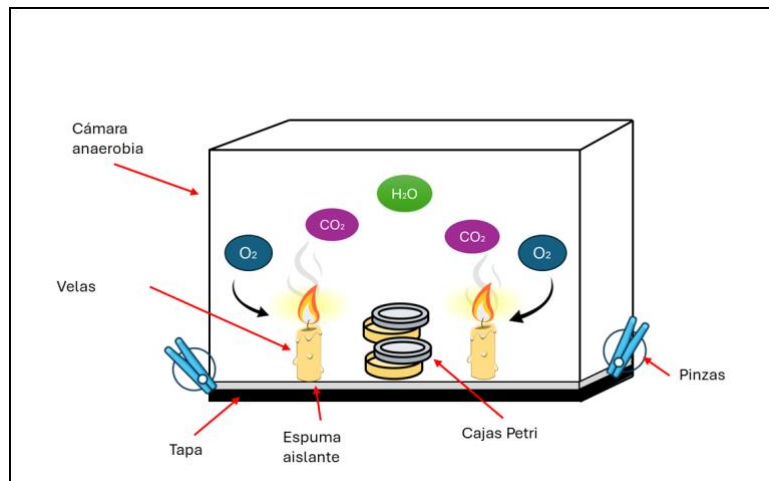


Figura 2. Esquema de la estructura y funcionamiento de la cámara anaerobia casera

A diferencia de las fuentes consultadas se decidió omitir la implementación de guantes y el sistema de doble escotilla, ya que el experimente no requería de estos elementos. Adicionalmente para el monitoreo e incubación de los hongos se decidió usar una caja de plástico transparente, debido a que es un material de fácil acceso a comparación del acero y el vidrio utilizados en otras cámaras caceras (Instructables, 2013; Zambrano 2019; Tetragrowth, 2020; Hong et al., 2021).

Se escogió una reacción de combustión como mecanismo para agotar el oxígeno, en cual el combustible o la mecha de la vela reacciona con el oxígeno (coburente) produciendo calor y luz, generando como productos CO_2 y H_2O en forma de vapor.

La estandarización se realizó mediante pruebas con velas de diferentes tamaños para verificar que se consumiera el oxígeno sin que la integridad de la cámara de viera afectada (Figura 3), comprobando así que las velas pequeñas eran las más eficientes. De este modo las 2 velas consumieron el oxígeno en 3 minutos con 31 segundos, repetimos la prueba para estandarizar y esta vez se tardó 3 minutos con 25 segundos.



Figura 3. Proceso de estandarización de la cámara anaerobia.

Una vez estandarizada la atmosfera anaerobia mediante la reacción de combustión, se procedió a obtener los aislados empleando la técnica de plaqueo directo modificada de Salcedo et al. (2023). En esta técnica se preparó medio de cultivo con 300 ml de agua destilada, 4.5 g de agar, 2 g de sedimento marino de la ZMO. Además, se añadió benzatínica bencilpenicilina a 60,000 UI para evitar el crecimiento de bacterias.

Con el medio de cultivo preparado, se llenaron 10 cajas Petri, a las cuales se les añadieron 100 μ l de sustrato del fondo marino de la ZMO. Este fue distribuido en el medio de cultivo con ayuda de perlas de cristal, utilizando movimientos circulares (Figura 4).



Figura 4. Preparación del medio por plaque directo.

Las cajas Petri se colocaron en la cámara anaerobia con dos velas pequeñas. En esta ocasión, se utilizó hielo y trapos húmedos como extintor térmico en la parte superior para evitar que el plástico se derritiera. Tras el consumo del oxígeno por las velas, se aplicó pegamento industrial en los bordes de las tapas y se aseguraron con pinzas para evitar la entrada de oxígeno. Una vez consumido el oxígeno, se dejó que los microorganismos crecieran durante 24 días (Figura 5).



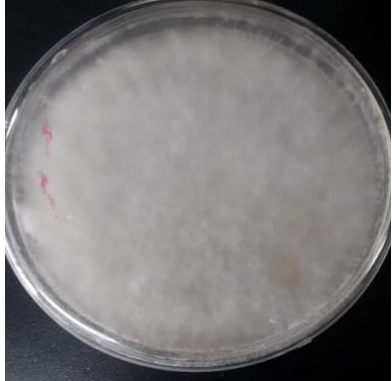
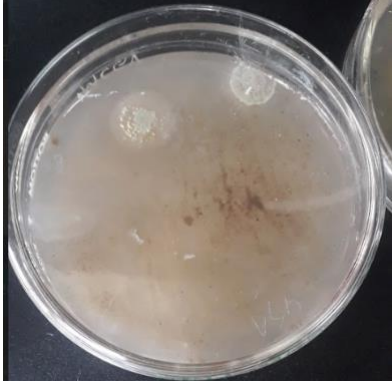



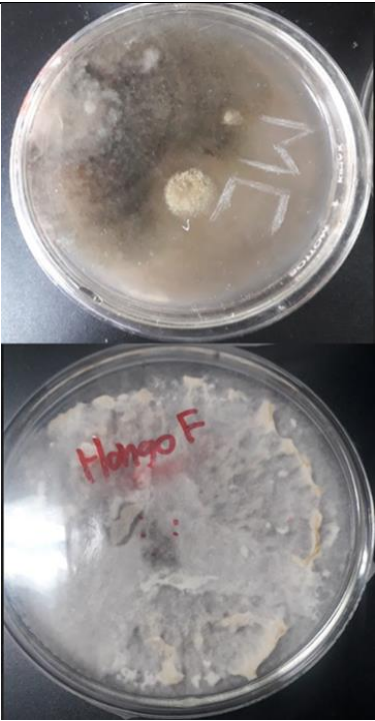
Figura 5. Construcción de la cámara anaerobia.

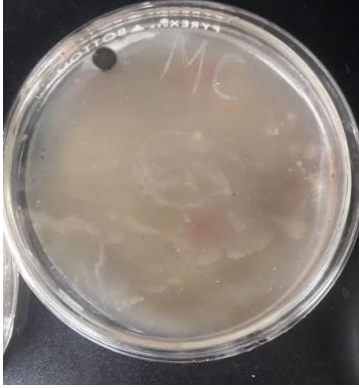


Transcurrido el periodo de incubación, se abrió la caja con cuidado en la campana de extracción para sacar y contabilizar los hongos. Basándose en su morfología, se etiquetaron sucesivamente como hongo A, hongo B, hongo C, (cuadro 1).

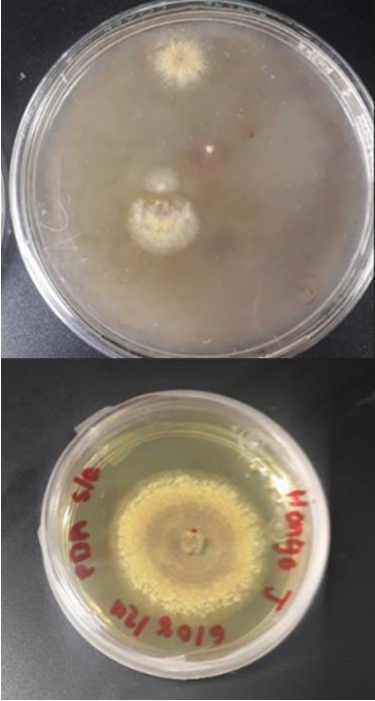

Cuadro 1. Descripción morfológica de los hongos

Hongo	Descripción	Imagen
-------	-------------	--------

A	Se presento de forma circular de color olivo opaco con un aspecto polvoso de tamaño pequeño ubicado en la parte superior.	
B	Forma difusa de color crema con aspecto polvoso ocupando de tamaño pequeño de color blanco con un crecimiento lento	
C	Forma difusa, de gran tamaño con un margen difuso, sin un borde bien definido, ocupando una superficie densa y lanosa, con un color blanco uniforme.	
D	Color crema ligeramente amarillo, de aspecto polvoso ligeramente granular de forma circular de crecimiento lento	

E	<p>Forma semi circular de textura esponjosa, presento un cambio durante su coloración ya que al inicio del experimento presento un color amarillo y después se tornó beige después de un mes.</p>	
F	<p>Textura esponjosa forma difusa bordes poco definidos ubicada en la parte superior izquierda de la caja Petri, presento coloración negra al inicio del experimento, después de un mes la coloración de las hifas se tornó más blanquecina con un crecimiento rápido cubriendo toda la caja Petri y teniendo algunas zonas un exsudado de color naranja</p>	

G	<p>Forma circular con coloración negra de tamaño pequeño, crecimiento lento y textura esponjosa</p>	
H	<p>Ubicado en la parte inferior izquierda de gran tamaño, forma semi circular con bordes difusos, textura polvosa, registro un crecimiento rápido ocupando gran parte del espacio en la caja Petri después de 9 días y un cambio de coloración pasando de verde olivo a un verde más oscuro y grisáceo</p>	
I	<p>Textura polvosa de tamaño pequeño ubicado en el centro de la caja de forma circular de color blanco</p>	

J	Ubicado en la parte superior de la caja y en la parte media de color amarillo, textura polvosa y exudados que cambian el color del agar a un tono amarillento	
K	Crecimiento rápido textura polvosa en los alrededores y en centro filamentosa, a su vez presento 2 colores siendo café en el centro y verde en los bordes	

Se calculó una riqueza de 11 tipos de hongos y una abundancia de 19 individuos, siendo el hongo A el más abundante con 4 individuos, seguido del hongo D con 2 individuos (Figura 6). Por último, se prepararon 200 ml de agar distribuidos en 20 tubos dentro de la campana de flujo laminar. Posteriormente, se inocularon con hongos en su interior y se depositaron en la colección de cultivos del laboratorio de ecología molecular y conservación de micromicetes del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.



Figura 6. Hongos cultivables de ZMO.

Descripción del vínculo de las actividades desarrolladas con los objetivos de formación del plan de estudios.

Dentro de los objetivos del programa de estudios de la UAM Xochimilco para la carrera de Biología se incluye la comprensión de las comunidades biológicas en términos de su diversidad y su relación con los ciclos biogeoquímicos, enfatizando el desarrollo de habilidades en técnicas de laboratorio para su estudio. En este contexto, el presente proyecto me permitió aplicar las habilidades adquiridas durante la licenciatura, al contribuir al estudio de los hongos cultivables de la ZMO mediante una cámara anaerobia casera.

De manera más específica, las actividades realizadas abordaron una perspectiva que se relaciona directamente con los módulos de aprendizaje, al analizar la biodiversidad de comunidades de micromicetes, integrando aspectos de riqueza, diversidad estudiados en el décimo trimestre. Por otra parte, este análisis también resultó fundamental para poner en práctica lo aprendido en el laboratorio, empleando técnicas de cultivo especializadas.

La importancia de este proyecto radica en que el entendimiento de estos aspectos genera bases necesarias para investigaciones futuras relacionadas con la funcionalidad de estas comunidades en los ecosistemas marinos. Este conocimiento es crucial para entender los procesos biogeoquímicos y predecir los impactos ecológicos de la expansión de las ZMO debido al cambio climático.

En conclusión, este enfoque permitió vislumbrar la realidad y la adquisición de conocimiento a través de una visión metodológica y científica por medio de la comprensión de la biodiversidad y su entendimiento como el fundamento de los recursos naturales bióticos (UAM, 2016, 2019).

Referencias bibliográficas

Bakker, A. (2017). *Inter-annual variability of nutrient distribution in the Eastern Tropical North Pacific oxygen deficient zone* (Doctoral dissertation).

De Obeso Fernandez Del Valle, A., y Scheckhuber, C. Q. (2021). From past to present: Biotechnology in Mexico using algae and fungi. *Plants*, 10(11), 1-14. doi:10.3390/plants10112530

Gonçalves, M. F. M., Esteves, A. C., y Alves, A. (2022). Marine fungi: Opportunities and challenges. *Encyclopedia*, 2(1), 559–577. doi:10.3390/encyclopedia2010037

Hong, W., Rao, F. Q., Zhao, X. X., Guo, Z. Y., Chen, Y. M., Wang, B., ... & Qi, X. L. (2021). An inexpensive anaerobic chamber for the genetic manipulation of strictly anaerobic bacteria. *Anaerobe*, 69, 102349.

Hernández Macías, H., & Pérez Ortiz, T. M. (2003). *Memorias UNAM instituto de biología*. <https://www.planeacion.unam.mx/Memoria/Memoria-1973-2006/2003/pdf/ib.pdf>

IBUNAM - instituto de biología, UNAM. (2021). IBUNAM - Instituto de Biología, UNAM. <https://www.ib.unam.mx/ib/mision-vision/>

Instructables. (2013, 31 de enero). DIY anaerobic chamber (aka glove box). <https://www.instructables.com/DIY-Anaerobic-Chamber-aka-glove-box/>

Long, A. M., Jurgensen, S. K., Petchel, A. R., Savoie, E. R., y Brum, J. R. (2021). Microbial ecology of oxygen minimum zones amidst ocean deoxygenation. *Frontiers in Microbiology*, 12, 1-18. doi:10.3389/fmicb.2021.748961

Maiti, P. K., Haldar, J., Mukherjee, P., & Dey, R. (2013). Anaerobic culture on growth efficient bi-layered culture plate in a modified candle jar using a rapid and slow combustion system. *Indian journal of medical microbiology*, 31(2), 173-176.

Peng, X., y Valentine, D. L. (2021). Diversity and N₂O production potential of fungi in an oceanic oxygen minimum zone. *Journal of Fungi*, 7(3), 1-15. doi:10.3390/jof7030218

Posadas, J., Velez, P., Pajares, S., Gasca-Pineda, J., & Espinosa-Asuar, L. (2024). Fungal diversity in sediments of the eastern tropical Pacific oxygen minimum zone revealed by metabarcoding. *Plos One*, 19(5), Artículo e0301605. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0301605>

Salcedo, D. L., Velez, P., Hernandez-Monroy, A., y Soto, L. A. (2023). Insights into the functional role of fungi in deep-sea hydrothermal vents through the analysis of stable isotopes of carbon, nitrogen, and sulfur. *Fungal Ecology*, 64, 2-9. doi:10.1016/j.funeco.2023.101250

Tetragrowth. (2020, 30 de agosto). *How to build a simple DIY still air box/glove box — tetra growth LLC*. Tetra Growth LLC. <https://www.tetragrowth.solutions/blog/2020/8/30/how-to-build-a-simple-diy-still-air-boxglove-box>

Universidad Autónoma Metropolitana (UAM). (2016). Resultados de la encuesta aplicada a egresados de la Licenciatura en Biología. Recuperado el 05 de junio de 2024, de https://www.uam.mx/egresados/estudios/acreditacionlic/Unidad_Xochimilco/2_2016/P73_Biologia.pdf

Universidad Autónoma Metropolitana (UAM). (2019). Plan de estudios licenciatura en Biología. Recuperado el 05 de junio de 2024, de http://www2.xoc.uam.mx/oferta-educativa/divisiones/cbs/licenciaturas-posgrados/pplic/biologia/plan/plan_biologia_2019.pdf

Valderrama, B., Paredes-Valdez, G., Rodríguez, R., Romero-Guido, C., Martínez, F., Martínez-Romero, J., ... Folch-Mallol, J. L. (2016). Assessment of noncultured aquatic fungal diversity from different habitats in Mexico. *Revista Mexicana De Biodiversidad*, 87(1), 18–28. doi:10.1016/j.rmb.2016.01.013

Wright, J. J., Konwar, K. M., & Hallam, S. J. (2012). Microbial ecology of expanding oxygen minimum zones. *Nature Reviews Microbiology*, 10(6), 381-394.

Zambrano-Romero, A., Herrera-Moreno, N., Trueba, G., Sierra-Álvarez, R., León-Reyes, A., & Ochoa-Herrera, V. (2019). Construcción y operación de una cámara anaeróbica de bajo costo para la siembra y el cultivo de bacterias sulfato reductoras. *ACI Avances en Ciencias e Ingenierías*, 11(2), 44-59.

VISTO BUENO



ASESOR INTERNO- Dr. JOSÉ ANTONIO MATA SOTRES

(No. Eco. 44314)

Laboratorio de microbiología acuática



ASESOR EXTERNO- Dra. PATRICIA VÉLEZ AGUILAR

Número de cédula: 09111434