

ÍNDICE

1. Presentación de la Addenda	9
La metodología de la enseñanza a distancia	9
Recomendaciones para el uso de la Guía	11
Lectura inicial	
Cuestionario inicial	
Objetivos específicos	
Epígrafes	
Recomendaciones para el estudio	
Actividades recomendadas	
Prácticas de aula y de campo	
Ejercicios de autoevaluación	
Respuestas a los ejercicios de autoevaluación	
Recursos	
Fuentes de consulta (webs)	
2. Presentación de la asignatura	13
3. La microbiología ambiental en la sociedad actual y futura ..	14
4. Objetivos generales de la asignatura	16
5. Conocimientos necesarios para afrontar el estudio de la asignatura	17
6. Apoyo didáctico a los capítulos del libro de texto	18

Capítulo 1. Ecología microbiana: desarrollo histórico	21
Capítulo 2. Evolución microbiana y biodiversidad	31
Capítulo 3. Interacciones entre poblaciones microbianas	45
Capítulo 4. Interacciones entre microorganismos y plantas	57
Capítulo 5. Interacciones entre microorganismos y animales	69
Capítulo 6. Desarrollo de las comunidades microbianas	79
Capítulo 7. Ecología cuantitativa: Número, biomasa y actividad	91
Capítulo 8. Ecología fisiológica de los microorganismos: adaptaciones a las condiciones ambientales	97
Capítulo 9. Los microorganismos y sus hábitat naturales: microbiología del aire, del agua y del suelo	107
Capítulo 10. Ciclos biogeoquímicos: carbono, hidrógeno y oxígeno	125
Capítulo 11. Ciclos biogeoquímicos: nitrógeno, azufre, fósforo, hierro y otros elementos	135
Capítulo 12. Aspectos ecológicos en el control de biodeterioro y en la gestión de suelos, residuos y agua	149
Capítulo 13. Interacciones microbianas con contaminantes xenobióticos e inorgánicos	161
Capítulo 14. Ensayos de biodegradabilidad y seguimiento de la biorremediación de contaminantes xenobióticos ..	173
Capítulo 15. Microorganismos en la recuperación de minerales y energía, y en la producción de combustible y biomasa	187
Capítulo 16. Control microbiano de placas y de poblaciones causantes de enfermedad	197
7. Bibliografía	205
Textos recomendados para actualizar conocimientos previos	205
Textos complementarios	205
Fuentes de consulta	206

CAPÍTULO 1

ECOLOGÍA MICROBIANA: DESARROLLO HISTÓRICO

Lectura inicial

LOUIS PASTEUR

Hijo de un curtidor, en 1843 ingresó en la Escuela Normal Superior de París, donde en 1847 se doctoró en química con una tesis sobre la estructura de los cristales, pionera en el campo de la estereoquímica. Profesor de química en la Universidad de Estrasburgo en 1848, al año siguiente contrajo matrimonio con Marie Laurent, hija del rector de la universidad. *La síntesis del ácido paratartárico* (1853) le procuró fama y en 1854 fue nombrado catedrático de química y decano de la Facultad de Ciencias de Lille, por un decreto ministerial que le recomendaba relacionar sus investigaciones con los intereses de las industrias locales. Ello le llevó a emprender un estudio de la fermentación alcohólica que le confirmó en su creencia de que existía una relación entre la asimetría molecular y los procesos vivos. En 1857 publicó su célebre memoria sobre la *Teoría microbiana de la fermentación* y fue nombrado director adjunto de la Escuela Normal Superior de París, cargo que ocupó hasta ser nombrado catedrático de Química en la Sorbona en 1867.



Los estudios sobre la fermentación proporcionaron a Pasteur argumentos contundentes contra la doctrina de la generación espontánea. De ellos resultó, además, su descubrimiento (casual) de la existencia de formas anaerobias de vida y la introducción del proceso hoy conocido como pasteurización. Su teoría microbiana fue el eje de sus investigaciones sobre las enfermedades animales. Demostró que el bacilo del ántrax era efectivamente el

agente causante del carbunco, y la observación fortuita, al estudiar el cólera de las gallinas, de que era posible atenuar la actividad de un germen infeccioso le permitió introducir un método de vacunación contra el carbunco en 1881. En 1885 mostró la eficacia en los seres humanos de su vacunación contra la rabia. La fama de su tratamiento dio pie a una suscripción internacional para la creación, en París, del Instituto que lleva su nombre (1888) y que dirigió hasta su muerte. Fue miembro de la *Royal Society*, condecorado por la misma y pensionado por la Asamblea Nacional.

CUESTIONARIO INICIAL

Recuerde que este cuestionario debe realizarse sin consultar el libro de texto. Trate de autoevaluarse y asígnese una calificación. No es necesario que escriba las respuestas extensamente.

1. ¿En qué momento histórico se descubren los microorganismos?
2. ¿A quién se debe su descubrimiento?
3. ¿Qué teoría estuvo vigente durante muchos años sobre el origen de los microorganismos?
4. ¿Qué aportaciones realizaron a la microbiología Leeuwenhoek, Pasteur, Koch, Cohn?
5. Con los conocimientos que Vd. tiene sobre Ecología ¿qué definición daría a la Ecología microbiana?

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer los diferentes momentos históricos que ha tenido la microbiología.
- Diferenciar los intereses científicos que, en el estudio de la microbiología, se han suscitado en cada momento.
- Distinguir y conocer las aportaciones científicas de los principales ecólogos microbianos.
- Obtener una visión global del papel que juegan los microorganismos en el estudio de los ecosistemas.

EPÍGRAFES

1. Alcance de la ecología microbiana
2. Perspectiva histórica
3. Principios de la microbiología
4. La etapa del cultivo axénico
5. La ecología microbiana del siglo XX
 - 5.1. Aportaciones de Sergéi Winogradsky
 - 5.2. Aportaciones de Martinus Beijerinck
Martinus Beijerinck: personalidad y ciencia
 - 5.3. La escuela de Delft. Aportaciones de otros científicos.
6. Relación de la Ecología microbiana con la Ecología general y las ciencias ambientales

Resumen

Preguntas de revisión

Referencias y lecturas recomendadas

RECOMENDACIONES PARA EL ESTUDIO

Este capítulo recoge el recorrido histórico que va desde mediados del siglo XVII, en el que gracias a la invención del microscopio se hace visible un mundo de organismos desconocidos hasta entonces, y el momento actual. Durante estos años el estudio de los microorganismos se ha hecho desde diferentes planteamientos metodológicos y experimentales en función de los intereses científicos del momento y del desarrollo tecnológico. La ecología microbiana, como disciplina científica independiente, no surge hasta la década de los años 60 del siglo XX, como consecuencia de la creciente preocupación social por la degradación del medio ambiente y el reconocimiento del papel crucial que juegan los microorganismos en los ecosistemas para mantener el equilibrio ecológico.

La perspectiva histórica que desarrolla este tema es lo suficientemente amena y sencilla como para no presentar dificultades a la hora de su estudio. La lectura de la introducción en cursiva que aparece en

la página 3 del libro le va a aportar una visión general de los contenidos que se tratan en esta lección.

Son contenidos fundamentales:

- v Los acontecimientos más destacados que se han ido sucediendo en Microbiología hasta llegar a la Ecología microbiana.
- v Las aportaciones científicas de los principales microbiólogos, las necesidades sociales que dan origen a sus investigaciones junto con los avances tecnológicos que modifican y facilitan la tarea científica.
- v Las relaciones que se establecen en el momento actual entre la ecología microbiana, la ecología general y las ciencias ambientales.

Le puede resultar interesante, aunque no es necesario que lo estudie:

- v Las fuentes de información de que se disponen en ecología microbiana.

El resumen que aparece al final del capítulo le servirá para fijar los contenidos fundamentales tratados; en ningún caso, para suplir al estudio del tema completo.

Al disponer el libro de un amplio y muy completo glosario de términos científicos, le recomendamos que compruebe aquellos términos que le son desconocidos.

Las actividades que le proponemos a continuación son una herramienta de aprendizaje muy útil para asimilar conocimientos y poner en práctica diferentes procedimientos. Si dispone de tiempo, trate de contestar las preguntas de revisión que aparecen en la página 24 del libro base.

ACTIVIDADES

1. Definir los siguientes términos:

Ecología	Microorganismo	Recursos naturales
Recursos renovables	Eutrofización	Ecología microbiana
Cultivos axénicos	Biodegradación	Biorremediación
Quimioautótrofo	Zimógenos	Axénico

2. Realizar un mapa conceptual en el que queden reflejadas las

líneas de investigación más importantes de la ecología microbiana y su relación con otras ciencias.

PRÁCTICAS DE AULA Y DE CAMPO

1. Observar el proceso paulatino de putrefacción de diferentes alimentos.
2. Seguir todos los pasos del método científico desarrollado por Pasteur para refutar la teoría de la generación espontánea así como la controversia científica con sus contemporáneos.
3. Intentar reproducir el proceso de acidificación del vino en vinagre.

EJERCICIOS DE AUTOEVALUACIÓN

1. Ventajas e inconvenientes de los cultivos axénicos.
2. ¿Cuál es la aportación de Spallanzani ante la teoría de la generación espontánea?
3. ¿Cómo desmontó definitivamente Pasteur dicha teoría?
4. ¿Qué científico resolvió el problema de la resistencia al calor de las endosporas bacterianas?
5. Aportaciones de Koch al cultivo axénico bacteriano.
6. ¿Qué científico intuyó la importancia de los microorganismos en la degradación de las sustancias orgánicas?
7. ¿A qué científico se le considera el creador de la microbiología del suelo?
8. ¿Cuáles fueron sus aportaciones más importantes?
9. ¿A quién se debe el principio de que «**todo está en todas partes y el ambiente selecciona**»? ¿Qué técnica desarrolló este científico para ratificarlo?
10. Aportaciones de Kluyver y van Niel a la ecología microbiana

RESPUESTAS A LOS EJERCICIOS

DE AUTOEVALUACIÓN

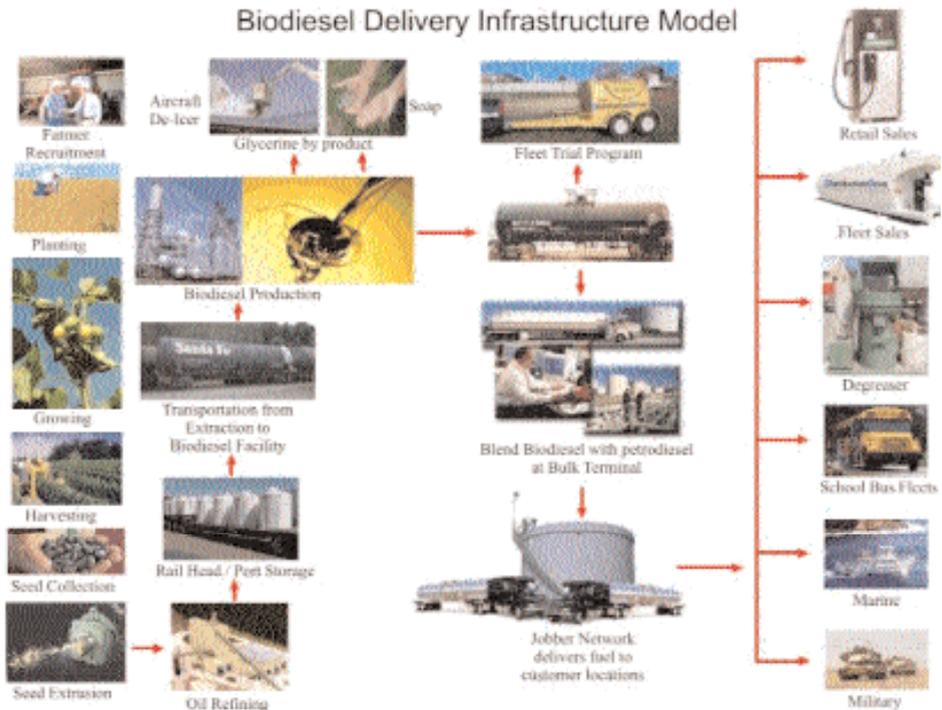
1. Como ventaja: permite el aislamiento y cultivo de una especie (tipo) microbiana para su estudio individual, identificando agentes patógenos que producen enfermedades. Como inconveniente: Al no haber interacciones con otros microorganismos y sus hábitat se pierde su operatividad ecológica.
2. Demostró de forma experimental mediante el calor que eran los microorganismos los causantes de la putrefacción de las sustancias orgánicas.
3. Modificó los cuellos de los matraces, en los que había introducido distintos caldos, dándoles una forma de cuello de cisne y dejándolos abiertos para que el aire pudiera circular. Hirvió el contenido de los matraces, con ello consiguió que los microorganismos se depositaran en el cuello curvado y el caldo resultante no se contaminó. Una vez terminado todo el proceso (esterilización) los cerró.
4. Tyndall en 1877. Esterilización a 100 °C.
5. A los medios de cultivo líquidos les añadió para su solidificación el agar.
6. Louis Pasteur.
7. Sergei Winogradsky.
8. Inventó un sistema modelo para cultivar bacterias del suelo anaerobias, fotosintéticas y microaerófilas (columna de Winogradsky).

Describió la oxidación microbiana del sulfuro de hidrógeno, del azufre y del hierro ferroso.

Desarrolló el concepto de quimioautotrofia microbiana.

Aisló y describió las bacterias nitrificantes.

Demostró que la fuente energética de los microorganismos del suelo eran las reacciones de oxidación de productos inorgánicos y obtenían el carbono del dióxido de carbono.



FUENTES DE CONSULTA



<http://www.minas.upm.es/>

<http://www.etsimo.uniovi.es/>

<http://pci204.cindoc.csic.es/tesauros/Geologia/HTML/GEO^23.HTM>

http://ambiental.uvigo.es/agroforestal/catedra/biomas/biodiesel_elavoracion_casera.html

<http://ar.geocities.com/biolixiviacion/>

<http://cipres.cec.uchile.cl/~iq58a/procesos/documentos/Reactor2.pdf> (*imágenes de un bioreactor*)

<http://www.librys.com/biocombustibles/>

<http://www.cps.unizar.es/~isf/html/bigen01.html> (*biomasa*)

http://www.lamolina.edu.pe/FACULTAD/AGRICOLA/ler/e_biomasa.htm

http://www.biohidrica.cl/BIOHIDRICA_NPublicacion02.htm

<http://www.creces.cl/new/index.asp?imat>

<http://www.asturnatura.com/articulos/algas/usos.php>

CAPÍTULO 16

CONTROL MICROBIANO DE PLAGAS Y DE POBLACIONES CAUSANTES DE ENFERMEDAD

Lectura inicial

EL MAÍZ BT, UN EJEMPLO DE ALIMENTO TRANSGÉNICO EN LA LUCHA CONTRA LAS PLAGAS

Según la FAO, **alimento transgénico** «*es aquel que ha sido manipulado genéticamente, eliminando o añadiendo genes bien de la misma especie o de otras distintas a través de técnicas de ingeniería genética*»

Todos los organismos vivos están constituidos por conjuntos de genes. Las diferentes composiciones de estos conjuntos determinan las características de cada organismo. Por la alteración de esta composición, los científicos pueden cambiar las características de una planta o de un animal. El proceso consiste en la transferencia de un gen responsable de determinada característica en un organismo hacia otro al cual se pretende incorporarla. En este tipo de tecnología es posible transferir genes de plantas, bacterias o virus hacia otras plantas. Además, combinar genes de plantas con plantas, de plantas con animales o de animales entre sí, superando por completo las barreras naturales que separan las especies.

Un ejemplo clásico de alimento transgénico es el **maíz Bt**. Se trata de una planta de maíz que ha sido desarrollada mediante biotecnología a fin de que sus tejidos expresen una proteína derivada de una bacteria, *Bacillus thuringiensis*, que es tóxica para algunos insectos pero inocua para los seres humanos y otros mamíferos.



Aquellos que se muestran contrarios a los cultivos transgénicos, entre ellos el maíz BT, aducen razones como las siguientes para justificar posibles riesgos ecológicos:

- La expansión de los cultivos transgénicos amenaza la diversidad genética, por la simplificación de los sistemas de cultivos y la promoción de la erosión genética.
- La potencial transferencia de genes de Cultivos Resistentes a Herbicidas a variedades silvestres o semidomesticadas puede crear supermalezas difíciles de combatir.
- La recombinación de vectores puede generar variedades del virus más nocivas, sobre todo en plantas transgénicas diseñadas para resistencia viral en base a genes vírales.
- Las plagas de insectos desarrollarán rápidamente resistencia a los cultivos que contienen la toxina Bt.
- El uso masivo de la toxina Bt en cultivos puede desencadenar interacciones potencialmente negativas que afecten procesos ecológicos y a organismos beneficiosos.

Las ventajas son también evidentes:

- Existe la posibilidad de aumentar la productividad, de acuerdo con las necesidades que demanda la población.
- El descenso del consumo de insecticidas y herbicidas, al ser algunos de estos cultivos resistentes a plagas, es un hecho constatado.
- Se permite la resolución de problemas en los procesos industriales de transformación de alimentos.
- Por ejemplo, se han diseñado patatas transgénicas en las que se ha modificado el contenido en almidón. Esto hace que retengan menos aceite al freírse, siendo más saludables.
- También en patatas, se ha incorporado el gen de la subunidad B de la toxina del cólera. Al ingerirlas, nos inmunizamos contra la enfermedad, de igual modo que si nos vacunásemos.
- El arroz dorado es una variedad de este cereal que, por ingeniería genética, permite la síntesis de provitamina-A. Este hecho salva muchos casos de ceguera en países donde la alimentación está restringida a un cuenco de arroz diario y la ausencia de vitamina A en la dieta es patente.
- En España, investigadores de la Universidad de Málaga han creado fresas con mayor contenido en vitamina C, cuyo efecto antioxidante es muy apreciado en las sociedades desarrolladas.

CUESTIONARIO INICIAL

Recuerde que este cuestionario debe realizarse sin consultar en el libro de texto. Trate de autoevaluarse y asígnese una calificación. No es necesario que escriba las respuestas extensamente.

14. ¿Qué es una plaga?
15. ¿Qué es un vector?
16. ¿Qué métodos se emplean para combatir plagas en agricultura?
17. ¿Qué métodos se emplean para combatir plagas en ganadería?
18. ¿En qué consiste el amensalismo? ¿Y el parasitismo?
19. ¿Pueden controlarse las plagas mediante el empleo de otros seres vivos?
20. ¿En qué consiste básicamente la ingeniería genética?
21. ¿Es la ingeniería genética un apoyo al control de plagas? ¿Por qué?

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer la implicación de algunos microorganismos en la aparición de plagas e infecciones que producen importantes pérdidas económicas y afectan a la salud de los consumidores.
 - Identificar las principales acciones encaminadas a combatir estas plagas.
 - Poner de manifiesto la aplicación de virus, bacterias, protozoos y hongos en el control de plagas.
 - Conocer el papel de la ingeniería genética y de los organismos transgénicos en el control de plagas
-

EPÍGRAFES

1. Modificación de las poblaciones hospedadores
 - 1.1. Inmunización
2. Modificación de los reservorios patógenos
3. Modificación de poblaciones vectoras
4. Amensalismo y parasitismo microbianos para controlar los patógenos microbianos
 - 4.1. Amensalismo y parasitismo antifúngicos
 - 4.2. Amensalismo y parasitismo bacterianos
- 5.- Patógenos microbianos y depredadores para controlar plagas de plantas y animales
 - 5.1. Control microbiano de plagas de insectos
 - 5.2. Control microbiano de otras plagas causadas por animales

Control Biológico de conejos

- 5.3. Control microbiano de malas hierbas y de floraciones de cianobacterias

Control microbiano de la grafiosis del olmo

6. Ingeniería genética en el control biológico
 - 6.1. Protección contra la congelación
 - 6.2. Plaguicidas de *Bacillus thuringiensis*
 - 6.3. Otras aplicaciones
7. Otras consideraciones prácticas

Resumen del capítulo

Preguntas de revisión

Referencias y lecturas recomendadas

RECOMENDACIONES PARA EL ESTUDIO

Se aconseja leer la introducción en cursiva que aparecen la página 621 del tema. A continuación se deben mirar con detenimiento los

epígrafes que integran el capítulo para tener una visión general de los aspectos que se tratan en el mismo. Después hay que leer el tema completo e ir anotando los contenidos principales de cada epígrafe en forma de esquema.

En este capítulo se tratan aspectos relacionados con el control de plagas e infecciones causadas por diferentes microorganismos. Su estudio no plantea ninguna dificultad pues es simplemente descriptivo.

Se recomienda hacer especial incidencia en los siguientes conceptos:

- v Modificación de condiciones en las poblaciones hospedadores para controlar las plagas.
- v Inmunización: respuesta primaria y secundaria.
- v Significado de reservorio y vector y principales métodos de modificación de estas poblaciones.
- v Significado de amensalismo y parasitismo y su aplicación en el control de plagas.
- v Empleo de virus, bacterias, protozoos y hongos para combatir plagas.
- v Aplicaciones de la ingeniería genética en la lucha contra plagas.

Se consideran contenidos no fundamentales aunque si interesantes:

- v Las descripciones excesivamente detalladas y los ejemplos concretos.

El resumen que aparece al final del capítulo nos ayudará a fijar con mayor facilidad los contenidos tratados pero, en ningún caso, puede sustituir al estudio del tema completo. Las lecturas que se intercalan entre epígrafes complementan de manera ilustrativa los contenidos expuestos y son una valiosa fuente de ampliación.

Las actividades que se proponen en esta guía constituyen una herramienta de aprendizaje muy útil para asimilar conocimientos y poner en práctica diversos procedimientos, por lo que es muy aconsejable realizarlas todas. También es muy recomendable contestar a las preguntas de revisión (pág. 648).

Una vez estudiado el tema, es un ejercicio interesante volver a responder las preguntas del cuestionario inicial y autoevaluarse de nuevo.

ACTIVIDADES RECOMENDADAS

1. Definir los siguientes conceptos:

Parasitismo	Inmunización	Vacunación	Pasteurización
Amensalismo	Antígeno	Fitoalexinas	Esterilización
Depredación	Anticuerpo	Reservorio	Vector
Sapofito	Agrocinas	Bilanafos	Fungistasia

2. ¿En qué consiste el control biológico de plagas?
3. Explicar la aparición de poblaciones resistentes a plaguicidas, desde un punto de vista evolutivo.
4. Citar algún mecanismo natural de resistencia de las plantas al ataque de plagas de hongos o insectos.
5. ¿En qué consiste la respuesta inmunitaria primaria? ¿Y la secundaria?
6. Enumerar algunos procedimientos de eliminación de reservorios.
7. Poner ejemplos de amensalismo antifúngico y bacteriano.
8. Realizar un cuadro-resumen sobre los virus, bacterias, protozoos y hongos que se emplean cómo plaguicidas contra insectos.
9. Citar algún ejemplo de control de plagas causadas por otros animales.
10. ¿Cómo puede controlarse el crecimiento de malas hierbas?
11. ¿Cómo se emplea la ingeniería genética en la lucha contra las plagas?
12. ¿Qué utilidad tiene la toxina de *Bacillus thuringiensis*?
13. ¿Qué repercusiones medioambientales puede tener el control de plagas?

PRÁCTICAS DE AULA Y DE CAMPO

1. Observar diferentes vegetales parasitados por insectos.
2. Realizar una pequeña colección de agallas procedentes de plantas parasitadas. Observar sus características externas e internas.

3. Simular mecanismos empleados en ingeniería genética.

Material: cartulina de diversos colores, plastilina de colores, tijeras, palillos y pegamento.

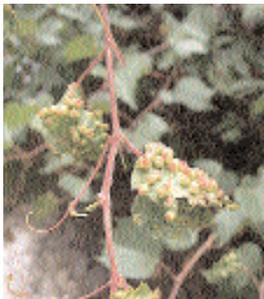
Procedimiento: confeccionar una maqueta de los elementos celulares y moleculares que intervienen en los procesos básicos de ingeniería genética.

EJERCICIOS DE AUTOEVALUACIÓN

No procede en este capítulo.

RECURSOS

Diferentes tipos de agallas



En vid



En encina



En roble



Olmo afectado de grafiosis.



Campos de algodón convencional y algodón Bt.

FUENTES DE CONSULTA



<http://www.biobest.be/>

<http://www.koppert.nl/s005.shtml>

<http://www.koppert.nl/s005.shtml>

<http://www.monsanto.es/>

<http://www.mapya.es/>

http://www.monsanto.es/noticias/febrero2002/02feb08_ecampo.html

http://www.monsanto.es/noticias/febrero2002/02feb08_ecampo.html

www.jardin-mundani.info/fitopatologias.htm

7. BIBLIOGRAFÍA

Textos recomendados para actualizar conocimientos previos

- CURTIS, H. y BARNES, N. *Invitación a la Biología*. Ed. Panamericana 5ª edición (2000).
- INGRAHAM, J. y INGRAHAM, C. *Introducción a la Microbiología*. Ed. Reverte (1998).
- KARP, G. *Biología Celular y Molecular*. Ed. McGraw Hill Interamericana (2005).
- MADIGAN, M.; MARTINKO, J. y PARKER, J. *Biología de los Microorganismos* (Brock). Ed Pearson (2004).
- PRESCOTT, L.; HARLEY, J. y KLEIN, D. *Microbiología*. Ed. McGraw Hill Interamericana (2002).

Textos complementarios

- BITTON, G. *Encyclopedia of environmental microbiology*. Wiley , John & sons. (2003).
- DOYLE, R. J. *Methods in Enzymology. Microbial growth in biofilms*. Volume 337. Academic Press. (2001).
- FENCHEL, T.; KING, G. M. & Blackburn, T.H. *Bacterial Biogeochemistry: The Ecophysiology of Mineral Cycling*. Academic Press. (1998).
- HURST, KNUDSEN, MCINERNEY, STETZENBACH & WALTER. *Manual of environmental microbiology*. ASM Press. (1997).

- LEVIN, M. & M.A. GEALT. *Biotratamiento de residuos tóxicos y peligrosos*. McGrawHill. (1997).
- MAIER, R. M., PEPPER, I. L. & GERBA, C. P. *Environmental Microbiology*. Academic Press. (2000).
- MUÑOZ, E. *Genes para cenar*. Ediciones Temas de Hoy (1991).
- PARÉS, R. & JUÁREZ, A. *Bioquímica de los microorganismos*. Ed. Reverté.(1997)
- RITTMANN, B. E. & P. L. MCMARTY. *Biotecnología del medio ambiente. Principios i aplicaciones*. McGraw Hill. (2001).

FUENTES DE CONSULTA



<http://www.mma.es>

<http://www.csic.es>

<http://www.ugr.es/~dptomic/enlaces.htm> lleva a otros enlaces

<http://www.microbeworld.org/home.htm>

http://www.pfizer.com/pfizer/help/mn_research_science_microbes.html

<http://www.microbe.org/espanol/>

<http://commtechlab.msu.edu/sites/dlc-me/> ambiental y aplicada

<http://www-micro.msb.le.ac.uk/Tutorials/default.html>

<http://www.cellsalive.com/>

http://www.cyii.es/www/publico/index_esp.html

<http://www.madriddpura.com/>

<http://www.jrc.es/home/report/spanish/articles/vol78/ENV1S786.htm>

http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/p36-4947.html

<http://www.miliarium.com/Proyectos/Vertederos/RSU/Docproyecto/Memoria/Diseno/Disenovrsu.htm>

<http://habitat.aq.upm.es/bpes/ceh2/bpes15.html>



