



Aislamiento y caracterización de bacterias presentes en el cultivo de tejidos de *Cenchrus purpureus* CT-608

Isolation and characterization of bacteria from tissue culture of *Cenchrus purpureus* CT-608

^{ID}Amanda Abreu Cruz¹, ^{ID}María Aurora Mesa Pérez¹, ^{ID}Maibys Pérez Pérez¹,
^{ID}Miriam Isidró Pérez¹, Andrés Raúl Hernández Montesinos^{2*}

¹Universidad Agraria de La Habana, A. Nacional, km 23 ½, San José de las Lajas, C.P. 32700, Mayabeque, Cuba

²Instituto de Ciencia Animal, C. Central, km 47 ½, San José de las Lajas, Apartado Postal 24, Mayabeque, Cuba

RESUMEN: El objetivo del presente trabajo consistió en reportar los avances del aislamiento y caracterización de bacterias presentes en el cultivo de tejidos de *Cenchrus purpureus* CT-608. El estudio se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología de la Universidad Agraria de la Habana. Se empleó fragmentos de colonias de bacterias provenientes de microplantas contaminadas y se aislaron en tubos de ensayos con medio Agar Nutriente. Las colonias se describieron según sus características macroscópicas y microscópicas mediante tinción de Gram y microscopio óptico con aumento 1000X. Se evaluaron los descriptores: forma celular, forma de agrupación, tamaño, reacción a la tinción de Gram, producción de quistes, producción de cápsula, producción de endosporas. Se determinó la sensibilidad bacteriana al set de antibióticos: Pencillina, Amoxicilina, Ampicilina, Cefalexina, Cefixime, Ceftriaxona, Ácido nalidíxico, Gentamicina y Cloranfenicol. La respuesta a los antibióticos se realizó mediante la técnica de Kirby-Bauer. Se aislaron dos colonias bacterianas, donde se obtuvo un morfotipo Gram positivo (MF1) y dos morfotipos Gram negativo (MF2 y MF3) en una de las colonias. Predominó la forma celular bacilar, con tamaño de 3-4 mm y la forma de agrupación varió de bacilo a irregular arrocada. Los morfotipos mostraron sensibilidad al Ácido nalidíxico y la Cefalexina, y resistencia a Penicilina, Amoxicilina y Ampicilina. Se aislaron tres morfotipos bacterianos en microplantas de *C. purpureus* CT-608 con características morfológicas y fisiológicas diversas. Su aparición tardía en el medio de cultivo y su circunscripción alrededor del explante indican que pueden tratarse de microorganismos endófitos, aspecto que debe ser comprobado mediante quimiotaxis.

Palabras clave: características macroscópicas y microscópicas, colonias, endófitos, morfotipos.

ABSTRACT: The objective of the present work consisted of reporting advances in the isolation and characterization of bacteria present in the tissue culture of *Cenchrus purpureus* CT-608. The study was developed in the Biotechnology Laboratory of the Agrarian University of Havana. Fragments of bacterial colonies from contaminated microplants were used and isolated in test tubes with Nutrient Agar medium. The colonies were described according to their macroscopic and microscopic characteristics through Gram staining and optical microscopy at 1000× magnification. The following descriptors were evaluated: cellular shape, size, grouping arrangement, reaction to Gram staining, cyst production, capsule production, endospore production. Bacterial sensitivity to the set of antibiotics was determined: Penicillin, Amoxicillin, Ampicillin, Cephalexin, Cefixime, Ceftriaxone, Nalidixic Acid, Gentamicin, and Chloramphenicol. Antibiotic response was assessed using the Kirby-Bauer technique. Two bacterial colonies were isolated, where one Gram-positive morphotype (MF1) and two Gram-negative morphotypes (MF2 and MF3) were obtained from one colony. The bacillary cellular form predominated, with a size of 3-4 mm, and the grouping arrangement varied from bacillus to irregular rosette-shaped. The morphotypes showed sensitivity to Nalidixic Acid and Cephalexin, and resistance to Penicillin, Amoxicillin, and Ampicillin. Three bacterial morphotypes with diverse morphological and physiological characteristics were isolated from *C. purpureus* CT-608 microplants. Their late appearance in the culture medium and their confinement around the explant indicate they may be endophytic microorganisms, an aspect that should be verified through chemotaxis.

Key words: colonies, endophytes, macroscopic and microscopic characteristics, morphotypes.

*Autor para correspondencia: andresraulhm@gmail.com

Recibido: 25/10/2025

Aceptado: 19/03/2026

Conflicto de interés: Los autores declaran que no tienen conflicto de intereses.

Contribución de los autores: **Conceptualización, Supervisión:** María Aurora Mesa Pérez, Andrés Raúl Hernández Montesinos. **Investigación:** Amanda Abreu Cruz, María Aurora Mesa Pérez, Miriam Isidró Pérez, Andrés Raúl Hernández Montesinos, Maibys Pérez Pérez. **Metodología:** Amanda Abreu Cruz, María Aurora Mesa Pérez, Andrés Raúl Hernández Montesinos. **Redacción - borrador original, Redacción - revisión y edición:** Amanda Abreu Cruz, María Aurora Mesa Pérez, Miriam Isidró Pérez, Andrés Raúl Hernández Montesinos. **Curación de datos:** Amanda Abreu Cruz, Andrés Raúl Hernández Montesinos.

Este artículo se encuentra bajo los términos de la licencia Creative Commons Attribution-NonCommercial (CC BY-NC 4.0).
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>



INTRODUCCIÓN

El cultivo de tejidos vegetal es un método biotecnológico que permite producir plantas completas a partir de fragmentos de órganos y tejidos vegetales establecidos en condiciones ambientales controladas, con ausencia de microorganismos asociados, nutrición heterotrófica y recipientes de plástico o vidrio (1). Generalmente, la técnica de micropropagación se realiza en condiciones totalmente asépticas, por lo tanto, las bacterias se han descrito a menudo como contaminantes que pueden provocar la muerte de los tejidos vegetales, ya que compiten por los nutrientes y modifican el medio de cultivo (2,3). Sin embargo, debido al conocimiento actual sobre los beneficios de los microorganismos endófitos y las bacterias asociativas en la promoción del crecimiento y la inducción de tolerancia al estrés, ha aumentado el interés en su uso en algunas etapas de la micropropagación (4).

Cenchrus purpureus (Schumach.) Morrone, llamado hierba elefante, se cultiva en toda la región tropical y subtropical, debido a su alto potencial de acumulación de biomasa, valor nutritivo, vigor y persistencia, lo que la convierte en un forraje de elevada demanda para la alimentación de especies rumiantes (5). Se ha reportado que esta planta tiene el potencial de asociarse con microorganismos promotores del crecimiento, incluyendo las bacterias diazotróficas endófitas (6). En este sentido, se han aislado de las raíces de esta especie cuatro géneros bacterianos: *Sphingomonas*, *Bacillus*, *Pantoea* y *Enterobacter*, asociados a la disminución del estrés salino y promoción del crecimiento vegetal (7).

En la actualidad se desarrollan ensayos para optimizar la micropropagación de *C. purpureus* CT-608 mediante segmentos de plantas cultivadas *in vitro*. Como primer paso se realizaron experimentos de desinfección y estableciendo *in vitro*, y seguido se efectuaron estudios para regenerar plántulas por organogénesis directa en el cual se encontraron bacterias asociadas a las microplantas. En la literatura consultada son escasas las investigaciones en las que se describan los géneros y especies de bacterias presentes en el cultivo de tejidos de *C. purpureus*. Por lo que, el objetivo del siguiente estudio es reportar los avances en el aislamiento y caracterización de bacterias presentes en el cultivo de tejidos de *C. purpureus* CT-608.

MATERIALES Y MÉTODOS

El siguiente estudio se desarrolló en las instalaciones de cultivo de tejidos vegetales pertenecientes al Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Agraria de la Habana (UNAH), San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

Material biológico

Consistió en bacterias detectadas en plántulas de *C. purpureus* CT-608 cultivadas *in vitro*, obtenidas del segundo subcultivo en experimentos de regeneración. Las plantas se encontraban establecidas en tubos de ensayo con 15 mL de medio de cultivo, en condiciones controladas

en cámara de crecimiento con fotoperíodo de 16 h de iluminación y 8 h de oscuridad, humedad relativa de $70 \pm 5\%$, intensidad lumínica de $45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$.

Aislamiento de bacterias

Se extrajo un fragmento de la colonia directamente del tubo de ensayo contaminado y se cultivó en tubos de ensayos con 15 mL de medio Agar Nutriente compuesto por 5,0 g L de peptona bacteriológica, 1,0 g L de extracto nutritivo, 2,0 g L de extracto de levadura, 5,0 g L de cloruro de sodio y 15,0 g L de agar, y se le ajustó el pH a 5,7. Después de realizada la siembra se colocaron los tubos en incubación durante 48 h a $30 \pm 2^\circ\text{C}$.

Descripción de las colonias bacterianas

Posterior al aislamiento se procedió con la descripción macroscópica de forma visual, para ello se determinó la forma, color, superficie y borde de las colonias de bacterias según lo propuesto en el Manual de Bacteriología de Bergey (8). Seguido se realizó la descripción microscópica para determinar la morfología de las colonias mediante tinción de Gram. Para ello se evaluaron los siguientes descriptores: forma celular, forma de agrupación, tamaño, reacción a la tinción de Gram, producción de quistes, producción de cápsula, producción de endosporas. Las observaciones se realizaron en microscopio óptico con aumento 1000X.

Antibiograma

se determinó la sensibilidad bacteriana al set de antibióticos: Penicilina, Amoxicilina, Ampicilina, Cefalexina, Cefixime, Ceftriaxona, Ácido nalidíxico, Gentamicina y Cloranfenicol. La respuesta a los antibióticos se realizó mediante la técnica de Kirby-Bauer o difusión en disco (9). Para ello, las colonias bacterianas subcultivadas en placa de Petri con medio Agar Nutriente se suspendieron hasta lograr una turbidez estándar de 0,5 en la escala de Mc Farland y se incubaron durante 24 h. Pasado este tiempo se colocaron cinco discos, por placa, impregnados en antibióticos con una separación mínima de 24 mm para evitar interferencias y se incubaron durante 24 h a $35 \pm 2^\circ\text{C}$. Se evaluó el ancho del halo de inhibición incluyendo el disco en milímetros (mm) y se comparó con la tabla de puntos de corte Eucast para clasificarlas en sensibles, indiferentes o resistentes.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se aislaron dos colonias bacterianas que aparecieron alrededor de los 30 días de la fase de multiplicación en múltiples réplicas del cultivo *in vitro* de *C. purpureum*. Siempre se presentaron por separado en los tubos de ensayo y se circunscribía su crecimiento a la zona inmediata al explante sin colonizar el resto del medio, no obstante, su presencia no afectaba el desarrollo y crecimiento de las microplantas. Este resultado podría indicar que los microorganismos presentes son endófitos y por eso resisten los tratamientos de desinfección aplicados al explante.

Las bacterias en estudio se muestran en la (Figura 1A y 1B), al inicio se aislaron dos colonias (Figura 1C y 1D), las cuales se diferencian entre sí por sus características macroscópicas (Tabla 1). Al realizar la observación microscópica de los aislados se comprobó la existencia de dos morfotipos (MF) bacterianos en la colonia 1 y un morfotipo en la colonia 2. En la colonia 1 se procedió a su purificación mediante técnica de agotamiento para separar los morfotipos bacterianos aislados los cuales se identificaron como MF1 y MF2, y MF3 en la colonia 2.

La caracterización microscópica muestra un morfotipo Gram positivo (MF1) y dos morfotipos Gram negativo (MF2 y MF3) (Figura 1E y 1F). Predomina la forma bacilar, aunque MF3 presenta una típica forma irregular y arrocelada, típica del *Phylum Firmicutes*. No hay indicios de presencia de quistes, endosporas o cápsulas en ninguno de los morfotipos aislados. Los tres morfotipos son catalasa + con un marcado metabolismo aerobio (Tabla 2).

El antibiograma mostró sensibilidad al Ácido nalidíxico y la Cefalexina (Rocephin) para los morfotipos MF1 y MF2,

y resistencia a Penicillina, Amoxicilina y Ampicilina. El ensayo no se pudo realizar en el MF3, ya que no creció después del primer subcultivo, lo que implicó no poder aplicar los discos con antibióticos.

Algunos autores plantean que los microorganismos endófitos desarrollan parte de su ciclo de vida dentro de una planta (10). La mayoría colonizan diferentes compartimentos de la misma como el apoplasto, incluyendo los espacios intercelulares de las paredes y los vasos del xilema. Por otra parte, algunos investigadores refieren que los métodos de desinfección no siempre eliminan las poblaciones de microorganismos en los tejidos *in vitro*, muchos son capaces de permanecer latentes en haces conductores y quedan protegidos de los agentes químicos (11). Además, existen factores que pueden incidir en la contaminación como son: la desinfección deficiente de los explantes, los problemas con la esterilización de los medios de cultivo, los contaminantes ambientales y las deficiencias en la manipulación de las áreas estériles.

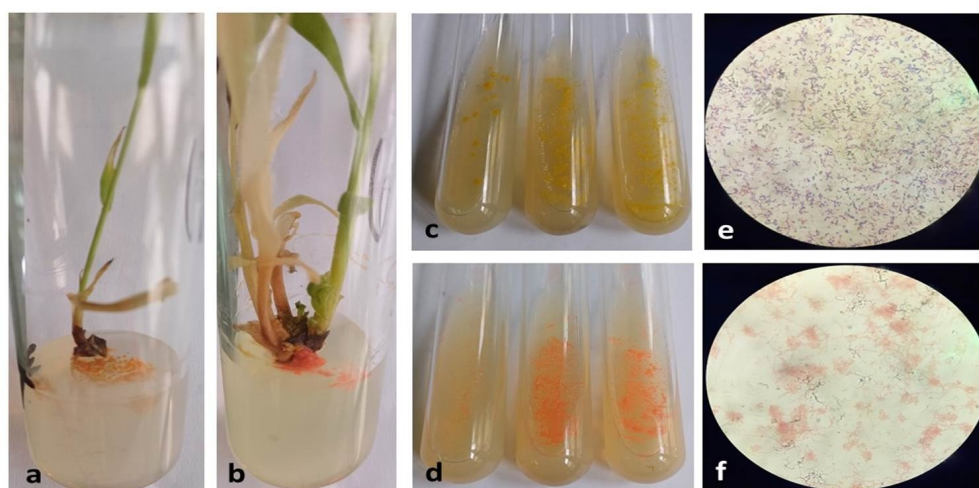


Figura 1. A. Microplantas de *C. purpureus* CT-608 con crecimiento de las colonias de bacterianas (MF1-MF2). B. Microplantas de *C. purpureus* CT-608 con crecimiento de la colonia de bacteriana MF3. C. Bacterias aisladas en medio Agar Nutriente (MF1-MF2). D. Bacterias aisladas en medio Agar Nutriente (MF3). E. Características microscópicas de los morfotipos MF1 y MF2. F. Características microscópicas del morfotipo MF3.

Tabla 1. Descripción macroscópica de los morfotipos presentes en las colonias bacterianas aisladas en medio Agar Nutriente

Características macroscópicas	Colonias bacterianas		
	MF1	MF2	MF3
Comunes	Tamaño mediano en 48 horas de crecimiento. Forma circular con tendencia a la irregularidad. Elevación difusa. Textura cremosa. Catalasa positiva.		
Diferentes	Borde ligeramente ondulado. Color amarillo intenso	Borde ligeramente ondulado. Color amarillo tenue	Borde entero. Color naranja intenso

Fuente: Elaborada por los autores

Tabla 2. Características microscópicas de los morfotipos bacterianos aislados en medio Agar Nutriente

Características microscópicas	Morfotipos de bacterias		
	MF1	MF2	MF3
Forma celular	bacilar	bacilar	bacilar
Tamaño	3-4 mm	3-4 mm	3-4 mm
Forma de agrupación	bacilo	bacilo	Irregular, arrocelada
Gram	+	-	-

Fuente: Elaborada por los autores

Los análisis macro y microscópicos realizados para caracterizar los tres morfotipos bacterianos hallados son de gran importancia, ya que, en el caso del análisis macroscópico, permite determinar características específicas de las cepas, y constituye el método primario más común para la identificación de los fenotipos de las colonias (12). De esta forma algunos autores expresan que este método se basa en las características macroscópicas observables de las colonias como su tamaño, tipo de colonia, textura, color y apariencia (13). Por otra parte, el análisis microscópico evidencia características claves para la identificación bacteriana como son el tipo de pared celular que presenta el microorganismo o la presencia de estructuras distintivas.

Dentro de estos métodos, la tinción de Gram, permite clasificar las bacterias basado en las diferencias en la composición de la pared celular. Al conocer si las bacterias son Gram positivo o negativo posibilita la toma de medidas adecuadas para identificar o incluso combatir bacterias en el caso de ser patógenas (14).

Los resultados de la observación al microscopio óptico determinaron el predominio de la forma bacilar en los morfotipos bacterianos. Las células bacterianas pueden variar en forma, y de acuerdo a ello se pueden clasificar en cocos (esféricos), bacilos (cilíndricos, forma varilla), espirilos (espirales o helicoidales), y filamentos (formas complejas). Conocer la forma de la célula nos brinda información sobre su supervivencia, actividad en el ambiente, y motilidad. En el caso de los bacilos, poseen un área superficial mayor a la tasa de volumen, y pueden obtener nutrientes más eficientes de soluciones diluidas (15). Además, producen y liberan agua oxigenada (H₂O₂) y ácido láctico lo cual impide el desarrollo de otras formas bacterianas y de hongos (16).

El antibiograma mostró sensibilidad al Ácido nalidíxico y la Cefalexina para los morfotipos MF1 y MF2, y resistencia a Penicilina, Amoxicilina y Ampicilina. Las respuestas halladas en este ensayo son de gran importancia para trazar estrategias de desinfección combinadas con el Ácido nalidíxico o la Cefalexina. Los antibióticos son un subgrupo de antimicrobianos con actividad antibacteriana que causan la muerte o inhiben el crecimiento de bacterias y hongos en los medios de cultivo y plantas cultivadas *in vitro* (17). Sin embargo, es importante tener en cuenta que el inadecuado uso de los antibióticos es el principal impulsor de la resistencia bacteriana (18), por lo que, es importante usar los antibióticos de manera responsable y en combinación con otras medidas de control, como la esterilización adecuada de los medios de cultivo, herramientas y equipos.

Antibióticos como el Ácido nalidíxico y la Ampicilina tienen actividad eficaz frente a un amplio espectro de bacterias Gram negativas (19). El Ácido nalidíxico es una quinolona que actúa en el interior de las bacterias y de la girasa del DNA, enzima esencial para el enrollamiento y superenrollamiento del DNA bacteriano, acción que impide su duplicación y favorece su rompimiento (20). Por otra parte, la Penicilina, la Amoxicilina y la Ampicilina inhiben la reproducción, crecimiento, y provoca alargamiento y lisis de las bacterias susceptibles (21).

Existen un grupo de bacilos Gram negativos que poseen enzimas que le confiere resistencia a Amoxicilina y Ampicilina, y algunas cefalosporinas de primera generación. Las cefalosporinas de segunda o tercera generación son estables a estas enzimas y pueden, por lo tanto, ser utilizadas como alternativa de tratamiento. Además, la resistencia de algunos bacilos Gram positivos está predominantemente asociada a cambios estructurales en la pared celular o en componentes citosólicos como los ribosomas y no a mecanismos enzimáticos, haciéndolos resistentes a Penicilina o cefalosporina (22).

CONCLUSIONES

Se aislaron tres morfotipos bacterianos en microplantas de *C. purpureus* CT-608 con características morfológicas y fisiológicas diversas, donde se determinó un morfotipo Gram positivo (MF1) y dos morfotipos Gram negativo (MF2 y MF3).

En los morfotipos MF1 y MF2 predomina la forma bacilar, aunque MF3 presenta una típica forma irregular y arrocelada, no hay indicios de presencia de quistes, endosporas o cápsulas en ninguno de los casos. Los tres morfotipos son catalasa + con un marcado metabolismo aerobio. El antibiograma mostró sensibilidad al Ácido nalidíxico y la Cefalexina (Rocephin) para los morfotipos MF1 y MF2, y resistencia a Penicilina, Amoxicilina y Ampicilina.

La aparición tardía de los morfotipos bacterianos en el medio de cultivo y su circunscripción alrededor del explante indican que pueden tratarse de microorganismos endófitos, aspecto que debe comprobarse mediante técnicas de quimiotaxis en ensayos posteriores.

AGRADECIMIENTOS

A los colegas del Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Agronomía de la Universidad Agraria de la Habana.

BIBLIOGRAFÍA

1. Suárez, P. I. E. Prehistoria e historia del Cultivo de Tejidos Vegetales. En: Cultivo de Tejidos Vegetales. Suárez Padrón, I. E. (ed.). Ed. Colombia: Fondo Editorial Universidad de Córdoba; 2020. ISBN: 978-958-5104-09-9. pp 13-19. Available from: <https://www.google.com>
2. El-Banna, A. N., El-Mahrouk, M. E., Dewir, Y. H., Farid, M. A., Abou Elyazid, D. M. & Schumacher, H. M. Endophytic Bacteria in Banana *In Vitro* Cultures: Molecular Identification, Antibiotic Susceptibility, and Plant Survival. *Horticulturae*. 2021; 7(12): 526. Available from: <https://doi.org/10.3390/horticulturae7120526>
3. Romadanova, N. V., Tolegen, A. B., Kushnarenko, S. V., Zhodybayeva, E. V. & Bettoni, J. C. Effect of Plant Preservative Mixture TM on Endophytic Bacteria Eradication from *in Vitro*-Grown Apple Shoots. *Plants*. 2022; 11(19): 2624. Available from: <https://doi.org/10.3390/plants11192624>
4. Soumare, A., Diédhiou, A. G., Arora, N. K., Tawfeeq Al-Ani, L. K., Ngom, M., Fall, S., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Kouisni, L. & Sy, M.O. Potential Role and Utilization of

- Plant Growth Promoting Microbes in Plant Tissue Culture. *Frontiers in Microbiology*. 2021; 12: 649878. Available from: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.649878>
5. Nguyen, B. T., Le, L. B., Pham, L. P., Nguyen, H. T., Tran, T. D. & Van Thai, N. The effects of biochar on the biomass yield of elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schumach) and properties of acidic soils. *Industrial Crops and Products*. 2021; 161: 113224. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113224>
6. Vander, P. A., de Andrade Lira, M., Machado, J. C., de Miranda Gomide, C. A., Martins, C. E., da Silva Lédo, F. J. & Daher, R. F. Elephantgrass, a tropical grass for cutting and grazing. *Revista Brasileira de Ciencias Agrarias*. 2021; 16(3): 1-13. Available from: <https://doi.org/10.5039/agraria.v16i3a9317>
7. Li, X., Geng, X., Xie, R., Fu, L., Jiang, J., Gao, L. & Sun, J. The endophytic bacteria isolated from elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schumach) promote plant growth and enhance salt tolerance of hybrid *Pennisetum*. *Biotechnology for Biofuels*. 2016; 9: 190. Available from: <https://doi.org/10.1186/s13068-016-0592-0>
8. Brenner, D. J., Staley, J. T. & Krieg, N. R. Classification of Prokaryotic Organisms and the Concept of Bacterial Speciation. In: Brenner, D.J., Krieg, N.R., Staley, J.T., Garrity, G.M. (eds) *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology*. Springer, Boston, MA; 2005. pp 27-32. Available from: <https://doi.org/10.1007/0-387-28021-94>
9. Kirby, W. M. M., Bauer, A. W., Sherris, J. C. & Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology*. 1966; 45(4): 493-496. Available from: https://doi.org/10.1093/ajcp/45.4_ts.493
10. Pérez, A. F., Pérez, C. R. & Chamorro, C. M. Bacterias endófitas asociadas a cultivo de arroz con actividad antimicrobiana sobre *Burkholderia glumae*. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencias Biológicas*. 2013; 25: 31-40. Available from: <https://doi.org/10.24188/re-cia.v4.n1.2012.306>
11. Chavarría, D. & López, G. Micropropagación de ápices caulinares en Plátano (*Musa spp.* AAB) cultivar Cuerno Gigante. (Doctoral Thesis Internet). Managua, Nicaragua: Universidad Nacional Agraria, UNA; 2010 (cited 2025 jul 18). Available from: <https://repositorio.una.edu.ni/2138/1/tnf02c512m.pdf>
12. Bou, G., Fernández-Olmos, A., García, C., Sáez-Niet, J. A. & Valdezate, S. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 2011; 29(8): 601-608. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>
13. Mayea, S., Corone, M., Novo, R., Boado, I., Silveira, E., Soria, M. & Valiño, A. *Microbiología Agropecuaria*. Tomo II. Editorial Félix Varela. La Habana, Cuba; 2009. ISBN: 10-959-07-0576-6. pp 281. Available from: <https://www.google.com>
14. Yoshimura, J., Ogura, H. & Oda, J. Can Gram staining be a guiding tool for optimizing initial antimicrobial agents in bacterial infections?. *Acute Medicine & Surgery*. 2023; 10(1): e862. Available from: <https://doi.org/10.1002/ams2.862>
15. Slonezewski, J. & Foster, J. *Microbiology: An Evolving Science*. Segunda Edición. Ed. W. W. Norton & Company, Estados Unidos; 2010. ISBN-10-0393934470. pp. 1097. Available from: <https://www.google.com>
16. Del Re, C. L., Rosenberg, C. E. & Madrid, V. G. Organismos procariotas y eucariotas. En: *Biología celular y genética*. Capítulo 3. Libros de Cátedra. Buenos Aires, Argentina: Universidad Nacional de La Plata (EDULP); 2025. ISBN: 978-950-34-2523-7. pp 36-49. Available from: https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/179578/Documento_completo.pdf?sequence=1
17. Hernández, Y. & Gonzáles, M. Efecto de la contaminación Microbiana y Oxidación Fenólica en el Establecimiento *In vitro* de frutas perennes. *Cultivos tropicales*. 2010; 31(4): 58-69. Available from: <https://ediciones.inca.edu.cu/index.php/ediciones/article/view/78>
18. Klein, E.Y., Van Boeckel, T.P., Martinez, E.M., Pant, S., Gandra, S. & Levin, S.A. Global increase and geographic convergence in antibiotic consumption between 2000 and 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2018; 115(15): 3463-70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1717295115>
19. Quetylas, F. & Azonzo J. Antibióticos β-lactámicos. En: *Velásquez Farmacología Básica y Clínica*. Madrid, España; 2015. ISBN: 978-84-9835-168-2. pp. 805-824. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=312360>
20. Castro, A. J. M. Estudio de la adsorción y degradación fotocatalítica de ácido nalidíxico con catalizador TiO2 Evonik P25. (Master Thesis internet). San Luis Potosí, México: Centro de Investigación y Estudios de Posgrado; 2023 (cited 2025 jul 18). Available from: <https://repositorioinstitucional.uaslp.mx/xmlui/handle/i/8333>
21. Martínez, F., Sigcha, E. & Toaquiza, P. Alternativa para la propagación *in vitro* de plátano variedad maqueño (*Musa balbisiana* AAB). *Ciencia y Tecnología*. 2008; 1(1): 43. Available from: <https://doi.org/10.18779/cyt.v1i1.62>
22. Fica, C. A. Resistencia antibiótica en bacilos Gram negativos, cóceas Gram positivas y anaerobios. *Implicancias terapéuticas*. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 2014; 25(3): 432-444. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0716-8640\(14\)70060-4](https://doi.org/10.1016/S0716-8640(14)70060-4)