

CAPITULO I

1. INTRODUCCIÓN

El área de influencia para la investigación fue la Reserva Biológica Limoncocha (R.B.L.), que se encuentra ubicada en la región amazónica, provincia de Sucumbíos, cantón Shushufindi, parroquia Limoncocha, y situada en el margen izquierdo del río Napo, tiene una planicie aluvial de 4,613,25 hectáreas pobladas de bosque Húmedo Tropical (bh-T), una temperatura promedio de 24,9 grados centígrados y una precipitación lluviosa de 3.058 mm. por año.

El Gobierno Nacional la declaró área protegida mediante Acuerdo Ministerial N° 394 del 23 de septiembre de 1985, integrada por la laguna Limoncocha y zonas adyacentes. Un 88% de la superficie es de bosques primario y secundario, de condiciones muy variables para su drenaje en zonas temporalmente inundables. El 12 % restante, esta cubierta por matorral de pantano, permanentemente inundable.¹

Los microorganismos por ser seres vivos denominados ubicuos o cosmopolitas, se encuentran distribuidos ampliamente en el medio ambiente, y algunos de los hábitats donde pueden encontrarse en masa considerable de microorganismos, son los suelos, agua-sedimento, etc. El término microorganismo, refiere no solo a las familias, géneros, especies de bacterias, virus u hongos microscópicos, sino a la gran variedad de organismos de tamaño diminuto, muchas veces no microscópicos.

Dado los cambios violentos a lo que es sometido el ambiente, los microorganismos propios de los suelos, aguas-sedimentos se ven afectados en su desarrollo reflejándose mayormente en su densidad poblacional, pues se establecen en ellas una presión selectiva tal que disminuye la diversidad de especies que participan en procesos naturales de reciclaje de la materia orgánica o cooperan al crecimiento de los vegetales al asociarse con los simbioses.

La deforestación de los bosques, erosión y contaminación de aguas trae consigo, la disminución de la población microbiana propia de los suelos, aguas-sedimentos que por largos períodos de tiempo contribuyeron al mantenimiento del medio ambiente, donde los más valientes logran sobre vivir activando su capacidad de metabolismo y catabolismo, adaptándose a ambientes diferentes.

¹ Ministerio del Ambiente Ecuador, Actualizado 2005, Reserva Biológica Limoncocha, Sistema Nacional de Áreas Protegidas.

Debido a la falta de estudio de microorganismos autóctonos en la Reserva Biológica Limoncocha y al ser poco conocido en cuanto al número de familias, géneros, especies microbianas propias que puedan hallarse en suelos, aguas sedimentos de un bosque húmedo tropical y el rol que en ese hábitat cumplen, nació la necesidad de realizar un estudio precedente sobre aislamiento e identificación de géneros microbianos a partir de muestras de suelos, aguas-sedimentos en la laguna y zonas adyacentes en la Reserva Biológica Limoncocha (R.B.L.) de un lugar de característica antes mencionada para identificar genéricamente microorganismos propios de ese ecosistema.

La diversidad microbiana de las aguas tropicales es mayor que en países templados, así como la flora y la fauna. No sólo existe un mayor porcentaje de microorganismos autóctonos sino también una gran variedad de microorganismos alóctonos y nutrientes, por lo que la supervivencia y diversidad de los microorganismos son muy diferentes.²

La investigación realizada pretende compensar la falta de información sobre las familias, géneros, especies microbianas que se hallaron en un ecosistema de las características del Bosque Húmedo Tropical en la R.B.L., la misma que para futuras investigaciones nos lleven a determinar las funciones, usos y aplicaciones de dichos microorganismos, en beneficio de la población y del ambiente.

Por lo tanto, esta investigación representa uno de los primeros esfuerzos para determinar las familias de bacterias, géneros de bacterias u hongos y especies de los distintos grupos de microorganismos que estarían habitando en estos suelos, aguas-sedimentos, y trampas, etc.

Esta investigación se vincula de manera general con la microbiología ambiental y la biotecnología, ciencias técnicas vinculadas al estudio de microorganismos, y en la actualidad son una herramienta eficaz que permite el uso de alternativas biológicas a tratamientos ambientales en general.

² GONZALES, M., ROJAS, T., y RUBALCABA, S., 2006, Revista Cuba, Medio Ambiente y Desarrollo, Laboratorio de Microbiología de Aguas, Vicedirección Salud Ambiental, Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología.

1.2. ANTECEDENTES

Se frecuenta que en la Reserva Biológica Limoncocha se han efectuado un sin número de proyectos por parte de la Universidad Internacional SEK y otras entidades, donde han caracterizado el estado de la Laguna, la calidad de aguas, a los sedimentos y también se han realizado un análisis socio-económico de la población Limoncocha, viendo todos los estudios anteriores se forja hacer un nuevo proyecto sobre el asilamiento e identificación de géneros microbianos en ese lugar, el mismo que permitirá determinar los organismos autóctonos de la zona para aplicaciones coherentes de proyectos a priori.

1.3. GENERALIDADES

1.3.1. DESCRIPCIÓN DE LOS COMPONENTES DEL AREA DE ESTUDIO³

1.3.1.1. SUELO:

La Reserva Biológica Limoncocha se asienta sobre una llanura aluvial cuyo relieve es plano y ligeramente ondulado, se encuentran pendientes las mismas que no sobrepasan el 5%.

Los suelos presentan una buena escorrentía de agua ayudando así a que la cobertura vegetal en esta zona sea abundante.

Las zonas que rodean a la Laguna se caracterizan por tener suelos pantanosos debido a las características hidrológicas de la misma.

1.3.1.2. FAUNA:

Una de las características que presenta este ecosistema es la variedad y la cantidad de especies las mismas que se han desarrollado dentro de esta zona; se ha llegado a estimar que existen más de 493 especies de aves, además de encontrar a caimanes de tamaños considerables, monos, armadillos, pavas de monte, ardillas, guantas, entre otros.

Se ha identificado más de 460 especies endémicas, las mismas que se encuentran en las lagunas cuya composición genera que estas se desarrollen dentro de sus ciclos biológicos sin ningún tipo de riesgo.

La Laguna de Limoncocha sirve de hábitat natural de anfibios y reptiles, además de diferentes especies de peces, como la piraña. Al rededor de la laguna se puede encontrar un tipo de vegetación que permite que un sin número de especies de aves alberguen sus nidos creando así mas nichos ecológicos los mismos que son aprovechados por las condiciones que presenta la laguna. Cada especie animal que habita en esta zona forma parte importante del ecosistema ya que mantienen el equilibrio del mismo.

³ RODRÍGUEZ, A, 2003, Tesis de grado: Monitoreo de Luminosidad en las Plataformas Petroleras en la Reserva Biológica Limoncocha, Universidad Internacional Sek, Quito – Ecuador.

1.3.1.3 FLORA:

En la Reserva Biológica Limoncocha existe una extensa variedad de especies vegetales, identificando un promedio de 207 árboles por hectárea.

La buena retención de nutrientes en la cobertura vegetal permite que se desarrollen plantas de tamaños inferiores, las cuales no se ven afectadas por los rayos de sol, y los cambios de temperatura y humedad.

Los árboles en esta zona son característicos debido a su tamaño, a la forma de sus raíces, a la consistencia de sus troncos y al impetud de sus hojas.

1.3.1.4. HIDROLOGÍA:

En la Reserva Biológica Limoncocha encontramos ríos que pertenecen a la cuenca del río Napo, su coloración y características físicas químicas, son propias del sector. El sistema de lagunas que ofrece la cuenca del Río Napo es de 679 hectáreas aproximadamente, ofreciendo cantidad de recursos los mismos que sirven para estudios científicos, lugares de recreación, etc.

Encontramos en esta zona al Río Napo, cuya longitud es de 1.400 Km., con un ancho promedio de 1 a 3 Km., con una profundidad que se ubica entre los 900 a 140 m.

Se ubican en esta Reserva ríos como: Jivino, siendo importante por servir como vía de transporte y enlace entre las diferentes comunidades presentes en el sector. Itaya, cuyo cauce es irregular y abundante vegetación tanto herbácea como arbustiva.

La Laguna Limoncocha, presentando una forma irregular, rodeada de densa vegetación, presenta una coloración verdosa, sus aguas son turbias, debido a la gran cantidad de fitoplancton que esta presenta.

1.3.1.5. AIRE:

La Región Amazónica, se caracteriza por tener un bosque húmedo tropical, con altas temperaturas, altas precipitaciones y velocidades bajas de viento.

La Reserva Biológica Limoncocha presenta todas estas características debido a la presencia de la Laguna, como también por la gran cantidad de especies vegetales que esta contiene. El aire presente en esta zona se rige por factores como: velocidad, dirección del viento, temperatura, precipitación, heliofania y humedad relativa.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GENERAL:

- Aislar e identificar géneros microbianos a partir de muestras de suelo y agua, sedimento en la Laguna y zonas adyacentes en la Reserva Biológica Limoncocha.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Realizar un inventario de microorganismos mediante la utilización de métodos de aislamiento e identificación a partir de muestras de suelo, agua, sedimento y zonas adyacentes en la Reserva Biológica Limoncocha, la cual servirá como base para futuras investigaciones.
- Realizar una comparación de géneros microbianos presentes en las muestras de agua, sedimento y suelo.
- Obtener un cepario con los microorganismos aislados para profundizar en su estudio.

CAPITULO II

2. MARCO TEÓTRICO:

2.1. ESTUDIOS EN LA LAGUNA DE LIMONCOCHA.⁴

De acuerdo con estudios anteriores de la Laguna de Limoncocha, su origen es fluvial, formada por la acción inundante del río Napo hace miles de años. Según estudios realizados por Colinvaux, establecen la edad de los sedimentos de la Laguna de Limoncocha en relación con la técnica del carbono 14, concluyendo que éstos datan de hace 1200 años AC con una profundidad de 555.0-565.0 cm.

Algunos de los datos acerca de la calidad del agua obtenida en este estudio fueron:

CUADRO N°1: MEDICIÓN DE PARÁMETROS DE AGUA (LAGUNA)

PARAMETROS DE LA LAGUNA LIMONCOCHA	
Área (km ²)	2,04
Profundidad máxima (m)	3,10
Conductividad (mS/ cm)	0,118
pH	9,00
Temperatura superficial (°C)	28
Temperatura en el fondo (°C)	25
Profundidad Secchi (m)	0,51

Fuente: Ayala, P., 2003

Gómez en su estudio realizado en el 2003 clasifica a la Laguna como mesotrófica debido a características como su baja concentración de fósforo (nutriente limitante), calidad de agua que permite la existencia de flora y microfauna y por su oxigenación periódica.

Según el Plan de Manejo de Limoncocha, la Laguna es polimíctica por ser poco profunda y las tormentas y vientos hacen que el agua se mezcle. Así también los nutrientes contribuyen con la alta productividad. Debido a las fluctuaciones drásticas de pH y OD se la caracteriza el estudio como una laguna eutrófica con alta tasa de productividad primaria. Se destaca además presencia de fitoplancton en 90% algas azul verdes y verdes, diatomeas.

⁴ AYALA, P, 2003, Tesis de grado: Caracterización limnológica de la Laguna de Limoncocha e identificación de las características hidrológicas básicas de la zona de Limoncocha, Universidad Internacional SEK, Quito-Ecuador.

De acuerdo con la Caracterización Limnológica de la Laguna de Limoncocha realizada por Andrade, ésta se encuentra estratificada desde aproximadamente las 10:30am hasta las 17:00pm, antes y después de estas horas se presenta un estado de mezcla principalmente adentrada la noche.

La estratificación, es causada exclusivamente por una mayor incidencia de la irradiación solar especialmente al medio día en todas las épocas del año. Concluye así mismo, que la Laguna permanece mezclada desde comienzos de Enero hasta finales de Febrero iniciándose una nueva etapa de estratificación para el mes de Marzo siendo Abril la época más marcada por este fenómeno. Por último se observó un nuevo período de remoción de la estratificación para el mes de Junio. De acuerdo con un estudio reciente realizado en el río Playayacu, se presentan los siguientes registros:

CUADRO N°2: MEDICIÓN DE PARÁMETROS DE AGUA (RÍO)

PARAMETROS DEL RIO PLAYAYACU	
Oxígeno disuelto (ppm)	6,3
Temperatura (°C)	25
Conductividad (mS)	200
pH	7,9
Caudal (m ³ /s)	0,4

* Los datos corresponden a un monitoreo realizado en el mes de Abril 20m antes de la salida a la Laguna.

Pues para los demás ríos pequeños se consideran los mismos parámetros debido a que en ella hay gran presencia de materia orgánica en descomposición eso hace que los microorganismos presentes cambien las condiciones físicas químicas del agua al cual están adaptados los organismos vivientes.

2.2. DEFINICIÓN DE MICROBIOLOGÍA:⁵

Es la ciencia que estudia a los organismos que son normadamente demasiado pequeños para ser vistos a simple vista por el ojo humano; emplea técnicas, como la esterilización y el empleo de medios de cultivos, necesarias para aislar y cultivar estos microorganismos.

⁵ PRESCOTT, L., HARLEY, J., 2004, Microbiología, Quinta edición, Editorial McGraw Hill. Interamericana.

2.2.1. DEFINICIÓN DE BIOTECNOLOGÍA:

La biotecnología⁶ consiste en la utilización de microorganismos así como de células vegetales y animales para producir materiales tales como alimentos, medicamentos y productos químicos útiles a la humanidad.

Según la Dra. Claudia Díaz,⁷ la biotecnología ofrece una alternativa real para los problemas de producción de alimentos, de ahorro y tratamiento de agua, de conservación de las zonas no alteradas, respetando su flora y fauna, de producción de medicamentos y tratamiento de enfermedades, de tratamiento de desechos tóxicos y basura.

2.3. ECOLOGIA MICROBIANA⁸

Los mecanismos que mantienen la diversidad microbiana de la biosfera son la base de la dinámica de los ecosistemas terrestres, acuáticos y aéreos. Es decir, la base de la existencia de las selvas y de los sistemas agrícolas, entre otros. Por otra parte, la diversidad microbiana del suelo es la causa de la fertilidad del mismo.

Esto va más allá del papel que se les adjudicaba tradicionalmente, el cual se restringía a la degradación y reciclaje de la materia orgánica y al mantenimiento de los principales ciclos de fijación, captación y liberación de algunos elementos químicos y sus principales compuestos.

2.3.1. TIPOS DE MICROORGANISMOS

Los microorganismos⁹ son los organismos que comparten la característica de ser microscópicos. Muchos microorganismos no causan normalmente enfermedad en el hombre, existiendo en un estado de cualquier comensalismo, donde hay poco o nada de ventaja o de daño a servir, o en mutualismo, donde hay una cierta ventaja ganada entre ellos. Entre los más estudiados tenemos¹⁰:

Bacterias: Son organismos unicelulares. Sus células carecen de núcleo, por lo que se denominan procariotes y tienen tres morfologías principales de las bacterias son bacilos, cocos y espirilos. Al igual tienen una pared celular con péptido glucano, se dividen por fisión

⁶ DALTON G., MONTANI R., Cámara de sanidad agropecuaria y fertilizantes Buenos Aires Argentina.

⁷ Dra. CLAUDIA D, Copyright © 2000-2007 Council for Biotechnology Information. Investigadora del Instituto de Biotecnología de Plantas del National Research Council of Canada.

⁸ Wikimedia Foundation Inc. ®, Modificado 2007, Ecología Microbiana.

⁹ © SGM, Enero 2005, Tipos de Microorganismos.

¹⁰ El rincón universitario,segilbert@entelchile.net, La Diversidad de los Microorganismos.

binaria y pueden presentar flagelos también pueden utilizar una amplia gama de sustancias para su nutrición.

Hongos: Los hongos (setas, mohos y levaduras) tienen células eucariontes (con núcleo verdadero). La mayoría de ellos son pluricelulares y obtienen nutrientes absorbiendo compuestos orgánicos del medio ambiente.

Protozoos: Son eucariontes unicelulares y se clasifican atendiendo a sus medios de locomoción y absorben nutrientes o los ingieren a través de estructuras especializadas.

Algas: Son eucariontes unicelulares o pluricelulares que se nutren mediante la fotosíntesis y a la producen oxígeno e hidratos de carbono que son utilizados por otros organismos.

Virus: Son entes acelulares que parasitan células y están formados por un ácido nucleico (DNA o RNA) rodeado de una cubierta proteína. Esta cubierta puede estar a su vez rodeada por una envoltura.

2.3.2. CLASIFICACIÓN DE LOS ORGANISMOS SEGÚN SUS REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES¹¹

Con respecto a los requerimientos nutricionales de los microorganismos, se clasifican a los organismos atendiendo a dos parámetros: el primero, *la fuente de energía* que emplean para su ciclo vital; y el segundo, *la fuente mayoritaria de carbono* que metabolizan. Atendiendo a lo anterior podemos establecer cuatro grupos:

- a) **Fotoautótrofos**, que utilizan la luz como fuente de energía y el CO₂ como fuente de carbono. En este grupo se incluyen los organismos fotosintéticos (o productores primarios) en su gran mayoría: vegetales superiores, algas, bacterias fotosintéticas y cianobacterias.
- b) **Fotoheterótrofos**, que utilizando la luz como fuente de energía, emplean compuestos orgánicos diversos como fuente de carbono. En este grupo se incluyen muchas bacterias.

¹¹ MARTÍN, R., Fisicoquímica y Microbiología de los Medios Acuáticos, Tratamientos y Control de Calidad de Aguas, Ediciones Díaz de Santos, S.A., Madrid-España, 2003.

- c) **Quimioautótrofos**, los cuales obtienen energía de la oxidación de compuestos inorgánicos en bajo estado de oxidación tales como NH_3 , NO_2^- , H_2 , compuestos de azufre reducidos (H_2S , S , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) o hierro. Como fuente mayoritaria de carbono emplean CO_2 , a este grupo sólo adscriben algunas bacterias.
- d) **Quimioheterótrofos**, que finalmente utilizan compuestos químicos como fuente energética y compuestos orgánicos carbonados como fuente de carbono. Para estos organismos, frecuentemente un mismo compuesto actúa tanto como fuente energética como fuente de carbono.

2.4. DESCRIPCIÓN GEOLÓGICA DEL AREA EN ESTUDIO:¹²

Figura N°1: Mapa Geológico



Fuente: Mapa Geológico de la República del Ecuador,
Escala 1:1,000,000

Leyenda:

TIPO	DESCRIPCIÓN	PERIODO	EDAD (Ma)
QA	Depósitos aluviales. Arcillas y arenas	Cuaternario	0- 1,64
MPI _C	Areniscas, lutitas y Tobas	Plioceno	1,64- 5,2
ME	Arcillas, lutitas tobáceas y yeso	Mioceno	5,2- 23,5

Pues de acuerdo al mapa geológico nacional se determinan el tipo de suelo y sedimento que tiene la Reserva Biológica Limoncocha.

2.4.1. SEDIMENTO¹³

Materia que se deposita en el fondo de una superficie de agua. El sedimento varía de acuerdo a las zonas geográficas, épocas del año y otras condiciones ambientales.

¹² AYALA, P, 2003, Tesis de grado: Caracterización limnológica de la Laguna de Limoncocha e identificación de las características hidrológicas básicas de la zona de Limoncocha, Universidad Internacional SEK, Quito-Ecuador.

¹³ PETRACINI, R., © 2007, Sedimento.

2.4.2. CARACTERIZACIÓN DEL SEDIMENTO DE UNA LAGUNA TROPICAL¹⁴

Los depósitos de sedimentos en los lagos funcionan bien sea como fuente o como reserva de muchos de los nutrientes esenciales involucrados en el proceso de eutrofización.

El intercambio de nutrientes entre los sedimentos y el agua sobreyacente depende de las características químicas del agua y de las del sedimento (Wetzel 1981). El sedimento ha sido muy poco utilizado en la caracterización de ecosistemas lacustres y fue Naumann (1930) quien lo utilizó para la tipología de lagos por primera vez. Según este autor, sedimentos ricos en compuestos de fósforo, nitrógeno y materia orgánica de origen autóctono son típicos de lagos eutróficos.

La composición granulométrica del sedimento en un sistema lacustre es un factor de importancia en la determinación de los patrones de distribución de microorganismos y estructura de comunidades de macroinvertebrados bentónicos. Muchas veces los porcentajes de las fracciones de arena, limo y arcilla constituyen variables explicativas más eficientes que las físicas y químicas tradicionalmente usadas por los limnólogos interesados en la distribución de macroinvertebrados bentónicos.

2.4.2.1 DIFRACTOMETRÍA DE LOS SEDIMENTOS¹⁵

Los sedimentos de la laguna de Limoncocha se encuentran constituidos en su mayoría por andesina y en menor proporción moscovita, cuarzo y grupo caolinita. Esto quiere decir que en los sedimentos se encuentra aluminio en cantidades considerables, al ser un elemento constituyente de estos minerales.

2.4.2.2. GRANULOMETRÍA DE LOS SEDIMENTOS

Luego de analizados los datos reportados por el Laboratorio de Metalurgia de la Escuela Politécnica Nacional, se tiene que los sedimentos son limo-arenosos. En su mayoría lo constituye partículas arenosas con tamaños comprendidos entre 0.1 y 1mm de diámetro.

¹⁴ RAMÍREZ, J., y NOREÑA, J., 2004, Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Apartado 1226, Medellín, Colombia.

¹⁵ GOMEZ, G, 2005, Tesis de grado: Estudio de los sedimentos de la Laguna de Limoncocha. Universidad Internacional SEK, Quito-Ecuador.

2.5. EL SUELO¹⁶

El suelo es una parte fundamental de los ecosistemas terrestres. Contiene agua y elementos nutritivos que los seres vivos utilizan. En él se apoyan y nutren las plantas en su crecimiento y condiciona, por tanto, todo el desarrollo del ecosistema.

2.5.1. FRACCIÓN ORGÁNICA.

En todo suelo hay materia orgánica, llamada *humus*. En un suelo del desierto puede estar en una proporción del 1%, mientras que en la turba la proporción llega al 100%. Una cifra media común a bastantes suelos sería la de un 5% (2% de carbono). Está formada por restos de organismos muertos, excreciones, etc.; tan profundamente transformados que ya no puede advertirse, normalmente, su estructura original.

Su composición química es muy variada, pero como conforme pasa el tiempo los productos orgánicos que son más fácilmente degradables van desapareciendo, al final van quedando en mucha más proporción las moléculas orgánicas con enlaces resistentes a la degradación biológica (moléculas aromáticas con abundancia de ciclos y anillos, fenoles, funciones ácidas, etc.,). El humus se encuentra, en su mayor parte, adherido a la arcilla.

2.5.1.1. ESTRUCTURA DEL SUELO

El proceso de formación del suelo termina por estructurar a los materiales en unos estratos o capas característicos a los que se denominan horizontes. El conjunto de estos horizontes da a cada tipo de suelo un perfil característico. Tradicionalmente estos horizontes se nombran con las letras A, B y C, con distintas subdivisiones: A₀, A₁, etc.

Sus características son:

- El horizonte A₀ es el más superficial y en él se acumulan hojas, restos de plantas muertas, de animales, etc.
- El horizonte A acumula el humus por lo que su color es muy oscuro. El agua de lluvia lo atraviesa, disolviendo y arrastrando hacia abajo iones y otras moléculas. A esta acción se le llama lavado del suelo y es mayor cuando la pluviosidad es alta y la capacidad de retención de iones del suelo es baja (suelos poco arcillosos). En los climas áridos el lavado puede ser ascendente, cuando la evaporación retira agua de la

¹⁶ ECHARRI, L., Suelo, Ciencias de la Tierra y del Medio Ambiente.

parte alta del suelo, lo que provoca la llegada de sales a la superficie (salinización del suelo).

- El horizonte B acumula los materiales que proceden del A.
- El horizonte C está formado por la roca madre más o menos disgregada.

2.5.1.2. ORGANISMOS VIVOS EN EL SUELO

En el suelo viven una gran cantidad de bacterias y hongos, tantos que su biomasa supera, normalmente, a todos los animales que viven sobre el suelo. En la zona más superficial, iluminada, viven también algas, sobre todo diatomeas.

También se encuentran pequeños animales como ácaros, colémbolos, cochinillas, larvas de insectos, lombrices, etc. Las lombrices tienen un especial interés y son la fauna, de mayor presencia de biomasa, y cumplen un importante papel estructural pues sus galerías facilitan el crecimiento de las raíces y sus heces retienen agua y contienen importantes nutrientes para las plantas.

La selva amazónica es el representante más extenso de este tipo de bioma, aunque se encuentra también en África y Asia. Es un ecosistema con una gran riqueza y variedad de especies y de gran interés porque de esta gran biodiversidad se pueden obtener muchos recursos: alimentos, medicinas, sustancias de interés industrial, etc.

2.5.2. BIODIVERSIDAD MICROBIANA DE LOS SUELOS DE LA CUENCA AMAZÓNICA

En la cuenca amazónica¹⁷ los tipos de vegetación de la cuenca amazónica si bien se presentan exuberantes y variados a quien llega a la zona, realmente son de alta fragilidad ya que el suelo amazónico no acumula nutrientes y es una región desprovista de tierra fértil.

La vida vegetal y animal de los ecosistemas de selva, está estrechamente ligada en colaboraciones mutuas y constantes; la materia orgánica que cae al suelo, inmediatamente es transformada por organismos y microorganismos de fauna y flora, y las raíces que son superficiales y forman un tejido, absorben gracias a la simbiosis que hacen con los hongos micorrizas todo nutriente, dejando el suelo sin nutrientes. Los suelos son muy superficiales, ácidos y presentan un nivel de fertilidad muy bajo.

¹⁷ Características Ambientales, Municipio de Carurú, http://caruru-vaupes.gov.co/apc-aa-files/34373137326264666431303736393531/CARACTER_STICAS_AMBIENTALES.doc

Desde hace tiempo los edafólogos¹⁸ conocen bien la escasa materia orgánica y biodiversidad de los microorganismos de los horizontes superficiales de los suelos de la Cuenca Amazónica. Algunos “expertos” comentan que se trata de un verdadero desierto, sencillamente a causa de la asunción de que la mayor parte de la actividad biológica y materia orgánica se acumula en los centímetros superficiales del suelo.

Y al realizar el protocolo de muestreo, efectivamente se detecta poca vida, ya sea como biomasa, número de organismos o biodiversidad. Los expertos recogieron muestras de una gran cantidad de biomas para llegar a las siguientes conclusiones:

- La diversidad bacteriana de los suelos de la cuenca amazónica es tan pobre que podría considerarse un desierto.
- A nivel global el pH resultaría ser el principal determinante de la diversidad de bacterias de los suelos.

Nótese que no se habla de microorganismos, sino tan solo de bacterias. Por lo tanto cabría pensar que pudiera no ocurrir igual con arqueas, hongos, actinomicetos, algas etc. Sin embargo, una cuestión es aseverar que eso ocurre en los centímetros superficiales y otra bien distinta extrapolarlo al conjunto del perfil del suelo.

2.5.3. LA BIODIVERSIDAD DEL SUELO¹⁹

Sin dudas es el suelo el lugar donde esta megadiversidad de microorganismos se hace más evidente, el suelo, en especial la zona de la rizósfera, se puede considerar como “un ser vivo” ya que cumple con las descripciones clásicas para ello: “nace, crece, se reproduce y muere”.

Es decir, el suelo presenta una dinámica tal que podríamos afirmar que es el ecosistema más estable y sustentable para el grupo microbiano, los aportes de materia orgánica e inorgánica mantienen una inmensa cantidad de microbios los cuales apenas estamos comenzando a descubrir. Directa o indirectamente los desechos humanos y animales, sus cuerpos y los tejidos de vegetales llegan a la tierra y allí ‘se desaparecen’ al transformarse en tierra, todo este trabajo es realizado por los microorganismos; además, estos microorganismos liberan sustancias útiles para las plantas de tal manera que sin la actividad microbiana del suelo la

¹⁸ IBÁÑEZ, J., 2008, Biodiversidad del suelo, Logo del Proyecto “Consider”, Financiado por la UE.

¹⁹ TORO, D Ms.C., 2004, Universidad de Caldas Colombia, La Biodiversidad Microbiana del Suelo, Un Mundo por Descubrir.

vida se extinguiría gradualmente. Fácilmente en un gramo de suelo podemos hallar más de ocho mil millones de bacterias, simplemente cultivándolos en agares adecuados.

2.5.3.1. VARIABILIDAD EN EL SUELO

La gran variabilidad en la composición de los suelos referida a la cantidad y el tipo de sustancias nutritivas, la humedad, la aireación, la temperatura, el pH, las interacciones, la presencia de raíces y las prácticas agrícolas, entre otras, producen grandes diferencias en la densidad y diversidad de la población microbiana. Además, todos estos factores ocasionan una compleja red trófica o trama alimentaria en el suelo, que permite la sobrevivencia de unos y la inhibición de otros.

2.5.4. ANALISIS DE SUELO ORIENTAL²⁰

En gran parte predominan los suelos francos, lateríticos derivados de las formaciones sedimentarias Chambira y Curaray. La potencia aparente de estos suelos es lo mismo en lugares aledaños, teniendo en el horizonte A₀ y A₁ pocos centímetros de materia orgánica.

Según los análisis de laboratorio LABOLAB de la ciudad de Quito realizado en muestras de suelo oriental para identificar el tipo textural y la composición de macro y micro nutrientes del suelo se detallan en la siguiente tabla y se determinan los siguientes:

CUADRO N°3: MEDICIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICA DE SUELOS

PARÁMETROS	UNIDADES	MUESTRA 1	MUESTRA 2
pH		5.31	5.41
Materia orgánica	%	8.50	7.55
Nitrógeno total	%	0.42	0.38
Fósforo (P)	ppm	2.80	5.00
Potasio (K)	Cmol/kg	0.30	0.40
Calcio (Ca)	Cmol/kg	3.85	10.95
Magnesio (Mg)	Cmol/kg	0.74	1.31
Hierro (Fe)	ppm	104.30	136.50
Manganeso (Mn)	ppm	11.40	10.20
Cobre (Cu)	ppm	5.40	4.00
Zinc (Zn)	ppm	7.60	6.20
Clase textural		Franco Arenoso	Franco

Fuente: Resultados de laboratorio LABOLAB, Quito 2007

²⁰ Ing. MONSERRATH, M., 2007, Petroproducción Shushufindi, CINGE Cía. Ltda.

Del análisis de las muestras de suelo según LABOLAB, se puede concluir que el suelo tiene un alto contenido de materia orgánica, N, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, contenido medio de Mn y un bajo contenido de P. El pH del suelo es ácido con un valor promedio 5.36, además se puede concluir que la textura que presenta el suelo corresponde a un Franco, Franco Arenoso.

2.6. MICROORGANISMOS DEL MEDIO ACUATICO²¹

Las características biológicas y microbiológicas de un agua vienen regidas por la población de microorganismos acuáticos que alberga y que afectan de un modo muy importante a su calidad. Algunos de estos microorganismos pueden dañar la salud humana dando lugar a las denominadas enfermedades hídricas mientras que otros pueden ser beneficiosas para aplicaciones ambientales de depuración. El crecimiento controlado de poblaciones microbianas (tanto como aerobias o anaerobias o facultativas) se utiliza habitualmente, bien en depuración de aguas usadas, bien domésticas e incluso industriales, a fin de reducir su carga orgánica.

2.6.1. LAGOS Y LAGUNAS²²

Son sistemas *jóvenes*, a escala geológica. Las lagunas y la mayor parte de los lagos, permanecen desde pocas semanas o meses, las estacionales, a varios cientos de años, las más duraderas. Con el paso del tiempo acaban llenándose de sedimentos y colmatándose. Por este motivo la diversidad de especies es baja pues, aunque por su aislamiento debía ser alta, su corta duración no da tiempo a la aparición de nuevas especies.

En un lago grande se distinguen las siguientes zonas:

- zona **litoral**: con vegetación enraizada a lo largo de la orilla
- zona **limnética**: aguas abiertas con fitoplancton.
- zona **profunda**: con organismos heterótrofos por falta de luz suficiente para hacer fotosíntesis.

La producción primaria en estos ecosistemas suele depender de la naturaleza química de la cuenca y de los aportes que le llegan por afluentes o desde el fondo. Los lagos someros suelen ser más fértiles, porque a más profundidad hay menos producción.

²¹ MARTÍN, R., Fisicoquímica y Microbiología de los Medios Acuáticos, Tratamientos y Control de Calidad de Aguas, Ediciones Díaz de Santos, S.A., Madrid-España, 2003.

²² Los Ambientes Acuáticos, http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/alarchil/EcoMicro/TemaXVI.pdf

En lagos y lagunas las condiciones son más estables que en ríos, la mayoría de los microorganismos son autóctonos donde la mayor parte de las bacterias lacustres son bacterias heterotróficas.

En aguas limpias predominan los bacilos Gram negativas y los géneros *Achromobacter*, *Lavobacterium*, *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Micromonospora*; *Cytophaga*, *Vibrio*, *Spirillum*, existen también bacterias pedunculadas de los géneros *Caulobacter* e *Hyphomicrobium*.

Bacterias autotróficas: Cianobacterias (*Anabaena*, *Microcystis*) y bacterias fotosintéticas anaerobias verdes y rojas.

Bacterias quimiolitótrofas (importantes en los ciclos del N, S y del Fe, como *Nitrosomonas*, *Nitrobacter* o *Thiobacillus*.

La flora bacteriana de cualquier agua la conforman dos grupos típicos:²³

- a) Bacterias autóctonas, con hábitat en el agua y que sólo pueden desarrollarse óptimamente en ella.
- b) Bacterias procedentes de otros biotopos, especialmente bacterias procedentes de la tierra.

Además, sobre las aguas superficiales cae constantemente una lluvia de bacterias procedentes del aire. Todas estas bacterias ocasionales únicamente permanecen vivas en el agua un tiempo limitado, que si se dilata las convierte en organismos facultativos de las aguas.

El contenido bacteriano es muy variable dependiendo del tipo de agua, concentración de sales inorgánicas y sustancias orgánicas, enturbamiento, iluminación y temperatura.

2.6.1.1. DISTRIBUCIÓN VERTICAL DE LAS BACTERIAS EN LAGOS²⁴

La distribución depende de parámetros como la penetración de la luz, la temperatura o la concentración de oxígeno.

²³ MARTÍN, R., Físicoquímica y Microbiología de los Medios Acuáticos, Tratamientos y Control de Calidad de Aguas, Ediciones Díaz de Santos, S.A., Madrid-España, 2003.

²⁴ Los Ambientes Acuáticos, http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/alarchil/EcoMicro/TemaXVI.pdf

2.6.1.2. SISTEMAS LÓTICOS (RÍOS)

En zona de cabecera, pobre en nutrientes, flujo rápido, baja temperatura, sombra y alta concentración de O₂. Domina la materia orgánica alóctona. Predominan bacilos Gram negativos y bacterias pedunculadas que geman o tienen apéndices para fijarse al sustrato como *Hyphomicrobium*, *Caulobacter*, *Gallionella* y *Pseudomonas*. La mayoría son heterotróficas. Al igual algas y cianobacterias *epilíticas* están constantemente en el agua cumpliendo funciones específicas.

En tramos medios, disminuye la velocidad, aumenta temperatura, menos sombra, sustrato más fino, más producción primaria autóctona, vegetación litoral donde predominan bacterias de las familias *Pseudomonaceae*, *Bacillaceae* y *Enteromonaceae*.

También aparecen espiroquetas, bacterias nitrificantes y especies de *Azotobacter*, *Vibrio*, *Spirillum*, *Thiobacillus*, *Micrococcus*, *Sarcina*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Cytophaga*.

En el recorrido bajo se produce gran deposición de sedimentos. Aguas más turbias, ricas en nutrientes, elevada producción primaria fitoplanctónica. Gran influencia de las mareas, muerte de los organismos ESTENOHALINOS que son sustituidos por organismos EUROHALINOS.

Desde un punto de vista global, las *bacterias*²⁵ juegan un rol mucho más importante que todos los otros microorganismos, ya que forman la base de los ciclos de reciclaje de nutrientes y elementos del ecosistema. Las bacterias más estudiadas han sido las patógenas (particularmente para los humanos). Sin embargo, muchas otras bacterias no patógenas son del mayor interés tecnológico, por ejemplo aquellas que participan en depuración de aguas servidas o industriales; depuración natural en ríos, esteros o lagos; descomposición de orgánicos en el suelo; relleno sanitario (metanogénesis) y aquellas que forman la base de los procesos biotecnológicos que utilizan la ingeniería (o manipulación) genética.

²⁵ Ph.D, HERRERA, L., Vida Acuática, Procesos Físicos, Químicos y Biológicos del Planeta o Introducción a la Microbiología en la era Ambiental.

CUADRO N°4: SELECCIÓN DE ALGUNAS BACTERIAS DE INTERÉS INDUSTRIAL O EPIDEMIOLOGICO.

Grupo	Géneros	Importancia (característica)
Indicadores	<i>Escherichia</i> <i>Enterobacter</i> <i>Streptococcus</i> <i>Clostridium</i>	Se les utiliza como indicadores de contaminación de una fuente de agua, por contacto con heces humanas. Se utilizan como indicadores aquellas bacterias cuyo hábitat usual es principalmente humano.
Nitrificadores	<i>Nitrobacter</i> <i>Nitrosomonas</i>	Oxidan compuestos inorgánicos de nitrógeno.
Desnitrificadores	<i>Bacillus</i> <i>Pseudomonas</i>	Reducen nitritos y nitratos a N ₂ molecular gaseoso o a óxido nitroso gaseoso.
Bacterias del decaimiento o de la degradación	<i>Pseudomonas</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Zooglea</i> <i>Clostridium</i> <i>Micrococcus</i> <i>Methanobacterium</i> <i>Methanococcus</i> <i>Methanosarcina</i>	Degradación de orgánicos Degradación de proteínas Formación de flóculos en lodos activados Productor anaerobio de ácidos grasos. Productor anaerobio de ácidos grasos Productor anaerobio de metano a partir de ácidos grasos (útiles en reactores de metanogénesis).
Bacterias del Azufre	<i>Thiobacillus</i> <i>Desulfovibrio</i>	Oxidadora de azufre y de hierro Reductora anaerobia (azufre y otros, corrosión)
Bacterias fotosintéticas	<i>Chlorobium</i> <i>Chromatium</i>	Ambos géneros reducen sulfuros (S ²⁻) a azufre elemental.

Fuente: Ph.D, Herrera, L., Vida Acuática

El género de las bacteria (*bacteria* plural; *bacterium* singular) está conformado por seres unicelulares microscópicos, de formas extraordinariamente variadas y que se encuentran prácticamente en todos los hábitat de la biosfera. Las formas observadas llevaron a clasificar cualquier bacteria en alguna de tres estructuras geométricas generales: esférica (*cocci*, *coccus*), cilíndrica o bastón (*bacilli*, *bacillus*) y espiral (*spirila*, *spirillum*). Además, muchas especies tienden a vivir asociadas en grupos de a pares, en cadenas, en flóculos, etc.

Las bacterias contienen una serie de estructuras (evidentemente aun más pequeñas que la propia célula) de propósito específico: genes en cromosomas; ribosomas; membranas, entre otras. Todas estas sub-estructuras se encuentran en suspensión en un medio líquido, llamado el citoplasma, donde se disuelven, además las proteínas, azúcares, ácidos grasos, etc. que participan del ciclo vital de la célula.

Mientras que los hongos acuáticos²⁶ son organismos heterótrofos muy importantes como descomponedores en ambientes acuáticos (degradan proteínas, azúcares, almidón grasas, pectinas, hemicelulosa, celulosa, lignina y quitina).

En entornos acuáticos se encuentran representantes de todos los grupos de hongos aunque los verdaderos hongos acuáticos son ficomicetos, especialmente algunos Chytridiales y Saprolegniales.

Algunos son parásitos (controlan las poblaciones algales) y otros saprófitos. Escasos en aguas oligotróficas, son frecuentes en ríos en donde existen también numerosos deuteromicetos como Lemonniera.

Los hongos²⁷ son prototistas no-fotosintéticos, subdivididos en 3 grupos:

Mohos: Son hongos filamentados que crecen desarrollando estructuras tipo filamento o hebra, llamados *hyphae* y que terminan formando una masa llamado *micelio* (*mycelium*, *mycelia*). El micelio vegetativo penetra en el sustrato y absorbe nutrientes mientras que el micelio reproductivo es capaz de formar estructuras reproductivas, como las esporas. Los mohos tienen aplicaciones importantísimas en la industria farmacéutica, por ejemplo, en la producción de penicilinas.

Levaduras: hongos no filamentados, unicelulares, de tamaño mayor que las bacterias (5 a 30 µm de largo y de 1 a 5 µm de ancho), de formas ovoide, elipsoidal o esférica. Su distribución en la tierra es de amplia cobertura. Las levaduras son facultativas (crecen con o sin oxígeno), a diferencia de los mohos. Otras levaduras, como la *Candida*, causan enfermedades graves. Los más frecuentes en lagos y otras masas de agua dulce, son los géneros de *Torulopsis*, *Candida*, *Rhodotorula* y *Cryptococcus*.

Callampas: La forma más tradicional del término "hongo" se refiere a la **seta**, conocida en Chile como callampa. Es una forma altamente diferenciada y especializada de hongo. El micelio está en el suelo, bajo la tierra, mientras que la basidio se forma por sobre la tierra, en la estructura que típicamente llamamos "el hongo".

²⁶ Los Ambientes Acuáticos, http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/alarchil/EcoMicro/TemaXVI.pdf

²⁷ Ph.D, HERRERA, L., Vida Acuática, Procesos Físicos, Químicos y Biológicos del Planeta o Introducción a la Microbiología en la era Ambiental.

CUADRO N°5: CLASIFICACIÓN SIMPLIFICADA DE HONGOS.

Tipo	División	Comentarios
Mohos (filamentados)	Phycomycetes	Espora sexual o asexual: <i>Mucor, Rhizopus</i>
	Fungi Imperfecto	Sin etapa Sexual: <i>Penicillium, Aspergillus</i>
Levaduras (no filamentados)	Ascomycetes	Espora sexual en sacos: <i>Neurospora, Candida</i>
Callampas (macroscópicas)	Basidiomycetes	Etapa sexual en la basidia: Hongo común

Fuente: Ph.D, HERRERA, L., Vida Acuática.

2.7. MICROORGANISMOS DESCUBIERTOS EN LA RESERVA BIOLÓGICA LIMONCOCHA

2.7.1. DESCRIPCIÓN DE ALGUNOS TIPOS DE MICROORGANISMOS (HONGOS Y BACTERIAS)

Genero: *Fusarium*²⁸

Especie: *sp.*

Tiempo de duración: 4 a 8 días

Morfología macroscópica: En los primeros días es una colonia blanca y de aspecto de algodón. Con el tiempo se vuelve una colonia beige con los bordes blanquecinos. Según la literatura consultada las características usuales de este hongo presenta una colonia con pigmento rosado o violeta en el centro de periferia menos coloreada. El reverso de la colonia no tiene un cambio de color y permanece blanco a beige.

Morfología microscópica: El hongo descrito posee hifas septadas grandes y dos tipos de esporulación en ellas. La primera esporulación es por medio de microconidias multiseptadas, que tienen las formas de canoas y que pueden encontrarse ramificadas en los conidióforos formando racimos.

La segunda forma de esporulación es por medio de conidióforos pequeños y simples que tienden a ser ovales, poseen una conidia sola o en racimos.

²⁸ CASARES, L., y EGAS, N., 1996, Tesis de Grado, Investigación y caracterización de Hongos Naturales que tengan actividades Celulolíticas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador.

Foto N°1: Hongo *Fusarium sp.*



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Figura N°2. Morfología de *Fusarium sp.*



Fuente: Dr. K. Salfelder, Mérida – Venezuela

Hábitat:³⁰ Se encuentra en una amplia gama de plantas. A menudo se hallan en humidificadores y se localiza también en suelo, actúa también como saprofita o parásito, sobre las plantas. De vez en cuando se encuentra en el interior de una variedad de sustratos. *Fusarium* requiere condiciones muy húmedas. Hasta el momento no se conoce para usos industriales.

Efectos: Muchas especies son importantes patógenos de plantas. Es un potencial alérgeno. Algunas personas pueden experimentar fiebre del heno y / o asma. Generan el trichothecene toxina que pueden afectar a los siguientes sistemas: circulatorio, alimenticio, piel y nervioso. Los síntomas pueden ocurrir ya sea a través de la ingestión de granos contaminados o posiblemente por inhalación de esporas. Los géneros pueden producir el síndrome hemorrágico en los seres humanos. Este se caracteriza por náuseas, vómitos, diarrea, dermatitis, y las grandes hemorragias internas. Son alergénicos con frecuencia participan en los ojos, la piel y las infecciones de uñas, etc.

Uso agrícola y ambiental: Son solubilizadoras de fosfato de suelos, que mejoran la calidad de suelos. Es considerado como patógeno del suelo, para algunos tipos de cultivos agrícolas además es considerado como entomopatógenos benéfico. Son de importancia para el control de ectoparásitos, virtualmente todos los ectoparásitos son susceptibles a las enfermedades fungosas. Son considerados como degradadores de materia orgánica de menor y mayor grado celulítico.

Uso industrial: Poseen la capacidad de sintetizar toxinas que son utilizadas en el ciclo de las relaciones patógeno-hospedero. El estudio de esta toxina (dextruxinas, demetildestruxina y protodextruxina) es de suma importancia ya que se pueden sintetizar productos químicos de baja toxicidad y de elevada acción insecticida, acariciada y nematicida.

²⁹ Dr. K. SALFELDER, *Fusarium sp.*, Mérida – Venezuela, Laboratorio de Investigación en Patología Facultad de Medicina Universidad de Los Andes

³⁰ © Copyright 2007, Habitats *Fusarium*, Caltex International, Manufacturer of Ecologically Responsible Products Since 1986

Genero: *Trichoderma*³¹

Especie: *sp.*

Tiempo de maduración: 5 a 8 días

Morfología macroscópica: En los primeros días la colonia es blanca de aspecto algodonoso y compacto. Luego de unos pocos días presentan unas pequeñas manchas de tono verde. El reverso no posee color alguno.

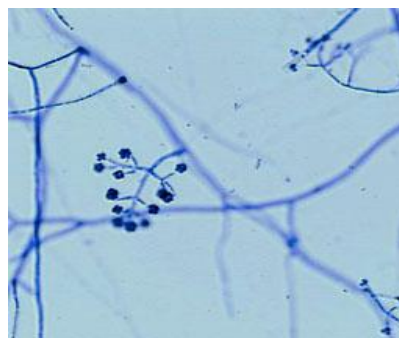
Morfología microscópica: El hongo posee hifas septadas y conidióforos cortos, algunas veces ramificados y terminan en pico de botella. Las conidias son redondas con una sola célula u unidas en racimos y localizados al final de cada conidióforo. Los racimos son fácilmente destruidos si el montaje de la placa no se realiza con mucho cuidado.

Foto N°2: Hongo *Trichoderma sp.*



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Figura N°3: Morfología de *Trichoderma sp.*



Fuente: Copyright 2008 © by Risk
Free Websites

Hábitat:³³ Se encuentra en suelo, la basura, madera y hongos. Muchas especies de *Trichoderma* son muy celulolíticos y son los principales agentes de descomposición. Produce antibióticos que son tóxicos para los seres humanos.

Efectos: Se han producido algunos incidentes registrados de infección y peritonitis en individuos inmunocomprometidos.

Uso agrícola y ambiental: Se consideran como solubilizadoras de fosfato de suelos, que mejoran la calidad de suelos. Hongo saprofito, antagonista de patógenos vegetales que se encuentra presente en la mayoría de los suelos. Activa el crecimiento radicular de las plantas, es capaz de colonizar y crecer en las raíces a medida que éstas se desarrollan y aumenta la resistencia del cultivo frente al ataque de posibles patógenos.

³¹ CASARES, L., y EGAS, N., 1996, Tesis de Grado, Investigación y caracterización de Hongos Naturales que tengan actividades Celulolíticas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador.

³² Copyright 2008 © by Risk Free Websites, *Trichoderma*.

³³ © Copyright 2007, Habitats *Trichoderma*, Caltex International Manufacturer of Ecologically Responsible Products Since 1986.

Son utilizados en tratamientos directos en semillas, tratamientos en semilleros, trasplantes o invernaderos, tratamientos en cultivos hortícolas, ornamentales y extensivos, además como fungicida e insecticida para control biológico de plagas y enfermedades propias de cada cultivo de las plantas. Considerados como degradadores de materia orgánica de menor a mayor grado celulítico.

Uso industrial: En procesos industriales y biotecnológicos es usado para la producción de lactasa (enzima que hidroliza la lactosa, en glucosa y sacarosa) con gran potencial para ser aplicado en el procesamiento de la leche y la fabricación de productos lácteos.

Genero: *Penicillium* ³⁴

Especie: *sp.*

Tiempo de maduración: 3 a 5 días

Morfología macroscópica: La superficie es blanca en los primeros días, pero luego presenta una apariencia polvorienta de color verde oscuro con un borde blanco. El fondo de la caja presenta un color blanco.

Morfología microscópica: El hongo posee hifas septadas con conidióforos que pueden o no ser ramificadas y poseen ramas secundarias conocidas como métulas. En la métulas que se arreglan a manera de racimos que poseen esterigmas a manera de lanzas, de estas emergen cadenas de conidias unidas. Las estructuras enteras forman un *penicillium* característico que tiene la apariencia de cepillo.

Foto N°3: Hongo *Penicillium sp.*



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Figura N°4: Morfología de *Penicillium sp.*



Fuente: Dr. K. Salfelder, Mérida –
Venezuela

Hábitat:³⁶ Especies de *Penicillium* son los más comúnmente encontrados en los suelos, materiales de celulosa (plantas, frutas, madera, papel, etc.), alimentos, granos, y los montículos de compost. Es el más común encontrado en los suelos en casi todas partes.

³⁴ CASARES, L., y EGAS, N., 1996, Tesis de Grado, Investigación y caracterización de Hongos Naturales que tengan actividades Celulolíticas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador.

³⁵ Dr. K. SALFELDER, *Penicillium*, Mérida – Venezuela, Laboratorio de Investigación en Patología Facultad de Medicina Universidad de Los Andes.

Utilizado para elaboración de alimentos, anti-bacteriana antibióticos penicilina, y anti-hongos antimicrobianos griseofulvina.

Efectos: Pueden causar la infección del sistema linfático, los pulmones, el hígado, la piel, el bazo y los huesos. Algunas especies de *Penicillium* pueden causar asma alérgico y la reacción en individuos susceptibles. Es muy raro que presente un riesgo humano como un agente patógeno, pero se puede.

Uso agrícola y ambiental: Se consideran como solubilizadoras de fosfato de suelos, que mejoran la calidad de suelos. Es utilizado como fungicida e insecticida para control biológico de plagas y enfermedades propias de cada cultivo de las plantas. Hongo característico de desarrollar sustancias antagónicas a las bacterias dañinas de las plantas. Considerados como degradadores de materia orgánica de menor a mayor grado celulítico.

Uso industrial: Se elaboran antibióticos (penicilinas, aromaticos-griseofulvina).

Género: *Aspergillus*³⁷

Especie: *sp.*

Tiempo de maduración: 5 a 8 días

Morfología macroscópica: La colonia toma color (negro, amarillo, pardo, verde, etc.) y las colonias maduras tienen consistencia aterciopelada y color pardusco negro. El color depende de los conidios. En el substrato o por encima del mismo crecen las hifas vegetativas tabicadas. A intervalos la célula se ramifica, y extiende al aire hifas o conidióforos fecundos; el extremo del conidióforo aumenta de tamaño para formar vesículas, en que están dispuestos radialmente numerosos esterigmas. Cada uno de ellos sustenta una cadena de conidios.

Morfología microscópica: Por estudio microscópico de un conidióforo intacto se observa solamente la hifa y encima de ella un cuerpo negro impreciso, dado que los conidios están unidos tan íntimamente y en masas opacas que la estructura interna del “cuerpo esférico” no puede delimitarse. Los esterigmas y las vesículas se observan en preparaciones alteradas mecánicamente para obtener los conidios. La formación de los conidios tiene lugar dentro de las puntas de los estigmas, que en realidad son tubos. La cadena de esporas se alarga a medida que el protoplasma del esterigma crece por detrás. Las esporas aisladas son coloreadas y, como se producen en enorme abundancia.

³⁶ © Copyright 2007, *Penicillium*, Caltex International Manufacturer of Ecologically Responsible Products Since 1986.

³⁷ PHILIP, CARPENTER, Microbiología, Cuarta Edición, Editorial Interamericana, S.A. D. F. México, 1979.

Foto N°4: Hongo *Aspergillus* sp.



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Figura N°5: Morfología de *Aspergillus* sp.



Fuente: Dr. Michelle Seidl © 2008

Hábitat:³⁹ Pueden vivir en materia orgánica, suelo, etc., Algunas especies de *Aspergillus* que produce enzimas tienen importantes aplicaciones industriales, dependen en gran medida de género y especie.

Efectos: Producen micotoxinas que pueden estar asociados con la enfermedad en los seres humanos y otros animales. La producción de toxinas depende de la especie o de una cepa dentro de una especie y en la fuente de alimento para el hongo.

Los miembros de este género, causan infecciones del oído. Varias toxinas son considerados posibles carcinógenos humanos. Causa común de asma extrínseca. Síntomas agudos y pueden desarrollar enfisema pulmonar. Son alergénicos.

Uso agrícola y ambiental: Se consideran como solubilizadoras de fosfato de suelos, que mejoran la calidad de suelos, además como degradadores de materia orgánica de mayor grado celulítico. Usos en plantas de tratamientos de aguas negras, grises e industriales.

Uso industrial: Producen ácidos orgánicos (cítrico y glucánico). Enzimas (Glucosa amilasa, pectinasa) para aplicaciones específicas.

Género: *Verticillium*

Especie: sp.

Tiempo de maduración: 5 a 8 días

Morfología macroscópica: Las colonias a inicios presentan un color blanco tornando luego a beige, pardo, marrón, etc., de aspecto algodonoso compacto, y pueden presentar colores distintos.

Morfología microscópica:⁴⁰ Las observaciones microscópicas permiten confirmar la presencia de conidióforos del hongo que se caracteriza por la formación de uno o varios verticilos (de allí su nombre) con dos a cuatro fiálides. Los conidios son elipsoides o

³⁸ Dr. SEIDL, M., © 2008, *Aspergillus*, EM Lab P&K Environmental Microbiology Laboratory, Inc.

³⁹ © Copyright 2007, *Habitats Aspergillus*, Caltex International Manufacturer of Ecologically Responsible Products Since 1986.

⁴⁰ Hongo *Verticillium*, <http://www.inta.gov.ar/bellavista/info/documentos/hortalizas/hd30.htm>

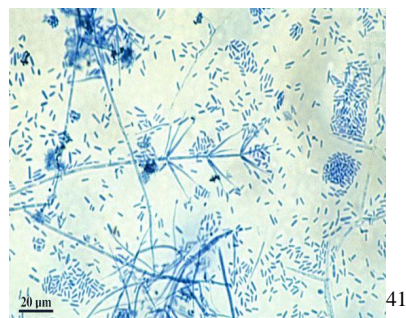
cilíndricos, hialinos, generalmente unicelulares, raramente dos que se agrupan en “gotas” en las puntas de las fiálides.

Foto N°5: Hongo *Verticillium* sp.



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Figura N°6: Morfología de *Verticillium* sp.



Fuente: Dr. David Ellis, © 2008.

Hábitat:⁴² Se encuentra en vegetación en descomposición, en paja, el suelo y los artrópodos.

Efectos: Una rara causa de las infecciones de la córnea. Es patógeno de plantas y es también parásita de otros hongos e insectos.

Uso agrícola y ambiental: Son considerados como entomopatógenos, mismos que son de importancia para el control de ectoparásitos en cultivos de plantas, virtualmente todos los ectoparásitos son susceptibles a las enfermedades fungosas, además como degradadores de materia orgánica de menor a mayor grado celulítico.

Uso industrial: Poseen la capacidad de sintetizar toxinas que son utilizadas en el ciclo de las relaciones patógeno-hospedero. El estudio de esta toxina (dextruxinas, demetildestruxina y protodextruxina) es de suma importancia ya que se pueden sintetizar productos químicos de baja toxicidad y de elevada acción insecticida, acariciada y nematocida.

Género: *Mucor*⁴³

Especie: *sp.*

Tiempo de maduración: 2 a 3 días

Morfología macroscópica: Las colonias tienden a crecer muy rápido, son algodonosos de color blanco a amarillo, convirtiéndose luego en gris-oscuro o negro, con el desarrollo de esporangios.

Morfología microscópica: Las colonias tienden a crecer muy rápido, son algodonosos de color blanco a amarillo, convirtiéndose luego en gris-oscuro, con el desarrollo de esporangios.

⁴¹ Dr. ELLIS, D., © 2008, *Verticillium*, The University of Adelaide, Australia.

⁴² © Copyright 2007, *Habitats Verticillium*, Caltex International, Manufacturer of Ecologically Responsible Products Since 1986

⁴³ Dr. ELLIS, D., © 2008, Hongo *Mucor*, The University of Adelaide, Australia.

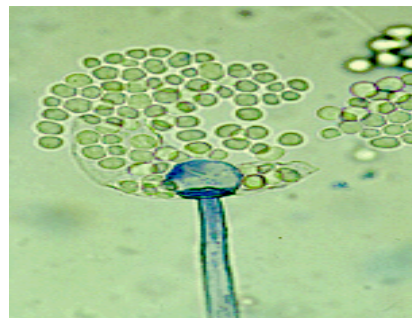
Los esporangiósforos son erectos, simple o ramificada, formando grandes (60-300 μ m de diámetro), terminal, globoso a esférica, diversidad de esporangios, sin apófisis y bien desarrollados se tienden a en columnarse de manera visible. Los esporangiósforos son hialinos, gris o marrón, elipsoidal a globosa, y de paredes lisas o finamente decorado.

Foto N°6: Hongo *Mucor sp.*



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Figura N°7: Morfología de *Mucor sp.*



Fuente: Dr. David Ellis, © 2008.

Hábitat:⁴⁵ A menudo se encuentran en el suelo, material vegetal muerta, estiércol de caballo, frutas y zumos de frutas.

Efectos: Puede causar mucorosis en individuos inmunodeprimidos. Los sitios de infección son los de pulmón, los senos nasales, cerebro, ojos y piel. La infección puede tener múltiples sitios.

Uso agrícola y ambiental: Considerados como degradadores de materia orgánica de menor a mayor grado celulítico. Es utilizado en la absorción y degradación de suelos contaminados con hidrocarburos.

Uso industrial: Producen enzimas (reninas). Para usos ambientales. Utilizados en la industria de transformación de caucho (degradadores).

Género: *Bacillus sp.*⁴⁶

Características: Son bacilos gram positivos aerobios o anaerobios facultativos, habitualmente dotados de catalasa. Su esporo deforma o no el soma bacteriano según la especie de que se trate.

Producen endosporas,⁴⁷ las que son termoresistentes y también resisten a agentes perjudiciales como la desecación, la radiación, los ácidos y los desinfectantes químicos. Muchos bacilos producen enzimas hidrofílicas extracelulares que descomponen polisacáridos, ácidos

⁴⁴ © Copyright 2007, *Mucor*, Caltex International, Manufacturer of Ecologically Responsible Products Since 1986.

⁴⁵ © Copyright 2007, *Habitats Mucor*, Caltex International, Manufacturer of Ecologically Responsible Products Since 1986.

⁴⁶ PIÉDROLA-ANGULO, G., © 2008 Google, *Bacillus*, Microbiología y Parasitología Médica.

⁴⁷ Bioland Microorganismos contenidos en NUTRI-COMPOST™, *Bacillus*.

nucleicos y lípidos, permitiendo que el organismo emplee estos productos como fuentes de carbono y donadores de electrones. Muchos bacilos producen antibióticos y son ejemplos de estos la bacitracina, polimixina, tirocidina, gramicidina y circulina. Los bacilos en general crecen bien en medios sintéticos que contienen azúcares, ácidos orgánicos, alcoholes, etc., como las únicas fuentes de carbono y el amonio como única fuente de nitrógeno. Viven dentro los límites de temperatura de 55 a 70°C. El límite inferior de pH para *Bacillus* es de 2 a 3.

Hábitat: La mayoría de sus variedades son saprofitos del suelo, aire, agua o planta. Viven en ambientes bien diferenciados.

Afectación: Algunos de las especies que pertenecen a los géneros *Bacillus*, son patógenos a para los humanos, plantas, animales, pero hay otros especies que son benéficos para distintos usos en la naturaleza.

Uso agrícola y ambiental: Bacteria habitante natural del suelo, que se puede utilizar para restaurar la fauna benéfica de los suelos agrícolas y que, además, presenta una acción antagónica en contra de los principales microorganismos que causan daños severos a los cultivos.

Es eficaz para el control de microorganismos causantes de enfermedades vasculares tales como *Rhizoctonia solani*, *Pythium spp.*, *Phytophthora spp.*, *Fusarium spp.*, *Verticillium spp.*, *Sclerotium rolfsii*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Penicillium spp.* etc.

Promueven el crecimiento vegetal. Se utilizan para la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, además se utilizan para bajar la concentración de metales pesados de aguas y suelos, además en tratamientos de aguas, negras, grises e industriales.

Pero en gran mayoría se usan para diferentes tratamiento sean estos orgánicos e inorgánicos por su capacidad de poseer un alto metabolismo y catabolismo.

Uso industrial: Es utilizados como biofungicida polivalente que controla a los microorganismos fitopatógenos mediante varios modos de acción como son: Competencia por espacio y nutrientes. Antibiosis. Promoción de reguladores de crecimiento. Es productor de antibióticos (gramicidina, bacitracina, polimixina), e insecticidas. Producen varias enzimas, tales como quitinasas, proteasas, glucanasas, glucosidasas, xilanasas, son capaces de hidrolizar las paredes celulares de varios hongos etc. y así poder colonizar al fitopatógeno.

Género: *Pseudomonas sp.*⁴⁸

Características: *Pseudomonas* es un género de bacilos rectos o ligeramente curvados, gram negativos. Los miembros de este género generalmente son móviles gracias a uno o más flagelos polares que poseen. El género demuestra una gran diversidad metabólica, y consecuentemente son capaces de colonizar un amplio rango de nichos.

El amplio potencial catabólico de los componentes del género viene dado en muchos casos por la presencia de determinantes plasmídicos y transposones autotransmisibles. La ubicuidad de las bacterias del género *Pseudomonas* y su capacidad para explotar una amplia variedad de nutrientes refleja un sistema de adaptación al medio ambiente que no encuentra parangón en las bacterias de otros géneros.

Las cepas del género *Pseudomonas* son capaces de procesar, integrar y reaccionar a una amplia variedad de condiciones cambiantes en el medio ambiente, y muestran una alta capacidad de reacción a señales físico-químicas y biológicas.

Hábitat: Se han aislado bacterias de este género tanto en suelos limpios como en suelos contaminados por productos biogénicos y xenobióticos. También son microbiota predominante en la rizosfera y en la filosfera de plantas; del mismo modo, se han aislado de ambientes acuáticos, tanto de agua dulce como de aguas marinas.

Afectación: Algunas especies de los géneros *Pseudomonas* son patógenos que pueden afectar a plantas animales y humanos produciendo cierto tipo de enfermedad en ellos.

Uso agrícola y ambiental: Para el control de *Penicillium sp.* que afecta a los cítricos se utilizan bacterias como *Bacillus sp.* y *Pseudomonas sp.*

Bacteria habitante natural del suelo, que se puede utilizar para restaurar la fauna benéfica de los suelos agrícolas y que, además, presenta una acción antagónica en contra de los principales microorganismos que causan daños severos a los cultivos que son producidos por hongos.

Se utilizan para la biorremediación de suelos contaminados con hidrocarburos, además se utilizan para bajar la concentración de metales pesados de aguas y suelos.

Son indicadores de la calidad de agua de consumo.

Uso industrial: Se utilizan en la fabricación de bioplásticos o en técnicas de biocontrol.

⁴⁸ Wikimedia Foundation, Inc., Actualizado 2008, *Pseudomonas*.

Familia: Enterobacterias⁴⁹

Características: Las enterobacterias son bacilos entéricos gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos, fermentadores de glucosa, no producen oxidasa y tienen una movilidad variable (que depende de la presencia de flagelos).

Hábitat: Se encuentran en el suelo, el agua y la vegetación; algunos forman parte de la flora intestinal normal del hombre.

Afectación: Son la causa más frecuente de infecciones intrahospitalarias, seguidas del estafilococo.

Es obvio que muchos de los géneros y especies que pertenecen a las familias de enterobacterias producen gran cantidad de enfermedades sean estos en plantas, animales y humanos como calidad de hospedadoras.

No todos los géneros y/o especies de enterobacterias son patógenos, al igual existen en gran mayoría benéficos debido a que pueden cumplir un sin número de funciones sean estos en suelos, aguas, etc.

Género: *Shigella* sp.⁵⁰

Características: *Shigella* es un género bacteriano perteneciente a la familia **Enterobacteriaceae**, integrado por bacterias de forma bacilar, no esporuladas, inmóviles, pero animados de movimiento pendular (oscilación) *in situ*. Son gramnegativos, aerobios-anaerobios facultativos. Citocromo-oxidasa negativos. Fermentan la glucosa sin producción de gas; no obstante, se han encontrado algunos biotipos que producen gas de la glucosa. No decarboxilan la lisina. No fermentan la lactosa. No utilizan el citrato como única fuente de carbono. No crecen en el medio cianuro potásico. Su actividad bioquímica es muy reducida.

Hábitat: Se encuentran en aguas, suelos, alimentos, contaminados en calidad de hospedadoras.

Afectación: En gran mayoría producen enfermedades a personas, animales, etc.

Uso agrícola y ambiental: Se consideran como solubilizadoras de fosfato de suelos, que mejoran la calidad de suelos, además como indicadores de la contaminación de aguas y enfermedades gastrointestinales.

Los microorganismos encontrados, pueden vivir indistintamente ya sea en suelos, aguas, sedimentos, etc.

⁴⁹ Dr. VARGAS y FARRERA S., 1987, *Enterobacterias*, Microbiología y Parasitología Médica.

⁵⁰ ©2004, Laboratorio de Tecnología Educativa, Departamento de Microbiología y Genética, Universidad de Salamanca.

La mayoría de los hongos y bacterias aislados de los suelos, aguas-sedimentos y trampas son en su totalidad de los casos patógenos y benéficos a la vez.

2.8. USOS ACTUALES DE MICROORGANISMOS

2.8.1. EL PAPEL BENEFICIOSO DE LOS MICROORGANISMOS⁵¹

Los microorganismos son esenciales para nuestra existencia. Son ubicuos, encontrándose en todos los ambientes comunes tales como el suelo, el agua y el aire así como también en lugares exóticos y diversos tales como las fumarolas o chimeneas hidrotermales en los mares profundos y en lagos de aguas calizas. En estos ambientes naturales los microorganismos cumplen funciones muy específicas. Ellos son responsables del reciclaje de nutrientes en el suelo y de la purificación de las aguas.

Reciclaje de nutrientes: Cuando las plantas y los animales consumen nutrientes, éstos dejan de estar disponibles a otros organismos vivos. Cuando las plantas y los animales mueren, los nutrientes permanecen en el cuerpo o cadáver. Si este material muerto, o detritus, no es fragmentado y descompuesto por los microbios, esos nutrientes nunca podrán estar disponibles para sostener la vida de otros organismos. Existe una cantidad finita de nutrientes en el ambiente y simplemente no podemos hacer más. Los nutrientes atrapados en el detritus deben ser liberados para que la vida pueda continuar. La población de microbios en el ambiente es responsable de este reciclaje de nutrientes.

La salud: Nuestra salud depende de una población de microbios llamada la microbiota. El cuerpo humano transporta adentro o sobre sí mismo una población de microbios que es diez veces más numerosa que el número de células en el cuerpo. Las bacterias buenas que viven sobre y dentro de nosotros nos protegen de los invasores malos que podemos enfrentar. Sin estas bacterias buenas, las bacterias malas pueden entrar y fácilmente causarnos problemas.

Alimentos: Los microbios han sido usados por siglos para producir alimentos. Y las simbiosis microbianas con las plantas les permiten a éstas crecer fuertes y aumentar la productividad y, a veces, hasta son esenciales para la propia supervivencia de las plantas.

Biodegradación: Los microorganismos son responsables de eliminar los desechos generados por la industria y por los hogares. Ellos detoxifican el drenaje ácido de las minas y otras

⁵¹ Dra. MEADE-CALLAHAN, M., © 2000-2008 American Institute of Biological Sciences. El papel beneficioso de los microorganismos.

toxinas que desechamos en el suelo y en las aguas. Los nutrientes generados por la descomposición de estos productos continúan su viaje alimentando a las plantas o a las algas, las cuales a su vez alimentan a todos los animales.

Tratamiento de Aguas Servidas: Cuando nosotros eliminamos desechos en los drenajes o en los inodoros, ellos van a parar a un sistema séptico o a una planta de tratamiento de desechos líquidos al final de la línea. Después del tratamiento mecánico preliminar y de la aeración, los microbios remueven los materiales orgánicos de las inmundas aguas servidas que fluyen a estos sistemas y, eventualmente, el agua puede ser finalmente regresada a los ríos y arroyos con seguridad.

Biosíntesis: Se ha descubierto que los microorganismos también son útiles para construir cosas. Los productos como la goma xantan (un espesante para alimentos) son cosechados de los productores bacterianos. La mayor parte de nuestra vitamina B12, de la riboflavina y de la vitamina C es producida por la fermentación bacteriana. Aproximadamente el 70% de los antibióticos que se usan actualmente también son producto de la fermentación bacteriana.

CAPITULO III

3. METODOLOGÍA

3.1. FASE DE CAMPO

3.1.1 TRABAJO DE CAMPO:

Se realizó 4 campañas de muestreo que iniciaron el 17 de Diciembre del 2007 y culminaron el día 5 de Mayo del 2008. Las campañas se realizaron en los meses de Diciembre, Marzo, Abril y Mayo, para la ubicación-descripción, toma de muestras de agua-sedimento, suelos, y trampas, aproximadamente de 1 a 2 días duró cada campaña.

3.1.2 MATERIALES, EQUIPOS Y TRANSPORTES DE CAMPO

- 1 Marcador
- 1 Esfero
- Hojas de apunte
- 6 Frascos de vidrio de 473cm³
- Cooler pequeño (1)
- Cámara digital
- Agua destilada
- Jarra (1 de 1000ml para mezcla de agua-sedimento)
- Muestreador de sedimentos (2.30m)
- Hielo
- 1 Medidor multi-parámetro
- Tarrina
- Medias nylon
- Ligas
- Arroz cocinado
- Tijera
- Fundas ziploc
- Pala
- Machete
- Bote y Camioneta (U.I.SEK)

3.2. PRIMERA CAMPAÑA

3.2.1. UBICACIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREO

Para la ubicación de los puntos a muestrear se considero el área de la Reserva Biológica Limoncocha y los territorios de las zonas adyacentes donde habitan la población de Limoncocha y para este caso los equipos que se utilizaron son cámara y GPS, puesto que fueron indispensables para determinar los puntos a muestrear y en la tabla siguiente se puede apreciar de manera detallada:

**CUADRO N°6: UBICACIÓN Y COORDENADAS DE LOS PUNTOS DE MUESTREO
EN LA LAGUNA LIMONCOCHA, EFLUENTES, AFLUENTES Y SUS
ALREDEDORES (ZONAS ADYACENTES)**

Ítems	Puntos de muestreo	Ubicación
1	Punto I Quebrada I.P.I.B.	Latitud 00°23'14,2" S Longitud 076°36'35,2" W
2	Punto II Río Playayacu	Latitud 00°23'14,2" S Longitud 076°36'35,2" W
3	Punto III Vertiente Sendero INEFAN	Latitud 00°23'14,2" S Longitud 076°36'34,2" W
4	Punto IV Río Pishira (Entrante a la Laguna)	Latitud 00°23'15,2" S Longitud 076°36'15,8" W
5	Punto V Inicio Cañón (Salida de agua)	Latitud 00°23'21,3" S Longitud 076°35'55,6" W
6	Punto VI Santa Elena	Latitud 00°22'46,8" S Longitud 076°35'11,8" W
7	Punto VII Final Cañón (Salida a Laguna Negra)	Latitud 00°22'58,8" S Longitud 076°34'58,4" W
8	Punto VIII Centro de la Laguna (Esquina D.)	Latitud 00°23'48,3" S Longitud 076°36'27" W
9	Punto IX Inicio Entrada Laguna	Latitud 00°24'30,7" S Longitud 076°37'09,3" W
10	Punto X Río Blanco	Latitud 00°21'53,7" S Longitud 076°35'12,5" W
11	Punto XI Río Pishira (C.P.F.)	Latitud 00°21'58,8" S Longitud 076°37'41,1" W
12	Punto XII Quebrada (Juana Cerda)	Latitud 00°24'39,8" S Longitud 076°37'17,3" W
13	Punto XIII Puerto de Palos	Latitud 00°25'40,1" S Longitud 076°37'28,8" W
14	Punto XIV Destacamento Militar	Latitud 00°24'28,5" S Longitud 076°37'17,4" W
15	Punto XV Estación Sek	Latitud 00°24'19,7" S Longitud 076°37'14,6" W

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

3.2.2. DESCRIPCIÓN DE LOS PUNTOS A MUESTREAR. (VER ANEXO N°1)

Todos los puntos que se ubicaron están dentro de la Reserva Biológica Limoncocha, y a continuación mencionamos a los que se consideraron para toma de muestras:

Quebrada IPIB: Quebrada que nace a unos 60 metros y que alimenta a la laguna, pero en ella se da usos para actividades de lavanderías, donde la población utilizan en gran cantidad detergentes, jabones, cloro, entre otros, estos contaminantes van a depositarse directamente a la laguna produciendo así el aumento de nutrientes que lleva a un proceso de eutrofización. De la misma quebrada captan agua mediante bomba para sus usos múltiples.

Esta cubierta de vegetación de árboles y de hierbas pequeñas, el sedimento es de arena con arcilla (gris y café) y el agua es transparente, el suelo es de color (café-negro), considerado como una zona ya intervenida.

De este punto se tomó muestras de agua, sedimentos, suelo (muestras compuestas) y se realizó una trampa.

Río Playayacu: Río que nace desde el territorio o Comuna Río Jivino pasando así por el territorio de la Asociación Indígena Limoncocha (A.I.L.) y cerca de la plataforma Jivino B de PETROAMAZONAS llegando a alimentar así a la Laguna.

Básicamente esta cubierta de vegetación de árboles enormes, y de vegetación menor, el sedimento esta formado de arena, arcilla y materia orgánica en descomposición (gris, café y negro) y sitio pantanoso cerca de ella. El color de agua es transparente y el color del suelo es café-negro, zona no intervenida.

De este punto se tomó muestras de agua, sedimentos, suelo (muestras compuestas) y se realizó una trampa.

Vertiente Sendero (INEFAN): Vertiente que nace a unos 200m y que alimenta a la Laguna, sitio alejado de la población, cubierta de vegetación de árboles enormes y vegetación menores, sedimento que presenta es de color café, el agua es transparente con poca materia orgánica y el color del suelo es café-negro, zona no intervenida. De este punto se tomó muestras de suelo (muestras compuestas) y se realizó una trampa.

Río Pishira (Entrante a la Laguna): No se puede apreciar claramente la alimentación del río Pishira a la laguna debido a que el afluente se encuentra cubierto de lechuguines. Esta

revestido de vegetación y pantano. El sedimento es de color negro-gris con materia orgánica en descomposición y el agua es de color verdoso. Se tomó muestras de agua y sedimentos.

Santa Elena: Punto intermedio entre inicio del cañón y el final, cubierto de vegetación en gran parte, está alejado de la población, el color del suelo es negro con gran cantidad de materia orgánica. De este punto se tomó muestras de suelo y se realizó trampas.

Final Cañón: Este punto está al final de la laguna donde prácticamente es la salida del agua a la laguna negra (efluente). Está cubierta de vegetación enorme, y el sedimento es de color negro-café con materia orgánica en descomposición y mientras que el agua es de color verdoso. Se tomó muestras de agua y sedimentos.

Centro de Laguna (Esquina Derecha): Punto que se consideró el centro de la laguna (esquina), está cubierto de totoras y otras plantas acuáticas. El color de agua de la laguna es verdoso. Se tomaron muestras de agua y sedimentos.

Inicio Entrada Laguna: En este punto gran parte de lechuguines y otras plantas acuáticas han invadido territorio ocupando espacios significativos. El color de agua es verdoso y el sedimento es negro-café con materia orgánica en descomposición. Se tomó muestras de agua y sedimentos.

Río Blanco: En este punto se dio un derrame de crudo hace dos años, está dentro de Comuna Santa Elena, lugar que está cubierto de vegetación secundaria y hay materia orgánica en descomposición como las hojarascas. Se tomaron muestras de suelo (muestras compuestas) y se realizó una trampa.

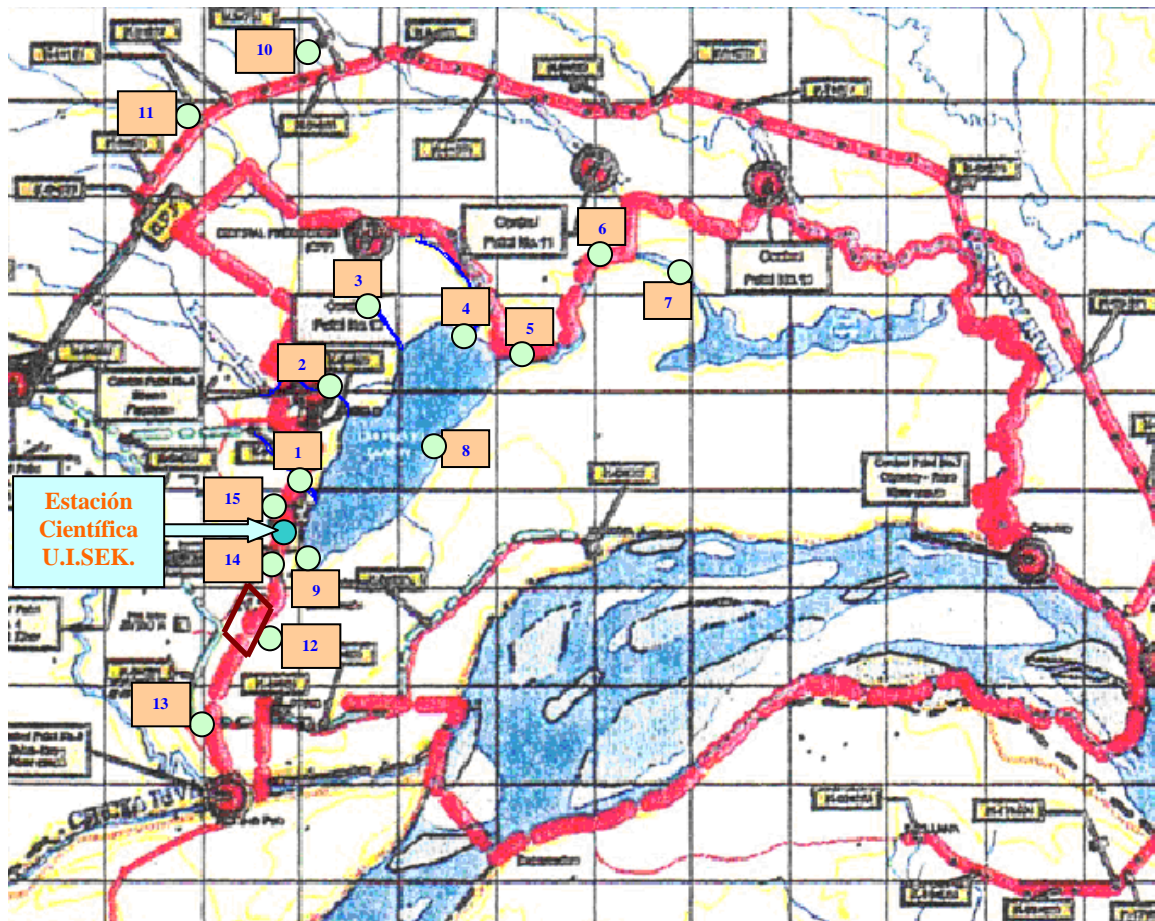
Quebrada (Juana Cerda): Este punto está dentro de la Comunidad Limoncocha A.I.L., mismo que utilizan para actividades de lavanderías y en ocasiones para consumo humano, quebrada que nace de unos 8 metros de entre las rocas areniscas también alimentan a la Laguna. Cerca de ella se halla el pantano cubierto de vegetación secundaria. Se tomaron muestras de suelo (muestras compuestas), y se realizó trampas.

Estación SEK: Es una zona intervenida y tiene una vegetación terciaria, pues en ella se ve la descomposición de materia orgánica de hojarascas y otros.

De este punto se tomaron muestras de suelos (muestras compuestas) y se realizó trampas.

3.2.3 MAPA DE UBICACIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREOS

Figura: N°8: Mapa de la Reserva Biológica Limoncocha



Fuente: UB-15 PETROAMAZONAS, 2008

3.3. SEGUNDA CAMPAÑA:

3.3.1. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS

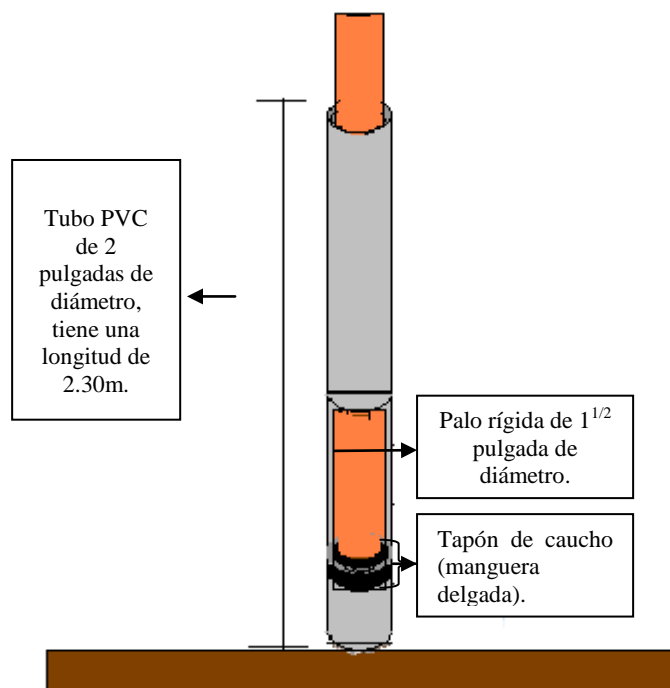
3.3.1.1. TOMA DE MUESTRAS DE AGUA-SEDIMENTO. (VER ANEXO N°3)

Para la toma de muestras se usó un muestreador de sedimentos, envase de vidrio de 473cm³ esterilizados y un cooler mediano, una vez obtenidos todas la muestras se preserva con hielo, el cual tiene un tiempo de duración de 24 horas hasta su destino que es el laboratorio de la Universidad Internacional SEK (U.I.SEK) y a las muestras se les guardó en el refrigerador y se dejó a 3°C hasta preparar el medio de cultivo y las diluciones para sus respectivos aislamientos. Todas la muestras tomadas se etiquetaron con los nombres de los puntos de muestreo ya establecidos en al primera campaña.

Muestreador de Sedimentos: Dispositivo que permite extraer muestras de sedimentos de profundidades.

Se fabrica un muestreador de acuerdo al criterio de la profundidad de la laguna:

Figura N°9: Muestreador de Sedimento



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

3.3.1.2. PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

Se obtienen resultados más reales cuando las muestras son procesadas y analizadas después de haber sido recolectadas, pero si el análisis inmediato es imposible, se preserva las muestras hasta 24 horas refrigerando en un cooler con hielo a una temperatura de 4° C, se hace esto con el fin de mantener el equilibrio de la vida de los microorganismos que se desea obtener en laboratorio.

3.4. MEDICIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE AGUAS EN PUNTOS DE MUESTREO. (VER ANEXO N°2)

La medición de los parámetros de agua se realizó, antes de tomar las muestras de agua-sedimento, para ello se manejó el medidor múltiparametro calibrado, a continuación se observa en la siguiente tabla los parámetros medidos:

**CUADRO N°7: MEDICIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS EN LA
LAGUNA LIMONCOCHA, EFLUENTES, AFLUENTES Y
SUS ALREDEDORES.**

Punto de Muestreo	Profundidad (m)	pH	Conductividad (μS/cm)	Temperatura (°C)	Oxígeno Disuelto (mg/l)
Punto I	8cm	6.94	150.4	24	7.44
Punto II	20cm	7.29	180.2	26	12.20
Punto IV	1.80m	8.93	85.9	29.5	16.44
Punto VII	2.10m	7.05	81.4	28.5	0.00
Punto VIII	2.15m	7.25	80.7	29	6.64
Punto IX	2.15m	7.03	85.1	28.6	4.70

Fuente. Fabricio Cerda, 2008

Observaciones: En el cuadro se observa las variables de la calidad de agua que presentan los puntos a muestrear, puesto que los microorganismos están adaptados a vivir en esos ambientes diferenciados y dependen mucho del lugar en donde se hallen. Los parámetros medidos son de los 6 puntos seleccionados para la toma de muestras de agua-sedimento.

3.5. MEDICIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE SUELO EN PUNTOS DE MUESTREO

La medición de los parámetros del suelo se realizó en el laboratorio de la Universidad Internacional SEK, para ello se empleó el medidor multi-parámetro calibrado y se hizo una relación 2:2 (200ml de agua destilada y 2 gramos de suelo) para determinar los parámetros que pudieran presentar cada muestra de suelo y a continuación veremos en la siguiente tabla:

**CUADRO N°8: MEDICIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS
DE SUELOS (MUESTRAS)**

Punto de Muestreo	pH	Conductividad (μS/cm)	Temperatura (°C)	Oxígeno Disuelto (mg/l)
Punto I	6.1	0.048	20.8	0.0
Punto II	6.3	0.029	21.2	0.0
Punto III	6.0	0.011	21	0.0
Punto IV	6.4	0.021	21.2	0.0
Punto X	6.3	0.037	21.4	0.0
Punto XII	6.1	0.034	20.8	0.0
Punto XV	6.4	0.035	21.1	0.0

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Observaciones: Por lo general los suelos amazónicos tienen una tendencia ácida, debido a que los nutrientes en esos suelos son pobres, surge por la capacidad de drenarse muy rápidamente por las escorrentías de aguas de lluvia que es característico de esas zonas.

3.6. TERCERA Y CUARTA CAMPAÑA

3.6.1. TOMA DE MUESTRAS DE SUELO. (VER ANEXO N°4).

Para la toma de muestras de suelo se consideró los 7 puntos característicos, y de cada punto se tomó 1kg de muestra compuesta (superficial, profundidad) que es recomendable y representativo para cualquier análisis, en este caso es indispensable para aislamiento de microorganismo, pues a todas las muestras se etiquetaron con los nombres ya establecidos anteriormente. Para ello se utilizó fundas ziploc, cooler, pala y machete.

3.6.2. TRAMPEO. (VER ANEXO N°4)

Proceso que se hace para capturar microorganismos autóctonos del lugar de estudio, es un método bastante fácil de hacer y aplicable en todo sentido común.

Para este método se necesita de materiales como: Tarrinas, arroz cocinado sin sal ni aceite solo con agua, medias de nylon, ligas, tijera, pala, machete, puesto que son muy indispensables para realizar la trampa y las dimensiones de las trampas fueron de: 15cm x 15cm de ancho, 20cm de profundidad.

Primero se limpió el área, para proceder a realizar el orificio, una vez que se hizo se procedió a sacar la tierra, donde luego se le puso al medio preparado (arroz cocinado) en una tarrina el mismo que fue protegido con un pedazo de medias nylon y una liga. Puesto el medio preparado, se procedió a poner encima del nylon hojarascas del mismo sitio, y se procedió a tapar con tierra y finalmente con hojas secas del lugar, esto se hizo para evitar que se coman animales de órdenes superiores.

Proceso que se repitió en los 7 puntos donde se tomaron muestras de suelo. Terminado con este proceso, se le dejó 21 días hábiles para obtener microorganismos. Después de 21 días, se retiró la muestra de arroz, el mismo que se había descompuesto y tuvo un color crema fermentado.

3.7. FASES DE LABORATORIO

3.7.1. MEDIOS DE CULTIVOS PARA AISLAMIENTOS DE MICROORGANISMOS Y DILUCIONES, MATERIALES, EQUIPOS, MEDIOS DE CULTIVO Y REACTIVOS (VER ANEXO N°5, 6 y 7).

Los medios que se utilizaron para el aislamiento de microorganismos fueron los medios diferenciales enriquecidos (agua peptonada, agar nutriente, agar papadextrosa, agar saburound), que tienen en sí las características similares a las muestras objetivas.

Para preparar los medios de cultivos se siguió las instrucciones de cada envase, tomando en cuenta el número de recipientes a utilizar para cada recipiente (tubos de ensayos, envases de vidrio, y cajas petri), una vez preparado a los medios se procedió a realizar diluciones seriadas (de 10^{-1} hasta 10^{-5}) con las muestras objetivas. Posteriormente se procedió a la siembra general de inóculos en cajas petri (por estrías) que luego fueron puestas en estufa a una temperatura 30°C durante 1 a 5 días. Dejado durante los días mencionados se observó los crecimientos bacterianos (bacterias, hongos, levaduras) en forma de colonias diferenciados, que luego se guardaron en la refrigeradora para evitar que se contamine. Una vez seleccionadas las cajas se procedió a realizar la purificación de las colonias de microorganismos de igual manera se le dejó en la estufa a una temperatura de 30°C durante 1 a 2 días para bacterias y a los hongos se dejó de 3 a 5 días, lo que se obtuvo con esto es los cultivos puros intactos con características propias, una vez obtenidos se guarda en la refrigeradora para evitar que se contamine.

Obtenidos los cultivos puros se procedió a realizar la técnica de tinción gram diferencial para bacterias, levaduras y mientras que para los hongos se hizo tinción simple (**VER ANEXO N°9 y 10**), los mismos vistos en el microscopio se caracterizaron las morfologías sean estos bacilos, cocos (gram positivas y/o negativas), levaduras, y a los hongos se le vio la formación de esporas, micelios y conidios, esto se llevo acabo mediante le uso de un microscopio óptico que independientemente se graficó a los supuestos microorganismos.

3.7.2. VARIABLES QUE SE CONSIDERARON PARA EL AISLAMIENTO EN GENERAL

El aislamiento se realizó a partir de un crecimiento heterogéneo de un sin número de microorganismos, que crecieron en agar nutriente, agar papadextrosa y agar saburound. Las características o ítems que se consideraron para el aislamiento fueron: número de muestras, número de diluciones, número o tipos de microorganismos, forma, color y números de colonias presentes. Las colonias seleccionadas fueron sembradas por estrías en los mismos agares para confirmar así los presuntos cultivos puros, que luego fueron nombradas como cepas de acuerdo a la enumeración establecidas, el mismo mediante tinción gram diferencial (bacterias, levaduras) y simple (hongos) se determinaron las características morfológicas propias de cada tipo mediante el uso del microscopio óptico.

3.7.3. MEDIOS DE CULTIVOS PARA GUARDAR CEPAS MICROBIANOS (VER ANEXO N°8)

Los medios que se utilizaron para guardar cepas de microorganismos fueron caldo nutritivo, aceites de glicerina con respecto a las bacterias y levaduras, mientras que para los hongos se utilizó aceite comestible.

Para preparar los medios de cultivos se siguió las instrucciones de cada envase, tomando en cuenta el número de recipientes y la relación de los medios a utilizar (Tubos de ensayos, tubos eppendors, frascos de plásticos), una vez preparado los medios se procedió a sembrar al supuesto microorganismo mismos que se dejó durante 24 horas en incubadora a 30°C y se obtuvo crecimiento microbiano, luego se procedió a guardar en los tubos eppendors a los cultivos puros obtenidos de acuerdo a las características morfológicas (bacterias y levaduras). Mientras que para los hongos se le cortó con pipetas pasteur el agar con hongo y con asa puntuada se procedió a guardar en los tubos eppendors. Que finalmente se le puso en fundas

plásticas común para guardar las cepas microbianas y se guardó en la refrigeradora parte hielera.

Pretratamiento que se hacen con el fin de conservar sus morfologías únicas, mismo que serán útiles para aplicaciones posteriores.

3.7.4. MEDIOS DE CULTIVOS PARA PRUEBAS BIOQUIMICAS DE BACILOS GRAM NEGATIVAS Y BACILOS GRAM POSITIVAS.

Para la identificación de bacterias bacilos gram negativas de diferenciados morfologías se manejaron pruebas bioquímicas tales como: Triple Sugar Iron Agar (TSI), Simmons Citarte Agar, Sim Medium, y reactivo Kovacs, los mismos que son medios específicos mayoritariamente utilizados.

Se consideran positivos cuando el medio sembrado cumple los cambios establecidos según la literatura teórica, y negativos cuando no se ha producido ningún cambio a pesar de que haya crecimiento de bacterias en el medio.

Mientras que para la identificación de bacterias bacilos gram positivas de diferenciadas morfologías se manipularon las siguientes pruebas bioquímicas: Sim Médium, Caldo rojo fenol, Glucosa, Xilosa, Manitol, Concentración de Cloruro de Sodio al 5%, Concentración de Cloruro de Sodio al 7%.

Si se presentan cambios de color (en Glucosa, Xilosa, Manitol) y crecimiento de bacterias (en Cloruro de Sodio al 5% y 7%) se les caracterizan como positivos, cuando no se presentan cambios de color y crecimiento en el medio se considera negativos.

Todos los medios mencionados para identificación de bacterias bacilos gram negativos y positivos fueron considerados de acuerdo a las literaturas consultadas.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez realizados los aislamientos de las muestras objetivas, obtenidos los cultivos puros, realizados tinción diferencial/simple, pruebas bioquímicas se obtuvieron resultados deseados en cuanto a bacterias y hongos.

Para la identificación de bacterias bacilos gram positivos y bacilos gram negativos se hicieron mediante pruebas bioquímicas específicas para cada tipo de microorganismos encontrados. (VER ANEXO N°10, 11,12 Y 13).

Mientras que para la identificación de hongos se hizo mediante aplicación de tinción simple y el uso del microscopio, en ella se consideraron características básicas como la formación de micelio, conidios y esporas, los mismos que fueron el punto clave para identificar a los hongos. (VER ANEXO N°9).

Todos los pretratamientos establecidos arriba se consideraron para aguas-sedimentos, suelos y trampas.

Para la identificación de bacterias se revisaron literaturas confiables de: John G. Holt, The Shorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Eighth Edition, Editorial Willians-Wilkins, Made in United States of America, 1977; Henríquez, K, y Stefaní, C, Copyright © 1999-2007, Atlas Virtual de Bacteriología, Facultad de Medicina Universidad de Panamá, Departamento de Microbiología Club de Informática Médica y Telemedicina, http://www.telmeds.org/AVIM/Abacterio/bacilos%20gram%20negativos/bacilos_gram_negativos_fermentad.htm#Medio_con_TSI; Interpretación y Controles, TSI, [mail.fq.edu.uy/~microbio/MGral/practico/segundociclo.doc](mailto:fq.edu.uy/~microbio/MGral/practico/segundociclo.doc); CORTÉS, J., Modificado © 2003, Pruebas Bioquímicas, <http://www.joseacortes.com/microbiologia/pruebasbioq/index.htm>, los mismos que han permitido llegar a obtener resultados veraces.

Mientras que para la identificación de hongos se revisaron literaturas de: Casares, L., y Egas, N., 1996, Tesis de Grado, Investigación y caracterización de Hongos Naturales que tengan actividades Celulolíticas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador., paginas Webs de Internet y otras literaturas, que están citadas en las bibliografías de acuerdo a los tipos de hongos encontrados.

Los resultados obtenidos en esta investigación se representaron en cuadros y estas son:

CUADRO N° 9: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS Y LEVADURAS DE AGUAS-SEDIMENTOS

Items	Muestras	Diluciones	Números de Cepas	Tipos de microorganismos	Características específicas	Color	Morfología	Observaciones formuladas
I	M1	10^{-2}	1	Bacteria	Casi acuoso	Naranja 2	Cocos Gram +	Es cocos aglomerados en forma de racimos continuos y separados.
II	M6	10^{-2}	8	Bacteria	Casi acuoso	Amarillo 1	Bacilos Gram +	Es de bastón gruesito casi continuo en forma de cadenas.
III	M6	10^{-5}	11	Bacteria	Acuoso	Crema 1	Bacilos Gram +	Es de bastón esporulados cortos
IV	M2	10^{-3}	3	Bacteria	Casi acuoso	Naranja 3 opaco	Bacilos Gram -	Es de bastón esporulados cortos
V	M3	10^{-4}	9	Bacteria	Poco acuoso	Amarillo 2	Cocos Gram +	Es cocos aglomerados en forma de racimos continuos y separados.
VI	M2	10^{-3}	4	Bacteria	Casi acuoso	Crema 2 transparente	Bacilos Gram -	Es de bastón cortos
VII	M4	10^{-5}	6	Bacteria	Poco acuoso	Crema 1	Bacilos Gram -	Es de bastón cortos
VIII	M6	10^{-4}	10	Bacteria	Poco acuoso	Naranja 1	Bacilos Gram +	Es de bastón gruesito casi continuo en forma de cadenas.
XIV	M6	10^{-2}	23	Bacteria	Poco acuoso	Rosado 2	Bacilos Gram +	Es de bastón gruesito continuo en forma de cadenas.
X	M5	10^{-1}	7	Bacteria	Casi acuoso	Blanco	Bacilos Gram +	Es de bastón grueso continuos en forma cadenas
XI	M1	10^{-4}	12	Levadura	Casi acuoso	Blanco grueso	Forma ovalado en el interior con esporas	Es ovalado de tamaño grande aglomerados y separados
XII	M2	10^{-5}	16	Levadura	Acuoso	Rosado 1	Forma ovalado en el interior con esporas	Es ovalado de tamaño grande aglomerados y separados
XIII	M2	10^{-3}	14	Bacteria	Acuoso	Crema 2	Bacilos Gram -	Es de bastón grueso casi largos
XIV	M2	10^{-4}	15	Bacteria	Ramificado interno normal	Crema 2	Bacilos Gram -	Es de bastón grueso casi largos

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

CUADRO N°10: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE HONGOS DE AGUAS-SEDIMENTOS

Ítems	Muestras	Diluciones	Números de Cepas	Tipos de microorganismos	Características específicas	Color	Observaciones formuladas
XV	M2	10 ⁻¹	13	Hongo	Sin hifas	Verde	Compacto polvoriento
XVI	M4	10 ⁻¹	17	Hongo	Con hifas	Blanco/rosado	Algodonoso
XVII	M5	10 ⁻¹	19	Hongo	Sin hifas	Gris	Algodonoso casi polvoriento
XVIII	M5	10 ⁻³	21	Hongo	Con hifas	Blanco/verde	Algodonoso casi polvoriento
XIX	M6	10 ⁻²	24	Hongo	Con hifas	Blanco/gris	Algodonoso

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

CUADRO N°11: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE BACTERIAS DE SUELOS

Items	Muestras	Diluciones	Números de Cepas	Tipos de microorganismos	Características específicas	Color	Forma	Observaciones formuladas
I	M1	10 ⁻⁴	1	Bacteria	Acuoso	Crema 2	Bacilos Gram +	Es de bastón esporulados cortos
II	M2	10 ⁻⁴	4	Bacteria	Casi acuoso	Crema 2	Bacilos Gram +	Es de bastón largos en forma de cadenas continuos.
III	M3	10 ⁻⁵	9	Bacteria	Poco acuoso	Naranja 1	Bacilos Gram -	Es de bastón cortos delgados
IV	M4	10 ⁻⁴	11	Bacteria	Casi acuoso	Crema 3	Bacilos Gram -	Es de bastón esporulados cortos
V	M4	10 ⁻⁴	12	Bacteria	Casi acuoso	Naranja 2	Bacilos Gram -	Es de bastón largo delgados
VI	M4	10 ⁻⁵	14	Bacteria	Acuoso	Amarillo 1	Bacilos Gram +	Es de bastón largos en forma de cadenas continuos.
VI	M5	10 ⁻⁵	16	Bacteria	Casi acuoso	Amarillo 2	Bacilos Gram -	Es de bastón esporulados cortos
VIII	M6	10 ⁻⁴	17	Bacteria	Casi acuoso	Amarillo 3	Bacilos Gram -	Es de bastón cortos delgados de forma continuos.
IX	M6	10 ⁻⁵	18	Bacteria	Casi acuoso	Crema 3	Bacilos Gram +	Es de bastón cortos gruesos en forma de cadenas continuos.
X	M1	10 ⁻³	19	Bacteria	Acuoso	Naranja 1	Bacilos Gram -	Es de bastón cortos
XI	M6	10 ⁻³	23	Bacteria	Acuoso	Crema 3	Bacilos Gram -	Es de bastón lagos gruesos
XII	M7	10 ⁻³	27	Bacteria	Casi acuoso	Naranja 1 carnoso	Bacilos Gram -	Es de bastón cortos delgados

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

CUADRO N°12: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACION DE HONGOS DE SUELOS

Ítems	Muestras	Diluciones	Números de Cepas	Tipos de microorganismos	Características específicas	Color	Observaciones formuladas
I	M1	10 ⁻²	28	Hongo	Hifas largas	Blanco	Algodonoso
II	M1	10 ⁻³	29	Hongo	Hifas cortas	Negro / verdoso	Poco algodonoso
III	M2	10 ⁻³	30	Hongo	Con hifas cortas	Blanco / verde	Algodonoso casi compacto
IV	M3	10 ⁻³	31	Hongo	Hifas cortas	Negro	Compacto polvoriento
V	M4	10 ⁻²	32	Hongo	Sin hifas	Blanco con amarillo interno	Compacto
VI	M4	10 ⁻²	33	Hongo	Sin hifas	Verde con bordes amarillo	Compacto polvoriento
VII	M6	10 ⁻³	37	Hongo	Con hifas cortas	Blanco / café in - terno	Poco algodonoso compacto.
VIII	M7	10 ⁻²	38	Hongo	Sin hifas	Blanco con verde interno	Compacto polvoriento
IX	M7	10 ⁻³	39	Hongo	Sin hifas	Verde	Compacto polvoriento

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

CUADRO N°13 AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS DE TRAMPA

Ítems	Muestras	Diluciones	Números de Cepas	Tipos de microorganismos	Características específicas	Color	Forma	Observaciones formuladas
II	M7	10 ⁻⁴	9	Bacteria	Casi acuoso	Crema 2	Bacilos Gram +	Es de bastón largos en forma de cadenas continuos.

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

La valoración de las características obedece mucho de la persona que esta investigando para llegar a tener resultados íntegros.

4.1. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS DE AGUAS-SEDIMENTOS

A partir de 6 muestras de agua-sedimento se aislaron 19 tipos de microorganismos entre bacterias, levaduras y hongos, que pueden cumplir diferentes funciones sean estos en agua y sedimentos.

Se obtuvieron 19 cultivos puros aislados con los que se procedió a la identificación de las cepas microbianas por medio de pruebas bioquímicas para bacterias bacilos gram negativas y positivas donde se lograron obtener 5 bacterias de la familia **Enterobacterias**, 5 bacterias de los géneros *Bacillus sp.*, mientras que para los hongos se realizó tinción simple, por ende se compararon con las literaturas consultados y se logro identificar 5 hongos de los géneros/especie: *Penicillium sp. (1)*, *Fusarium sp. (1)*, *Aspergillus sp. (2)*, *Mucor sp. (1)*, además se obtuvieron bacterias de las morfologías cocos gram positivas y levaduras.

Los resultados de la identificación de las bacterias, levaduras y hongos se presentan en los cuadros siguientes:

CUADRO: N°14 IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS Y LEVADURAS DE AGUAS-SEDIMENTOS

PUNTOS	PROCEDENCIA	SITUACIÓN DEL LUGAR	N° DE MUESTRAS	IDENTIFICACION DE CEPAS	GÉNERO/ESPECIE	MORFOLOGÍA
I	QUEBRADA IPIB	AREA INTERVENIDA	M1	1		Cocos Gram +
				12		Levadura
II	RÍO PLAYAYACU	BOSQUE PRIMARIO	M2	3	Enterobacterias	Gram -
				4	Enterobacterias	Gram -
				16		Levadura
				14	Enterobacterias	Gram -
				15	Enterobacterias	Gram -
IV	RÍO PISHIRA	ENTRADA DE EFLUENTE	M3	9		Cocos Gram +
VII	FINAL CAÑON	AREA POCO INTERVENIDA	M4	6	Enterobacterias	Gram -
VIII	CENTRO DE LA LAGUNA	AREA INTERVENIDA	M5	7	<i>Bacillus sp.</i>	Gram +
IX	INICIO DE LA LAGUNA	AREA INTERVENIDA	M6	8	<i>Bacillus sp.</i>	Gram +
				10	<i>Bacillus sp.</i>	Gram +
				11	<i>Bacillus sp.</i>	Gram +
				23	<i>Bacillus sp.</i>	Gram +

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

CUADRO: N°15 IDENTIFICACIÓN DE HONGOS DE AGUAS-SEDIMENTOS

PUNTOS	PROCEDENCIA	SITUACIÓN DEL LUGAR	N° DE MUESTRAS	IDENTIFICACIÓN DE CEPAS	GÉNERO/ESPECIE
II	RÍO PLAYAYACU	BOSQUE PRIMARIO	M2	13	<i>Penicillium sp.</i>
VII	FINAL CAÑON	AREA POCO INTERVENIDA	M4	17	<i>Fusarium sp.</i>
VIII	CANTRO DE LA LAGUNA	AREA INTERVENIDA	M5	19	<i>Aspergillus sp.</i>
				21	<i>Aspergillus sp.</i>
IX	INICIO DE LA LAGUNA	AREA INTERVENIDA	M6	24	<i>Mucor sp.</i>

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

4.2. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS DE SUELOS

A partir de 7 muestras de suelo se aislaron 21 tipos de microorganismos entre bacterias y hongos que pueden cumplir diferentes funciones sean estos en el suelo.

Se obtuvieron 21 cultivos puros aislados con los que se procedió a la identificación de las cepas microbianas por medio de pruebas bioquímicas para bacterias bacilos gram negativas y positivas donde se lograron obtener 5 bacterias de la familia **Enterobacterias**, 4 bacterias de los géneros *Bacillus sp.*, 1 bacteria del género *Shigella sp.*, 1 bacteria del género *Pseudomonas sp.*, mientras que para los hongos se realizó tinción simple, por ende se compararon con las literaturas consultados y se logro identificar 9 hongos de los géneros/especies: *Mucor sp. (1)*, *Aspergillus sp. (1)*, *Trichoderma (1)*, *Penicillium sp. (4)*, *Fusarium sp. (1)*, *Verticillium sp. (1)*, de la morfología gram negativa de la cepa 16 no se pudo identificar pero quedan guardados o conservados.

Los resultados de la identificación de las bacterias y hongos se presentan en los siguientes cuadros:

TABLA: N°18 IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DEL SUELO

PUNTOS	PROCEDENCIA	SITUACIÓN DEL LUGAR	N° DE MUESTRAS	IDENTIFICACION DE CEPAS	GÉNERO/ESPECIE	MORFOLOGÍA
X	RIO BLANCO	BOSQUE SECUNDARIO	M1	1	<i>Bacillus sp.</i>	Gram +
				19	<i>Shigella sp.</i>	Gram -
VII	SANTA ELENA	BOSQUE PRIMARIO	M2	4	<i>Bacillus sp.</i>	Gram +
III	VERTIENTE SENDERO INEFAN	BOSQUE PRIMARIO	M3	9	Enterobacterias	Gram -
II	RÍO PLAYAYACU	BOSQUE PRIMARIO	M4	11	Enterobacterias	Gram -
				12	Enterobacterias	Gram -
				14	<i>Bacillus sp.</i>	Gram +
I	QUEBRADA IPIB	AREA INTERVENIDA	M5	16		Gram -
XV	ESTACIÓN SEK	AREA INTERVENIDA	M6	17	Enterobacterias	Gram -
				18	<i>Bacillus sp.</i>	Gram +
				23	Enterobacterias	Gram -
XII	QUEBRADA JUANA CERDA	AREA INTERVENIDA	M7	27	<i>Pseudomonas sp.</i>	Gram -

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

TABLA: N°19 IDENTIFICACIÓN DE HONGOS DE SUELO

PUNTOS	PROCEDENCIA	SITUACIÓN DEL LUGAR	N° DE MUESTRAS	IDENTIFICACION DE CEPAS	GÉNERO/ESPECIE
X	RÍO BLANCO	BOSQUE SECUNDARIO	M1	28	<i>Mucor sp.</i>
				29	<i>Aspergillus sp.</i>
VII	SANTA ELENA	BOSQUE PRIMARIO	M2	30	<i>Trichoderma sp.</i>
III	VERTIENTE SENDERO INEFAN	BOSQUE PRIMARIO	M3	31	<i>Penicillium sp.</i>
II	RÍO PLAYAYACU	BOSQUE PRIMARIO	M4	32	<i>Fusarium sp.</i>
				33	<i>Penicillium sp.</i>
XV	ESTACIÓN SEK	AREA INTERVENIDA	M6	37	<i>Verticillium sp.</i>
XII	QUEBRADA JUANA CERDA	AREA INTERVENIDA	M7	38	<i>Penicillium sp.</i>
				39	<i>Penicillium sp.</i>

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

4.3. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS DE TRAMPAS

A partir de 7 muestras de trampas hechas se aislaron 1 solo tipo de microorganismo (bacteria) que puede cumplir diferentes funciones sean estos en la descomposición de arroz como medio inocuo.

Se obtuvo 1 cultivo puro aislado con el que se procedió a la identificación de la cepa microbiana por medio de pruebas bioquímicas para bacterias gram positivas, lo cual permitió llegar a conocer y obtener 1 bacteria del género *Bacillus sp.*

El resultado de la identificación de bacteria se presenta en el presente cuadro:

CUADRO: N°22 IDENTIFICACIÓN DE BACTERIA DE TRAMPA

PUNTOS	PROCEDENCIA	SITUACION DEL LUGAR	N° DE MUESTRAS	IDENTIFICACION DE CEPAS	GÉNERO/ESPECIE	MORFOLOGÍA
XII	QUEBRADA JUANA CERDA	AREA INTERVENIDA	M7	9	<i>Bacillus sp.</i>	Gram +

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Se consideró esto debido a que se obtuvieron mismas morfologías bacilos gram positivas al hacer tinción gram diferencial de las 7 muestras aisladas. Mismo que se seleccionó el punto XII Quebrada Juana Cerda por que tuvo una mayor aceptación en cuanto a las características macroscópicas y microscópicas.

4.4. OBTENCIÓN Y CONSERVACIÓN DE CEPARIOS MICROBIANOS DE AGUAS-SEDIMENTOS, SUELOS Y TAMPA.

Realizados ya los procesos de aislamientos, tinciones, caracterizaciones específicas y morfológicas y una vez identificados se obtuvieron microorganismos característicos. Y de manera aleatoria se logró obtener ceparios de acuerdo a su procedencia los mismos que se encuentran conservados en el congelador de la Universidad Internacional SEK. (VER ANEXO N°14)

4.5. DISCUSIÓN.

Marín, Ledo de Medina, Hernández y Castejón (1998-Venezuela), en sus estudios en Lago Maracaibo mediante tomas de muestras de agua-sedimento de los diferentes puntos llegaron determinar que había gran cantidad de bacterias asociadas a las transformaciones del nitrógeno, obtenidos utilizando técnicas de aislamiento práctico; además han considerado las medidas de los parámetros de aguas para determinar las condiciones en que habitan o viven los microorganismos. Los resultados obtenidos por ellos forman un aporte importante para la comprensión de los procesos de movilización y transformación que sufren las diferentes formas de nitrógeno en la zona.⁵²

Puesto que las condiciones de Laguna de Limoncocha en sí tienen las condiciones parecidas al del Lago Maracaibo, por presentar la etapa de eutrofización por exceso de nutrientes, que en ella albergan gran cantidad de microorganismos como descomponedores primarios de materia orgánica e inorgánica.

Díaz-Borrego, Dupontt y Atencio (2006-Maracaibo-Venezuela), en sus investigaciones aisladas del agua-sedimento marino impactado por petróleo y mediante pruebas bioquímicas de protocolo convencionales han encontrado bacterias como *Pseudomonas sp*, *Enterobacter sp*, *Bacillus sp*, *Staphylococcus sp*, y *Micrococcus sp*. Manifiestan que se podrían usarse potencialmente para la remoción de hidrocarburos del ambiente impactado. De igual manera consideraron las mediciones de parámetros físico-químicos de aguas, para determinar las condiciones en que se hallan los microorganismos autóctonos del lugar.⁵³

Las aguas termales, minerales de balnearios, y de agua dulce presentan una gran diversidad de microorganismos autóctonos característicos de cada tipo de agua y que dependen de sus propiedades físico-químicas, (temperatura, pH, composición, etc.) en ellas predominan bacterias heterótrofas oligotróficas de los géneros: *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Enterobacter* y *Arthrobacter* y en menor grado se encuentran los microorganismos autótrofos (quimiolitótrofos y fotótrofos), también puede haber en ellas

⁵² MARÍN, J., LEDO DE MEDINA, H., HERNÁNDEZ, J., y CASTEJÓN, O., 1998, Bacterias Asociadas a la Transformación de Nitrógeno en la Interfase Agua-Sedimento del Cono Hipolimnético del Lago de Maracaibo, Laboratorio de Química Ambiental, Departamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia. Venezuela.

⁵³ DÍAZ-BORREGO, L., DUPONTT, J., y ATENCIO, L., 2006, Perfil Plasmídico de Bacterias Aisladas de Sedimento Contaminado de Petróleo, Estado Zulia Venezuela, Laboratorio de Genética y Biología Molecular, Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia.

microorganismos alóctonos procedentes de otros hábitats considerados contaminantes, según investigación realizadas por De la Rosa y Mosso (1998-Madrid).⁵⁴

Venegas, Ciampi, Collado y Barrera (Chile), en sus estudios de aislamiento de microorganismos de suelo, Rizósfera, tallos, hojas, flores y tubérculos, han encontrado microorganismos como hongo *Fusarium sp.*, y bacteria *Bacillus sp.* mediante prácticas y pruebas bioquímicas necesarios, llegando a determinar así al microorganismo antagónico *Fusarium sp.*⁵⁵

Arévalo, Zúñiga y Baligar (1999, 2002, 2003, 2004-Perú), en sus estudios para la determinación dinámica poblacional fungosa asociada a la rizósfera de cultivo de cacao, plátano, guaba, mediante toma de muestras y aislamiento de hongos de la rizósfera por diluciones seriadas han llegado a identificar a los géneros utilizando claves taxonómicas de Barnett, Barron y Ellis, los cuales son de los géneros *Phytophthora*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Rhizoctonia* *Cephalosporium* que consideran como patógenos. Además han logrado encontrar a los géneros como *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*. La mayor densidad poblacional de hongos de diferentes especies se los encuentra en los primeros 20 cm de la superficie de suelo.⁵⁶

Debido a las condiciones climáticas, físico-químicas, la textura de suelo, tipo de vegetación, materia orgánica, etc., se descubrieron microorganismos de hongos en suelos ecuatorianos parecidos a los encontrados en Perú, esto nos dice que en la mayoría de suelos se puede encontrar microorganismos muy similares por su capacidad de carga de nutrientes, minerales, residuos de materia orgánica en descomposición, etc.

Según Mazabel, López, Paima, et. al. (1997-Tingo María), que son parte de la Universidad nacional Agraria de la Selva en sus estudios de aislamiento de microorganismos de suelos que realizaron en la zona Norte del Bosque Tropical Húmedo Reservado de la UNAS, han encontraron 32 géneros de microorganismos procariotas, 29 bacterianos, 3 de cianobacterias, aislándose 37 cepas, destacándose la presencia mayoritaria de bacterias de la familia enterobacteriacea de los Géneros: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Clostridium*, etc. De igual manera

⁵⁴ DE LA ROSA JORGE, M., y MOSSO, M., Diversidad Microbiana de las Aguas Minerales Termales, Microbiología II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. Madrid.

⁵⁵ VENEGAS, E., CIAMPI, L., COLLADO, L., y BARRERA, S., Aislamiento, Selección e Identificación de Microorganismos Antagonista de *Fusarium sp.*, Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile

⁵⁶ ARÉVALO, G., ZÚÑIGA, C., BALIGAR, V., 1999 al 2004, Dinámica Poblacional Fungosa Asociada a la Rizosfera de un Sistema Tradicional de Cultivo de Cacao en Perú, Instituto de Cultivos Tropicales (NAS-ICT/CICAD-OEA).

reportan 11 géneros de fungí microscópico entre ellos *Absidia*, *Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*, etc.⁵⁷

Los microorganismos aislados de la Reserva Biológica Limoncocha son parecidos a los aislados en Norte del Bosque Tropical Húmedo Reservado de la UNAS. Pues en ambos casos existe gran cantidad de materia orgánica e inorgánica, lugares no contaminados y contaminados, para hallar microorganismos característicos.

Los resultados obtenidos en cuanto a número y eficiencia de los microorganismos se puede diferenciarlos con los demás estudios que se han realizados y analizados en lugares muy distintos y similares que determinan la importancia de los microorganismos partiendo de un objetivo codiciado. Andrade y Gordillo (Quito-2008),⁵⁸ en su estudio de aislamiento e identificación de microorganismos solubilizadores de fosfato a partir de suelos ecuatorianos, han logrado aislar 27 microorganismos solubilizadores de fosfato que comprenden 16 cepas de bacterias y 11 cepas de hongos, los mismos que son tan útiles para mejorar la calidad de suelo agrícola ecuatoriano. Casares y Egas (Quito-1996)⁵⁹ en sus estudios de Investigación y caracterización de hongos nativos que tengan actividad celulítica en la Provincia Pichincha lograron obtener 6 tipos hongos de los géneros/especies muy conocidos y característicos de suelos, donde llegaron a concluir que los hongos encontrados en ellas eran degradadores de celulosa de la madera, subproductos, de desechos agrícolas, etc., mientras que en la presente investigación que se llevo a cabo en la Reserva Biológica Limoncocha se partió de 6 muestras de agua-sedimento, 7 muestras de suelo y 7 muestras de trampas, de los cuales se obtuvieron 29 microorganismos entre bacterias, hongos, y levaduras, que pueden cumplir varias funciones sean estos en suelos, agua, sedimento, restos de materia orgánica, etc., según fuentes consultados.

La reciente investigación se inicio con la recolección de muestras de los diferentes hábitats (agua-sedimento, suelo y trampas) de los puntos registrados, para luego llevar a cabo los aislamientos respectivos y observar su biodiversidad, donde luego se logró conseguir un inventario de microorganismos al cual se deseaba llegar con el estudio propuesto.

⁵⁷ Dr. MAZABEL, C., Mchgo. LÓPEZ, C., Ing. PAIMA, K., et. al., 1997, "Población Microbiana del suelo de la zona Norte del Bosque Reservado de la UNAS, Tingo María, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Facultad de Recursos Naturales Renovable, Trabajo de Investigación

⁵⁸ ANDRADE, L., y GORDILLO, A., 2008, Tesis de grado: Aislamiento e Identificación de Microorganismos Solubilizadores de Fosfatos a partir de Suelos Ecuatorianos, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador.

⁵⁹ CASARES, L., y EGAS, N., 1996, Investigación y Caracterización de Hongos Naturales que tengan actividades Celulolíticas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador.

De las 6 muestras de agua-sedimento se aislaron 19 microorganismos de los cuales se logró obtener: 12 bacterias, 2 levaduras y 5 hongos.

De las 7 muestras de suelo se aislaron 21 microorganismos de los cuales se obtuvo: 12 bacterias y 9 hongos. Mientras que de las 7 muestras de trampas se logró obtener un solo tipo de microorganismo, mismo que pudo haber sido un error al momento del aislamiento o tal vez por que hubo en ella una especie dominante en la degradación de arroz cocinado.

Los supuestos bacterias aisladas de suelos, aguas-sedimentos y trampas son característicos de esos lugares debido a que en zonas tropicales húmedos albergan gran cantidad de microorganismos, los mismos que pueden cumplir un papel fundamental como indicadores de cada sitio y de manera general pueden actuar en el equilibrio de la naturaleza mejorando la calidad de vida de muchos organismos vivos. Pero depende mucho de que si los microorganismos hallados sean benéficos y/o dañinos para la vida de los organismos vivos, para saber lo anterior lo que faltaría ahora es de un estudio de factibilidad y metabolismos de los microorganismos.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES:

- Para el aislamiento e identificación de microorganismos se utilizaron medios de cultivos universales que tienen aproximadamente las mismas condiciones óptimas de nutrientes en asimilación con el suelo, agua y sedimento, los mismos que fueron base y fundamento para llegar a un resultado deseado.
- Se pudo identificar a los supuestos microorganismos hasta familia, género/especie, utilizando pruebas bioquímicas para bacterias y mientras que para los hongos se determinaron mediante la aplicación de tinción simple, para ambos casos se utilizó literaturas confiables.
- A partir de las 6 muestras obtenidas se pudo aislar e identificar 19 microorganismos característicos de agua-sedimento de laguna y ríos, entre los cuales están: 12 bacterias de los géneros: *Bacillus sp.* (5), y de familia **Enterobacterias** (5), y 5 hongos de los géneros: *Penicillium sp.* (1), *Fusarium sp.* (1), *Aspergillus sp.* (2), y *Mucor sp.*, a demás se encontraron bacterias de las morfologías cocos gram positivas (2) y levaduras (2).
- A partir de las 7 muestras obtenidas se pudo aislar e identificar 21 microorganismos característicos de suelos entre los cuales están: 12 bacterias de los géneros: *Bacillus sp.* (4), *Pseudomonas sp.* (1), *Shigella sp.* (1), y de Familia **Enterobacterias** (5), se desconoce la cepa 16 de las morfologías gram negativas, 9 hongos de los géneros/especies: *Mucor sp.* (1), *Aspergillus sp.* (1), *Trichoderma sp.* (1), *Fusarium sp.* (1), *Penicillium sp.* (4), y *Verticillium sp.* (1).
- A partir de las 7 muestras obtenidas se pudo aislar e identificar 1 solo tipo de microorganismo de trampas la bacteria que se identificó pertenece al género: *Bacillus sp.* (1)
- Los suelos, aguas-sedimentos de la Reserva Biológica Limoncocha alberga en su interior gran cantidad de microorganismos que pueden cumplir diferentes funciones de acuerdo a las necesidades de aplicación previo a un estudio de factibilidad y metabolismo que pueden tener cada uno o tipos de microorganismos.
- En gran parte los microorganismos identificados en nuestro país han comprobado que tanto bacterias como hongos son utilizados para tratamientos de aguas negras y grises, degradar materias orgánicas e inorgánicas simples y compuestas, solubilización de fosfatos como inóculos, etc., en gran proporción han sido utilizados en la agricultura bien llevados, además en industrias industrial, alimentarias y de consumo.

- La presencia de bacterias, hongos, levaduras encontrados en diferentes hábitats puede significar la representación de residuos orgánicos o desechos de material fecal provenientes de animales menores, superiores o quizá del hombre.
- Los microorganismos aislados e identificados servirá como fuente de estudios e investigaciones diarios para los estudiantes de la Universidad Internacional SEK-Ecuador sin realizar un mayor esfuerzo.
- Los cultivos o ceparios de microorganismos obtenidos al final de la investigación fueron almacenados como parte del proyecto de la Universidad Internacional sek-Ecuador, que seguirá en pie para un proyecto posterior.
- El suelo, agua-sedimento de la Reserva Biológica Limoncocha de la Provincia Sucumbíos, ostenta una densidad poblacional microbiana tan variada, por que en ellas existen zonas colapsados y no colapsados por la contaminación en sus diferentes formas. Al menos se logro hacer o establecer un inventario de microorganismos característicos de la zona
- Hoy en día el uso de microorganismos para diferentes aplicaciones ambientales han sido considerado como una Biotecnología limpia y barata, por lo mismo son apreciados como pioneros de la eliminación de la contaminación. Por ende un Ingeniero Ambiental debe estar al tanto o conocer algo de los microorganismos para manipular.
- A los microorganismos encontrados en los diferentes hábitats de la Reserva Biológica Limoncocha, se les ha considerado como indicadores de la contaminación de agua, suelo, etc., debido a que en ella existen poblaciones humanos, animales, etc. Pues habido casos de enfermedades gastrointestinales que ha afectado mayoritariamente a los niños (as), que en muchos casos no son tratados en la Comunidad sino que son llevados a hospitales de la ciudad debido a la gravedad. Se da esto por que la comunidad no cuenta con servicios básicos de alcantarillado, agua potable y el mal manejo de la calidad higiénica por parte de la población.
- Tanto bacterias como hongos encontrados son considerados como patógenos y a la vez benéficos, debido a que cada microorganismo producen metabolitos en particular sin distinción que afectarían al ambiente o beneficiarían al ambiente, puesto que tienen en su interior ventajas y desventajas a la vez.
- El presente trabajo de investigación constituye un aporte más al estudio de la diversidad microbiana de suelos, aguas-sedimentos y trampas de la Reserva Biológica Limoncocha que presentan un gran potencial para aplicaciones de proyectos futuras.

5.2. RECOMENDACIONES.

- Se recomienda considerar los tiempos exigentes para el aislamiento e identificación de microorganismos una vez traídas las muestras objetivas, por que es el factor fundamental para realizar cualquier tipo de investigación en laboratorios de microbiología, y para no perder a los supuestos microorganismos que se desearían aislar.
- Para identificación de bacterias bacilos gram positivas y negativas se deben utilizar otras pruebas bioquímicas específicas para determinar a que especies podrían pertenecer los supuestos géneros de bacterias encontrados, de igual manera para la identificación de hongos se recomienda realizar pruebas individualizadas.
- Se recomienda realizar pruebas bioquímicas para bacterias cocos gram positivas y levaduras, pues esto lo podrían hacer los estudiantes de la Universidad Internacional SEK-Ecuador durante sus prácticas de laboratorio o un nuevo proyectista o investigador.
- Es necesario realizar estudios de cinética a los microorganismos para determinar la capacidad de crecimiento durante el tiempo de incubación a diferentes tiempos, así se podría determinar la capacidad de que un microorganismo degrade cierto tipo de residuo a mayor velocidad. De igual manera será útil para la determinación de biomasa haciendo un balance de energía.
- Un nuevo estudio podrá realizarse empleando las cepas de bacterias y hongos ya sean en forma individual o mixta para poder determinar su factibilidad de uso en distintos ámbitos de la naturaleza. Puesto que podrían plantear un estudio para comprobar el sinergismo, mutualismo y antagonismos entre microorganismos.
- Para determinar si los hongos son degradadores celulíticos se recomienda hacer pruebas de Carboximetilcelulosa y la prueba de resistencia a la tensión.
- Se recomienda hacer un estudio sobre la calidad de agua que la población consume, en cuanto a la incidencia de los microorganismos en ella.
- Las cepas obtenidas de algunas bacterias y hongos pueden ser utilizados por un nuevo investigador y por los estudiantes de la Facultad de Ciencias Ambientales, previo a un beneficio de la Institución.

CAPITULO VI

6. BIBLIOGRAFÍAS

- 1.- Ministerio del Ambiente Ecuador, Actualizado 2005, Reserva Biológica Limoncocha, Sistema Nacional de Áreas Protegidas, www.ambiente.gov.ec
- 2.- Revista Cuba, Medio Ambiente y Desarrollo, Laboratorio de Microbiología de Aguas, Vicedirección Salud Ambiental, Instituto Nacional de Higiene, Epidemiología y Microbiología, http://www.medioambiente.cu/revistama/11_03.asp
- 3.- RODRÍGUEZ, A, 2003, Tesis de grado: Monitoreo de Luminosidad en las Plataformas Petroleras en la Reserva Biológica Limoncocha, Universidad Internacional SEK, Quito – Ecuador.
- 4.- AYALA, P, 2003, Tesis de grado: Caracterización limnológica de la Laguna de Limoncocha e identificación de las características hidrológicas básicas de la zona de Limoncocha, Universidad Internacional SEK, Quito-Ecuador
- 5.- PRESCOTT, L., HARLEY, J., 2004, Microbiología, Quinta edición, Editorial McGraw Hill. Interamericana.
- 6.- DALTON G., MONTANI R., Cámara de sanidad agropecuaria y fertilizantes Buenos Aires Argentina, <http://www.casafe.org/biotecnologia.html#anchor>
7. - Dra. CLAUDIA D, Copyright © 2000-2007 Council for Biotechnology Information. Investigadora del Instituto de Biotecnología de Plantas del National Research Council of Canada, <http://whybiotech.com/mexico.asp?id=3640>
8. - Wikimedia Foundation, Inc. ®, Modificado 2008, Ecología Microbiana, http://es.wikipedia.org/wiki/Ecologia_microbiana
- 9.- © SGM, Enero 2005, Tipos de Microorganismos, http://www.microorganisms.com/es/Types_of_Microorganisms.htm
- 10.- El rincón universitario, segilbert@entelchile.net, La Diversidad de los Microorganismos. <http://www.e-mas.co.cl/categorias/biologia/microbio.htm>

- 11.- MARTÍN, R., Fisicoquímica y Microbiología de los Medios Acuáticos, Tratamientos y Control de Calidad de Aguas, Ediciones Díaz de Santos, S.A., Madrid-España, 2003.
- 12.- AYALA, P, 2003, Tesis de grado: Caracterización limnológica de la Laguna de Limoncocha e identificación de las características hidrológicas básicas de la zona de Limoncocha, Universidad Internacional SEK, Quito-Ecuador
- 13.- PETRACINI, R., © 2007, Sedimento, <http://www.elacuarista.com/glosario8.htm>
- 14.- RAMÍREZ, J., y NOREÑA, J., 2004, Departamento de Biología, Universidad de Antioquia, Apartado 1226, Medellín, Colombia, [http://www.unal.edu.co/icn/publicaciones/caldas/26\(1\)/13F.pdf](http://www.unal.edu.co/icn/publicaciones/caldas/26(1)/13F.pdf)
- 15.- GOMEZ, G, 2005, Tesis de grado: Estudio de los sedimentos de la Laguna de Limoncocha. Universidad Internacional SEK, Quito-Ecuador.
- 16.- ECHARRI, L., Suelo, Ciencias de la Tierra y del Medio Ambiente, <http://www.tecnun.es/Asignaturas/ecologia/Hipertexto/05PrinEcos/110Suelo.htm>
- 17.- Características Ambientales, Municipio de Carurú, http://caruru-vaupes.gov.co/apc-aa-files/34373137326264666431303736393531/CARACTER_STICAS_AMBIENTALES.doc
- 18.- IBÁÑEZ, J., 2008, Biodiversidad del suelo, Logo del Proyecto “Consider”, Financiado por la UE, <http://weblogs.madrimasd.org/universo/archive/2008/05/12/91557.aspx>
- 19.- TORO, D Ms.C., 2004, Universidad de Caldas Colombia, La Biodiversidad Microbiana del Suelo, Un Mundo por Descubrir, http://lunazul.ucaldas.edu.co/index.php?option=com_content&task=view&id=89&Itemid=89
- 20.- Ing. MONSERRATH, M., 2007, Estudio de Impacto Ambiental Ex-Post y Plan de Manejo Ambiental de la Plataforma del pozo Shushufindi 2, para perforación del pozo direccional Shushufindi 122-D. Petroproducción, CINGE Cía. Ltda., N° 94.
- 21.- MARTÍN, R., Fisicoquímica y Microbiología de los Medios Acuáticos, Tratamientos y Control de Calidad de Aguas, Ediciones Díaz de Santos, S.A., Madrid-España, 2003.

22.- Los Ambientes Acuáticos,

http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/alarchil/EcoMicro/TemaXVI.pdf

23.- MARTÍN, R., Fisicoquímica y Microbiología de los Medios Acuáticos, Tratamientos y Control de Calidad de Aguas, Ediciones Díaz de Santos, S.A., Madrid-España, 2003.

24.- Los Ambientes Acuáticos,

http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/alarchil/EcoMicro/TemaXVI.pdf

25.- Ph.D, HERRERA, L., Vida Acuática, Procesos Físicos, Químicos y Biológicos del Planeta o Introducción a la Microbiología en la era Ambiental,

<http://www.ing.uchile.cl/~leherrer/BT53A/dinamica/biolog.htm>

26.- Los Ambientes Acuáticos,

http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/alarchil/EcoMicro/TemaXVI.pdf

27.- Ph.D, HERRERA, L., Vida Acuática, Procesos Físicos, Químicos y Biológicos del Planeta o Introducción a la Microbiología en la era Ambiental,

<http://www.ing.uchile.cl/~leherrer/BT53A/dinamica/biolog.htm>

28.- CASARES, L., y EGAS, N., 1996, Tesis de Grado, Investigación y caracterización de Hongos Naturales que tengan actividades Celulolíticas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador.

29.- Dr. K. SALFELDER, *Fusarium sp.*, Mérida – Venezuela, Laboratorio de Investigación en Patología Facultad de Medicina Universidad de Los Andes.

<http://www.saber.ula.ve/micosis/parser.php?XML=contenido/capitulo20/capitulo20E/contenidocapitulo.xml&XSL=xsl/figuragrande.xsl&IDIOMA=es&ORDEN=5>

30. - © Copyright 2007, Habitats *Fusarium*, Caltex International, Manufacturer of Ecologically Responsible Products Since 1986,

http://www.caltexmoldservices.com/section/mold_library/fusarium_sp/

31.- CASARES, L., y EGAS, N., 1996, Tesis de Grado, Investigación y caracterización de Hongos Naturales que tengan actividades Celulolíticas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador.

32.- Copyright 2008 © by Risk Free Websites, *Trichoderma*,

http://www.aairllc.com/mold_types_G_Y.htm

33.- © Copyright 2007, Habitats *Trichoderma*, Caltex International Manufacturer of Ecologically Responsible Products Since 1986,

http://www.caltexmoldservices.com/section/mold_library/trichoderma/trichoderma_sp/

34.- CASARES, L., y EGAS, N., 1996, Tesis de Grado, Investigación y caracterización de Hongos Naturales que tengan actividades Celulolíticas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador.

35.- Dr. K. SALFELDER, *Penicillium*, Mérida – Venezuela, Laboratorio de Investigación en Patología Facultad de Medicina Universidad de Los Andes,

<http://www.saber.ula.ve/micosis/parser.php?XML=contenido/capitulo20/capitulo20F/contenido/capitulo.xml&XSL=xsl/figuragrande.xsl&IDIOMA=en&ORDEN=3>

36.- © Copyright 2007, *Penicillium*, Caltex International Manufacturer of Ecologically Responsible Products Since 1986,

http://www.caltexmoldservices.com/section/mold_library/penicillium/

37.- PHILIP, CARPENTER, Microbiología, Cuarta Edición, Editorial Interamericana, S.A. D. F. México, 1979.

38.- Dr. SEIDL, M., © 2008, *Aspergillus*, EM Lab P&K Environmental Microbiology Laboratory, Inc., <http://www.emlab.com/s/sampling/env-report-09-2006.html>

39.- © Copyright 2007, Habitats *Aspergillus*, Caltex International Manufacturer of Ecologically Responsible Products Since 1986,

http://www.caltexmoldservices.com/section/mold_library/aspergillus/aspergillus_sp/

40.- Hongo *Verticillium*,

<http://www.inta.gov.ar/bellavista/info/documentos/hortalizas/hd30.htm>

41.- Dr. ELLIS, D., © 2008, *Verticillium*, The University of Adelaide, Australia,

<http://www.mycology.adelaide.edu.au/gallery/photos/vert1.html>

42.- © Copyright 2007, Habitats *Verticillium*, Caltex International, Manufacturer of Ecologically Responsible Products Since 1986,

http://www.caltexmoldservices.com/section/mold_library/verticillium_sp/

43.- Dr. ELLIS, D., © 2008, Hongo *Mucor*, The University of Adelaide, Australia,

http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Zygomycetes/Mucor/index.html

44.- Dr. ELLIS, D., © 2008, *Mucor*, The University of Adelaide, Australia,

http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Zygomycetes/Mucor/index.html

45.- © Copyright 2007, Habitats *Mucor*, Caltex International, Manufacturer of Ecologically Responsible Products Since 1986,

http://www.caltexmoldservices.com/section/mold_library/mucor_sp/

46.- PIÉDROLA-ANGULO, G., © 2008 Google, *Bacillus*, Microbiología y Parasitología Médica,

http://books.google.com.ec/books?id=Nlego0fDRUQC&pg=PA413&lpg=PA413&dq=Enterobacterias+en+suelo&source=web&ots=CYNBqV2DjR&sig=5_rks8K_9JnSi6fAmcdSOkYPXU&hl=es&sa=X&oi=book_result&resnum=1&ct=result#PPA381,M1

47.- Bioland Microorganismos contenidos en NUTRI-COMPOST™, *Bacillus*,

<http://www.bioland.cl/nutricompoust-mo.htm>

48.- Wikimedia Foundation, Inc., Actualizado 2008, *Pseudomonas*,

<http://es.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas>

49.- Dr. VARGAS y FARRERA S., 1987, *Enterobacterias*, Microbiología y Parasitología Médica,
http://lnx.futuremedicos.com/Formacion_pregrado/Apuntes/Archivos/alumnos/sexta/Infecciones_04-05/Viejas/INF7-entbact_pseudom.doc.

50.- ©2004, Laboratorio de Tecnología Educativa, Departamento de Microbiología y Genética, Universidad de Salamanca,
<http://universitas.usal.es/web/fundacion/universitas/es/sistemas/microacua/Demo1/shigella.html>

51.- Dra. MEADE-CALLAHAN, M., © 2000-2008 American Institute of Biological Sciences. El papel beneficioso de los microorganismos,
http://www.actionbioscience.org/esp/evolucion/meade_callahan.html

52.- MARÍN, J., LEDO DE MEDINA, H., HERNÁNDEZ, J., y CASTEJÓN, O., 1998, Bacterias Asociadas a la Transformación de Nitrógeno en la Interfase Agua-Sedimento del Cono Hipolimnético del Lago de Maracaibo, Laboratorio de Química Ambiental, Departamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Venezuela, http://www.serbi.luz.edu.ve/pdf/bcib/v40n1/art_02.pdf

53.- DÍAZ-BORREGO, L., DUPONTT, J., y ATENCIO, L., 2006, Perfil Plasmídico de Bacterias Aisladas de Sedimento Contaminado de Petróleo, Estado Zulia Venezuela, Laboratorio de Genética y Biología Molecular, Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia,
http://www.serbi.luz.edu.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-538X2006008000003&lng=es&nrm=iso

54.- DE LA ROSA JORGE, M., y MOSSO, M., Diversidad Microbiana de las Aguas Minerales Termales, Microbiología II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. Madrid, http://www.igme.es/internet/web_aguas/igme/publica/pdfart3/diversidad.pdf

55.- VENEGAS, E., CIAMPI, L., COLLADO, L., y BARRERA, S., Aislamiento, Selección e Identificación de Microorganismos Antagonista de *Fusarium* sp., Instituto de Producción y Sanidad Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile,
http://www.bioinsumos.cl/archivos/Poster_Elizabeth.pdf

- 56.- ARÉVALO, G., ZÚÑIGA, C., BALIGAR, V., 1999 al 2004, Dinámica Poblacional Fungosa Asociada a la Rizosfera de un Sistema Tradicional de Cultivo de Cacao en Perú, Instituto de Cultivos Tropicales (NAS-ICT/CICAD-OEA), http://www.iamazonica.org.br/conteudo/eventos/biodiversidadeSolo/pdf/resumos/Poster_EnriqueA3.pdf
- 57.- Dr. MAZABEL, C., Mchgo. LÓPEZ, C., Ing. PAIMA, K., et. al., 1997, "Población Microbiana del suelo de la zona Norte del Bosque Reservado de la UNAS, Tingo María, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Facultad de Recursos Naturales Renovable, Trabajo de Investigación, <http://www.fao.org/Ag/agl/agll/rla128/UNAS/unas22/unas22-frame.htm>
- 58.- ANDRADE, L., y GORDILLO, A., 2008, Tesis de grado: Aislamiento e Identificación de Microorganismos Solubilizadores de Fosfatos a partir de Suelos Ecuatorianos, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador.
- 59.- CASARES, L., y EGAS, N., 1996, Investigación y Caracterización de Hongos Naturales que tengan actividades Celulolíticas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito-Ecuador.

ANEXO N°1: FOTOGRAFÍAS DE LOS PUNTOS DE MUESTREOS

Foto N°7: Quebrada I.P.I.B.



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°8: Río Playayacu



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°9: Vertiente Sendero INEFAN



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°10: Río Pishira (Entrante a la Laguna)



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°11: Santa Elena



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°12: Final Cañón



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°13: Centro de la Laguna



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°14: Centro de la Laguna



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°15: Río Blanco



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°16: Quebrada Juana Cerda



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°17: Estación Sek



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

ANEXO N°2: FOTOGRAFÍAS DE MEDICIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO QUÍMICOS DE AGUA.

Foto N°18: Preparando Medidor Multiparametro



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°19: Introduciendo a los electrodos al agua



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°20: Midiendo parámetros de agua



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°21: Leyendo valores de parámetros medidos



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

ANEXO N°3: FOTOGRAFÍAS DE TOMA DE MUESTRAS DE AGUA SEDIMENTO

Foto N°22: Introduciendo el muestreador



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°23: Tomando muestra de sedimento



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°24: Depositando muestras de sedimento



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°25: Homogenizado se le pone en botella



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°26: Conservación de muestra



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

ANEXO N°4: FOTOGRAFIAS DE TOMA DE MUESTRAS DE SUELO Y TRAMPEO

Foto N°27: Limpiando el para toma de muestras



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°28: Tomando muestras de superficie



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°29: Removiendo suelo



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°30: Tomando muestras de suelo removido



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°31: Haciendo hoyo para el trampeo



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

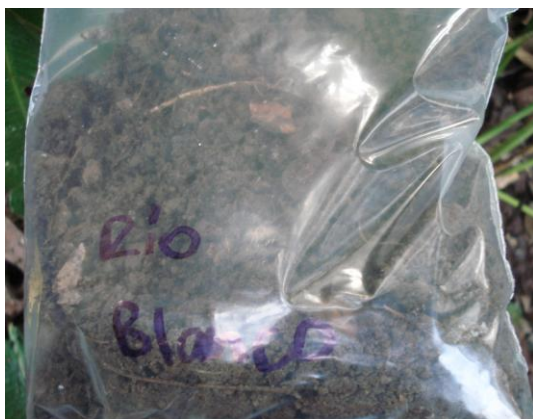
Foto N°32: Tomando muestras de suelo profundidad



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°33: Muestra de suelo final

Foto N°34: Arroz cocido poniendo en tarrina



Fuente: Fabricio Cerda, 2008



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°35: Cubriendo con nylon a la tarrina



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°36: Poniendo al preparado en el hoyo



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°37: Trampa de arroz en el hoyo



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°38: Se cubre a la trampa con hojarasca



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°39: Tapando al hoyo con la misma tierra

Foto N°40: Se cubre con hojas secas a la trampa



Fuente: Fabricio Cerda, 2008



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°41: Arroz descompuesto a los 21 días



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

ANEXO N°5: FOTOGRAFÍAS DE MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA UISEK

Foto N°42: Materiales de laboratorio



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°43: Arroz descompuesto a los 21 días



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°44: Muestras de agua-sedimento



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°45: Muestras de suelo



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°46: Muestras de trampa



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°47: Balanza analítica



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°48: Calefactor

Foto N°49: Autoclave



Fuente: Fabricio Cerda, 2008



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°50: Estufa



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°51: Incubadora



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°52: Refrigeradora



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°53: Microscopio



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

ANEXO N°6: FOTOGRAFÍAS DE MEDIOS DE CULTIVOS Y REACTIVOS

Foto N°54: Agar nutriente, papadextrosa, Agua peptonada



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°55: Caldo nutritivo, Aceite de glicerina



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°56: Aceite el cocinero



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°57: Lugol, cristal violeta, safranina, alcohol



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

ANEXO N°7: FOTOGRAFÍAS SOBRE PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVOS Y AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS DE LAS MUESTRAS OBEJTIVAS.

Foto N°58: Disolviendo en calefactor medios de cultivos



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°59: Medios de cultivos tapados a esterilizar



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°60: Medios para esterilizar



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°61: Esterilización de los medios preparados



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°62: Poniendo al medio en cajas petri



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°63: Medios solidificándose



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°64: Dilución con muestras objetivas



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°65: Dilución seriada para la siembra



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°66: Siembra del inoculo en cajas petri



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°67: Sellando cajas una vez sembrado



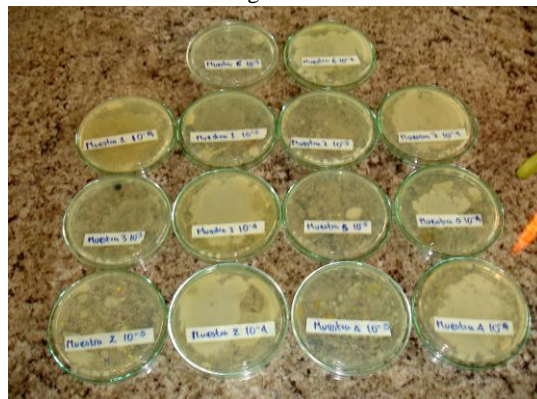
Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°68: Cajas sembradas en incubadora



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°69: Aislamiento general



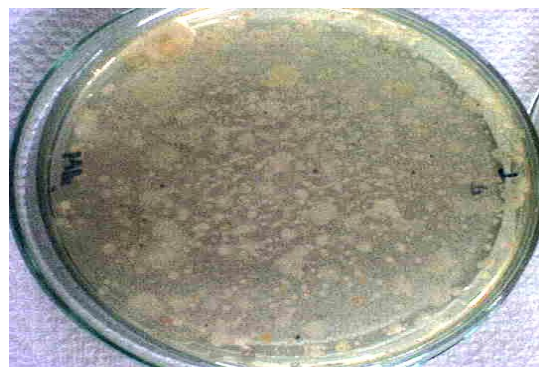
Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°70: Caja petri seleccionado por minoría

Foto N°71: Caja petri seleccionado por abundancia



Fuente: Fabricio Cerda, 2008



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°72: Purificando colonias de microorganismo



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°73: Obtención de cultivos puros



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°74: Medios de cultivos preparados y aislados



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

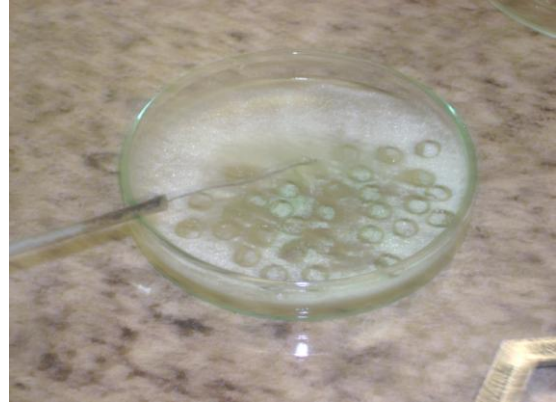
ANEXO N°8: FOTOGRAFIAS GUARDANDO CEPAS DE HONGOS

Foto N°75: Hincando al hongo con pipetas pasteur



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°76: Tomando con asa punteada al hongo



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°77: Guardando al hongo en tubo eppendors



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°78: Serrando la tapa del tubo con el dedo pulgar



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°79: Cepas de hongo en fundas



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°80: Cepas de hongo guardados en el refrigerador



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

ANEXO N°9: FOTOGRAFÍAS DE TINCIÓN GRAM DIFERENCIAL Y SIMPLE.

Foto N°81: Esterilizando portaobjetos



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°82: Tiñendo a las placas preparados



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°83: Placas teñidas con colorantes



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°84: Tomando cinta escoch en la mano izquierda



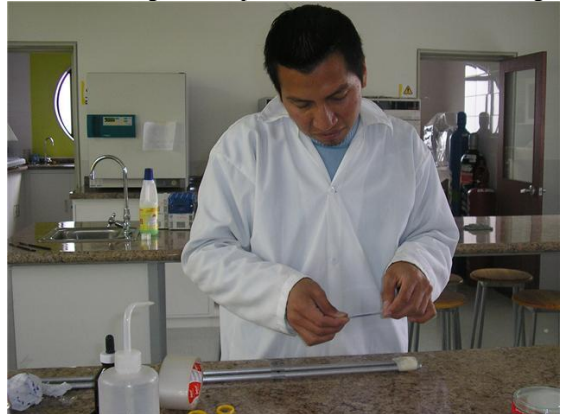
Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°85: Adhiriendo al hongo con cinta escoch



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°85: Pegando en placas una vez tomados al hongo



Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Foto N°86: Viendo a las placas preparadas en el microscopio

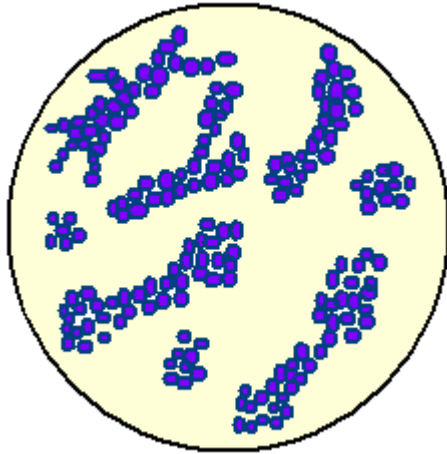


Fuente: Fabricio Cerda, 2008

**ANEXO N°10: GRÁFICO DE LAS MORFOLOGÍAS DE LOS
MICROORGANISMOS VISTOS AL MICROSCOCPIO**

Figura N°10: Cocos gran (+)

Cepa 1

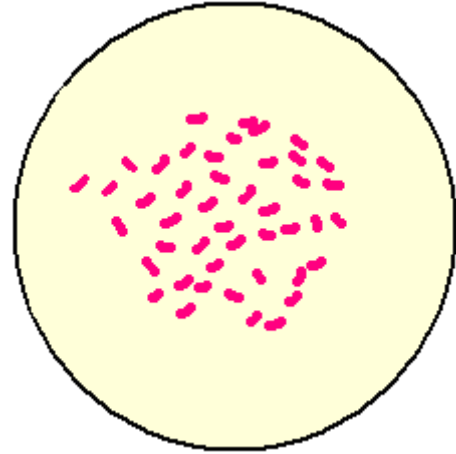


100X

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Figura N°11: Bacilos gram (-) esporulados

Cepa 3

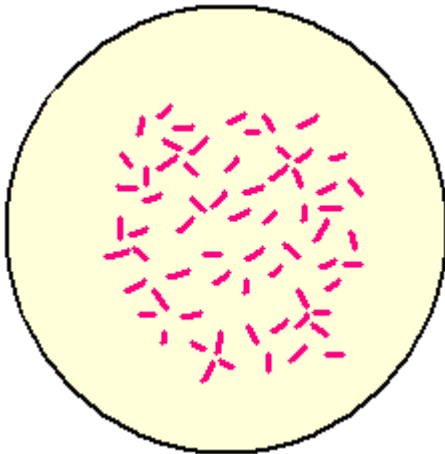


100X

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Figura N°12: Bacilos gram (-) cortos

Cepa 4

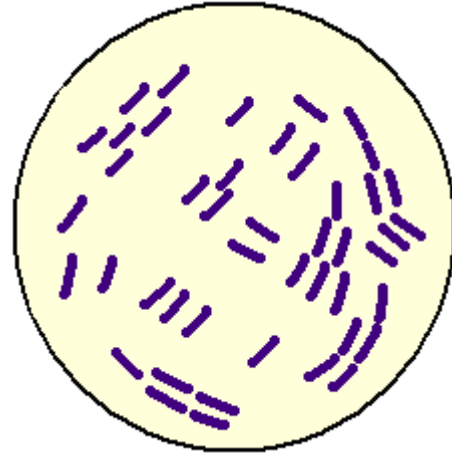


100X

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Figura N°13: Bacilos gram (+)

Cepa 8



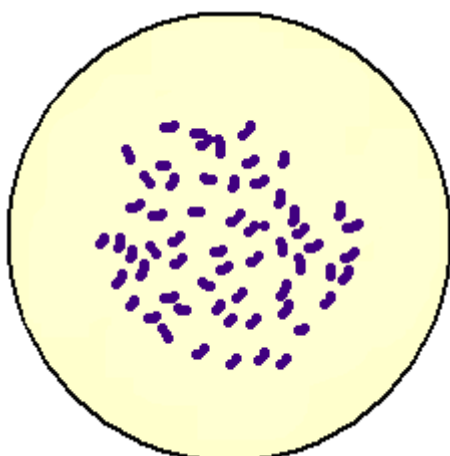
100X

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Figura N°14: Bacilos gram (+) esporulados

Figura N°15: Cocos gram (+) grandes (levadura)

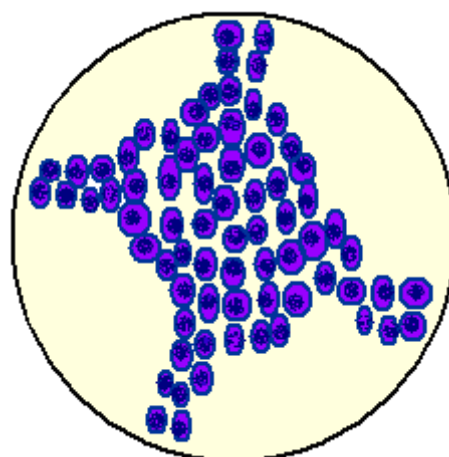
Cepa 11



100X

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Cepa 12

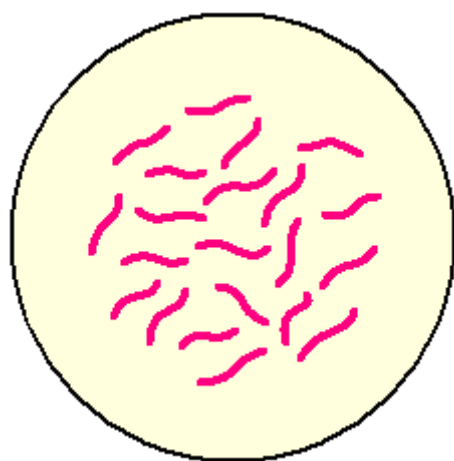


100X

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

Figura N°16: Bacilos gram (-) largos

Cepa 14



100X

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

ANEXO N°11: CUADROS DE RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS BACILOS GRAM POSITIVOS DE AGUAS-SEDIMENTOS Y SUELOS.

CUADRO N°24: AGUA-SEDIMENTO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS				
			MOVILIDAD	H2S	CAMBIO DE COLOR	CRECIMIENTO DE BACTERIA	OBSERVACIONES
SIM MEDIUM	7	48	-	-			Crecimiento de bacteria en superficie como una película pequeña.
XILOSA					-		Hubo crecimiento de bacteria.
GLUCOSA					-		Hubo crecimiento de bacteria.
MANITOL					-		Hubo crecimiento de bacteria.
CLORURO DE SODIO AL 5%						-	No hubo crecimiento de bacteria.
CLORURO DE SODIO AL 7%						-	No hubo crecimiento de bacteria.

CUADRO N°25: AGUA-SEDIMENTO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS				
			MOVILIDAD	H2S	CAMBIO DE COLOR	CRECIMIENTO DE BACTERIA	OBSERVACIONES
SIM MEDIUM	8	48	-	-			Crecimiento de bacteria en superficie como una película pequeña.
XILOSA					-		Hubo crecimiento de bacteria.
GLUCOSA					+		Hubo crecimiento de bacteria.
MANITOL					-		Hubo crecimiento de bacteria.
CLORURO DE SODIO AL 5%						d	Crecimiento de bacteria se vio poco turbio.
CLORURO DE SODIO AL 7%						d	Crecimiento de bacteria se vio poco turbio.

CUADRO N°26: AGUA-SEDIMENTO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS				
			MOVILIDAD	H2S	CAMBIO DE COLOR	CRECIMIENTO DE BACTERIA	OBSERVACIONES
SIM MEDIUM	10	48	-	-			Crecimiento de bacteria en superficie como una película pequeña.
XILOSA					-		Hubo crecimiento de bacteria.
GLUCOSA					+		Hubo crecimiento de bacteria.
MANITOL					-		No hubo crecimiento de bacteria.
CLORURO DE SODIO AL 5%						-	No hubo crecimiento
CLORURO DE SODIO AL 7%						d	Hay crecimiento de bacteria en forma de partículas pequeñas y poco turbia.

CUADRO N°27 AGUA-SEDIMENTO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS				
			MOVILIDAD	H2S	CAMBIO DE COLOR	CRECIMIENTO DE BACTERIA	OBSERVACIONES
SIM MEDIUM	11	48	-	-			Solo creció a largo del pinchado
XILOSA					-		No hubo crecimiento de bacteria.
GLUCOSA					-		Poco crecimiento de bacteria.
MANITOL					-		Hubo crecimiento de bacteria.
CLORURO DE SODIO AL 5%						-	No hubo crecimiento de bacteria
CLORURO DE SODIO AL 7%						-	No hubo crecimiento de bacteria

CUADRO N°28: AGUA-SEDIMENTO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS				
			MOVILIDAD	H2S	CAMBIO DE COLOR	CRECIMIENTO DE BACTERIA	OBSERVACIONES
SIM MEDIUM	23	48	-	-			No hubo crecimiento
XILOSA					-		Hubo crecimiento de bacteria.
GLUCOSA					+		Hubo crecimiento de bacteria.
MANITOL					-		Hubo crecimiento de bacteria.
CLORURO DE SODIO AL 5%						-	No hubo crecimiento
CLORURO DE SODIO AL 7%						d	Hay crecimiento de bacteria en forma de partículas pequeñas y turbia.

CUADRO N°29: SUELO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS				
			MOVILIDAD	H2S	CAMBIO DE COLOR	CRECIMIENTO DE BACTERIA	OBSERVACIONES
SIM MEDIUM	1	48	-	-			Hubo crecimiento de bacteria en el fondo como una mancha pequeña.
XILOSA					-		Hubo poco crecimiento de bacteria.
GLUCOSA					-		Hubo poco crecimiento de bacteria.
MANITOL					-		Hubo poco crecimiento de bacteria.
CLORURO DE SODIO AL 5%						-	No hubo crecimiento de bacteria.
CLORURO DE SODIO AL 7%						-	No hubo crecimiento de bacteria.

CUADRO N°30: SUELO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS				
			MOVILIDAD	H2S	CAMBIO DE COLOR	CRECIMIENTO DE BACTERIA	OBSERVACIONES
SIM MEDIUM	4	48	+	-			Creció bacteria en todo el tubo y en superficie
XILOSA					-		Hubo crecimiento de bacteria.
GLUCOSA					+		Hubo crecimiento de bacteria.
MANITOL					-		Hubo crecimiento de bacteria.
CLORURO DE SODIO AL 5%						-	No hubo crecimiento de bacteria.
CLORURO DE SODIO AL 7%						-	No hubo crecimiento de bacteria.

CUADRO N°31: SUELO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS				
			MOVILIDAD	H2S	CAMBIO DE COLOR	CRECIMIENTO DE BACTERIA	OBSERVACIONES
SIM MEDIUM	14	48	-	-			No hubo crecimiento de bacteria
XILOSA					-		Hubo crecimiento de bacteria.
GLUCOSA					+		Hubo crecimiento de bacteria.
MANITOL					-		Hubo crecimiento de bacteria.
CLORURO DE SODIO AL 5%						d	Hay crecimiento de bacteria en forma de partículas pequeñas y turbia
CLORURO DE SODIO AL 7%						-	No hubo crecimiento de bacteria

CUADRO N°32: SUELO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS				
			MOVILIDAD	H2S	CAMBIO DE COLOR	CRECIMIENTO DE BACTERIA	OBSERVACIONES
SIM MEDIUM	18	48	+/- 6 d	-			Presento crecimiento en superficie en forma de anillo y poco expansión de crecimiento en el fondo hasta cierto cm.
XILOSA					-		Hubo crecimiento de bacteria.
GLUCOSA					+		Hubo crecimiento de bacteria.
MANITOL					-		Hubo crecimiento de bacteria.
CLORURO DE SODIO AL 5%						-	No hubo crecimiento de bacterias
CLORURO DE SODIO AL 7%						-	No hubo crecimiento de bacterias

**ANEXO N° 12: CUADROS DE RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS
BACILOS GRAM NEGATIVOS DE AGUAS-SEDIMENTOS Y SUELOS**

CUADRO N°33: AGUA-SEDIMENTO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS						
			PICO	FONDO	GAS	H2S	CRECIMIENTO CAMBIO DE COLOR PICO / FONDO	MOVILIDAD	INDOL
TSI	3	24	A	A	-	-			
		48	A	A	-	-			
24						-			
48						-			
SIM MEDIUM		24				-		-	-
		48				-		-	-

CUADRO N°34: AGUA-SEDIMENTO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS						
			PICO	FONDO	GAS	H2S	CRECIMIENTO CAMBIO DE COLOR PICO / FONDO	MOVILIDAD	INDOL
TSI	4	24	A	A	-	-			
		48	A	A	-	-			
24						-			
48						+			
SIM MEDIUM		24				-		+	-
		48				-		+	-

CUADRO N°35: AGUA-SEDIMENTO

CUBRO N 33: AGUA SEDIMENTO									
PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS						
			PICO	FONDO	GAS	H2S	CRECIMIENTO CAMBIO DE COLOR PICO / FONDO	MOVILIDAD	INDOL
TSI	6	24	A	A	-	-			
		48	A	A	-	-			
24						+			
48						+			
SIM MEDIUM		24				-	(Crecimiento en superficie como una película pequeña)	-	-
		48				-	(Presento una característica turbia)	-	-

CUADRO N°36: AGUA-SEDIMENTO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS							
			PICO	FONDO	GAS	H2S	CRECIMIENTO CAMBIO DE COLOR PICO / FONDO	MOVILIDAD	INDOL	
TSI	14	24	A	Color inicial	-	-				
		48	A	A	-	-				
SIMMOSN CITRATE AGAR		24				-				
		48				-				
SIM MEDIUM		24				-	(Crecimiento en superficie como una película pequeña)	-	-	
		48				+ (Presencia de puntos negros)	(Crecimiento en superficie como una película pequeña)	-	-	

CUADRO N°37: AGUA-SEDIMENTO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS						
			PICO	FONDO	GAS	H2S	CRECIMIENTO CAMBIO DE COLOR PICO / FONDO	MOVILIDAD	INDOL
TSI	15	24	A	Color inicial	-	-			
		48	A	A	-	-			
SIMMOSN CITRATE AGAR		24				-			
		48				-			
SIM MEDIUM		24				-	- (Aparentemente)	-	
		48				-	+	-	

CUADRO N°38: SUELO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS						
			PICO	FONDO	GAS	H2S	CRECIMIENTO CAMBIO DE COLOR PICO / FONDO	MOVILIDAD	INDOL
TSI	9	24	Color inicial	Color inicial	-	-			
		48	A	A	-	-			
SIMMOSN CITRATE AGAR		24				-			
		48				-			
SIM MEDIUM		24			-		-	-	
		48			-		-	-	

CUADRO N°39: SUELO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS							
			PICO	FONDO	GAS	H2S	CRECIMIENTO CAMBIO DE COLOR PICO / FONDO	MOVILIDAD	INDOL	
TSI	11	24	A	A	+	-				
		48	A	A	+	-				
SIMMOSN CITRATE AGAR		24				+				
		48				+				
SIM MEDIUM		24				-	(Crecimiento en superficie como una película pequeña)	-	-	
		48				-	(Crecimiento en superficie como una película pequeña)	-	-	

CUADRO N°40: SUELO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS							
			PICO	FONDO	GAS	H2S	CRECIMIENTO CAMBIO DE COLOR PICO / FONDO	MOVILIDAD	INDOL	
TSI	12	24	A	Color inicial	-	-				
		48	A	A	-	-				
SIMMOSN CITRATE AGAR		24				-				
		48				-				
SIM MEDIUM		24				-	(Crecimiento en superficie como una película pequeña)	-	-	
		48				-	(Crecimiento en superficie como una película pequeña9	-	-	

CUADRO N°41: SUELO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS						
			PICO	FONDO	GAS	H2S	CRECIMIENTO CAMBIO DE COLOR PICO / FONDO	MOVILIDAD	INDOL
TSI	16	24	Color inicial	Color inicial (pero hubo crecimiento de bacteria)	-	-			
		48	Color inicial	Color inicial (pero hubo crecimiento de bacteria)	-	-			
SIMMOSN CITRATE AGAR		24				-			
		48				-			
SIM MEDIUM		24				-	(Crecimiento en superficie como una película pequeña)	-	-
		48				-	(Crecimiento en superficie como una película pequeña)	-	-

CUADRO N° 42: SUELO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS							
			PICO	FONDO	GAS	H2S	CRECIMIENTO CAMBIO DE COLOR PICO / FONDO	MOVILIDAD	INDOL	
TSI	17	24	A	A	-	-				
		48	A	A	-	-				
SIMMOSN CITRATE AGAR		24				-				
		48				-				
SIM MEDIUM		24				-	(Crecimiento en superficie como una película pequeña)	-	-	
		48				-	(Crecimiento en superficie como una película pequeña)	-	-	

CUADRO N°43: SUELO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS							
			PICO	FONDO	GAS	H2S	CRECIMIENTO CAMBIO DE COLOR PICO / FONDO	MOVILIDAD	INDOL	
TSI	19	24	K (Iniciando alcalino)	A	-	-				
		48	K	A	-	-				
SIMMOSN CITRATE AGAR		24				-				
		48				-				
SIM MEDIUM		24				-		+	-	
		48				-		+	-	

CUADRO N°44: SUELO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS						
			PICO	FONDO	GAS	H2S	CRECIMIENTO CAMBIO DE COLOR PICO / FONDO	MOVILIDAD	INDOL
TSI	23	24	A	Color inicial	-	-			
		48	A	A	-	-			
SIMMOSN CITRATE AGAR		24					-		
		48					-		
SIM MEDIUM		24				-		+	-
		48				-		+	-

CUADRO N°45: SUELO

PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS							
			PICO	FONDO	GAS	H2S	CRECIMIENTO CAMBIO DE COLOR PICO / FONDO	MOVILIDAD	INDOL	
TSI	27	24	K (Iniciando alcalino)	K (Iniciando alcalino)	-	-				
		48	K	K	-	-				
SIMMOSN CITRATE AGAR		24				+				
		48				+				
SIM MEDIUM		24				-	(Crecimiento en superficie como una película pequeña)	-	-	
		48				-	(Crecimiento en superficie como una película pequeña)	-	-	














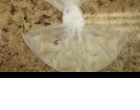
ANEXO N°13: CUADRO DE RESULTADO DE LAS PRUEBAS BIOQUIMICAS BACILOS GRAM POSITIVOS DE TRAMPA

CUADRO N°46: TRAMPA















PRUEBAS BIOQUIMICAS	CEPAS	HORAS	CARACTERISTICAS				OBSERVACIONES
			MOVILIDAD	H ₂ S	CAMBIO DE COLOR	CRECIMIENTO DE BACTERIA	
SIM MEDIUM	9	48	-	-			Crecimiento de bacteria en superficie como una película pequeña.
XILOSA					-		Hubo crecimiento de bacteria.
GLUCOSA					-		Hubo crecimiento de bacteria.
MANITOL					-		Hubo crecimiento de bacteria.
CLORURO DE SODIO AL 5%						-	No hubo crecimiento de bacteria.
CLORURO DE SODIO AL 7%						-	No hubo crecimiento de bacteria.

ANEXO N°14: CEPARIOS DE BACTERIAS, LEVADURAS, HONGOS DE AGUAS-SEDIMENTOS, SUELOS Y TRAMPA

CUADRO N°16 CEPARIOS DE BACTERIAS Y LEVADURAS DE AGUAS-SEDIMENTOS











Items	Código	Fecha de aislamiento	Origen	Fecha de almacenamiento	Fotos					
I	Cepa 1	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08						
II	Cepa 8	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08						
III	Cepa 11	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08						
IV	Cepa 3	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08						
V	Cepa 9	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08						
VI	Cepa 4	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08						
VII	Cepa 6	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08						

Continuación....

Ítems	Código	Fecha de aislamiento	Origen	Fecha de almacenamiento	Fotos					
VIII	Cepa 10	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08						
IX	Cepa 23	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08						
X	Cepa 7	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08						
XI	Cepa 12	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08						
XII	Cepa 16	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08						
XIII	Cepa 14	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08						
XIV	Cepa 15	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08						

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

CUADRO N°17: CEPARIOS DE HONGOS DE AGUAS-SEDIMENTOS

Ítems	Código	Fecha de aislamiento	Origen	Fecha de almacenamiento	Fotos				
I	Cepa 13	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08					
II	Cepa 17	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08					
III	Cepa 19	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08					
IV	Cepa 21	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08					
V	Cepa 24	17 – 12 - 07	Agua-sedimento	18 – 03 - 08					

Fuente: Fabricio Cerda, 2008.

CUADRO N°20: CEPARIOS DE BACTERIAS DE SUELO




Ítems	Código	Fecha de aislamiento	Procedencia	Fecha de almacenamiento	Fotos					
I	Cepa 1	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08						
II	Cepa 4	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08						
III	Cepa 9	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08						
V	Cepa 11	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08						
VI	Cepa 12	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08						
VII	Cepa 14	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08						

Continuación...




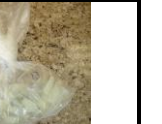

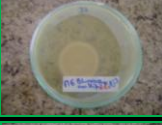

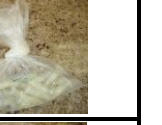

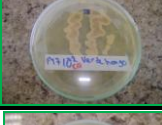






Ítems	Código	Fecha de aislamiento	Procedencia	Fecha de almacenamiento	Fotos					
VIII	Cepa 16	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08						
IX	Cepa 17	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08						
X	Cepa 18	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08						
XI	Cepa 19	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08						
XIII	Cepa 23	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08						
XIV	Cepa 27	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08						

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

CUADRO N°21: CEPARIOS DE HONGOS DE SUELO


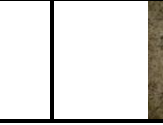


Ítems	Código	Fecha de aislamiento	Procedencia	Fecha de almacenamiento	Fotos		
I	Cepa 28	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08			
II	Cepa 29	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08			
III	Cepa 30	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08			
IV	Cepa 31	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08			
V	Cepa 32	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08			

Continuación.....

Ítems	Código	Fecha de aislamiento	Procedencia	Fecha de almacenamiento	Fotos			
VI	Cepa 33	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08				
VII	Cepa 37	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08				
VIII	Cepa 38	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08				
IX	Cepa 39	11 – 04 - 08	Suelo	29 – 04 - 08				

Fuente: Fabricio Cerda, 2008

TABLA N°23: CEPARIO DE BACTERIA DE TRAMPA

Ítems	Código	Fecha de aislamiento	Procedencia	Fecha de almacenamiento	Fotos			
I	Cepa 1	06 – 05- 08	Trampa	15 – 0 5 - 08				

Fuente: Fabricio Cerda, 2008