

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA AMBIENTAL

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE GÉNEROS MICROBIANOS A PARTIR
DE MUESTRAS DE SUELO, AGUA, SEDIMENTO EN LA LAGUNA, Y ZONAS
ADYACENTES EN LA RESERVA BIOLÓGICA LIMONCOCHA.**

**TESIS DE GRADO PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE
INGENIERO AMBIENTAL**

AUTOR:

FABRICIO EDWIN CERDA ANDY

DIRECTORA:

DRA. KARLA GARCÉS

QUITO-ECUADOR

2008

DEDICATORIA

Al Todo Poderoso, por ser el Ser Supremo de toda la tierra.

Con mucho amor dedico mi trabajo de investigación a mis padres, Luis Cerda y Rosario Andy y a mis hermanos David, Danilo, Liviston y hermanas Julia, Sofía, Gricelda, y demás familiares, por darme poderíos cada día de mi vida desde la distancia y enseñarme que no existe ningún obstáculo que no se pueda vencer, lo que estoy demostrando al culminar una etapa mas de mi vida cumpliendo el objetivo y la meta anhelado.

A la Universidad Internacional SEK – Ecuador, por ser el anfitrión durante los cinco años de mis estudios tan complicados, mismo que me formaron para ser un hombre de bien.

A la Asociación Indígena Limoncocha, quien me abrió las puertas para continuar mis estudios superiores en la Prestigiosa Institución Universidad Internacional SEK-Ecuador.

Y a todos los que creyeron en mí.

AGRADECIMIENTOS

Doy infinitamente las gracias al Todo Poderoso que me acompaña en cada momento de mi vida estudiantil universitaria, me dio momentos tan inolvidables y momentos críticos. Me supo cuidar, guiar y enseñarme las cosas buenas y nuevas de la vida, de donde surgió este valioso hombre.

A mi padres, por su amistad, su cariño, confianza y su fuerza, que me han acompañado y me seguirán acompañando toda la vida.

Quiero agradecer enormemente a la Universidad Internacional SEK por ser el pionero en la realización de mi tesis y que me han sembrado valiosas semillas durante los cinco años de mis estudios para posteriormente cosechar los frutos del bien.

A mi directora de tesis Dra. Karla Garcés, por su gran ayuda para la culminación de esta tesis, y por brindarme su gran calidad humana durante mi desarrollo de tesis hasta el final.

A la Decana Ing. Katty Coral, quien con su valiosa sabiduría siempre me apoyo y me guío durante mis años de estudios hasta culminar mi aspirada carrera.

A la Ing. Laura Huachi quien me brindo su amistad a lo largo de mis estudios, por su apoyo incondicional en mi trabajo de desarrollo de tesis en calidad de mi tribunal.

Al Dr. Carlos Ordoñez, Ing. Fabio Villalba, Ing. Alonso Moreta, Dr. Francisco Veintimilla y al Ing. Klever Chavez, quienes con sus conocimientos y sabiduría me ayudaron a forjarme, me brindaron su amistad y su generosa ayuda en el transcurso de mi carrera

Al Ing. Santiago Gómez, por brindar su amistad y apoyo constante en el laboratorio de la U.I.SEK. y por ser parte de mi tribunal.

Al Sr. Jendry Moya y su señora esposa, por su cálida y espléndida ayuda en mi trabajo de campo en la Estación Científica de la Universidad.

A mi primo Felipe Shiguango, y prima Ruth Shiguango, por darme el cariño y amor de padres durante mis años de estudios.

A mi padrino Policía Manuel Sánchez y madrina Policía Rosa Shiguango, quienes confiaron en mí de la lucha constante y testigos de mi triunfo.

A mis compañeros Diana Gómez de la Torre, Gabriela Echanique, Tamara Luna, David Aguirre, Cynthia Caicedo, Andrea Maldonado, Fernando Ricaurte, Carlos Belmonte, Sandra Apolo, Cristina Andrade, Andrea Tinizaray entre otros, que me brindaron su amistad y apoyo incondicional en los seis años que fuimos compañeros, además que se convirtieron en mi familia temporal en Quito. Además fueron testigos de la lucha diaria y fracasos durante mi vida estudiantil.

A la Asociación Indígena Limoncha, quienes mediante beca otorgado por REPSOL YPF CIA. (ENTRIX AMERICAS) supieron ayudarme económicamente para cubrir mis gastos y estadía en Quito durante mis cinco años de estudios y a todos quienes pasaron por la dirigencia al Lcdo. Franklin Grefa, Prof. Jorge Grefa, Lcdo. Saqueo Cerda, Prof. Pedro Shiguango y Prof. Limber Calapucha.

ÍNDICE

TABLA DE CONTENIDOS

Pág.

RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	ii
DESCRIPTORES.....	iii
KEY WORDS.....	iii
 CAPITULO I.....	 1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.2. ANTECEDENTES.....	3
1.3. GENERALIDADES.....	3
1.3.1. DESCRIPCIÓN DE LOS COMPONENTES DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	3
1.3.1.1. SUELO.....	3
1.3.1.2. FAUNA.....	3
1.3.1.3. FLORA.....	4
1.3.1.4. HIDROLOGÍA.....	4
1.3.1.5. AIRE.....	4
1.4. OBJETIVOS.....	5
1.4.1. OBJETIVO GENERAL.....	5
1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	5
 CAPITULO II.....	 6
2. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. ESTUDIOS EN LA LAGUNA DE LIMONCOCHA.....	6
2.2. DEFINICIÓN DE MICROBIOLOGÍA.....	7
2.2.1. DEFINICIÓN DE BIOTECNOLOGÍA.....	8
2.3. ECOLOGÍA MICROBIANA.....	8
2.3.1. TIPOS DE MICROORGANISMOS.....	8
2.3.2. CLASIFICACIÓN DE LOS ORGANISMOS SEGÚN SUS REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES.....	9
2.4. DESCRIPCIÓN GEOLÓGICA DEL ÁREA DE ESTUDIO.....	10
2.4.1. SEDIMENTO.....	10
2.4.2. CARACTERIZACIÓN DEL SEDIMENTO DE UNA LAGUNA TROPICAL.....	11

2.4.2.1. DIFRACTOMETRÍA DE LOS SEDIMENTOS.....	11
2.4.2.2. GRANULOMETRÍA DE LOS SEDIMENTOS.....	11
2.5. EL SUELO.....	12
2.5.1. FRACCIÓN ORGÁNICA.....	12
2.5.1.1. ESTRUCTURA DEL SUELO.....	12
2.5.1.2. ORGANISMOS VIVOS EN EL SUELO.....	13
2.5.2. BIODIVERSIDAD MICROBIANA DE LOS SUELOS DE LA CUENCA AMAZÓNICA.....	13
2.5.3. LA BIODIVERSIDAD DEL SUELO.....	14
2.5.3.1. VARIABILIDAD EN EL SUELO.....	15
2.5.4. ANÁLISIS DE SUELO ORIENTAL.....	15
2.6. MICROORGANISMOS DEL MEDIO ACUÁTICO.....	16
2.6.1. LAGOS Y LAGUNAS.....	16
2.6.1.1. DISTRIBUCIÓN VERTICAL DE LAS BACTERIAS EN LAGOS.....	17
2.6.1.2. SISTEMAS LÓTICOS (RÍOS).....	18
2.7. MICROORGANISMOS DESCUBIERTOS EN LA RESERVA BIOLÓGICA LIMONCOCHA.....	21
2.7.1. DESCRIPCIÓN DE ALGUNOS TIPOS DE MICROORGANISMOS (HONGOS Y BACTERIAS DE AGUAS-SEDIMENTOS, SUELOS Y TRAMPA).....	21
2.8. USOS ACTUALES DE MICROORGANISMOS.....	32
2.8.1. EL PAPEL BENEFICIOSO DE LOS MICROORGANISMOS.....	32
CAPITULO III.....	34
3. METODOLOGÍA.....	34
3.1. FASE DE CAMPO.....	34
3.1.1. TRABAJO DE CAMPO.....	34
3.1.2. MATERIALES, EQUIPOS Y TRANSPORTES DE CAMPO.....	34
3.2. PRIMERA CAMPAÑA.....	35
3.2.1. UBICACIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREO.....	35
3.2.2. DESCRIPCIÓN DE LOS PUNTOS A MUESTREAR.....	36
3.2.3. MAPA DE UBICACIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREOS.....	38
3.3. SEGUNDA CAMPAÑA.....	38
3.3.1 RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.....	38

3.3.1.1. TOMA DE MUESTRAS DE AGUA-SEDIMENTO.....	38
3.3.1.2. PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA.....	39
3.4. MEDICIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE AGUAS EN PUNTOS DE MUESTREO.....	39
3.5. MEDICIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DE SUELO EN PUNTOS DE MUESTREO.....	40
3.6. TERCERA Y CUARTA CAMPAÑA.....	41
3.6.1. TOMA DE MUESTRAS DE SUELO.....	41
3.6.2. TRAMPAEO.....	41
3.7. FASE DE LABORATORIO.....	42
3.7.1. MEDIOS DE CULTIVOS PARA AISLAMIENTOS DE DE MICROORGANISMOS Y DILUCIONES, MATERIALES, EQUIPOS, MEDIOS DE CULTIVOS Y REACTIVOS.....	42
3.7.2. VARIABLES QUE SE CONSIDERARON PARA EL AISLAMIENTO EN GENERAL.....	43
3.7.3. MEDIOS DE CULTIVOS PARA GUARDAR CEPAS MICROBIANAS.....	43
3.7.4. MEDIOS DE CULTIVOS PARA PRUEBAS BIOQUÍMICAS DE BACILOS GRAM NEGATIVAS Y BACILOS GRAM POSITIVAS.....	44
CAPITULO IV.....	45
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	45
4.1. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS DE AGUAS-SEDIMENTOS.....	49
4.2. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS DE SUELOS.....	52
4.3. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS DE TRAMPAS.....	55
4.4. OBTENCIÓN Y CONSERVACIÓN DE CEPARIO MICROBIANO DE AGUAS-SEDIMENTOS, SUELOS, Y TRAMPA.....	55
4.5. DISCUSIÓN.....	56

CAPITULO V	60
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	60
5.1. CONCLUSIONES.....	60
5.2. RECOMENDACIONES.....	62
 CAPITULO VI	63
6. BIBLIOGRAFÍAS.....	63

CUADRO N°1: MEDICIÓN DE PARAMETROS DE AGUA (LAGUNA).....	6
CUADRO N°2: MEDICIÓN DE PARAMETROS DE AGUA (RÍO).....	7
CUADRO N°3: MEDICIÓN DE PARAMETROS FÍSICO-QUÍMICO DE SUELOS.....	15
CUADRO N°4: SELECCIÓN DE ALGUNOAS BACTERIAS DE INTERÉS INDUSTRIAL O EPIDEMIOLOGICO.....	19
CUADRO N°5: CLASIFICACIÓN SIMPLIFICADA DE HONGOS.....	21
CUADRO N°6: UBICACIÓN Y COORDENADAS DE LOS PUNTOS DE MUESTREOS EN LA LAGUNA LIMONCOCHA, EFLUENTES, AFLUENTES, Y SUS ALREDEDORES (ZONAS ADYACENTES).....	35
CUADRO N°7: MEDICIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS EN LA LAGUNA LIMONCOCHA, EFLUENTES, AFLUENTES Y SUS ALREDEDORES.....	40
CUADRO N°8: MEDICIÓN DE PARÁMETROS FÍSICOS-QUÍMICOS DE SUELOS (MUESTRAS).....	41
CUADRO N°9: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS Y LEVADURAS DE AGUAS-SEDIMENTOS.....	46
CUADRO N°10: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE HONGOS DE AGUAS-SEDIMENTOS.....	47
CUADRO N°11: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIAS DE SUELOS.....	47
CUADRO N°12: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE HONGOS DE SUELOS.....	48
CUADRO N°13: AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE BACTERIA DE TRAMPA.....	48
CUADRO N°14: IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS Y LEVADURAS DE AGUAS-SEDIMENTOS.....	50
CUADRO N°15: IDENTIFICACIÓN DE HONGOS DE AGUAS-SEDIMENTOS.....	51
CUADRO N°18: IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS DE SUELO.....	53
CUADRO N°19: IDENTIFICACIÓN DE HONGOS DE SUELO.....	54
CUADRO N°22: IDENTIFICACIÓN DE BACTERIA DE TRAMPA.....	55

TABLA DE FIGURAS

Pág.

FIGURA N°1: MAPA GEOLÓGICO.....	10
FIGURA N°2: MORFOLOGÍA DE <i>Fusarium sp.</i>	22
FIGURA N°3: MORFOLOGÍA DE <i>Trichoderma sp.</i>	23
FIGURA N°4: MORFOLOGÍA DE <i>Penicillium sp.</i>	24
FIGURA N°5: MORFOLOGÍA DE <i>Aspergillus sp.</i>	26
FIGURA N°6: MORFOLOGÍA DE <i>Verticillium sp.</i>	27
FIGURA N°7: MORFOLOGÍA DE <i>Mucor sp.</i>	28
FIGURA N°8: MAPA DE LA RESERVA BIOLÓGICA LIMONCOCHA.....	38
FIGURA N°9: MUESTREADOR DE SEDIMENTOS.....	39

TABLA DE FOTOS

FOTO N°1: HONGO <i>Fusarium sp.</i>	22
FOTO N°2: HONGO <i>Trichoderma sp.</i>	23
FOTO N°3: HONGO <i>Penicillium sp.</i>	24
FOTO N°4: HONGO <i>Aspergillus sp.</i>	26
FOTO N°5: HONGO <i>Verticillium sp.</i>	27
FOTO N°6: HONGO <i>Mucor sp.</i>	28

ANEXO N°1: FOTOGRAFÍAS DE LOS PUNTOS DE MUESTREOS.....	70
ANEXO N°2: FOTOGRAFÍAS DE MEDICIÓN DE PARÁMETROS FÍSICO QUÍMICOS DE AGUA.....	72
ANEXO N°3: FOTOGRAFÍAS DE TOMA DE MUESTRAS DE AGUA SEDIMENTO.....	73
ANEXO N°4: FOTOGRAFÍAS DE TOMA DE MUESTRAS DE SUELO Y TRAMPEO.....	74
ANEXO N°5: FOTOGRAFÍAS DE MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA UISEK.....	77
ANEXO N°6: FOTOGRAFÍAS DE MEDIOS DE CULTIVOS Y REACTIVOS.....	79
ANEXO N°7: FOTOGRAFÍAS SOBRE PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVOS Y AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS DE LAS MUESTRAS OBJETIVAS.....	80
ANEXO N°8: FOTOGRAFÍAS GUARDANDO CEPAS DE HONGOS.....	83
ANEXO N°9: FOTOGRAFÍAS DE TINCIÓN GRAM DIFERENCIAL Y SIMPLE.....	84
ANEXO N°10: GRÁFICO DE LAS MORFOLOGÍAS DE LOS MICROORGANISMOS VISTOS AL MICROSCOPIO.....	86
ANEXO N°11: TABLAS DE RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS BACILOS GRAM POSITIVAS DE AGUAS-SEDIMENTOS Y SUELOS.....	88
ANEXO N°12: TABLAS DE RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS BACILOS GRAM NEGATIVAS DE AGUAS-SEDIMENTOS Y SUELOS.....	93
ANEXO N°13: TABLAS DE RESULTADOS DE LAS PRUEBAS BIOQUÍMICAS BACILOS GRAM POSITIVOS DE TRAMPA.....	97
ANEXO N°14: CEPARIOS DE BACTERIAS, LEVADURAS, HONGOS DE AGUAS-SEDIMENTOS, SUELOS Y TRAMPA.....	98

RESUMEN

La investigación de aislamiento e identificación de géneros microbianos se realizó a partir de 7 muestras de suelos, 6 muestras de aguas-sedimentos y 7 muestras de trampas de arroz tomadas en la Reserva Biológica Limoncocha, las cuales fueron analizadas en el laboratorio de la Universidad Internacional SEK Quito-Ecuador en la Facultad de Ciencias Ambientales, para el efecto se inicio con los aislamientos: Generales, obtención de cultivos puros y/o purificados, luego se hicieron tinciones diferenciales para bacterias, levaduras y para los hongos se hizo una tinción simple. Posteriormente para la identificación de bacterias bacilos gram positivas y gram negativas se realizó pruebas bioquímicas diferentes.

Llegando a obtener así microorganismos característicos de suelos: 12 bacterias de los géneros: *Bacillus* (4), *Pseudomonas* (1), *Shigella* (1), y de Familia *Enterobacterias* (5), 9 hongos de los géneros: *Mucor sp.* (1), *Aspergillus sp.* (1), *Trichoderma sp.* (1), *Fusarium sp.* (1), *Penicillium sp.* (4), y *Verticillium sp.* (1).

Mientras que de aguas-sedimentos se hallaron: 12 bacterias de los géneros: *Bacillus* (5), y de Familia *Enterobacterias* (5), y 5 hongos de los géneros: *Penicillium sp.* (1), *Fusarium sp.* (1), *Aspergillus sp.* (2), y *Mucor sp.* (1), además bacterias del tipo cocos gram positivas y cepas de levaduras. Además de las trampas solo se obtuvo a un solo tipo de bacteria del género *Bacillus sp.* (1).

En total se aislaron 21 bacterias y 14 hongos indistintamente de los hábitats sin tomar en cuenta a los que no se identificaron.

Se conoce independientemente que los microorganismos obtenidos pueden cumplir un sin numero de actividades y funciones en sus diferentes hábitats o medios, pues para ello se necesita de un estudio más avanzado del mismo para confirmar el beneficio de los mismos.

Finalmente se logró hacer un inventario de los posibles microorganismos que podrían albergar los distintos hábitats de la Reserva Biológica Limoncocha. Cumpliendo así con los objetivos planteados al inicio de la presentación del proyecto.

ABSTRACT

The investigation into isolation and identification of microbial genus took place from 7 samples of soil, 6 samples water- sediment and 7 traps rice samples taken in the Limoncocha Biological Reserve, which were analyzed in the laboratory of the International University SEK Quito-Ecuador at the Faculty of Environmental Sciences, the effect is to start with the isolations: Generals, obtaining pure cultures and / or purified, then became stains differentials for bacteria, yeast and fungi became a pap simple. Subsequently for the identification of bacteria gram positive and gram negative was carried out biochemical tests different.

Coming to obtain soil microorganisms characteristic: 12 bacterias of the genus: *Bacillus* (4), *Pseudomonas* (1), *Shigella* (1), and Family **Enterobacteria** (5), 9 fungi of the genus: *Mucor* sp. (1), *Aspergillus* sp. (1), *Trichoderma* sp. (1), *Fusarium* sp. (1), *Penicillium* sp. (4), and *Verticillium* sp. (1).

While water-sediments were found: 12 bacterias of the genus: *Bacillus* (5), and Family **Enterobacteria** (5), and 5 fungi genus: *Penicillium* sp. (1), *Fusarium* sp. (1), *Aspergillus* sp. (2), and *Mucor* sp. (1), in addition bacteria type coconuts grampositive and strains of yeast. In addition to the traps only won a single type of bacteria of the genus *Bacillus* sp. (1).

Altogether 21 were isolated bacteria and fungi 14 regardless of habitats without taking into account those who were not identified.

It is known that regardless microorganisms can be obtained without fulfil a number of activities and functions in their habitats or different means, because this requires a more advanced study to confirm that the same benefit from them.

Finally it was possible to make an inventory of possible microorganisms that could accommodate the various habitats of the Limoncocha Biological Reserve. Performing well with the goals set at the beginning of the presentation of the project.

DESCRIPTORES:

Bacteria, Hongo, Levadura, Suelo, Agua, Sedimento, Aislamiento, Identificación, Género, Especie, Familia, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacterias*, *Shigella*, *Mucor sp.*, *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Penicillium sp.*, *Verticillium sp.*

KEY WORDS:

Bacteria, Fungi, Yeast, Soil, Water, Sediment, Isolation, Identification, Genus, Species, Family, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacteria*, *Shigella*, *Mucor sp.*, *Aspergillus sp.*, *Fusarium sp.*, *Trichoderma sp.*, *Penicillium sp.*, *Verticillium SP.*