

# **“Caracterización preliminar de aislamiento de Microorganismos, mediante la técnica de E.M., a nivel de comunidades vegetales en dos zonas de vida ecológicamente diferentes”**

Jorge Luis Enríquez Brito  
Jorge Luis Viera Briones  
Felipe Mendoza García  
Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción  
Escuela Superior Politécnica del Litoral  
Campus Gustavo Galindo, Km. 30.5 vía Perimetral  
Apartado 09-01-5863. Guayaquil, Ecuador  
[enriquez\\_jorge@yahoo.com](mailto:enriquez_jorge@yahoo.com)  
[jorgeluis.vierabriones@gmail.com](mailto:jorgeluis.vierabriones@gmail.com)

## **Resumen**

*Mediante la presente investigación se llevó a cabo el estudio de microorganismos nativos en dos zonas ecológicamente diferentes, estos fueron obtenidos alrededor de especies de plantas con flores (Angiospermas) que poseen documentada información de atracción sobre la microbiota del suelo. Se realizó una caracterización preliminar de los microorganismos encontrados para establecer diferencias y similitudes entre las zonas del presente proyecto; sin embargo, se escogieron iguales familias de plantas con diferentes especies que demostraron en los resultados de laboratorio algunas similitudes y diferencias entre ellas. Dichos resultados demostraron una variabilidad de características morfológicas de las bacterias; realizándose pruebas bioquímicas como la Prueba de Catalasa para determinar el proceso respiratorio que utilizan las bacterias para la obtención de energía; además se realizó la prueba de Óxido-Fermentación, mediante esta prueba se determinó si la utilización de los hidratos de carbono por parte de un microorganismos, es decir especificar si las colonias encontradas poseían proceso aeróbico (presencia de oxígeno); poseían un proceso anaeróbico (ausencia de oxígeno); o a su vez se determinó si el microorganismo poseía metabolismo facultativo (ambos procesos). Se encontraron colonias con morfología interesantes, sobre el abanico de características presentes en ambas comunidades a nivel de bacterias; en pruebas bioquímicas como la Prueba de Catalasa, encontramos un factor indudable sobre el resultado negativo, sin importar de qué familias o bosques procedía el aislamiento. En lo que tiene que ver sobre la respiración se encontró un porcentaje mayor en respiración facultativo, seguidos por menores porcentajes en respiración aeróbica y anaeróbica respectivamente.*

Palabras claves: Angiospermas, microorganismo, caracterización preliminar, metabolismo

## **Abstract**

*With the present investigation was carried out the study of native microorganisms in two different ecological zones, these species were collected around flowering plants (angiosperms) that have documented attraction information about soil microbiot. We performed a preliminary characterization of the microorganisms found to establish differences and similarities between areas of this project however; we choose the same families of plants with different species showing the results of laboratory some similarities and differences between them. These results demonstrated a variability of morphological characteristics of bacteria, carried out biochemical tests as Catalase Test to determine the breathing process using bacteria to obtain energy is also carried out the oxidation-fermentation, was determined by this test whether the use of carbohydrates by a microorganism, is specify whether the colonies had found aerobic process (presence of oxygen), had an anaerobic process (no oxygen), or turn is determined whether the organism possessed metabolism optional (both processes). Colonies were found with interesting morphology, on the range of characteristics present in both communities at the level of bacteria; on biochemical tests as the Test of Catalase, we find an undeniable factor to the negative outcome, no matter what came from families or woodland isolation. In what has to do on respiration rate was found higher in optional breathing, followed by less percentages in aerobic and anaerobic respiration, respectively.*

Key words: Angiosperm, microorganism, preliminary character, metabolism.

## 1. Introducción.

Un papel fundamental en la diversidad biológica que se encuentra en nuestros suelos; es que en estos conviven numerosos tipos organismos microscópicos como bacterias y hongos, que pueden ofrecer grandes beneficios a la Agricultura; pues estos contribuyen a la formación del suelo y que participan en la degradación de la materia orgánica y en los ciclos de elementos como el carbono, nitrógeno, oxígeno, azufre, entre otros.

Estas sustancias aportan a la fertilidad del suelo y son utilizados por los seres vivos en su metabolismo, muchos de estos viven alrededor de las raíces de las plantas e influyen en su crecimiento ya que ayudan a absorber nutrientes y las protegen o evitan el ataque de microorganismos patógenos.

En la actualidad, biólogos, microbiólogos y ecólogos estudian las comunidades microbianas del suelo en busca de microorganismos beneficiosos que puedan ser utilizados en la agricultura, para proteger los cultivos del ataque de plagas o enfermedades, como fertilizantes “amigos” del medioambiente (biofertilizantes), lo cual da importancia al presente trabajo de investigación, el cual tuvo como punto principal de estudio la caracterización preliminar de colonias bacterianas presentes a nivel del Bosque Sacha Wiwua en la Provincia de Cotopaxi y el Bosque Protector Prosperina en la Provincia del Guayas, para aportar información de la microbiota presente en las comunidades vegetales.

Para lo cual se realizó una investigación bibliográfica sobre los microorganismos más comunes presentes en los suelos en relación a familias de plantas con flores (Angiospermas), presentes en ambos ecosistemas.

## 2. Objetivos.

### 2.1 General.

- Realizar un estudio comparativo a nivel de Microflora útil de suelos, mediante la caracterización in vitro de colonias de microorganismos y en relación a dos ecosistemas nativos

### 2.2 Objetivo Específicos.

- Investigar las familias y especies de angiospermas arbustivas relacionadas con la mayor producción de Microflora benéfica del suelo.
- Implementar el método de E.M (microorganismos eficientes) en la captura de poblaciones de microorganismos nativos.
- Describir y resaltar las poblaciones de microorganismos encontrados desde

trampas naturales hasta el aislamiento en el laboratorio.

## 3. Materiales y Métodos.

### 3.1 Ubicación, localizaciones geográficas y ecológicas

El presente trabajo se desarrollo a nivel de las provincias de Guayas y Cotopaxi en dos zonas de vida ecológicamente diferentes, bosque húmedo tropical y bosque seco tropical.

Estas zonas de vida fueron caracterizadas de acuerdo al sistema de clasificación propuesto por Rodrigo Sierra (1999) como “Propuesta preliminar de un sistema de clasificación de vegetación para el Ecuador continental”, que las clasifica como Bosque Deciduo de Tierras Bajas y Bosque Húmedo Piemontano.

Para caracterizar al Bosque Deciduo de Tierras Bajas se escogió al Bosque Protector Prosperina que forma parte del campus Gustavo Galindo de la ESPOL; por otra parte la zona de vida correspondiente al Bosque Húmedo Pie Montano se ubicó en el Bosque Sacha Wiwua perteneciente al Sistema Educativo Intercultural ubicado a 5 km. De la parroquia Guasaganda al norte de la Maná.

Las características climáticas y altitudinales de las zonas de estudio se indican en la Tabla 1.

**TABLA 1**  
Características ambientales de las zonas ecológicas en estudio

B.	T °C	PRECIPITACIÓN	ALTITUD
	ANUAL	mm ANUAL	
BPP	24-30°C	850mm	65msnm
BSW	18-24°C	1962,2mm	580msnm

### 3.2 Materiales.

Los materiales que se utilizaron en este proyecto se especifican en la tabla 2

**Tabla 2**

<u>a usarse en el bosque</u>	<u>a usarse en laboratorio</u>
Machete. Melaza Estacas Tablero de apuntes Tarrinas Arroz precocido Nylon Ligas elásticas Cámara fotográfica GPS Aerosol de color rojo	Tubo de ensayos. Microscópio Placas porta objetos. Medio de cultivo tipo PDA y Agar Balanzas de precisión Autoclaves y estufa Alcohol de laboratorio Parámetros de identificación morfológica de microorganismos reactivos a usarse en el laboratorio de Química para identificación de microorganismos

### 3.3 Fase de campo.

Esta fase se llevó a cabo en dos etapas: A) Selección de familias y especies de Angiospermas arbustivas a considerar en el ensayo, y B) colocación de trampas en las especies seleccionadas.

#### 3.3.1. Selección de familias y especies.

Los criterios que se siguieron para seleccionar familias de Angiospermas fueron los siguientes:

- Las familias a considerar sean comunes para ambas zonas de vida.
- Se utilizó el sistema de clados de la APG, para incluir órdenes y familias con un linaje común y propiedades microbiales posiblemente afines.
- Que la actividad microbiana relacionada al aumento de la Microflora benéfica de suelos, incremente su fertilidad.

La identificación de especímenes correspondientes a los árboles que se utilizaron para la presente investigación se realizó a través del Ing. Felipe Mendoza, Profesor de Botánica, FIMCP (ESPOL) y Director de esta investigación, quien utilizó claves taxonómicas y literatura especializada. En la Tabla 3 se indica las familias y especies identificadas.

**TABLA 3**

**FAMILIAS Y ESPECIES DE ANGIOSPERMAS SELECCIONADAS PARA COLOCACIÓN DE TRAMPAS PARA CAPTURA DE MICROBIOS ÚTILES EN LA MICROFLORA DE SUELOS.**

		<b>ORDEN / CLADO</b>	<b>FAMILIA</b>	<b>ESPECIE</b>
<b>BSW</b>	1		Fabaceae	<i>Inga carinata</i>
				<i>Dussia lehmannii</i>
	2	Urticales	Moraceae	<i>Ficus cf. citrifolia</i>
			Urticaceae	<i>Cecropia cf gabrielis</i>
3	Magnolii de	Lauraceae	<i>Rhodostemo nodaphne kunthiana</i>	
4		Malvaceae	<i>Matisia cf. coloradorum</i>	
<b>BPP</b>	1		Fabaceae	<i>Centrolobium ochroxilum</i>
				<i>Caesalpinia glabrata</i>
	2	Urticales	Urticaceae	<i>Cecropia litoralis</i>
	3	Magnolii de	Annonaceae	<i>Annona muricata L.</i>
Annonaceae			<i>Annona squamosa L.</i>	
4		Sapotaceae	<i>Pradosia montana</i>	

#### 3.3.2 Colocación de trampas.

Una vez seleccionadas las especies se colocan trampas para proceder a la captura de microbios eficientes desde la rizósfera de éstas especies. Previamente se cocinó 1 Kg de arroz (sin sal), el cual se mezcló con 1 lt de melaza; luego se distribuyó el arroz en varias tarrinas plásticas, que fueron cubiertas con un pedazo de nylon bien asegurado.

Con las trampas terminadas, se procedió a enterrarlas en número de tres, bajo la copa de los árboles seleccionados. Se procuró que la trampa quede bien cubierta por la misma tierra, y que cuente con la humedad necesaria.

#### 3.3.3 Recolección de trampas en campo.

Después de cuatro semanas se desenterró las tarrinas, observándose que el arroz estaba cubierto de diversas colonias de microorganismos de diferentes colores, siendo así se la tapó, y se las condujo al laboratorio para su respectivo análisis.

### 3.4. Fase de Laboratorio.

Es importante indicar que en este ensayo se realizó el aislamiento de bacterias principalmente; a

su vez ciertas características generales de hongos no saprofitos encontrados en el ensayo.

- Asepsia y esterilización

Antes de preparar cualquier medio o solución en laboratorio, se procedió a realizar una esterilización de todos los materiales y reactivos en el autoclave por 30 minutos.

- Preenriquecimiento.

Esto se realizó en medios líquidos (agua peptona, caldo nutritivo, caldo lactosado, etc.) que son medios no inhibidores del resto de la flora acompañante.

- Preparación de medios.

Se prepararon 2 soluciones, la primera realizada con 12,65 gr de AGAR NUTRITIVO diluidos en 500 ml de agua destilada, y para el segundo medio se usó 23,5 gr de SABOURAUD en 500 ml de agua destilada.

Ambas fueron homogenizadas en un plato calentador, durante 25 minutos aproximadamente a una temperatura de 40 °C.

- Preparación de diluciones.

Se preparan varios tubos de ensayo con 9 ml de agua peptona rotulados con  $1^{-1}$ ,  $1^{-2}$ ,  $1^{-3}$ ,  $1^{-4}$ ,  $1^{-5}$ , dependiendo del número de diluciones a preparar.

### 3.4.1 Siembra.

- Siembra de diluciones.

De la muestra a estudiar, previamente macerada o sumergida en agua destilada, se tomó 1 gr de la muestra y se la vertió en el tubo rotulado con  $1^{-1}$ , se homogenizó y de éste tubo 1 ml se vertió en el tubo rotulado con  $1^{-2}$  y así sucesivamente hasta terminar con las diluciones de cada muestra.

Luego de cada tubo se tomó un 1ml y se sembró en una caja petri diferente, luego se agregó una capa líquida de un medio de cultivo apropiado, siendo los medios utilizados AGAR NUTRITIVO (AN) y SABOURAUD (SAB), se debe homogenizar antes de que se solidifique el medio de cultivo respectivo; finalmente se procedió a rotular utilizando las abreviaturas de cada medio de acuerdo a la dilución respectiva como se muestra en la figura 2.4 (esto es AN o SAB  $M1^{-1}$ ,  $M1^{-2}$ ,  $M1^{-3}$ ,  $M1^{-4}$ ,  $M1^{-5}$ ) y la fecha respectiva (día y año).

### 3.4.2 Purificación.

Se procedió a extraer las colonias de microorganismos encontradas en los medios de cultivos, pero en forma separada; colocando cada microorganismo encontrado en una caja petri.

### 3.4.3 Técnica de siembra de dilución por estrías.

Se utilizó un asa bacteriológica, la cual se puso en contacto con la muestra que contenga bacterias; con este se van haciendo estrías sobre una placa de Agar nutritivo de tal manera que el material se vaya “diluyendo” sobre la superficie, hasta que las bacterias luego de cierto tiempo se vayan multiplicando muchas veces; luego de esto se forma sobre la superficie del medio un pequeño promontorio constituido por células bacterianas llamado Colonia, la cual aislada está constituida de un solo tipo de bacterias. En el apéndice C se muestra las técnicas de aislamiento usadas en esta investigación.

Las características usadas para describir colonias de bacterias, se basaron en la metodología de Murray, P (2006) y Olivas, E (2001).

Las principales variables son:

- Forma: Puntiforme, circular, irregular, alargada, fusiforme, filamentosa, rizoide.
- Superficie: Lisa, rugosa, en anillos concéntricos.
- Elevación: plano, elevada, convexa, umbonada, umbilicada.
- Margen: entero, ondulado, lobulado, estrellado, filamentos.
- Color: Según sea observado por la luz reflejada o por la luz transmitida, puede ser de color blanco, amarillo, rojo ladrillo, anaranjado.

### 3.5 Tinción de Gram.

De acuerdo a esta técnica el protocolo que se siguió para llevar a cabo la Tinción de Gram fue el siguiente:

Se hizo un frotis en la placa porta objetos de cada muestra de colonias de bacterias obtenidas.

Se cubrió con cristal violeta durante 1 minuto, lo cual en este paso, todas las células quedan teñidas por el colorante.

Se decantó el anterior colorante volcando el portaobjeto y se adicionó solución lugol durante 1 minuto. Para reforzar la interacción entre el colorante y la pared celular.

Se decantó la solución de lugol, y posteriormente se lavó con alcohol por goteo continuado durante 20 segundos, luego se añadió agua para evitar el arrastre completo de todo el colorante. En esta fase se produjo la decoloración diferencial de las bacterias Gram negativas. Posteriormente se trató con safranina durante 1 minuto como colorante de contraste; se lavó con agua abundante, se secó al aire

y se observó con el lente de inmersión (100x). En esta fase las Gram negativas adquirirán color rojo de la safranina mientras que las Gram positivas continuarán con el color azul propio del primer colorante. Esta prueba se basa en la Teoría de (Parks, L 1997)

### 3.6 Pruebas Bioquímicas.

Para la identificación de bacterias se emplearon pruebas bioquímicas que reflejaron las actividades metabólicas en relación con los distintos tipos de nutrientes.

Las pruebas utilizadas fueron las siguientes:

- Pruebas de metabolismo de carbohidratos (Prueba de óxido-fermentación O/F )
- Pruebas enzimáticas con la relación del oxígeno (Catalasa)

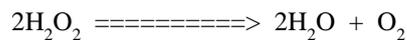
Estas pruebas se basan en la metodología Merck, (2008) Y Madigan, (2004).

#### Prueba de la Catalasa

Se trata de un ensayo muy simple que intenta determinar si la bacteria tiene capacidad para degradar el peróxido de hidrógeno, uno de los agentes oxidantes producidos como consecuencia de determinadas reacciones metabólicas oxidativas propias del metabolismo aerobio.

La enzima encargada de degradar este producto es denominada catalasa y aparece en casi todos los microorganismos aerobios obligados o facultativos.

Se añadió una gota de agua oxigenada sobre una colonia del cultivo y se observó si de esta se empiezan a desprender burbujas de oxígeno como consecuencia de la actividad enzimática de la catalasa:



Con el asa de siembra se recogió el centro de una colonia pura de 18-24 horas.

Se agregó con un gotero o pipeta Pasteur una gota de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30% sobre el microorganismo sin mezclarlo con el cultivo.

Finalmente se observó la formación inmediata de burbujas (resultado positivo).

#### ✓ Prueba óxido fermentativa

Los reactivos utilizados en esta prueba se indican a continuación en la Tabla 4:

**Tabla 4**  
**Reactivos y cantidades necesarias en prueba óxido fermentativa. basado en Merck (2008).**

CANTIDAD	REACTIVO
0.6 gr	Peptona
1.5 gr	Cloruro de sodio
0.09 gr	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>
0.9gr	Agar
0.45 ml	Solución Azul Bromotimol al 1%
1.5 gr	Glucosa
150 ml	Agua Esterilizada

El medio se esterilizó en la forma más conveniente, excepto la glucosa, la cual se lo hizo por separado en autoclave por 5 minutos. Luego se añadió 5 ml del medio y se dejó solidificar en tubos de ensayo en forma vertical.

La siembra se hizo con un asa de platino; y para cada grupo microorganismos se emplearon dos tubos de hemólisis que contienen el medio de Hugh – Leifson. Una vez sembrados, unos de los tubos es sellado con parafina estéril, de esta manera quedó aislado del aire. La incubación se realizó con 27°C durante 24 – 48 horas.

Si el tubo abierto da positivo (vira al amarillo por consumo de la glucosa y acidificación del medio) y el tubo sellado da negativo (sin viraje, cercano al verde, puede ser oscuro) entonces se trata de un metabolismo oxidativo típico de aerobios estrictos como Pseudomonas.

Si ambos tubos dan positivos, corresponde a un metabolismo fermentativo típico de un organismo aerobio facultativo (no sería Pseudomonas).

## 4 Análisis y Resultados.

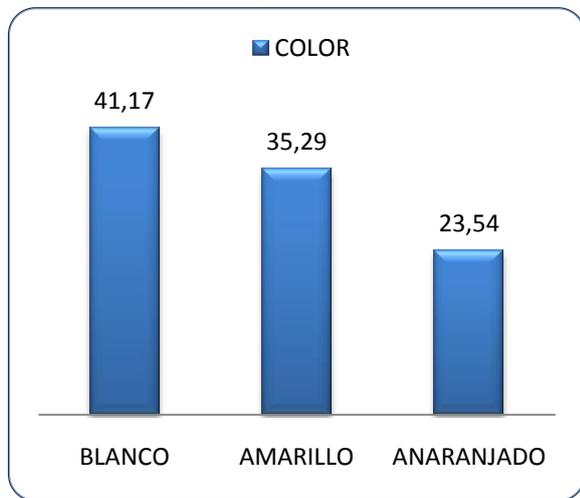
Los análisis de laboratorio en las colonias de microorganismos obtenidas, a partir de los aislamientos de las dos comunidades vegetales estudiadas (BhPm y BdTb), se los agrupó de acuerdo a los grupos taxonómicos evidenciados a partir del muestreo y selección de especies en ambos ecosistemas.

### 4.1 Caracterizaciones morfológicas de las colonias obtenidas.

#### 4.1.1 Color.

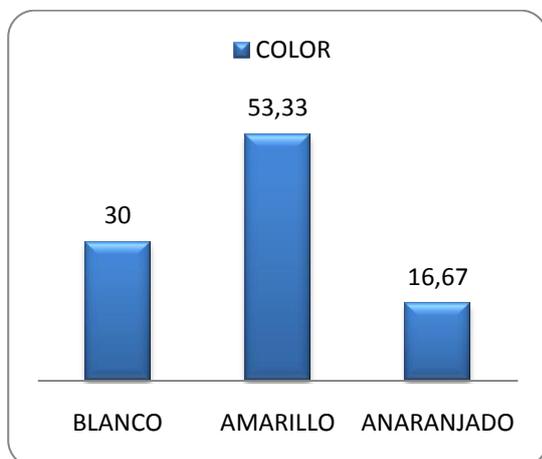
Tanto en los dos bosques, existió un patrón de colores en las bacterias analizadas en el laboratorio.

En la figura 1 se presentan los resultados del estudio realizado en el Bosque Húmedo Pie Montano, donde el color Blanco posee un porcentaje de 41,17 %, seguido por el color amarillo con un porcentaje de 35,29% y el anaranjado con 23,54 %.



**Figura 1. Porcentaje de colores de bacterias encontradas en BhPm**

En la figura 2 se presentan los resultados del estudio realizado en el Bosque Deciduo de Tierras Bajas, en el cual se obtuvo que el color amarillo tiene 53,33 %; seguido por el color blanco con un 30 %, y un 16,67 % del color anaranjado.

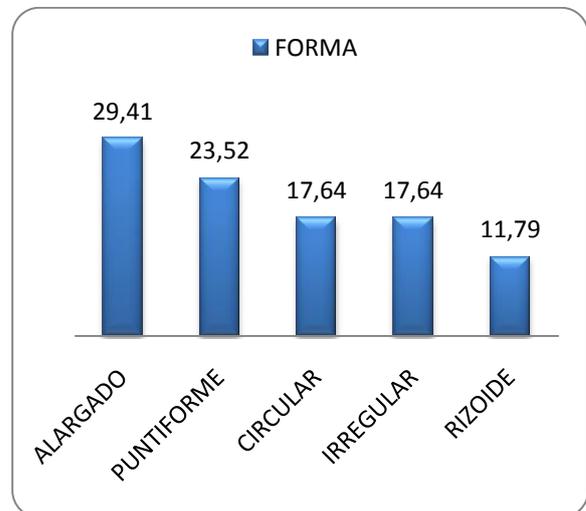


**Figura 2 Porcentaje de colores de bacterias encontradas en BdTb**

#### 4.1.2 Forma.

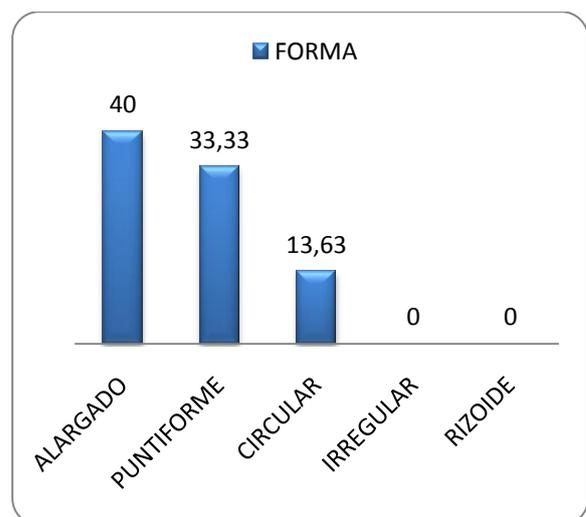
Al observar al microscopio se visualizó un predominio de cocos, ya sea en forma de racimos de uvas (estafilococos); en forma de cadenas (streptococos); en pares (diplococos) y aisladas (monococos).

En la figura 3 se presentan los resultados del estudio realizado en el Bosque Húmedo Pie Montano con porcentajes de 29,41 % de forma Alargada, seguido con 23,52 % de Puntiformes, luego con porcentajes iguales para Circular e Irregular con 17,64 %, finalizando con 11,7 % de forma Rizoide.



**Figura 3 Porcentaje de forma de bacterias en BhPm**

En la figura 4 se presentan los resultados del estudio realizado en el Bosque Deciduo de Tierras Bajas, donde se estableció porcentajes de 40% de la forma Alargado; seguidos con 33,33% de forma Puntiforme; finalizando con 13,33% para formas Circular y un 0% para las formas Irregular y Rizoides.



**Figura 4 Porcentaje de forma de bacterias en BdTb**

### 4.1.3 Relieve.

En la figura 5 se presentan los resultados del estudio realizado en el Bosque Húmedo Pie-Montano donde las bacterias encontradas presentaron una dominancia de relieve Convexo con 64,70 %; seguidos por 29,71 % de relieve Elevado y 5,89% de relieve Plano (Fig. 3.5);

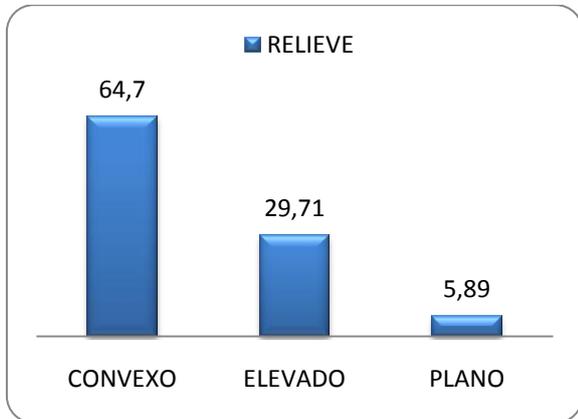


Figura 5 Porcentaje de relieve de bacterias en BhPm

En la figura 6 se presentan los resultados del estudio realizado en el Bosque Deciduo de Tierras Bajas donde se encontró los siguientes porcentajes del relieve de colonias de bacterias, las cuales se distribuyeron de la siguiente manera: El 73,33 % de relieve Convexo y 26,67 % de relieve Elevado.

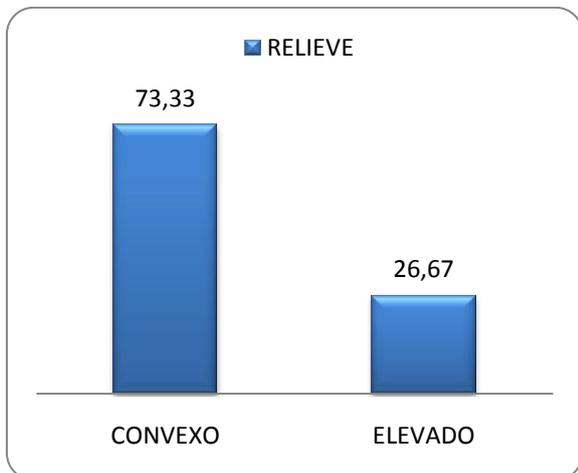


Figura 6 Porcentaje de relieve de bacterias en BdTb

### 4.1.4 Borde.

El borde Entero se encontró a nivel de las colonias de bacterias aisladas, en ambos bosques con un 100 % en el Bosque Deciduo de Tierras Bajas.

En la figura 7 se presentan los resultados del estudio realizado en el Bosque Húmedo Pie Montano donde se encuentra una gran variedad de bordes como 82,35 % del borde entero; seguido por un 5,8% de los bordes: Filamentoso, Ondulado y Estrellado, respectivamente para este ecosistema.

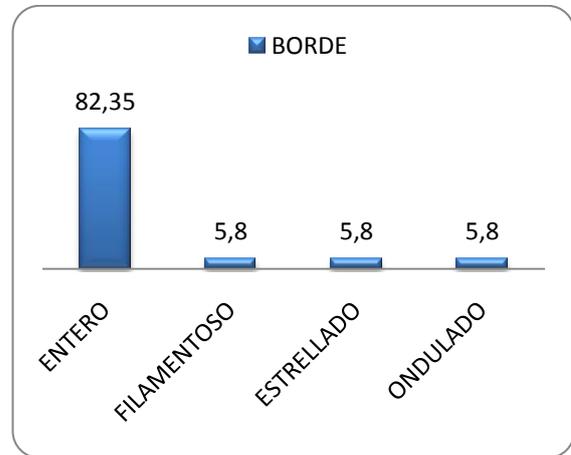


Figura 7 Porcentaje de borde de bacterias en BhPm

### 4.2 Tinción de Gram.

#### Aislamientos en el bosque húmedo pie-montano.

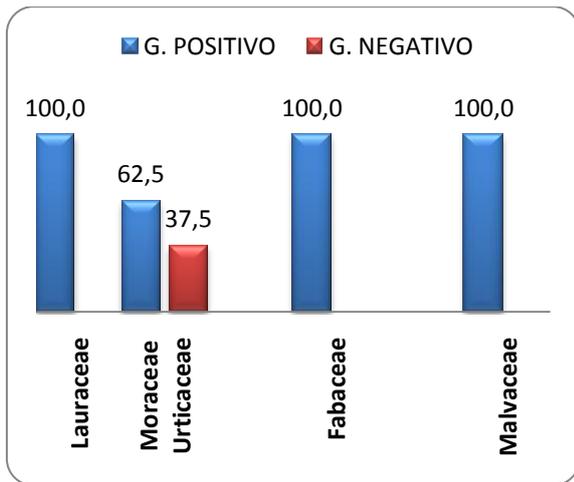
A nivel de la familia Fabaceae se extrajeron 6 colonias de bacterias las cuales reportaron que eran 100% Gram positivas entre ellas se aislaron tres colonias de estreptococos y tres colonias de mono cocos.

En el orden Urticales (Urticaceae + Moraceae) presentó 6 colonias de bacterias, de las cuales el 62,5% fueron Gram positivas y el 37,5% Gram negativas, también se aislaron por medio del microscopio 2 colonias de estreptococos, 1 de mono cocos y dos de bacilos.

A nivel del clado Magnoliide (Lauraceae) se obtuvieron dos colonias de bacterias las cuales fueron 100% Gram positivas, de las cuales se diferenció una colonia de streptococos y una de mono cocos.

La familia Malvaceae presentó tres colonias de bacterias, las cuales reportaron ser 100% Gram positivas, donde se pudo observar dos colonias de estreptococos y una de monococos.

Esto podemos observar en la Figura 8.



**Figura 8 Tinción de gram BhPm**

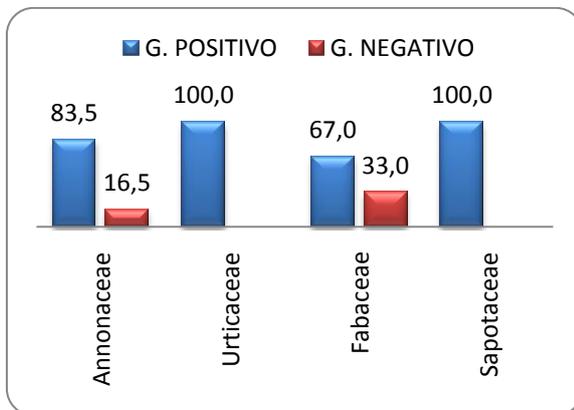
Aislamientos en el bosque deciduo de tierras bajas.

A nivel de este bosque en la familia Fabaceae se extrajeron 5 colonias bacterianas de las cuales se encontraron que el 67% de estas fueron Gram positivas y el 33% Gram negativas, aislándose 2 colonias de estreptococos y 3 colonias de monococos.

En el Grupo Urticales (Urticaceae), se reportó tres colonias bacterianas, en donde el 100% de éstas fueron Gram positivas; observándose 2 colonias de mono cocos y una de estreptococo.

La familia Sapotaceae reportó dos colonias bacterianas, las cuales fueron 100% Gram positivo; se identificó una colonia de bacilos y una de colonia de monococos.

El clado Magnoliide (Annonaceae) produjo cinco colonias de bacterias, de las cuales se reportó que el 83,5% era Gram positivos y el 16,5% Gram Negativos, y obtuviéndose aislamientos de 4 colonias de monococos y una de bacilos, esto se puede apreciar en la figura 9.



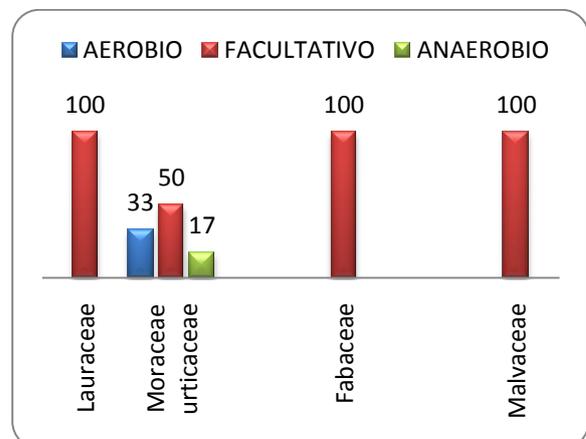
**Figura 9 Tinción de gram BdTb**

### 4.3 Análisis Pruebas Bioquímicas obtenidas.

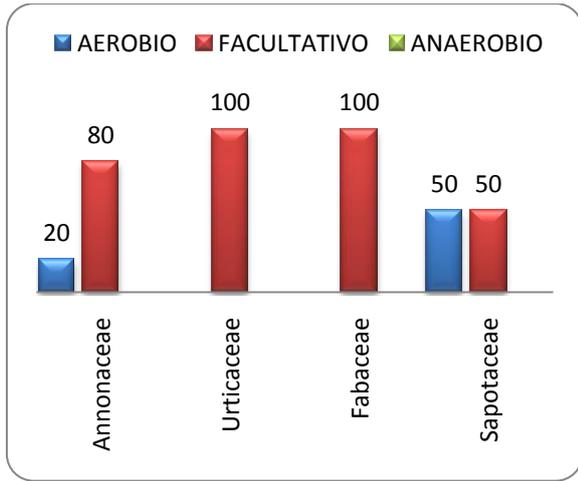
#### 4.3.1 Prueba Óxido/Fermentación.

En esta investigación, en cuanto a Pruebas de óxido fermentación se obtuvieron aislamientos de bacterias con las siguientes características:

- Forma Puntiforme, con relieve Convexo y borde Entero en la prueba el aislamiento demostró que tiene Metabolismo Fermentativo (anaerobio).
- Forma Alargada con relieve Convexo y borde Entero en la prueba el aislamiento reflejó que tiene Metabolismo Oxidativo (aeróbico).
- Forma Circular, con relieve Elevado y borde Entero en la prueba el aislamiento demostró que tiene una respiración Facultativa.
- Forma Irregular con relieve Elevado y borde Estrellado en la prueba comprobó que el aislamiento tiene Metabolismo Oxidativo (aeróbico).
- Forma Irregular con relieve Elevado y borde Entero en la prueba reveló que el aislamiento tiene Metabolismo Oxidativo (aeróbico).
- Forma Irregular, con relieve Plano y borde Ondulado en la prueba demostró que el aislamiento tiene Metabolismo Fermentativo (anaerobio).
- Forma Rizoide, con relieve Elevado y borde Filamentoso en la prueba demostró que el aislamiento tiene una respiración Facultativa.
- Forma Circular, con relieve Convexo y borde Entero en la prueba demostró que el aislamiento tiene una respiración Facultativa. Véase en la Figura 10 y la Figura 11 los gráficos según las dos comunidades vegetales.



**Figura 10 Prueba de hugh-leifson en aislamiento BhPm**



**Figura 11 Prueba de hugh-leifson en aislamiento BdTb**

**Tabla 5 Descripción de bacterias según la prueba de hugh-leifson**

Bacteria	Forma	Elevación	Margen	Prueba Hugh-Leifson		
				Aerobio	Facultativa	Anaerobia
A	Puntiforme	Convexo	Entero		X	
B	Alargado	Convexo	Entero		X	
C	Circular	Elevado	Entero		X	
D	Irregular	Elevado	Estrellada	X		
E	Irregular	Elevado	Entero	X		
F	Irregular	Plano	Ondulado			X
G	Rizoide	Elevada	Filamentoso		X	
H	Circular	Convexo	Entero		X	

#### 4.3.2 Prueba Enzimática en relación al oxígeno: Catalasa.

En los cultivos bacterianos que se observaron en el laboratorio las muestras que corresponde del bosque Protector Prosperina, se encontraron 5 colonias de bacterias pertenecientes a la familia

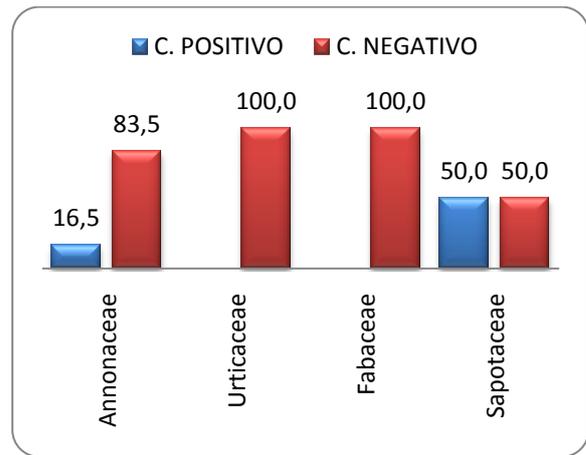
Fabaceae que dio como resultado 100% positivos en esta prueba.

El clado Magnoliide presentó 5 colonias de bacterias, las cuales reportaron negativa en la prueba de catalasa.

En el grupo Urticales (Urticaceae) de las 3 colonias de bacterias encontradas todas resultaron ser positivo en la prueba de catalasa.

En la familia Sapotaceae las dos colonias de bacterias encontradas resultaron ser positivas en la prueba de Catalasa.

Todos los datos obtenidos se pueden apreciar en la Figura 12.



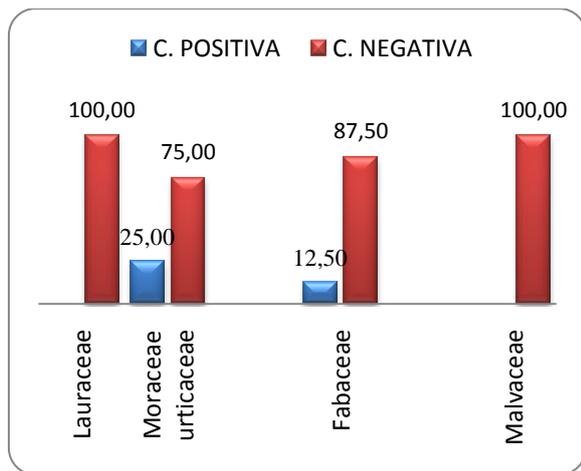
**Figura 12 Porcentaje de la prueba de catalasa BdTb**

En las muestras correspondientes al Bosque Húmedo Pie-Montano, se encontraron seis colonias de bacterias pertenecientes a la Familia Fabaceae, en las cuales se obtuvo 12,5% Catalasa Positiva y 87,5% Catalasa negativa.

En el clado Magnoliide se encontró dos colonias bacterianas, las cuales reportaron ser 100% negativa en la prueba Catalasa.

En la familia Malvaceae se encontró tres colonias bacterianas las cuales reportaron ser 100% Catalasa negativa.

En el orden Urticales (Urticaceae + Moraceae) de las 6 bacterias encontradas encontramos dos bacterias representativas; siendo el 25% Catalasa positiva y el 75% Catalasa negativa. (Figura.13)



**Figura 13** Porcentaje de catalasa en BhPm

## 5. Conclusiones y Recomendaciones.

La morfología de colonias de bacterias a nivel del bosque húmedo Pie-montano presenta mayor diversidad de características morfológicas, respecto de los aislamientos obtenidos en el bosque deciduo de tierras bajas, lo cual puede deberse a la diferencia en factores ambientales, como clima, temperatura y precipitación.

En ambas comunidades se obtuvieron poblaciones de bacterias Gram positivas, indiferente a la familia o grupo taxonómico en donde se realizó el aislamiento.

A nivel sobre la familia Fabaceae y el clado Magnoliide se comportaron en forma semejante en ambos ecosistemas en estudio, pues se presentó predominio de bacterias Gram positivas principalmente los aislamientos correspondientes al bosque húmedo Piemontano y poca presencia de Gram negativas en el bosque deciduo de tierras bajas.

La prueba de Catalasa, produjo resultados interesantes respecto de los aislamientos en cada comunidad vegetal. Siendo así, las colonias obtenidas desde el bosque deciduo de tierras bajas dieron reacción positiva al 100% en Fabaceae y para el orden Urticales; mientras que el clado Magnoliide representado por la familia Annonaceae produjo un ínfimo porcentaje de colonias con reacción catalasa positiva.

El metabolismo respiratorio de los aislamientos de bacterias realizadas permitieron establecer q los cultivos obtenidos a partir de esta familia presentaron preponderadamente respiración facultativas en ambos ecosistemas.

Los aislamientos encontrados a nivel del clado Magnoliide respecto en el BhPm presentaron mayoritariamente en su totalidad respiración facultativa, en cambio los aislamientos de este grupo en el BdTb presentaron sólo un pequeño porcentaje de colonias que poseen respiración aeróbica.

El orden Urticales a través de sus aislamientos obtuvo un metabolismo de tipo fermentativo,

oxidativo y facultativo solo a nivel de Bosque húmedo Pie montano; siendo todo lo contrario en el Bosque deciduo de tierras bajas; que en los resultados demostraron en su totalidad colonias facultativas.

## Recomendaciones

Obtener muestras de suelos, como respaldo para la obtención de microorganismos, en forma paralela a la colocación de trampas para su captura.

Evaluar otros grupos taxonómicos de plantas con flores respecto de su relación con Microflora benéfica de suelos, y desde diferentes comunidades vegetales.

Se deben realizar pruebas de campo posterior al aislamiento de microbios. Estas cepas deberán fijarse en melaza, y aplicarse a los sistemas radiculares de cultivos, para autenticar su rol benéfico en la agricultura.

Realizar la mayor cantidad de pruebas bioquímicas para los organismos unicelulares, incluyendo la realización de pruebas de bioactividad a nivel de familia Fabaceae.

## Referencias

1. **AMORES H., L.** "Determinación de la cobertura Vegetal de un bosque húmedo pre-montano en la parroquia Guasaganda, Prov. de Cotopaxi". (Tesis Ing. Agrop.) ESPOL, FIMCP. Guayaquil, Ecuador. 2010. (En Prensa).
2. **BERG, C. C.** Cecropiaceae. Pp: 92-93. In: Flowering plants in the Neotropics, N. Smith, et al. Princeton, New Jersey, USA. 2004
3. **BODERO, A.** Informe de flora y fauna: Arbórea-herbáceas-Lianas. Bosque Protector Prosperina. URL: [HTTP://:www.bosqueprotector.espol.edu.ec](http://www.bosqueprotector.espol.edu.ec) 1995. (visitado el día Septiembre 17/09/2009).
4. **BURTIN, D., N. ROAS & L. MARK.** BIOLOGÍA MOLECULAR, una herramienta para la bioprospección del metabolismo secundario de plantas en Colombia; REVISTA COLOMBIANA DE BIOTECNOLOGÍA VOL. VI No. 2 Diciembre 2004 67-77
5. **FERRERA-CERATO, R & J. PÉREZ-MORENO**(eds.). Agromicrobiología *elemento útil en la agricultura sustentable*. Colegio de Posgraduadas en Ciencias Agrícolas, Montecillo, Estado de México. 1995.
6. **FREIRE, A.** Botánica sistemática Ecuatoriana. Miss. Bot. Gard./ Fundacyt / RLB/ Funbotánica QCNE. Quito 2004(eds.).
7. **GENTRY, A.** "A Field Guide to the families and genera of woody plants of Northwest of South American (Colombia, Ecuador, Perú) with

- supplementary notes on herbaceous taxa". Conservation International. Washington DC, USA. 895 pp. 1993.
8. **MADIGAN, M, J. MARTINKIO, J. PARKER, BROCK.** Biología de los Microorganismos. Pearson / Prentice Hall, Decima Edición, Madrid, 2004.
  9. **MERCK** Microbiology Manual, Merck KGA. Doceava Edición; Alemania, 2008.
  10. **MURRAY, P, K. ROSENTHAL, M. PFAUER.** Microbiología Medica; ELSEVIER Imprentas; Madrid – España, 2006.
  11. **OLIVAS, E.** Manual de prácticas. Microbiología I, II y Parasitología: Programas de Medicina. Universidad Autónoma de Ciudad Juárez; Primera edición. Chihuahua – México. 2001.
  12. **PARKS, L.** Handbook of Microbiological Medium; CRC Press Inc, E.E.U.U.; 1997.
  13. **SIERRA, R.** Propuesta preliminar de un sistema de clasificación de vegetación para el Ecuador continental. Proyecto INEFAN/GEF-BIRF y Eco Ciencia, 1999
  14. **WHITTAKER, R. H** Communities and ecosystems Ed. McMillan, 2da. Edición, 385p. Ny. USA. 1975

---

Ing. Felipe Mendoza G.  
Director de Tesina  
Febrero 5 del 2010