



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE INGENIERÍA EN MEDIO AMBIENTE

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN LA ESTRUCTURA DEL SUSTRATO VEGETAL DEL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (BsPn01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 – 2020”

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de Ingeniera en Medio Ambiente.

Autor:

Maldonado Campaña Yajaira Elizabeth.

Tutor:

Lic. Mg. Lema Pillalaza Jaime René.

Latacunga – Ecuador

Septiembre – 2020

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo, **Maldonado Campaña Yajaira Elizabeth** declaro ser autor del presente proyecto de investigación: **“ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN LA ESTRUCTURA DEL SUSTRATO VEGETAL DEL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (BsPn01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 – 2020”** Siendo el Lic. Mg. Lema Pillalaza Jaime René tutor del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

.....
Maldonado Campaña Yajaira Elizabeth.

CC:050376075-3

.....
Lic. Mg. Lema Pillalaza Jaime René.

CC: 171375993-2

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **Maldonado Campaña Yajaira Elizabeth**, identificada/o con C.C. N° **050376075-3** de estado civil soltera y con domicilio en el Cantón Sigchos, Provincia de Cotopaxi, a quien en lo sucesivo se denominará **LA/EL CEDENTE**; y, de otra parte, el Ing. MBA. Cristian Fabricio Tinajero Jiménez, en calidad de Rector y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez Barrio El Ejido Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA.- LA/EL CEDENTE es una persona natural estudiante de la carrera de Ingeniería en Medio Ambiente, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado de **“ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN LA ESTRUCTURA DEL SUSTRATO VEGETAL DEL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (BsPn01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 – 2020”** la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad según las características que a continuación se detallan:

Historial académico:

Fecha de inicio de la carrera: Septiembre 2015-Febrero 2016

Fecha de Finalización: Mayo 2020- Septiembre 2020

Aprobación en Consejo Directivo: 07 de julio del 2020

Tutor: Lic. Mg. Lema Pillalaza Jaime René.

Tema: **“ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN LA ESTRUCTURA DEL SUSTRATO VEGETAL DEL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (BsPn01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 – 2020”**

CLÁUSULA SEGUNDA. - LA CESIONARIA es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA/EL CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - OBJETO DEL CONTRATO: Por el presente contrato **LA/EL CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.
- f) Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA/EL CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA/EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - LA CESIONARIA podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA/EL CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 17 días del mes de febrero del 2020.

.....
Maldonado Campaña Yajaira Elizabeth

EL CEDENTE

.....
Ing. MBA. Cristian Tinajero Jiménez

EL CESIONARIO

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutor del Trabajo de Investigación sobre el título: **“ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN LA ESTRUCTURA DEL SUSTRATO VEGETAL DEL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (BsPn01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 – 2020”** de Maldonado Campaña Yajaira Elizabeth, de la carrera de **INGENIERÍA EN MEDIO AMBIENTE**, considero que dicho Informe Investigativo cumple con los requerimientos metodológicos y aportes científico-técnicos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Validación de Proyecto que el Honorable Consejo Académico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Universidad Técnica de Cotopaxi designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Latacunga, 17 de septiembre del 2020

.....
Lic. Mg. Lema Pillalaza Jaime René.

CC: 171375993-2

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tribunal de Lectores, aprueban el presente Informe de Titulación de acuerdo con las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi, y por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales de la Carrera de Ingeniería de Medio Ambiente; por cuanto, la postulante: **MALDONADO CAMPAÑA YAJAIRA ELIZABETH**, identificado con C.C N° **050376075-3** con el Proyecto de Investigación, cuyo título es: **“ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN LA ESTRUCTURA DEL SUSTRATO VEGETAL DEL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (BsPn01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 – 2020”** han considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al **Acto de Sustentación** en la fecha y hora señalada.

Por lo antes expuesto, se autoriza realizar los empastados correspondientes, según la normativa institucional.

Latacunga, 17 septiembre 2020

Para constancia firman:

Ing. José Luis Agreda Oña Mg
LECTOR 1 (PRESIDENTE)
CC: 0401332101

Ing. José Antonio Andrade Valencia Mg
LECTOR 2
CC: 0502524481

Ing. Vladimir Marconi Ortiz Bustamante MSc
LECTOR 3
CC: 0502188451

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios ya que gracias a él he logrado concluir con mi carrera a mis padres y hermanas quienes me incentivaron para el cumplimiento de esta tarea desde un principio inculcándome valores y deseos de superación a mi familia y amigas/os que gracias a ellos y su apoyo incondicional logre culminar esta meta. También quiero expresar mi más sincero agradecimiento a la Universidad Técnica de Cotopaxi, a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, a la carrera de Ingeniería en Medio Ambiente y a sus docentes por impartir sus conocimientos y experiencias laborales e inculcar valores, sabiduría para mi formación como profesional. Especialmente a mi tutor y lectores por inculcarme en el camino de la ciencia e investigación.

Maldonado Campaña Yajaira Elizabeth

DEDICATORIA

Este presente trabajo de investigación está dedicado principalmente a Dios quien me dio el valor y la fuerza necesaria para seguir adelante y por haberme permitido llegar a este momento tan importante de mi formación profesional. A mis queridos padres Carlos Maldonado y Betsabe Campaña, por ser la base y el pilar fundamental en mi diario vivir, quienes me han otorgado la vida, educación y consejos además me han demostrado a luchar ante las adversidades a mis hermanas Cris, Paty, Carito y Deysita por su apoyo y amor incondicional a mis amigas/os Kathy, Jessy, Karito, Bryan y Jesse por tantos momentos inolvidables compartidos y a toda mi familia por el incentivo en cuanto a la lucha y por esas hermosas palabras de aliento en este proceso. A todas las personas quienes contribuyeron en mi formación, mil gracias por apoyarme muy constantemente por la cual he conseguido seguir adelante y concluir con éxito mis estudios.

Maldonado Campaña Yajaira Elizabeth

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TITULO: ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN LA ESTRUCTURA DEL SUSTRATO VEGETAL DEL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (BsPn01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 – 2020

Autor: Maldonado Campaña Yajaira Elizabeth

RESUMEN

La presente investigación se llevó a cabo en base al análisis de la información bibliográfica de artículos realizados en diferentes sectores que contienen las características similares al área de estudio. El objetivo fue elaborar un protocolo y metodología para la recolección de especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal, el estudio se desarrolló en la Cordillera Occidental de los Andes en el bosque Siempre Verde Pie Montano que se encuentra ubicado en el Recinto Los Laureles entre el cantón Pangua y la Maná. Se realizó una metodología inductiva y deductiva que va de lo particular a lo general de tipo descriptivo. En el proceso metodológico se encontró el referente teórico de los autores Pfenning y Magalhães, 2012 que afirman que, “La metodología para aislar y controlar hongos de ecosistemas complejos como el suelo exponen limitaciones inherentes debido a las naturalezas de las variedades y la inhabilidad de los medios de cultivos para copiar con precisión los hábitats del suelo”. La zona de estudio se identificó por medio del software SIG. Se diseñó un protocolo de recolección de especies de hongos del suelo como los saprófitos y patógenos de plantas en la estructura del sustrato vegetal para el cultivo de hongos en campo y laboratorio. En conclusión, con la selección de técnicas y metodología adecuada, teniendo presente la geomorfología, las condiciones edáficas, meteorológicas, geológicas e hidrogeológicas de la zona, se pudo aislar y caracterizar a los hongos pertenecientes al grupo de microorganismos que afectan el sustrato vegetal.

Palabras clave: protocolo, metodología, recolección, hongos, sustrato vegetal

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

TITLE: PREPARATION OF A PROTOCOL AND METHODOLOGY FOR COLLECTION OF FUNGI SPECIES IN THE STRUCTURE OF THE VEGETABLE SUBSTRATE OF THE ALWAYS VERDE MONTANO FOREST (BsPn01) WESTERN CORDILLERA OF THE ANDES RANGE IN THE LAURELES ENVIRONMENT IN THE PERÍ LAURELES BETWEEN CANTÓN PANGUA 2019 – 2020.

Author: Maldonado Campaña Yajaira Elizabeth

ABSTRACT

This research is carried out based on the analysis of bibliographic information of articles made in different sectors that contain characteristics similar to the study area. The objective was to develop a protocol and methodology for the collection of fungal species in the structure of the plant substrate, the study was carried out in the Western Cordillera of the Andes in the Evergreen Pie Montano forest that is located in the Los Laureles enclosure between the Pangua canton and La Maná. An inductive and deductive methodology was carried out that goes from the particular to the general of a descriptive type. In the methodological process, the theoretical reference of the authors Pfenning and Magalhães, 2012 was found who affirm that, “The methodology to isolate and control fungi from complex ecosystems such as the soil shows inherent limitations due to the natures of the species and the inability of the culture media to accurately copy soil habitats”. The study area was identified using the GIS software. A protocol for collecting soil fungi species such as saprophytes and plant pathogens was designed in the structure of the plant substrate for the cultivation of fungi in the field and in the laboratory. In conclusion, with the selection of techniques and adequate methodology, bearing in mind the geomorphology, edaphic, meteorological, geological and hydrogeological conditions of the area, it was possible to isolate and characterize the fungi belonging to the group of microorganisms that affect the plant substrate.

Keywords: protocol, methodology, harvesting, fungi, plant substrate

ÍNDICE GENERAL

DECLARACIÓN DE AUTORÍA	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	iii
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vi
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN.....	vii
AGRADECIMIENTO	viii
DEDICATORIA	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
INFORMACIÓN GENERAL	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	4
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO	5
3.1. Beneficiarios Directos.....	5
3.2. Beneficiarios Indirectos	5
4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	6
5. OBJETIVOS.....	7
5.1. General.....	7
5.2. Específicos	7
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.....	8
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	9
7.1. Bosque siempreverde Piemontano de cordillera occidental de los Andes.....	9
7.2. Bacterias y hongos microscópicos	10
7.3. Los hongos	11
7.4. Marchitamientos vasculares Ascomicetos y hongos imperfectos.....	11
7.5. Hongos que producen marchitamientos vasculares	12
7.6. Sustrato	13
7.7. Hongos existentes en la estructura del sustrato vegetal	14
7.7.1. Aspergillus sp.	14
7.7.2. Penicillium sp.	14
7.7.3. Acremonium sp.	14
7.7.4. Fusarium sp.	15

7.7.5.	Cladosporium sp.	15
7.7.6	Trichoderma sp.	15
8.	HIPÓTESIS	15
9.	METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	16
9.1.	Tipo de investigación descriptiva	16
9.2.	Investigación Bibliográfica documental	16
9.3.	Método inductivo deductivo	17
9.4.	Técnica e instrumentos de investigación	18
9.5.	Metodología para el levantamiento de información de hongos.	18
9.5.1.	Método cartográfico	18
9.5.2.	Aplicación de la metodología a través de la Tecnología SIG.....	18
9.5.2.1.	Georreferenciación del lugar	19
9.5.3.	Coordenadas del área de estudio	20
9.5.4.	Clima	20
9.5.5.	Metodología para determinar un protocolo de muestreo para la recolección de hongos presentes en el sustrato vegetal.	20
9.5.6.	Fase de campo	20
9.5.6.1.	Manejo de transectos	20
9.5.7.	Diseño de muestreo	21
9.5.8.	Método de toma de muestras de suelo.....	22
9.5.9.	Equipo para muestreo	23
9.5.10.	Tipo de muestras	23
9.5.11.	Colecta de la muestra del sustrato.....	24
9.5.12.	Homogenización de la muestra.....	24
9.5.13.	Técnica de los cuartos opuestos (para fraccionamiento).	24
9.5.14.	Envasado e Identificación de la muestra.....	25
9.5.15.	Registro de las muestras	26
9.5.16.	Transporte	26
9.5.17.	Fase de laboratorio.....	26
9.5.17.1.	Métodos de Aislamiento.....	26
9.5.17.1.1.	Determinación de pH y humedad del suelo.	26
9.5.17.1.2.	Cultivo líquido.....	27
9.5.17.1.3.	Lavado de suelo.....	27
9.5.17.1.4.	Dilución en placa.....	28

9.5.17.1.5.	Placas de suelo de Warcup	28
9.5.17.1.6.	Filtración de partículas	28
9.5.17.1.7.	Fraccionamiento de la comunidad de hongos del suelo.....	28
9.5.17.2.	Identificación de género y posible especie.....	28
9.5.17.2.1.	Cultivos monospóricos.....	28
9.5.17.3.	Observación microscópica	29
9.5.17.3.1.	Técnica de cinta pegante	29
9.5.17.3.2.	Montaje por disección	29
9.5.17.4.	Método de micro cultivo	29
9.5.17.5.	Métodos de conservación	30
9.5.17.5.1	Agua destilada estéril	30
9.5.17.5.2.	Suelo estéril.....	30
9.5.17.5.3.	Papel filtro.....	30
9.5.17.5.4.	Tubo con agar inclinado.....	31
9.5.17.5.5.	Criopreservación (Glicerol al 10%)	31
9.5.17.5.6.	Liofilización	31
9.5.17.6	Medios de cultivo	32
10.-	Análisis y discusión de resultados.....	33
10.1	. PROTOCOLO DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS DEL SUSTRATO VEGETAL	34
10.1.1	Introducción.....	34
10.1.2	Objetivo.....	35
10.1.3	Delimitación del área de estudio	35
10.1.4	Georreferenciación.	35
10.1.4.1	Establecemos la metodología de muestreo	35
10.1.4.2.	Transecto	35
10.1.4.3.	Muestreo aleatorio simple	36
10.1.5.	Fase de campo.....	36
10.1.5.1	Higiene	36
10.1.5.2.	Medidas de seguridad en el trabajo	37
10.1.5.3.	Colecta de la muestra de suelo	37
10.1.5.4.	Homogenización de la muestra	37
10.1.5.5.	Técnica del os cuartos opuestos (para fraccionamiento).....	37
10.1.5.6.	Envasado e Identificación de la muestra	38

10.1.5.7.	Procedimiento de recolección	38
10.1.5.8.	Registro de las muestras	38
10.1.5.9.	Transporte.....	38
10.1.6.	Fase de Laboratorio	39
10.1.6.1.	Normas de bioseguridad general que se deben cumplir.....	39
10.1.6.2.	Medidas generales de protección	40
10.1.6.3.	Esterilización de material de laboratorio.....	40
10.1.6.4.	Materiales necesarios para recolectar Hongos:	40
10.1.6.5.	Almacenamiento y transporte.....	41
10.1.6.6	. Procedimiento:	41
10.1.6.7	Preparación de medio de cultivo.....	42
10.1.6.8.	Inoculación del hongo	42
10.1.6.9.	Seguimiento del desarrollo de los micelios del hongo	42
10.1.6.10.	Aislamiento, siembra e incubación de las muestras.....	42
10.1.6.11	Caracterización de los microorganismos.....	43
10.1.6.12.	Identificación del hongo.....	43
Tabla 6.	Identificación de hongos.....	43
10.1.6.13	Claves de identificación	44
10.1.6.14	Registros.....	45
10.1.6.15.	Manejo y gestión de los residuos.	45
10.1.6.16.	Bibliografía.....	45
11.	IMPACTOS	45
12.	PRESUPUESTO DE LO QUE SE VA A UTILIZAR EN EL PROYECTO.....	46
13.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	48
13.1.	Conclusiones.....	48
13.2.	Recomendaciones.....	48
14.	BIBLIOGRAFÍA.....	49
15.	ANEXOS.....	58

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Beneficiarios Indirectos.....	5
Tabla 2. Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.....	8
Tabla 3. Ubicación del ensayo.....	19
Tabla 4 Coordenadas	27
Tabla5 Diferencias entre muestreo y población.....	29
Tabla 6 Identificación de hongos existentes.....	51
Tabla 7 Claves de identificación.....	52
Tabla 8 Presupuesto de lo que se utilizara en el proyecto.	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Diseño de la unidad de muestreo, parcelas y subparcelas. Recuperado de FAO (2009)	21
Figura 2: Perfil del suelo	64
Figura 3: Triangulo de texturas a partir del cual se obtienen los nombres de las clases de las texturas.	64
Figura 4: Características macroscópicas de <i>Aspergillus fumigatus</i>	65
Figura 5: Características macroscópicas de <i>Penicillium sp</i>	65
Figura 6: Características macroscópicas de <i>Acremonium falciforme</i>	65
Figura 7: Características macroscópicas de <i>Acremonium sp</i>	65
Figura 8: Características macroscópicas de <i>Fusarium sp</i>	66
Figura 9: Características macroscópicas de <i>Fusarium solani</i>	66
Figura 10: Características macroscópicas de <i>Cladosporium cladosporioides</i>	66
Figura 11: Características macroscópicas de <i>Trichoderma sp</i>	66
Figura 12: Características macroscópicas de <i>Trichoderma harzianum</i>	66

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Aval de Traducción.....	59
Anexo 2 Currículo Vitae del Tutor.....	55
Anexo 2. Currículo Vitae del Estudiante.....	61
Anexo 3. Hoja de campo	62
Anexo 4. Formato de registro de especies de hongos en laboratorio artesanal.....	63
Anexo 5. Perfil del suelo	64
Anexo 6. Textura y Estructura del Suelo.....	64
Anexo 7. Especies de hongos micorrícicos arbusculares	65

INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto: Elaboración de un protocolo y metodología de recolección de especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal del bosque siempre verde pie montano (BsPn01) de la Cordillera de los Andes en el recinto los Laureles entre el cantón Pangua y la Maná en el período 2019 – 2020.

Fecha de inicio:

Octubre 2019

Fecha de finalización:

Agosto 2020

Lugar de ejecución:

Recinto Los Laureles – Cantón La Maná – Pangua – Provincia Cotopaxi

Facultad que auspicia

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales.

Carrera que auspicia:

Ingeniería en Medio Ambiente

Proyecto de investigación vinculado:

Equipo de Trabajo:

Responsable del Proyecto: Lcdo. Mg. Jaime Lema.

Tutor: Lcdo. Mg. Jaime Lema.

Lector 1: Ing. José Luis Agreda.

Lector 2: Ing. José Andrade Mg.

Lector 3: Ing. Vladimir Ortiz.

Nombre del Investigador: Maldonado Campaña Yajaira Elizabeth.

Teléfonos: 0989523210

Correo electrónico: yajaira.maldonado@utc.edu.ec

Área de Conocimiento:

Ambiente

Líneas de investigación:

Análisis, conservación y aprovechamiento de la biodiversidad local.

Sub Línea de Investigación por Carrera

Manejo y conservación de la biodiversidad

Línea de vinculación.

Gestión de recursos naturales, biodiversidad, biotecnología y genética para el desarrollo humano y social.

1. INTRODUCCIÓN

El propósito de esta investigación es la elaboración de un protocolo y metodología de recolección de especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal del bosque Siempre Verde Pie Montano (BsPn01) de la Cordillera de Los Andes en el recinto Los Laureles entre el cantón Pangua y La Maná en el período 2019 – 2020.

Se realizó porque en los últimos años han existido importantes avances en el área ambiental y la Amazonía alberga una enorme variedad de especies de flora y fauna, es un importante espacio de endemismos; por ello, forma una reserva genética de calidad mundial. Lo que no es menos fundamental es el trabajo de los microorganismos que comúnmente son resistentes, pueden ajustarse rápidamente en circunstancias de presión natural. Por ejemplo, en caso de contaminación por hidrocarburos, los microorganismos podrían adaptarse y utilizar los hidrocarburos como fuente de vitalidad y alimento (CEPAL, 2012).

La manejabilidad en el suelo ocurre con respecto a su riqueza, y como lo confirma uno de los límites principales es el biológico; es decir, microorganismos que componen la micro vegetación, fauna a menor escala, al igual que la fauna meso y a gran escala. Los procedimientos de percepción distintivos de secciones ultrafinas de suelo, indicaron que los microorganismos edáficos se diseminan de una manera profundamente organizada y esto es significativo para la utilidad del suelo (Vera, 2016).

También tiene su implicación en la determinación, cultivo, aislamiento y caracterizar a las especies de hongos pertenecientes al grupo de microorganismos edáficos del sustrato vegetal que se recolectarán en el bosque siempre verde pie Montano de la Cordillera Occidental de los Andes en la provincia de Cotopaxi entre el cantón Pangua y La Maná en el recinto Los Laureles.

Se cree conveniente abordar el estudio de sus diferentes elementos por que los microorganismos son los componentes más significativos debido a la alteración de su parte viva y son responsables de la dinámica de transformación y desarrollo. La variedad de microorganismos que se encuentran en un poco de suelo satisface capacidades completas en la modificación de los miembros orgánicos e inorgánicos que se fusionan en él. La humificación de la materia orgánica es un proceso claramente microbiológico (Delgado, 2019).

Esta investigación su planificación y desarrollo será llevada a cabo en trece secciones: para empezar, se redactará la introducción en donde se habla de aspectos que componen el trabajo, incluso de la importancia de sus alcances, así como de la manera en que se ha creído útil abordar el estudio de sus diferentes elementos. Luego se detalla la justificación del proyecto en donde se explica en forma resumida las razones por las cuales se realiza la investigación, y sus posibles aportes desde el punto de vista teórico y/o práctico.

También se presentan los beneficiarios directos e indirectos del proyecto. A si mismo se revela el problema de investigación de manera amplia que permita al lector por su información tener una idea del porqué de la investigación. Se plantean los objetivos tanto el general como los específicos, enunciados que da una visión clara de lo que se quiere realizar en la investigación.

Después se identifica la fundamentación científico técnicas donde se establecen teorías básicas, se apoyará además en concepciones, modelos, procedimientos tecnologías, categorías y conceptos esenciales relacionados con el área de investigación. Se establecerá la hipótesis como supuesto redactado para la afirmación respecto a un objeto que debe someterse a prueba (Universidad Técnica de Cotopaxi, 2020).

Será expuesta la metodología, técnicas e instrumentos que se ha creído conveniente en el proceso de realización del trabajo investigativo. También se describe el análisis y discusión de los resultados con las variables y su operacionalización y su comprobación, así como la descripción de los resultados obtenidos (Universidad Técnica de Cotopaxi, 2020).

Inclusive conclusiones donde se relata la manera en que se ha creído conveniente abordar el estudio de sus diferentes elementos. y recomendaciones. La bibliografía que se basa a consultas de bases de datos de información, La bibliografía citada dentro del proyecto de los 10 y 5 últimos años. Para terminar, se anexará la información que crea necesaria que debe estar vinculada al proyecto de investigación (Universidad Técnica de Cotopaxi, 2020).

Con la finalidad de realizar un trabajo claro que pueda orientar a futuros investigadores en la elaboración de estudios relacionados con el tema se hace una investigación de metodología descriptiva, una estrategia lógica que incluye observar y retratar la conducta de un sujeto sin afectarlo en ninguna capacidad. Además de investigación bibliográfica con datos secundarios

como fuente de información para diseñar protocolo de recolección de especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal que permita conocer la diversidad con la presencia el cultivo de hongos existentes *Ceratocystis*, *Fusarium* y *Verticillium* en el bosque Siempre Verde Pie Montano (BsPn01) de La Cordillera de Los Andes.

Por motivo del confinamiento en el país debido al problema del COVID-19 las instituciones educativas están cerradas, así como también cualquier lugar de reuniones, Por esta razón el estudio del proyecto actual es realizado con información web referente al tema que se han encontrado de fuentes creíbles y de interés como libros, repositorios universitarios, revistas científicas, Papers donde se registran investigaciones de los últimos cinco años (UNESCO, 2020).

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

La presente investigación se justifica porque las especies de hongos como microorganismos asociados con procedimientos orgánicos que permiten que funcionen los entornos, y biotecnológicos que son básicos para las empresas farmacéuticas, alimentarias y clínicas. Son principalmente responsables de la descomposición de la materia orgánica y del ciclaje de los nutrientes (carbono, nitrógeno, fósforo, azufre, entre otros).

Es importante ser prudente a la hora de recolectar las especies de hongos en el bosque o la montaña ya que existen múltiples especies que pueden provocar estados de intoxicación e incluso severo envenenamiento, para reducir significativamente la probabilidad de una intoxicación es necesario tener un protocolo y metodología de recolección de especies de hongos que alerte a los investigadores en las señales de la propia naturaleza.

Se aporato con una investigación bibliográfica de las distintas teorías relacionadas con las variables e indicadores, se aportará con un trabajo teórico que sirva como base para determinar protocolo de muestreo para las especies de hongos pertenecientes al grupo de microorganismos eficientes del sustrato vegetal que se recolectarán en el bosque Siempre Verde Pie Montano de la Cordillera Occidental de los Andes en la provincia de Cotopaxi entre el cantón Pangua y La Maná en el recinto Los Laureles.

El trabajo tendrá beneficio académico a estudiantes, docentes de la carrera de Ingeniería en Medio Ambiente y demás investigadores actuales y a futuros estudios, que busquen interactuar

con la diversidad de las especies del grupo de los microorganismos del suelo, que se encuentran en el reino natural del bosque Siempre Verde Pie Montano de la Cordillera Occidental de los Andes que son de gran utilidad para el crecimiento y desarrollo vegetal. Además, su beneficio se caracterizará por el ámbito ambiental y agrícola que aportará a los moradores de sector y la provincia.

El presente estudio tendrá un impacto positivo porque con el protocolo y metodología de recolección de especies de hongos se pretende brindar conocimiento científico actualizado a investigadores que van a observar a los hongos pertenecientes al grupo de microorganismos específicamente funcionales del sustrato vegetal de los diferentes ecosistemas. El trabajo es de relevancia social por su aporte a los retos de la actual sociedad cambiante que constantemente está relacionada con el medio natural.

Su utilidad práctica es debido a que la información que se obtenga junto al protocolo y metodología de recolección de especies de hongos, servirá para revisar o desarrollar nuevas teorías basadas en el conocimiento. Todo ello con un material genuino.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1. Beneficiarios Directos

Con el presente estudio serán beneficiados directamente la Universidad Técnica de Cotopaxi, sus estudiantes y docentes de la Carrera de Medio Ambiente.

3.2. Beneficiarios Indirectos

Los beneficiarios indirectos que serán favorecidos con el presente proyecto serán los habitantes del Recinto Los Laureles.

Tabla 1. Beneficiarios Indirectos

CANTÓN LA MANÁ	
Hombres	21420
Mujeres	20796
TOTAL:	42.216

Elaborado por: Maldonado (2020)

Fuente: (INEC, 2010)

4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.

Se puede acceder a los datos actualizados con respecto a los diversos tipos de ecosistemas, tanto continentales como marítimos en la nación, sin embargo, se conoce poco sobre su estado de conservación. En cualquier caso, a pesar de los esfuerzos de preservación realizados últimamente, en la provincia de Cotopaxi, el bosque siempre verde pie montano de la Cordillera Occidental de los Andes es una coyuntura común del problema donde la proximidad prolongada de las reuniones humanas y sus altas tasas de desarrollo de la población han provocado un marcado deterioro y retroceso de los ecosistemas nativos, siendo el factor principal en la devastación y la corrupción del entorno natural que compromete su conservación (Lagla, 2017).

Los amplios territorios de la Provincia están en algunos casos sujetos a la extensión de la frontera agrarias, la deforestación y la colonización desordenada, debido a los procedimientos discriminatorios de acceso y control de activos comunes, con información escasa sobre el compromiso de los microorganismos del suelo, lo que ha puesto en peligro los importantes ambientes que este territorio alberga tanto en su zona andina como en su parte subtropical occidental. El recuento básico de los microorganismos del suelo presenta desafíos, ya que requiere cultivos, y no todos pueden duplicarse en la instalación de investigación, en vista de que los requisitos previos para el desarrollo son imposibles, difíciles de cumplir, o no se conocen. Esto lleva a distinguir solo una sección de la cercanía de los organismos presentes (Carrillo, 2013).

En este sentido, es esencial y apremiante comprender que la persistente pérdida y degradación de los sistemas biológicos no solo sugiere la desaparición de especies de plantas, animales y microorganismos que se han desarrollado durante muchos años, sus capacidades ambientales y la información que se podría tener acumulado de ellos; sino que implica también, el perjuicio y el deterioro de las numerosas ayudas que los sistemas biológicos le dan a la prosperidad humana (Poveda & Andrade, 2018).

Según el Ministerio de Ambiente del Ecuador (2012) Acorde con esto en el Plan Nacional del Buen Vivir en su estrategia “Sostenibilidad, conservación, conocimiento del patrimonio natural y fomento del turismo comunitario” así como en el objetivo número 4: “Garantizar los derechos de la naturaleza y promover un ambiente sano y sustentable”, se plantea como base considerar el patrimonio natural en su conjunto, la conservación y

un manejo efectivo y coherente de los recursos naturales, especialmente de las áreas protegidas, valorando su altísima biodiversidad (p.3).

Este impacto en la productividad agrícola y ambiental da lugar a una inestabilidad económica, política y social, que conlleva a que se considere la degradación de suelos como una amenaza en la estructura global de la humanidad. Para poder obtener una recolección confiable de la diversidad de los hongos del suelo, existen condiciones básicas, se deben señalar el manejo de la comunidad microbiana de los ecosistemas agrícolas donde intervengan protocolos junto con una metodología precisa considerando el tiempo y la limitación de los recursos (López, 2002).

Tiene su relevancia porque la interacción con microorganismos promotores del crecimiento vegetal, dependen de la metodología para su recolección, en la que se incorpora la composición biológica del suelo, el reconocimiento de la planta de microorganismos y viceversa. Además, la climatología, las cualidades físicas y químicas del suelo, la dependencia de estos ángulos para comunicar sus posibles beneficios; no obstante, las conexiones entre los microorganismos son complicadas y puede haber impactos sinérgicos que mejoren los beneficios hacia la planta o, por otro lado, impactos antagónicos o, básicamente, que no ocurra ningún efecto.

5. OBJETIVOS

5.1. General

Elaborar un protocolo y metodología a través de investigación bibliográfica para la recolección de especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal del bosque Siempre Verde Pie Montano (BsPn01) de la Cordillera Occidental de Los Andes en el recinto los Laureles.

5.2. Específicos

- Recopilar información científica relevante sobre especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal que sustenten el estudio.
- Describir una metodología adecuada para la recolección de hongos en campo e identificación en laboratorio.
- Elaborar un protocolo de recolección de especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal de la localidad en estudio.

6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS

Tabla 2. Actividades y sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.

Objetivo	Actividad	Resultado de la actividad	Descripción de la Actividad.
<ul style="list-style-type: none"> Recopilar información científica relevante sobre especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal que sustenten el estudio. 	<p>Se recopiló información bibliográfica de Bibliotecas virtuales del objeto de estudio.</p> <p>Se realizó un mapa para identificar la zona de estudio utilizando SIG</p>	<p>Obtención de bibliografía actualizada y ubicación geoespacial del lugar de la investigación.</p> <p>Identificar en el mapa las zonas de estudio.</p>	<ul style="list-style-type: none"> (Asociación Vida Sana., 2015) (Maldonado, 2020) (Arias & Piñeros, 2008) (Gamboa, Heredia, Reyes, & De la Rosa, 2011) (Delgado, 2019) (Pfenning & Magalhães, 2012) (PUCE, 2019). (Ramírez, 2005). (Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía, 1999). (Universidad Nacional de Córdoba, 2015). <p>Se reestructuro en el mapa el punto de muestro de las zonas de estudio.</p>
<ul style="list-style-type: none"> Describir una metodología adecuada para la recolección de hongos en campo e identificación en laboratorio. 	<p>Recopilar datos de acuerdo a las fuentes de información de estudios anteriores.</p>	<p>Presentación de muestreo sobre técnicas y metodología para el levantamiento de información de hongos existentes en la estructura del sustrato vegetal.</p>	<p>Se tomaron estos datos climatológicos para determinar las épocas lluviosas o secas y se recomienda realizar muestreos en las dos épocas.</p>
<ul style="list-style-type: none"> Elaborar un protocolo de recolección de especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal de la localidad en estudio. 	<p>Se diseñó un protocolo de recolección de especies de hongos de suelos.</p>	<p>Preparación de los requerimientos para cada actividad de acuerdo a lo que se propone. Protocolo de recolección de especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal.</p>	<p>Una vez obtenido los resultados técnicos bibliográficos del estudio se procedió a la redacción de un protocolo de recolección de especies de hongos para la recuperación forestal de suelos con especies endémicas.</p>

Elaborado por: Maldonado (2020)

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1. Bosque siempreverde Piemontano de cordillera occidental de los Andes.

Esta región natural cubre 15 305 km² en las estribaciones occidentales de los Andes y tiene un rango de elevación entre 300 y 1300 m (400 y 1000 hacia el sur) y el clima es húmedo y moderadamente cálido. Las palmas y árboles de las familias Mimosaceae, Fabaceae y Burseraceae son dominantes (PUCE, 2019). En el “Sistema Nacional de Clasificación de Ecosistemas del Ecuador” el Ministerio del Ambiente (2013) afirma que “Este ecosistema comprende bosques siempreverdes multiestratificados, con un dosel entre 25 a 30 m, comparte muchas especies con los bosques de tierras bajas, y algunas especies de bosques montano bajos. Se presenta sobre laderas muy pronunciadas”. (p. 84)

En base a lo antes mencionado se puede decir que el dosel del bosque alcanza 30 m o más y los árboles están cubiertos por musgos, orquídeas, bromelias, y helechos. El endemismo de las plantas es alto, especialmente entre 0 y 3 grados de latitud sur. Se encuentra en las provincias de Esmeraldas, Carchi, Imbabura, Pichincha y Cotopaxi.

Baquero y otros (2004), indica en su libro que: este bosque se caracteriza por presentar arboles cuyas copas alcanzan los 30 m de alto y los estratos medio y bajo son muy densos, abundante presencia de epifitas en el estrato bajo del bosque, arbustivas y herbáceas de las familias *Orchidaceae*, *Araceae*, *Cyclanthaceae*, *Piperaceae* y *Gesneriaceae*. (p. 29)

Una de las especies típicas de esta formación es *Iriartea dehoidea* que fue utilizada para determinar y/o modelar este tipo de formación vegetal. *Iriartea deltoidea* es una especie nativa de la Costa, Andes y Amazonía que se encuentra en las provincias de Cotopaxi, El Oro, Esmeraldas, Los Ríos, Morona Santiago, Napo, Pastaza, Pichincha y Sucumbíos, en un rango altitudinal que varía entre 0 y 1500 m. (Baquero, y otros, 2004)

Este tipo de bosque se encuentra en el occidente de las provincias de Pichincha, Cotopaxi, Los Ríos, Bolívar, Azuay y al oriente de la provincia de Esmeraldas. Se encuentra entre las siguientes variables biofísicas: Déficit hídrico de 0 a 5 mm, Altura Media 1099 m, Pendiente de 11°, Meses secos 4. Temperatura mínima anual 15 °C, Temperatura máxima anual 24°C,

Precipitación anual 1786 mm, Potencial de Evapotranspiración 958 mm. (Baquero, y otros, 2004, p. 29).

7.2. Bacterias y hongos microscópicos

Las bacterias y los hongos microscópicos (HM) son generalmente organismos heterotróficos que se alimentan de materia orgánica en descomposición (saprobios) o de materia viva (parásitos), se encuentran en una gran variedad de hábitat, tales como cuerpos de agua dulce. mar, suelo, hojarasca, restos vegetales, restos animales. estiércol y organismos vivos: y están distribuidos desde las zonas desérticas hasta las áreas más gélidas del planeta. Los microorganismos son vitales en el equilibrio ecológico del suelo: participan en la degradación de la materia orgánica que permite el ciclaje de nutrientes. así como en la transformación del nitrógeno a formas disponibles para las plantas.

Los hongos son considerados los organismos más diversos después de los insectos. Su riqueza se estima en 1.5 millones de especies a nivel mundial. En México. la diversidad fúngica se calcula entre las 120 000 y 140 000 especies, de las que menos de 10% han sido estudiadas: se han descrito aproximadamente 4000 especies de hongos macroscópicos y 2000 de hongos microscópicos.

Lo anterior deja ver que el estudio de este grupo de organismos en nuestro país está en su fase inicial, y coloca en una situación crítica el conocimiento sobre las especies microscópicas, amén de ser organismos que se encuentran amenazados al igual que los diversos ecosistemas. En su mayoría, los trabajos relacionados con los hongos microscópicos versan sobre especies parásitas de plantas y causantes de micosis en el hombre y los animales (Gamboa, Heredia, Reyes, & De la Rosa, 2011).

Por otra parte. se estima que existen de 300 000 a 1 millón de bacterias en la Tierra. de las cuales, aproximadamente unas 6000 han sido identificadas. Mientras que más de una tercera parte de las 36 divisiones conocidas incluyen bacterias que no han sido cultivadas invitro, por lo que menos de 1% de la diversidad bacteriana ha sido ubicada taxonómicamente (Gamboa, Heredia, Reyes, & De la Rosa, 2011).

En general, el hombre ha utilizado durante siglos los microorganismos y sus productos metabólicos, como en los procesos de fermentación de panes y vinos, hasta la actual producción

de diversos aditivos para la industria y las acciones de biorremediación de sitios contaminados. En especial, los metabolitos de origen microbiano han sido de alto valor en la elaboración de medicamentos para humanos, plantas y animales; y los mismos organismos son utilizados en el control biológico de plagas y enfermedades (Gamboa, Heredia, Reyes, & De la Rosa, 2011).

7.3. Los hongos

Los hongos son criaturas eucariotas y multicelulares que, a pesar del hecho de que comparten atributos con animales y plantas, muestran contrastes significativos. Los hongos son individuos heterótrofos, similares a las criaturas, sin embargo, no se pueden mover ni perseguir. Tienen cada una de sus células rodeadas exclusivamente por un divisor de células y viven adjuntas al sustrato, de forma similar a los arbustos, pero no logran fotosintetizar.

Según lo indicado por Chapuli, Jiménez y Rodríguez (2019) confirman que:

Los hongos son significativos a la luz del hecho de que desintegran las partes restantes de los seres vivos, recuperando las sustancias inorgánicas que las plantas requieren con el fin de fotosintetizar. Algunos son valiosos para las personas (setas comestibles y hongos productores de antibióticos), y otros pueden ser excepcionalmente peligrosos, por ejemplo, hongos nocivos y parásitos que causan enfermedades (p. 9).

También puede apreciar que sus células no se separan después de la partición, por lo que estructuran cadenas de células más o menos ramificadas. Estas cadenas o fibras se llaman hifas y la disposición de las hifas de un hongo micelio. El micelio es el cuerpo vegetativo del hongo, puede que no tenga tanta consideración como las setas, sin embargo, pero forma parte de la mayoría del organismo. El micelio de ciertos organismos logra poseer la expansión de algunos de los escasos campos de fútbol y asociar los cimientos subyacentes de numerosas plantas arboleas, hasta el punto de que se han utilizado para administrar medicamentos de manera flexible a unos pocos árboles simultáneamente (Chapuli, Jiménez, & Rodríguez, 2019).

7.4. Marchitamientos vasculares ocasionados por Ascomicetos y hongos imperfectos

Los marchitamientos vasculares son enfermedades que se encuentran ampliamente distribuidas y son muy destructivas, espectaculares y alarmantes, ya que se manifiestan en un marchitamiento más o menos rápido, empardecimiento y muerte de hojas y vástagos suculentos de algunas plantas, lo cual da como resultado la muerte de estas últimas.

Los marchitamientos se deben a la presencia y actividades del patógeno en los tejidos vasculares xilémicos de las plantas. En pocas semanas el patógeno puede ocasionar la muerte de plantas completas o de sus órganos que se localizan por arriba del punto de invasión vascular en la mayoría de las plantas anuales y algunas perennes, aunque en algunas plantas de este último grupo no mueren sino hasta después de varios años a partir del momento en que fueron infectadas por el hongo. Ching (2002) “Por lo común, el patógeno continúa propagándose internamente en forma de micelio o conidios a través de los vasos xilémicos hasta que muere toda la planta”.

En tanto la planta infectada continúe viviendo, el hongo que produce los marchitamientos vasculares se limita a los tejidos vasculares (xilema) y a algunas células circunvecinas y nunca sale a la superficie de la planta incluso tampoco produce esporas. Sólo cuando la enfermedad ocasiona la muerte de una planta infectada, el hongo se propaga hacia otros tejidos y esporula en la planta muerta o sobre la superficie de ésta. (p. 425)

7.5. Hongos que producen marchitamientos vasculares

Hay tres géneros de hongos que producen marchitamientos vasculares; *Ceratocystis*, *Fusarium* y *Verticillium*. Cada uno de ellos ocasiona enfermedades graves y de amplia distribución, ya que atacan a varias plantas de cultivo, forestales y de ornato importantes.

Ceratocystis causa los marchitamientos vasculares principalmente de árboles, como es el caso de la enfermedad del olmo holandés (*C. ulmi*) y el marchitamiento del roble (*C. fagacearum*).

Fusarium produce marchitamientos vasculares principalmente en flores y hortalizas anuales, plantas herbáceas perennes de ornato, plantas de cultivo, malezas y en la mimosa (árbol de seda). La mayoría de los hongos de este género que producen marchitamientos vasculares pertenecen a la especie *Fusarium oxysporum*.

Ching (2002) menciona que, diferentes plantas hospedantes son atacadas por formas especiales o razas del hongo. Así, el hongo que ataca al tomate se designa como *F. oxysporum f. lycopersici*; el de las cucurbitáceas, *F. o. f. niveumi* el de la col, *F. o. f. conglutinans*; el del plátano *F. o. f. cubense*; el del algodón, *F. o. f. vasinfectum*; el del clavel, *F. o. f. dianthii*; el del crisantemo, *F. o.f. chrysanthemi*, etc. (p. 425)

Verticillium ocasiona los marchitamientos vasculares de flores, hortalizas, plantas de cultivo y de malas hierbas anuales y de plantas de ornato perennes, árboles frutales y forestales y de malezas perennes, etc. Este hongo existe como una o dos especies (*Verticillium alboatrum* y/o *V. dahliae*) y ataca a centenares de clases de plantas produciendo marchitamientos y pérdidas de montos variables.

Todos los marchitamientos vasculares, sin considerar el tipo de patógeno que los ocasione, tienen ciertas características en común. Las hojas de plantas infectadas o de partes de plantas infectadas pierden su turgencia, se debilitan, adquieren una tonalidad que va del verde claro al amarillo verdoso, decaen y finalmente se marchitan, se tornan amarillas, empardecen y mueren.

Las hojas marchitas pueden estar extendidas o bien enrollarse. Los retoños tiernos y jóvenes también se marchitan y mueren. Los cortes transversales que se hacen de tallos y ramitas infectados muestran varias zonas café decoloradas dispuestas en forma de un anillo completo o interrumpido que consta de tejidos vasculares decolorados.

En los vasos xilémicos de tallos, raíces y otros órganos infectados, puede haber micelio y esporas del hongo. Algunos de los vasos xilémicos son obstruidos por el micelio, las esporas o bien los polisacáridos que produce el hongo. Esta obstrucción se incrementa aún más por los geles y gomas que se forman por la acumulación y oxidación de los productos de degradación de las células vegetales atacadas por las enzimas del hongo (p. 426)

7.6. Sustrato

El sustrato es la parte del biotopo donde determinados seres vivos realizan sus funciones vitales (nutrición, reproducción, relación). Es la base, materia o sustancia que sirve de sostén a un organismo, ya sea vegetal, animal o protista, en el cual transcurre su vida; el sustrato satisface determinadas necesidades básicas de los organismos como la fijación, la nutrición, la protección, la reserva de agua, etc.

El Ministerio del Ambiente (2013) menciona que: “Se utiliza únicamente cuando este factor permite separar ecosistemas como es el caso del Bosque siempreverde Piemontano sobre afloramientos de roca caliza de las Cordilleras Amazónicas”. (p. 22). Es decir, los sustratos son el suelo, el aire, agua y alimentos los cuales pueden contener los potenciales contaminantes para una afectación en el entorno. (Valer, 2018, p. 4)

7.7. Hongos existentes en la estructura del sustrato vegetal

Se sabe que las micorrizas juegan papel muy importante en el desarrollo de las plantas y en el ciclado de nutrientes en el ecosistema. Se encuentran prácticamente en todos los suelos como en la estructura del sustrato vegetal del bosque siempre verde Pie Montano (BsPn01) de La Cordillera de Los Andes, por su clima tropical durante la época seca y lluviosa, hay especies significativas que son:

7.7.1. *Aspergillus* sp.

De acuerdo a Ortega (2002) “Pertenece a la división Deuteromycota, clase Hyphomycetes, orden de los Hyphomycetales y familia Moniliaceae”. Los *Aspergillus* se describen al tener un micelio vegetativo hecho de hifas septada, ramificadas, incoloras, estructura conidial creada como “pedicelos y cabezuelas de origen en células hifales específicas (células del pie), con divisores gruesos, que tienen conidióforos como ramas aproximadamente perpendiculares al eje longitudinal de la célula del pie” (2001).

La clasificación se hace de acuerdo con las estructuras, color y proliferación de sus colonias. Los miembros de esta variedad pertenecen a los aerobios que se van desarrollando rápidamente, la colonia está inicialmente nivelada, blanca y se vuelve algodonosa. A medida que, va apareciendo la esporulación, el punto focal de la colonia adquiere un sombreado alternativo dependiendo de la especie, como sigue: amarillo *A. flavus*, verdoso *A. glaucus*, negro *A. niger*, gris *A. fumigatus* (Guzmán, 1977).

7.7.2. *Penicillium* sp.

Es un hongo que se desarrolla rápidamente y proporciona colonias fructíferas de color blanco liso, que están aseguradas con esporas y adquieren varios tonos dependiendo de la especie; hacia el final, están totalmente envueltos en esporas con una buena apariencia. Las colonias se componen de micelio de marcadores ligeramente septados. El verticillum es fundamental en la disposición del hongo, de esta manera se pueden caracterizar en cuatro grupos fundamentales: monoverticillata, asimétrica, biverticillata simétrica y poliverticillata (Guzmán, 1977).

7.7.3. *Acremonium* sp.

Las colonias son de color crema o melocotón claro, lisos debido a la creación de un micelio de vuelo corto sensible. Se observan variaciones de los estados tenues blancos, rosados y amarillos.

Microscópicamente, los conidióforos son sensibles, largos y casi peludos. Conidios elípticos, ovales a cilíndricos dispuestos en cabezuelas irregulares (Koneman & Roberts, Micología: Práctica de laboratorio., 1997).

7.7.4. *Fusarium* sp.

Crece dando una colonia blanca la cual produce un pigmento color vino que gradualmente difunde en el medio. El micelio está formado por hifas septadas y los conidióforos presentan racimos de macroconidios. Se observan también clamidosporas y microconidios (Guzmán, 1977). Algunas especies de interés agrícola son *Fusarium oxysporum*, causante de la marchitez en algodón, el mal de Panamá en el banano y de la podredumbre basal en frijol; y *Fusarium solani*, responsable de la pudrición radicular de la yuca y de los tubérculos de la papa (Fínch & Finch, 1997).

7.7.5. *Cladosporium* sp.

Crece rápido a temperatura ambiente pero no a 37°C. Las colonias son planas, aterciopeladas, de color carmelita oscuro un poco más clara hacia la periferia, formadas por micelio de hifas gruesas septadas y oscuras. Presentan conidióforos con conidios ovoides sobre las cuales se ven dos sitios donde se encuentran dos conidios. Algunas especies tienen actividad proteolítica (Guzmán, 1977).

7.7.6 *Trichoderma* sp.

Crece formando colonias blancas que simulan una película sobre el medio. El micelio está formado por hifas septadas. Los conidióforos por segmentos cortos que se hallan a lado y lado de la hifa, mostrando por su parte terminal pequeños conidios redondeados. la esporulación da sobre la colonia parches verdosos (Guzmán, 1977).

8. HIPÓTESIS

La elaboración de un protocolo y metodología para la recolección de especies de hongos del sustrato vegetal, es aplicable en la estructura del bosque Siempre Verde Pie Montano (BsPn01) de la Cordillera Occidental de Los Andes en el recinto Los Laureles.

9. METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La metodología de la presente investigación es de tipo descriptiva con un diseño bibliográfica documental que permitió adquirir información de textos conocidos y desconocidos de diferentes fuentes confiables, con un proceso inductivo deductivo, con técnicas e instrumentos de investigación como libros, tesis, revistas científicas, informes entre otros, que se utilizaron para llevar a cabo la recopilación de datos.

El diseño de muestreo adoptado en el levantamiento de información para la elaboración del protocolo y metodología de recolección de especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal del bosque Siempre Verde Pie Montano de la Cordillera de Los Andes, es el que recomienda el Ministerio del Ambiente del Ecuador (2015) útil para la caracterización de estudios micóticos, es decir para la identificación de las enfermedades provocadas por un hongo que sufren animales o vegetales.

Con esta metodología se beneficia la presente investigación mediante el levantamiento de información para la elaboración del protocolo y metodología de recolección de especies de hongos y la caracterización del lugar cobertura vegetal. Para lo cual se deben incorporar el diseño teórico-metodológico de la investigación, con sus justificativos metodológicos y tecnológicos, por lo tanto, según el MAE (2015) “se deben incorporar todos los instrumentos de investigación como fichas, formatos, técnicas de registro, estrategias de abordaje metodológico entre otros aspectos” (p.5). junto con una descripción del grupo de especialistas y el proceso de recopilación de datos creado.

9.1. Tipo de investigación descriptiva

La presente investigación es de carácter descriptiva, debido a que se describe una metodología adecuada para la recolección de hongos en campo e identificación en laboratorio, con la finalidad de establecer su estructura. La información que se recopiló permitió elaborar un protocolo de recolección de especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal de la localidad en estudio.

9.2. Investigación Bibliográfica documental

El diseño de la investigación se respaldará en la revisión de bibliografía de libros, revistas científicas, repositorios universitarios virtuales, para las dos fases previstas para la investigación, revisión bibliográfica para el muestreo, adaptada del Ministerio del Ambiente

(2015) que presenta la “*Guía para la elaboración de terminos de referencia de estudios de impacto ambiental ex-ante categoria IV: sector hidrocarburos*”, para la caracterización de estudios micóticos.

Para el aislamiento y cultivo de los microorganismos presentes en las muestras obtenidas se consultaron distintos medios entre ellos están: Arias, C. E. y Piñeros, E. P. (2008) con el tema “*Aislamiento e Identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y cruz verde*”. Recuperado de los repositorios de Pontifica Universidad Javeriana. Además del trabajo de Ramírez, C. F. (2005) “*El muestreo de suelos*”, recuperado de la plataforma del Ministerio de Agricultura y Ganadería de Costa Rica.

Con relación a los microorganismos se obtuvo información de la Asociación Vida Sana (2015) donde se expuso el tema “*Microorganismos del suelo y biofertilización*”. Obtenido de Crops for Better Soil”. De Gamboa et al. (2011) “*Hongos. Bacterias y hongos microscópicos*”. De Delgado, H. M. (2019) “*Los microorganismos del suelo en la nutrición vegetal*”. Recuperado de la plataforma de Soluciones con Biotecnología, Asociados con la Vida.

Adicionalmente el trabajo de Pfenning y Magalhães (2012) “*Capítulo 8 Hongos del suelo saprófitos y patógenos de plantas*”. Recuperado del Instituto Nacional de Ecología y cambio climático INECC en México. Ministerio del Ambiente (2013) “*Sistema de Clasificación de los ecosistemas del Ecuador continental*”, en Quito respaldado por la Subsecretaría de Patrimonio Natural. Proyecto Mapa de Vegetación.

El trabajo de Lucía, et al. (2008) “*Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*”, publicado por la Pontificia Universidad Católica del Ecuador También el trabajo de Lagla (2017) “*Inventario florístico (arbóreo) en el bosque siempreverde montano bajo de la Cordillera Occidental de Los Andes, sector la esperanza, cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi*” publicado por la Universidad Técnica de Cotopaxi, entre otros.

9.3. Método inductivo deductivo

La investigación se basa en el proceso inductivo deductivo, es decir que va de lo particular a lo general, debido a que se recopilar información científica relevante sobre especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal que sustenten el estudio, generando perspectivas teóricas en

una metodología adecuada para la recolección de hongos en campo e identificación en laboratorio analizarla y elaborar un protocolo de recolección de especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal de la localidad en estudio. Información relevante que se obtuvo y que permitió sacar algunas conclusiones.

9.4. Técnica e instrumentos de investigación

Durante la investigación se utilizará la técnica de observación directa para identificar los puntos de muestreo y la recopilación de muestras del sustrato vegetal en el bosque siempre verde pie montano. Además del libro de campo, documento en el cual se deben registrar los datos y las labores efectuadas a lo largo del experimento. También se conoce como Cuaderno de Explotación, cuaderno de labores o libro de campo. El libro de campo se utilizará para el registro de los datos en los puntos de muestreo que serán ubicados en el sector.

9.5. Metodología para el levantamiento de información de hongos.

9.5.1. Método cartográfico

La proyección cartográfica es una correspondencia biunívoca entre los puntos de la superficie terrestre y sus transformados en el plano llamado plano de proyección.

En función de las cualidades métricas, una proyección cartográfica es equivalente cuando en el mapa se conservan las superficies del terreno, aunque las figuras dejen de ser semejantes. Se utilizan generalmente en mapas temáticos o parcelarios. (Instituto Geográfico Nacional, 2010, p. 5)

9.5.2. Aplicación de la metodología a través de la Tecnología SIG

Para indicar las cualidades biofísicas de la zona delimitada se realizará un mapa a través de un Sistema de Información Geográfica (SIG) que permitirá:

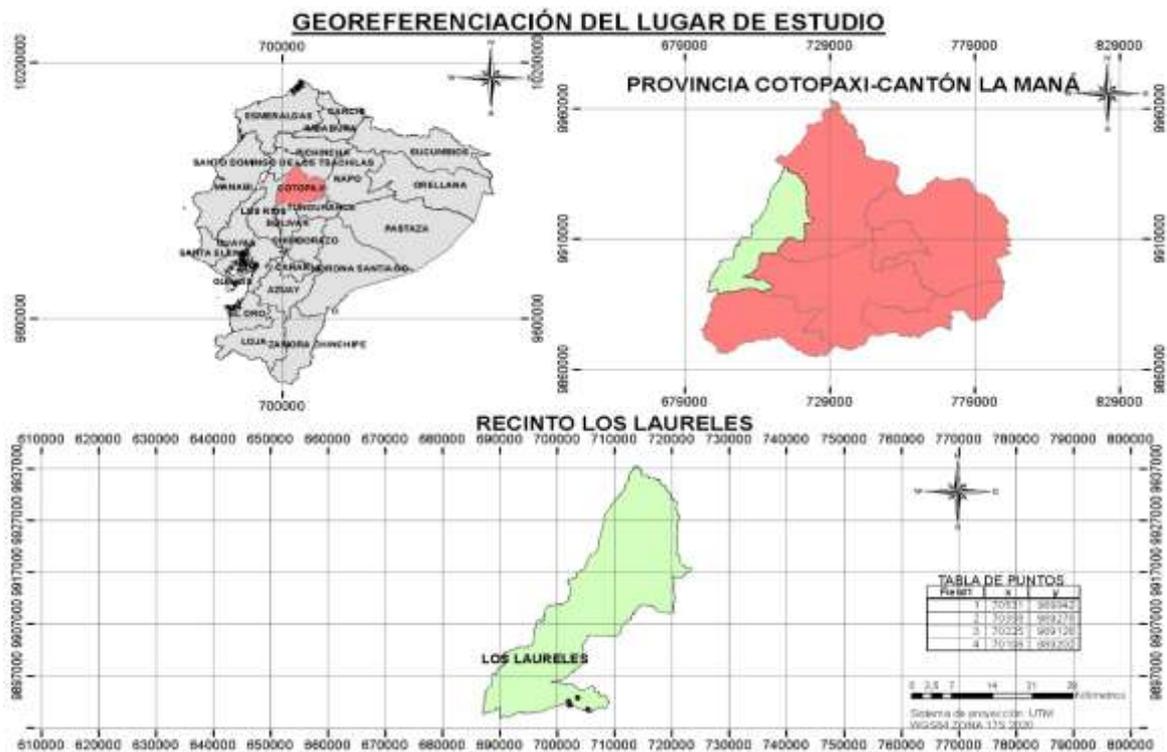
- Tener en cuenta las condiciones climáticas, geográficas y del tipo de suelo, considerando las coordenadas UTM del sector en estudio.
- Porcentajes de cultivos existentes en la región de investigación.
- Delimitar los puntos de muestreo a ser investigado con sus respectivas coordenadas.

Como regla general, la utilización de SIG se propone igual que un aparato de administración y elección, cuyo aporte a la investigación del problema en el bosque será en la determinación de

sus atributos biofísicos. Las instrucciones (UTM-WGS84) determinan los enfoques que conforman la región de investigación. (Sarabia, 2019)

9.5.2.1. Georreferenciación del lugar

Se recomienda la utilización del Sistema de posicionamiento global (GPS) Navigator – mapa, aplicación que facilita Google Play desde el (2018) en forma gratuita y es confiable. Herramienta útil para delimitar el o los transectos seleccionados en el bosque siempre verde pie montano del Recinto Los Laureles.



Elaborado por: Maldonado (2020)

Tabla 3. Ubicación del ensayo

Provincia	Cotopaxi
Cantón	La Maná.
Localidad	Recinto Los Laureles
Latitud	S0° 56' 27
Longitud	W 79° 13' 25
Altitud	220 msnm

Elaborado: Maldonado, Y. (2020)

9.5.3. Coordenadas del área de estudio

Tabla 4. COORDENADAS.

COORDENADAS UTM SECTOR EL RECINTO LOS LAURELES (ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ)		
PUNTOS	LONGITUD (X)	LATITUD (Y)
1	70531	989042
2	70358	989278
3	70225	989128
4	70198	989202

Elaborado por: Maldonado (2020)

9.5.4. Clima

Hay que tener presente el clima de la región, debido a que es en la naturaleza y bajo condiciones favorables de humedad y temperatura que los hongos se desarrollan, extendido sobre un sustrato vegetal adecuado, se transforma en pequeños grumos que van aumentando de tamaño hasta formar la típica seta. Información que beneficia al investigador porque es importante el suministrar un sustrato adecuado al hongo cuando se le intente cultivar para que los nutrientes puedan ser aprovechados por las hifas del micelio.

9.5.5. Metodología para determinar un protocolo de muestreo para la recolección de hongos presentes en el sustrato vegetal.

9.5.6. Fase de campo

9.5.6.1. Manejo de transectos

La selección de una técnica del muestreo y el número de los transectos a ser establecidos durante un viaje varía, dependerán de las condiciones edáficas, meteorológicas, geológicas e hidrogeológicas en el sitio, pero por regla general se espera hacer un transecto por día laborado, la profundidad y accesibilidad del sitio de estudio en donde se debería de tomar como mínimo 15 submuestras con el fin de minimizar la variabilidad y de los requerimientos analíticos acerca de la cantidad y calidad de las muestras.

Los equipos, las herramientas y los instrumentos a usarse en el muestreo estarán en función de la profundidad, todas las submuestras del mismo volumen a la que se va a tomar la muestra, el tipo de textura del suelo, el tipo de enmienda a aplicar (fertilizantes o encalado), el tipo de cultivo o uso de la tierra, la escala del trabajo de campo o tamaño del área de muestreo, la accesibilidad al punto de muestreo.

El método de los transectos es ampliamente utilizado por la rapidez con que se mide y por la mayor heterogeneidad con que se muestrea la vegetación. Para ello se sitúa un rectángulo para medir ciertos parámetros de un determinado tipo de vegetación. Se puede aplicar los transectos de 2x50 m para medir árboles y bejucos con DAP (diámetro a la altura del pecho) mayor a 2.5 cm. Dentro de los transectos, se evalúa el número de individuos presentes, tomando nota de la altura y diámetro de cada planta. El tamaño de los transectos puede ser variable y depende del grupo de plantas a medirse. para evaluar la vegetación de un bosque húmedo. (Mostacedo, 2000)

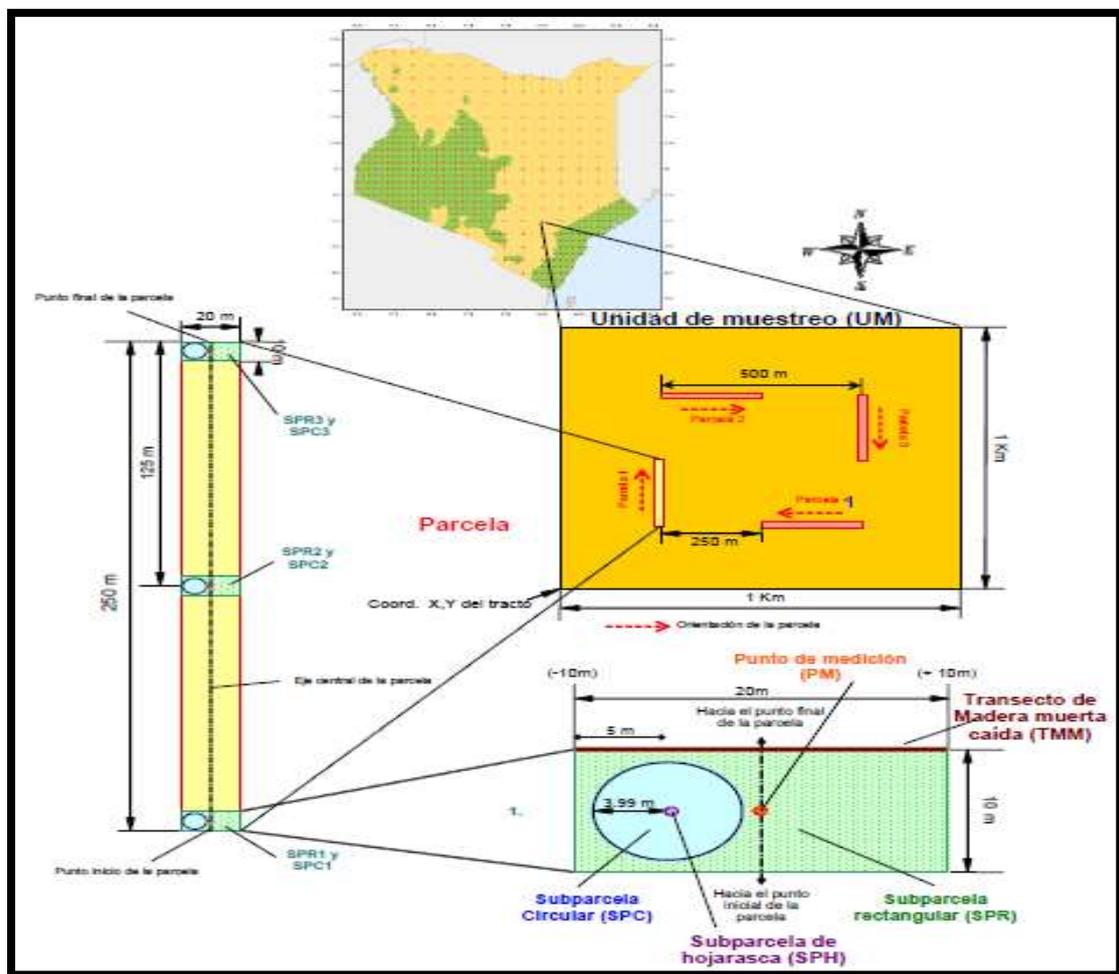


Figura 1: Diseño de la unidad de muestreo, parcelas y subparcelas. Recuperado de FAO (2009)

9.5.7. Diseño de muestreo

En los estudios ecológicos, el diseño de muestreo es la parte que requiere mayor cuidado ya que éste determina el éxito potencial de un experimento, y de éste depende el tipo de análisis e interpretación a realizarse. Los diseños de muestreo deben ser anteriores y no posteriores. Sin

embargo, antes de pensar en el diseño y forma de muestreo, es importante hacer una diferenciación entre muestras y poblaciones.

Tabla 5 Diferencias entre población y muestra.

Población Estadística (conjunto de individuos)	Muestra (un determinado porcentaje de la población)
Los 100 árboles de una especie elegida en un bosque de una hectárea	Unos 15 árboles de la especie elegida al azar para su medición, de los 100 árboles
Toda la región de la Amazonía	Unas 100 parcelas de 0.1 hectáreas medidas aleatoriamente en toda la región amazónica.
La cantidad de luz que llega al suelo del Cerrado	Unas 100 mediciones de luz con un fotómetro medidas en el Cerrado

Fuente: (Mostacedo, 2000, p. 4)

9.5.8. Método de toma de muestras de suelo

La toma de muestra del suelo podrá ser realizada bajo la siguiente metodología:

Hay varios enfoques para recopilar una muestra representativa. Como, indica Ferraris (2000) “los tipos de muestreo son: muestreo al azar, muestreo al azar estratificado, muestreo en áreas de referencia y muestreo en grilla” (p.51).

El muestreo al azar es el más sencillo, por que comprende la recopilación de submuestras que luego se mezclan para lograr una muestra compuesta. La desventaja de este tipo de pruebas es que muchas veces no se considera la variabilidad existente en áreas no homogéneas del lote.

Según Atlas y Bartha (2005) “Otra estrategia consiste en separar el lote en subunidades homogéneas, dentro de las cuales se toman muestras compuestas al azar, evitando cualquier desuniformidad que pueda aparecer en la parcela como divisiones escalonadas” (p. 52). En realidad, examinar en zonas de referencia comprende inspeccionar seriamente un segmento homogéneo del lote, que se cree que es representativo de la parcela completa.

Finalmente, el tipo más intensivo de muestreo es el muestreo en grilla. En bosque Siempre Verde Pie Montano de la Cordillera Occidental de Los Andes, las pruebas se toman en tramos ordinarios en todos los sentidos, y se descomponen de forma independiente. Se debe considerar que la estrategia para obtener las muestras está controlada por las propiedades fisicoquímicas

del ambiente bajo investigación, por la abundancia normal de microorganismos y por los métodos de conteo y medición llevados a cabo (Atlas & Bartha, 2005).

9.5.9. Equipo para muestreo

Después de haber elegido el tipo o la técnica de muestreo, es conveniente elegir el aparato que se utilizará para recoger la muestra de sustrato.

Las cuatro herramientas básicas que se utilizan son la cubeta o cuchara de la draga, el extractor de núcleos, el taladro o los dispositivos de prueba o los canales. Fácil de utilizar y desinfectar, la draga o cuchara puede ser utilizada en una superficie lisa (0-100 cm de profundidad). El dispositivo de extracción del centro del suelo se utiliza en suelos suaves (0-60 cm). Este equipo es moderadamente fácil de usar, reserva el núcleo del suelo para un surtido de muestras sin interrupciones, sin embargo, es difícil de purificar.

El barreno manual o eléctrico, utilizado en su mayor parte en relación con el barreno de lavabo para recoger pruebas, tiene una extensión de profundidad decente (15 cm - 5 m), sin embargo, es difícil de esterilizar. Para finalizar, los canales que se utilizan para una amplia gama de suelos y para acceder a más horizontes de suelo (Dirección General de Asuntos Ambientales, 2008).

Es conveniente considerar como una prioridad principal que los dispositivos de muestreo deben desinfectarse para evitar la contaminación cruzada y que deben ser recogidos por la profundidad a la que se va a tomar la muestra y los atributos del suelo. Como, mencionan Atlas y Bartha, cuando se toman las pruebas de suelo, las estrategias asépticas no se utilizan generalmente, pero lógicamente se utilizan una pala y a un cubo; la increíble cantidad de microorganismos en el suelo relativiza la actividad de contaminaciones potenciales provenientes del aire o de compartimentos no esterilizados.

9.5.10. Tipo de muestras

El tipo de muestra de suelo debe corresponder a muestras compuestas. La cantidad de submuestras que componen la muestra, oscila entre 20 y 25 submuestras; variará según el tipo de suelo, y de características físicas y químicas de los suelos del área homogénea. (Franco, 2010)

9.5.11. Colecta de la muestra del sustrato

La utilización del suelo está fundamentalmente vinculada a la mitad de pasto cultivado y la mitad de la vegetación arbustiva.

Es necesario para coger muestras del sustrato identificar las propiedades biofísicas e hidrológicas del mismo, que sirven para evaluar los puntos de estimación utilizando observaciones y el procedimiento de evaluación visual rápida del sustrato.

Se reconoce el suelo del sitio, que depende regularmente del color, dado por los habitantes del sector que dependen del tipo de suelo. También, puede preguntar a fuentes / guías cercanas. De hecho, incluso el nombre científico se demuestra en la remota posibilidad de que sea asequible. La mejor oportunidad ideal para la recolección es un par de días después de las lluvias, con temperaturas superiores a los 0° C, durante las horas en las que permaneces la claridad de la luz solar, por estar en el interior del bosque. Las condiciones estacionales dependen del clima del sector.

9.5.12. Homogenización de la muestra

Es conveniente evaluar las condiciones de la superficie del suelo evaluando en % del suelo estimado utilizando una regla. La clase de superficie de la capa superior de tierra (capa de 20 cm, que es típicamente más rica en el aspecto natural, debido a la desintegración de las plantas y la actividad de las formas de vida del suelo) y de la capa arada (5-30 cm.). Alude a la extensión general de partículas de tamaño arenosas, limoso y arcilloso en una muestra tomada del sustrato de 40 a 50 g, de peso, es decir 1 kg. La textura se puede determinar con procedimientos como; luego de a ver cavado en la planta y llegado a la raíz, tomar una cucharada o dos de tierra con una mano e incluyendo el agua gota a gota mientras se trabaja con la mano, hasta lograr una consistencia pegajosa (que se convierte en barro al presionarlo). Se forma una bola y se resuelve la textura.

9.5.13. Técnica de los cuartos opuestos (para fraccionamiento).

Coloque la muestra en una superficie dura, limpia y nivelada dónde no haya pérdida de material, ni el aumento accidental de material extraño.

Mezcle el material removiendo la muestra por lo menos tres veces. Con el último meneo, forme con la pala un montón cónico, depositando cada palada en el vértice del mismo, para que se acomode por sí solo y procurando a la vez que la distribución sea uniforme. (Esparza, 2009, p. 6)

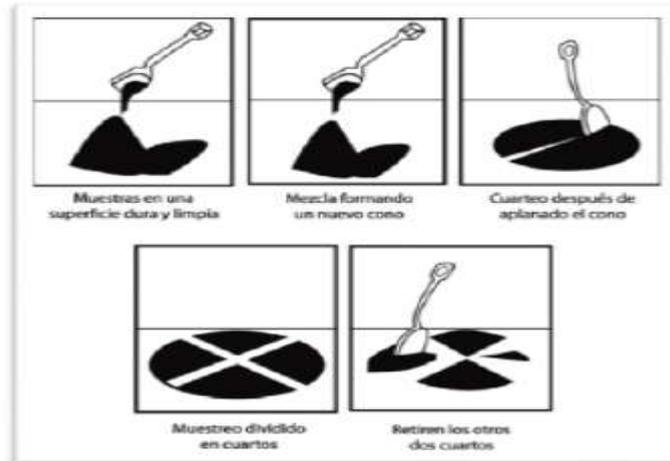


Figura 2. Método cuarteo manual. Tomado de (Esparza, 2009)

Cuidadosamente aplane el montón cono a un espesor y diámetro uniforme, apretando hacia abajo el vértice con una pala. El diámetro debe ser aproximadamente de cuatro a ocho veces el espesor.

Divida la masa aplanada en cuatro cuartos iguales con una pala o paleta y elimine dos cuartos opuestos diagonalmente incluso todo el material fino. Cepille y limpie los espacios aclarados. Mezcle y cuarteo el material restante hasta que la muestra esté reducida al tamaño deseado. (Esparza, 2009, p. 7)

Según lo indicado por NTC 4113-6, el suelo se debe procesar tan pronto como el tiempo lo permita después del muestreo. La muestra debe pasar por un tamiz o colador de 2 mm para fomentar el intercambio gaseoso entre las partículas, se debe considerara mantener la naturaleza aeróbica del suelo. Asimismo, el suelo debe ser desintegrado y volteado habitualmente a temperatura ambiente, para evitar un secado excesivo a nivel de la superficie (Norma Técnica Colombiana NTC 4113-6, s.f.).

9.5.14. Envasado e Identificación de la muestra

Fundas ziploc o el contenedor elegido deben ser cómodos para moverse en el campo, no debe ser excesivamente enorme. Bajo ningún punto de vista se debería sobrecargarlo, ya que provocaría la devastación y descomposición de los hongos colectados.

A continuación, las muestras deben guardarse en la oscuridad a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ con entrada al aire libre (Burlage, Atlas, Stahl, Geesey, & Sayler, 1998). Para ello, es conveniente utilizar fundas de plásticas atadas libremente, manteniéndose alejados de las condiciones anaeróbicas en la

base de estos. Además, es fundamental no dejar que el material se seque o se sumerja en agua durante su capacidad y no se acumule uno sobre otro.

9.5.15. Registro de las muestras

Es necesario identificar cada muestra por medio de un registro, así en el caso de que exista una enorme cantidad de hongos para recolectar, tipo de análisis de suelo solicitado, nombre del propietario, nombre del predio, ubicación geográfica, número de submuestras,

9.5.16. Transporte

Se debe elegir un contenedor auxiliar, por ejemplo, canastas de plástico donde una vez llenos se pueda mover el material recolectado. Las canastas deben contener aberturas para mantener a los parásitos en circulación de aire.

9.5.17. Fase de laboratorio

9.5.17.1. Métodos de Aislamiento

9.5.17.1.1. Determinación de pH y humedad del suelo.

El pH del suelo se ve afectado por la composición de los cationes de intercambio, composición y concentración de las sales de los disolventes y la proximidad o no aparición del yeso y los carbonatos de metales básicos de la tierra (Brissio, 2005). El pH del suelo se mide potenciométricamente mezclando 20 g de suelo en agua refinada en una proporción de 1: 2,5. A continuación, se agita la muestra y se registra la estimación del pH. El colorimétrico es más sencillo y utiliza sustancias llamadas indicadores de pH que se pueden encontrar en diferentes presentaciones con propiedades particulares para medir rangos de pH específicos. El indicador más común es el papel tornasol, que se trata de una tira de papel con un tratamiento especial que al sumergirse en una solución cambia de color, ya sea azul para las sustancias alcalinas, o rojo para las soluciones ácidas. Los papeles tornasol se encuentran disponibles para medir diferentes rangos en la escala de pH gracias al compuesto químico con el que están tratados.

La determinación de la tasa de humedad se completa con el contraste entre el peso húmedo y el peso seco. Se toman 2 g de cada una de las muestras y se colocan en un asador a una temperatura de 100°C en dos horas. Luego, se deja enfriar en el desecador durante una hora en dirección a evitar que las muestras recojan pegajosidad de la tierra. Mas adelante cuando la temperatura desciende, las muestras se miden y luego se retoma a colocar en la estufa para seguir secándose.

Pasadas dos horas, se vuelven a calibrar en frío y se repite el método hasta que la gravedad se estabilice (Arias & Piñeros, 2008).

9.5.17.1.2. Cultivo líquido

En este método, se toman 10 g (semejante al peso seco) de suelo nuevo y se añaden a Erlenmeyers de 1000 ml con una solución de agua refinada estéril, peptona al 0,1% (Diaz, 2000), Tween 80 al 0,5% y cloranfenicol (400 ppm) 0,005 mg / ml (Vishno, Naidu, Singh, & Vishno, 2005). La mezcla se coloca en un agitador giratorio durante 48 horas y luego se deja en una incubación estática hasta que se observa la mejora de los micelios en el líquido (alrededor de varias semanas). Posteriormente, las formas de desarrollo se trasladan a placas con medios PDA, mediante métodos recolección, para adquirir cultivos axénicos realizando subcultivos según las diversas cualidades macroscópicas (Diaz, 2000). Las placas se incuban a 28°C durante 5 a 6 días y cada prueba se realiza por triplicado (Valaskova & Balorian, 2006).

9.5.17.1.3. Lavado de suelo

Este sistema permite el aislamiento de hongos en estado de funcionamiento, razón por la cual las partículas del suelo se aíslan de los propagales microbianos al cavar el suelo y los organismos filamentosos se separan de las hifas que permanecen adheridas a las partículas o al sustrato. En el trabajo realizado por Cabrera y Chitiva en él (2001), presentaron un cambio del aparato de lavado retratado por Domsch et al (1980). El aparato ajustado consta de dos canales de porcelana (acoplables) con un poro de 1,5 mm, con un ancho de 5 cm. En el extremo superior, se coloca el canal principal con un tapón elástico asociado con una manguera de entrada de agua contenida en un galón. Por tanto, dicho embudo se acopla en el extremo inferior al tubo posterior que contiene el papel del filtro para disminuir el tamaño de los poros. La última está moldeada en un compartimento de vidrio para recoger el agua del proceso.

Debido a la utilización de tapones de caucho, es conveniente hacer los huecos incrustando barras de vidrio que estimulan la sección de aire que entra para permitir la diseminación del agua. Todas las actualizaciones que componen el aparato de lavado han sido desinfectadas recientemente en autoclave (Arias & Piñeros, 2008).

9.5.17.1.4. Dilución en placa

Es una de las técnicas más utilizadas para confinar los parásitos del suelo, también se denomina suspensión en placa. Es sencillo y rápido, consiste en suspender el suelo en agua estéril o soluciones de agar (0.05-0.2%), dextrina o carboximetilcelulosa (0.1-0.2%) para post-sedimentación, completar la siembra en cajas de agar (Mueller, Bills, & Foster, 2004).

9.5.17.1.5. Placas de suelo de Warcup

Fue creado por Warcup en (1950), las placas se preparan dispersando cantidades modestas (0,2-5 mg) de tierra machacada en una placa de Petri estéril, se agrega agar a las placas y se agita gradualmente para dispersar las partículas. Esta estrategia es sencilla y útil para una prueba fundamental o rápidamente reconocible de especies en la tierra; en cualquier caso, las colonias jóvenes implantados en el agar son difíciles de eliminar (Mueller, Bills, & Foster, 2004).

9.5.17.1.6. Filtración de partículas

Como indican Mueller et al. (2004) se le llama adicionalmente "lavado de suelo" y permite el aislamiento de hongos enterrados en el sustrato, disminuyendo la recuperación de estados de organismos a partir de esporas.

9.5.17.1.7. Fraccionamiento de la comunidad de hongos del suelo

Este procedimiento incluye la partición previa de propágulos del suelo utilizando centrifugación de inclinación de espesor antes de la aplicación al medio de confinamiento. Las esporas de varios tamaños están explícitamente aisladas. Las poblaciones de crecimiento también se pueden eliminar con calor, vapor o solventes para el aislamiento particular de especies con propágulos seguros. Estos últimos tratamientos hacen que prevalezca el número de habitantes ascomycetes y basidiomicetes que tienen ascosporas clamidosporas y esclerocios (Mueller et al., 2004).

9.5.17.2. Identificación de género y posible especie

9.5.17.2.1. Cultivos monospóricos

Este sistema se utiliza para obtener cultivos desarrollados de una spora simple. Para realizar lo anterior, es necesario tomar dos cilindros con 5ml de agua destilada esterilizada con Tween 80 al 0.5%; Con una aguja analizadora, se pasa una pequeña parte de proporción del crecimiento a uno de los cilindros. De esta suspensión, se toma un asa en argolla y se mezcla en el otro

cilindro. Tome 10 μ l del segundo cilindro en copia y extiéndalo por agotamiento con asa de argolla en una caja con agar papa dextrosa. En ese momento, los casos se incuban a 25°C y se vigilan día a día hasta que se observa la germinación de una espora, la cual se traslada rápidamente a un cilindro con PDA inclinado y se procede a la incubación hasta el avance absoluto del desarrollo total de la colonia (Koneman E. , 2001).

9.5.17.3.Observación microscópica

9.5.17.3.1. Técnica de cinta pegante

Este procedimiento es uno de los más utilizados, ya que se conserva la primera yuxtaposición de esporas y porciones de hifa (Koneman E. , 1987). No obstante, permitir vigilar las estructuras parasitarias casi sin alteración (Arenas, Micología Médica Ilustrada. Clínica, laboratorio y terapéutica. Primera Edición. , 1993). Para completarlo, se toma una tira de cinta de 4 cm, con el lado del pegamento hacia afuera, sujetándolo con pinzas y apretándolo sólidamente contra el exterior de la colonia del organismo a estudiar. Por lo tanto, la tira de cinta se coloca en un portaobjetos con una gota de azul de lactofenol.

Se puede utilizar un microscopio binocular (Ivimen®, modelo 701, Cod. 5313101) con aumento de 200 X. para confirmar los criterios morfológicos informados para las especies.

9.5.17.3.2. Montaje por disección

Divo en 1990 relacionó este método con la utilización de una aguja de desmembramiento para tomar una parte de la superficie de la colonia que en ese momento debe almacenarse en una gota de azul de lactofenol. Con la ayuda de otra aguja o un asa microbiológico, el preparado debe extenderse y asegurarse con un cubreobjetos; para luego ser visto bajo un instrumento de aumento con una amplificación de 40X. Esta es, la estrategia más ampliamente reconocida, sin embargo, puede destruir artilugios esporíferos y hacer que la identificación se complique (Arenas, Micología Médica Ilustrada. Clínica, laboratorio y terapéutica. Primera Edición. , 1993).

9.5.17.4.Método de micro cultivo

Según Arenas en 1993, esta técnica es la más exacta y permite vigilar in situ estructuras fúngicas.

Para ejecutarlo, se toma una placa petri con un soporte de vidrio en forma de U, se guardan 5 ml de agua esterilizada en el estuche para evadir el secado posterior; se coloca un portaobjetos en el soporte y con una pipeta estéril se coloca una capa de agar en la superficie de la laminilla, se planta un fragmento del cultivo en el medio y se coloca un portaobjetos estéril sobre él y luego se incuba a la temperatura escogida. Se saca la laminilla y se coloca sobre una gota de azul de lactofenol observando al microscopio en una amplificación de 40X (Arenas, R., 2003; Casas, G.,1989).

9.5.17.5. Métodos de conservación

9.5.17.5.1 Agua destilada estéril

Es una técnica que consiste en suspender en agua estéril un número específico de células del microorganismo que necesita conservar e incubar entre 20° y 25°C (Castellani, 1939). Se han observado altos índices de viabilidad en periodos de vez en cuando superiores a 5 años, en diferentes tipos de microorganismos, tantos hongos filamentosos, levaduras y algunas bacterias, al igual que buena estabilidad para caracteres morfológicos y fisiológicos (García & Uruburu, 2000).

9.5.17.5.2. Suelo estéril

La técnica comprende desinfectar y secar el suelo que se utiliza como medio absorbente para una pequeña cantidad de inóculo y se utiliza para cultivos que producen esporas y estructuras de resistencia. La viabilidad y características pueden protegerse a temperatura ambiente o bajo refrigeración (Louis & Lim, 1988).

9.5.17.5.3. Papel filtro

Esta técnica permite la conservación de células en papel filtro esterilizado, mediante la inoculación de una solución celular para luego emprender un tratamiento de secado y mantenerla congelada. Asimismo, es concebible secarlos mediante desecación líquida (L-Dry) utilizando un liofilizador alejado de un vacío excesivo (García & Uruburu, 2000).

9.5.17.5.4. Tubo con agar inclinado

Este tipo de método se utiliza con extraordinaria recurrencia para aplicaciones microbiológicas, particularmente en la protección de cepas. Esto requiere una enorme superficie de medio de cultivo, que se puede obtener utilizando agar inclinado.

Los cilindros cargados con medio de cultivo desinfectado y que estén todavía líquidos se deben colocar en una posición inclinada, de modo que se forme una capa de aproximadamente 3 cm y una superficie inclinada de medidas equivalentes. Se deja asentar el medio de cultivo en la posición lograda (Merck, 2007), en ese punto se siembran los microorganismos que serán racionados a 4°C o 9°C.

9.5.17.5.5. Criopreservación (Glicerol al 10%)

La utilización de agentes crioprotectores salvaguarda el daño que puede ocurrir en las células microbianas a la hora de la congelación. Existen numerosos compuestos que se pueden utilizar como crioprotectores, sin embargo, el que se utiliza con mayor frecuencia es el glicerol, con una convergencia del 10 al 20% (García & Uruburu, 2000). El glicerol es un líquido monótono, espeso, con un sabor dulce, se disuelve en todas sus extensiones en agua y en etanol, es más pesado que el agua; en estado anhidrido es higroscópico, es decir, retiene la humedad del aire, expande el volumen. El glicerol o la glicerina líquida es impermeable a la congelación, sin embargo, puede cristalizarse a bajas temperaturas.

El glicerol como criopotenciador reduce la concentración de sales en armonía con el hielo a cualquier temperatura de congelación cuando está disponible en el medio o cuando se ha penetrado la célula. Además, disminuye el tamaño y la cantidad de cristales de hielo enmarcadas y normalmente se encuentra como un osmorregulador dentro de las células. Esta estrategia de conservación es de largo alcance (Corredor, 2002).

9.5.17.5.6. Liofilización

Es una técnica de preservación a largo plazo (Corredor, 2002). Según Kearney (2005), el ciclo de liofilización incluye la expulsión de agua en estado solidificado mediante sublimación. Esto se logra aplicando vacío. Para una mejor estabilidad y viabilidad se utilizan soluciones crioprotectantes, las opciones esquivan el desarrollo de cristales a nivel celular. Los equipos de

liofilización tienen tres segmentos: un mecanismo de congelación, una fuente de vacío y una trampa de vapor de agua (Corredor, 2002).

La liofilización tiene dos puntos focales extraordinarios sobre la criopreservación: no necesita almacenamiento de producto y cuando se transporta el artículo liofilizado no necesita preocuparse por la refrigeración. La posibilidad de liofilización de hongos depende de la velocidad de congelación, el tamaño de la propagación, el grosor de la célula y la composición de los nutrientes utilizados (Tan, y otros, 1995).

9.5.17.6 Medios de cultivo

Los medios de cultivo son preparados estériles que contienen sustancias necesarias para el crecimiento y proliferación de los microorganismos. La utilización de estos medios nutritivos nos permite aislar especies determinadas y realizar estudios complementarios para lograr su identificación y análisis (Berríos & Gutiérrez, 2018).

De acuerdo a Ávila y otros (2009), indica que los medios de cultivo para hongos son los siguientes:

- **Agar Cerebro de Corazón:** Medio altamente nutritivo para el cultivo de una gran variedad de microorganismos exigentes. Al añadirle antibióticos, puede utilizarse para el aislamiento y cultivo de hongos.
- **Agar Dextrosa Sabouraud:** Medio para el cultivo de hongos filamentosos y levaduras
- **Agar Extracto de Malta:** Medio para la detección, aislamiento y enumeración de levaduras y mohos.
- **Agar Malta Medio:** para la detección, aislamiento y enumeración de levaduras y mohos.
- **Agar Maltosa de Sabouraud:** Medio para el cultivo de hongos filamentosos y levaduras
- **Agar Papa y Dextrosa:** Medio para el cultivo y enumeración de levaduras y mohos.
- **Medio Líquido de Sabouraud:** Medio empleado para el aislamiento y cultivo de levaduras y mohos.
- **Peptona Micológica:** Base nutritiva especialmente diseñada para el cultivo de hongos patógenos y saprófitos. Garantiza un crecimiento característico de hongos patógenos y no patógenos en medios sólidos.

- **Peptona de Soya:** Base nutritiva obtenida mediante la hidrólisis de la harina de soya con papaína. Se caracteriza por su alto contenido de carbohidratos y vitaminas, por lo que su empleo permite el crecimiento abundante de las bacterias más exigentes y de los hongos.
- **Peptona Especial:** Mezcla de peptonas destinada a la promoción del crecimiento de diferentes especies de microorganismos. Puede utilizarse para el cultivo de la mayoría de los microorganismos exigentes.

10.- Análisis y discusión de resultados.

Para el levantamiento de la información se recopiló datos bibliográficos de Bibliotecas virtuales con temas sobre el objeto de estudio. Además, de la ubicación geoespacial del lugar de la investigación.

Se identificó por medio del software SIG la zona de estudio, luego se procedió a describir en un mapa el lugar y los principales puntos donde se pueden realizar recolección de especies de hongos en la estructura del sustrato de la vegetación nativa de la zona del estudio. En el recinto los Laureles entre el cantón Pangua y la Maná para llegar a este punto hay que tomar la vía E30 que dirige al cantón.

A partir de ahí se puede apreciar el bosque siempre verde pie montano (BsPn01) de la Cordillera de Los Andes. Para llegar al área se toma una vía de segundo orden la misma que tiene una distancia de 21.4 km con un tiempo de 1 hora. El lugar es de aspecto húmedo y áreas ganaderas, en donde se aprecian los árboles que presentan una altura de 20 a 35 m en su mayoría, también se caracterizan por la presencia de epifitas y musgos que crecen en los árboles.

Con los datos obtenidos se procedió a realizar el protocolo de muestreo, para el levantamiento de información sobre especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal del bosque siempre verde Piemontano, el proceso fue con la selección de la técnica y metodología adecuada para este tipo de recolección, teniendo presente la geomorfología, las condiciones edáficas, meteorológicas, geológicas e hidrogeológicas de la zona.

Para mantener y salvaguardar la viabilidad y particularidades de los hongos, es conveniente crear métodos ideales que aseguren la preservación de las cualidades fisiológicas y morfológicas de cada

aislamiento de estos microorganismos, por esta razón se debe desarrollar la fase de campo considerando el proceso de toma de muestras, los equipos necesarios para el muestreo de recolección y el procesamiento y almacenamiento de las muestras recolectadas. Además de la fase de laboratorio en el que se indica el método de Aislamiento en el cual se detallan como debe ser la determinación de pH y humedad del suelo, el cultivo líquido, el lavado de suelo, como realizar la dilución en placa, el proceso placas de suelo de Warcup, la filtración de partículas, fraccionamiento de la comunidad de hongos del suelo.

Una vez realizado el muestreo, según el plan, y previo a su análisis en el laboratorio, es importante asegurar una buena preparación y etiquetado, que no se borre en el transporte y que contenga la información del sitio de muestreo. Las submuestras se depositan en lona o plásticos, se mezclan, y se eliminan terrones grandes, troncos, piedras, entre otros. Una parte de esta mezcla debe ser separada y colocada en un recipiente (bolsa, caja, etc.) bien identificada. En el transporte de la muestra se debe evitar contacto con materiales tales como combustible, fertilizantes, cal, estiércol u otro producto que la pueda contaminar (Mendoza & Espinoza, 2017).

10.1. PROTOCOLO DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS DEL SUSTRATO VEGETAL

10.1.1 Introducción

El protocolo es el documento que constituye la culminación de todo el trabajo realizado en la Etapa de Planificación de la Investigación. En este documento se recoge de manera pormenorizada la organización que se ha dado a la investigación y la forma en que se ejecutará la misma, por lo que representa una guía para el investigador durante el desarrollo del trabajo.

El Protocolo o Proyecto de investigación es un documento indispensable para la aprobación del estudio por la institución que lo auspiciará y además servirá para controlar el desarrollo del trabajo según las diferentes etapas que se establezcan. Por tanto, debe contener suficiente información para permitir a otros evaluar su factibilidad (posibilidad real de realización) con los presupuestos humanos, técnicos y financieros establecidos, mostrando la calidad de su metodología y la esperanza de sus resultados (Universidad Univer Colima, 2011)

10.1.2 Objetivo.

Elaborar un protocolo para la recolección de hongos con la metodología establecida.

10.1.3 Delimitación del área de estudio

El área en estudio se ubica en las estribaciones de la Cordillera Occidental de los Andes.

El bosque donde se realizó el proyecto se encuentra localizado con una zona montañosa (bosques altos). Este sistema biológico involucra arboleda siempreverdes multiestratificados, con un dosel entre 25 a 30 m, imparte numerosas especies a bosques de pantanos y algunas variedades de animales en selva montano. Sucede en inclinaciones pronunciadas.

10.1.4 Georreferenciación.

Es importante obtener datos Geomorfológicos de la zona en estudio mediante la utilización de un GPS, se sugiere modelo Garmin 12X y una brújula con lo que se procederá a delimitar el o los transectos seleccionados, para elaborar un mapa del sector y ubicar los puntos donde se recolectará las muestras del sustrato vegetal.



Elaborado por: Maldonado (2020)

10.1.4.1 Establecemos la metodología de muestreo

Para la toma de muestreos, se hará un recorrido a pie y se georreferenciará los puntos en el Recinto Los Laureles donde se delimitarán los transectos que se tomarán las muestras del sustrato vegetal.

10.1.4.2. Transecto

Dentro del área, se debe intentar incluir los distintos lugares que aparecen como diferentes en los mapas e imágenes satelitales. De esta forma se espera cubrir la variación en la vegetación encontrada en el área. El posicionamiento de los transectos de esta manera puede ser al azar o

estratificado. Aunque un diseño experimental con posicionamiento al azar de los transectos pudiera ser mejor en algunos sentidos.

10.1.4.3. Muestreo aleatorio simple

Es el esquema de muestreo más sencillo de todos y de aplicación más general. Este tipo de muestreo se emplea, debido a que se dispone de poca información previa acerca de las características de especies de hongos en la estructura del sustrato vegetal del bosque siempre verde Piemontano en donde la humedad prevalece. Previa a la entrada al bosque, en el recinto los Laureles entre el cantón Pangua y la Maná se debe cuadricular el croquis o mapa y, del total de estos cuadros, se debe seleccionar, aleatoriamente, un determinado número de cuadros que serán muestreados.

Para emplear este tipo de muestreo por ejemplo en 100 árboles, se deben elegir al azar un determinado número de árboles (por ejemplo 20 árboles), en los que se procederá a excavar para recolectar las especies de hongos.

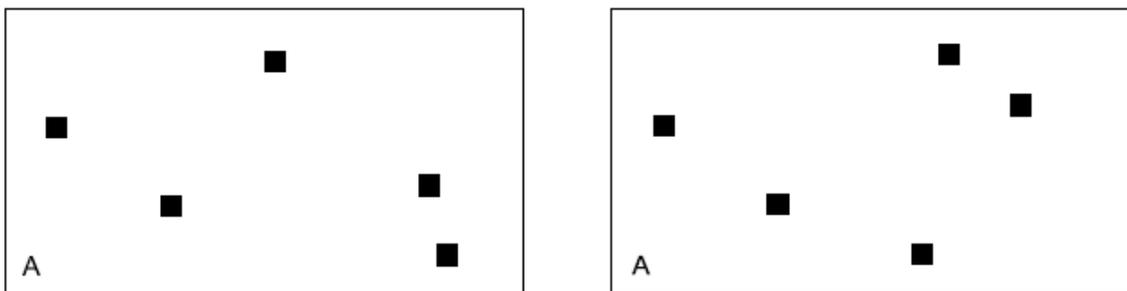


Figura 3 Forma de muestreo aleatorio. Tomado de (Mostacedo, 2000, p. 5)

Este método corresponde a un muestreo al azar, no obstante, los puntos son representativos del suelo del área de muestreo.

10.1.5. Fase de campo

10.1.5.1 Higiene

Todos los componentes que se utilicen tanto en la toma de muestra del sustrato como en la recolección de las especies de hongos deben estar perfectos y esterilizados, desde el machete, las bolsas plásticas, la caja, entre otros. Es conveniente llevar alcohol de 70° para desinfectar las manos de vez en cuando (Rodríguez F. , 2016).

10.1.5.2. Medidas de seguridad en el trabajo

Es importante considerar un atuendo cómodo y ligero, el calzado debe ser botas altas, para evitar accidentes de torceduras al girar y caer durante la recolección, considerando que se camina por el bosque, donde frecuentemente hay ramas, conos y arbustos. Aquí, los relieves suelen estar rotos o impredecibles, con pendientes pronunciadas, lo que pone en constante peligro de accidentes al recolector (Rodríguez F. , 2016).

10.1.5.3. Colecta de la muestra de suelo

Como primera medida, deberá eliminarse la cobertura vegetal. En caso de utilizar un barreno muestreador cilíndrico o un bastón agrológico para colectar la submuestra, éste debe introducirse hasta 20 cm de profundidad, la cual deberá ser marcada previamente en el barreno o bastón, como referencia.

En caso de muestreo con pala, debe hacerse un hoyo en forma de V, a fin de extraer una lámina de suelo hasta la profundidad ya señalada, eliminando el material colectado de los bordes de la pala de modo de dejar sólo el del centro de ella, para evitar posibles contaminaciones (Franco, 2010)

10.1.5.4. Homogenización de la muestra

Se recomienda colectar submuestras de 40 a 50 g, de peso, a fin de obtener el peso requerido para una muestra compuesta, es decir 1 kg de suelo. lo cual permite homogenizar la muestra en un utensilio (ej. balde). (Franco, 2010)

En el caso de muestras compuestas que superen el peso requerido, lo que ocurre por lo general en muestreos con pala, se utiliza la siguiente técnica de los cuartos opuestos:

10.1.5.5. Técnica del os cuartos opuestos (para fraccionamiento).

Se debe:

- Homogenizar la muestra compuesta inicial, en un balde, por ej.
- Extender la muestra compuesta homogenizada en un plástico.
- Separar los cuartos opuestos como se indica en la figura.
- Se repite el procedimiento tantas veces como sea necesario para la obtención del peso requerido de la muestra compuesta (1 kg).

10.1.5.6. Envasado e Identificación de la muestra

La muestra se envasa en una bolsa de plástico resistente al transporte y se identifica con lápiz de tinta indeleble. Se recomienda utilizar doble bolsa plástica e incluir entre ambas la etiqueta con la identificación de la muestra.

No introducir tarjetas de papel o etiquetas en el interior de la bolsa junto con el suelo, porque se destruyen fácilmente con la humedad. En la rotulación de la muestra, deberá contar con la siguiente información: Número o código de la muestra, fecha de recolección, responsable de la toma de muestra.

10.1.5.7. Procedimiento de recolección

Una vez en el lugar de estudio, se debe proceder en la búsqueda de los organismos (hongos). Por lo general, se encuentran en el sustrato de las plantas absorbiendo las sustancias nutritivas necesarias para su crecimiento. Cuando, se han descubierto las setas se recolectan, para ello se toma una el machete con la mano derecha e introduce el elemento en el suelo formando un hoyo en su base, el suelo se debe desmigajar y voltear con frecuencia a temperatura ambiente para evitar secado excesivo en la superficie. Deben tomarse con cuidado para no dañar el material recogido, se quitan restos de acículas o impurezas o tierra del sustrato y se guardan en envases adecuados, por ejemplo, cerramientos de plástico.

10.1.5.8. Registro de las muestras

Se debe mantener un registro con la información de identificación de la muestra señalada en los rótulos, y además incluir los siguientes datos: tipo de análisis de suelo solicitado, nombre del propietario, nombre del predio, ubicación geográfica, número de submuestras, superficie que representa e información complementaria de interés (vegetación, cultivo anterior, rendimiento obtenido, disponibilidad de residuos, tipo de fertilizante usado, aplicación de enmiendas calcáreas y forma y época de aplicación).

10.1.5.9. Transporte

Debe evitarse que las muestras colectadas sean expuestas directamente al sol o a otras fuentes de calor durante su transporte, el que debe ser en el menor tiempo posible. Además, se debe reducir el riesgo de eventuales contaminaciones externas durante el envío a laboratorio.

10.1.6. Fase de Laboratorio

10.1.6.1. Normas de bioseguridad general que se deben cumplir

- a. Mantener el lugar de trabajo en condiciones higiénicas y aseadas.
- b. Evitar maquillarse, fumar, comer o beber en el sitio de trabajo.
- c. No guardar alimentos en los equipos donde se refrigeran sustancias contaminantes o químicas.
- d. Manejar a todo paciente como si pudiera estar infectado.
- e. Lavarse con cuidado las manos antes y después de cada procedimiento.
- f. Utilizar de forma sistemática guantes plásticos o de látex en procedimientos en que se manipulan sustancias biológicas, se maneja instrumental o equipo contaminado en la atención de los pacientes, o en ambas situaciones.
- g. Abstenerse de tocar con las manos enguantadas alguna parte del cuerpo y de manipular objetos diferentes a los requeridos durante el procedimiento.
- h. Emplear mascarilla y protectores oculares durante procedimientos que puedan generar salpicaduras, gotitas aerosoles de sangre u otros líquidos corporales.
- i. Usar bata durante la estancia en el laboratorio.
- j. Mantener los elementos de protección personal en condiciones óptimas de aseo, en un lugar seguro y de fácil acceso.
- k. Si se tienen lesiones exudativas o dermatitis serosas, evitar la atención directa de pacientes hasta que éstas hayan desaparecido.
- l. Utilizar las técnicas correctas en la realización de todo procedimiento.
- m. Manejar con estricta precaución los elementos punzocortantes y desecharlos en los recipientes indicados, a prueba de perforaciones.
- n. Evitar el cambio de los elementos punzocortantes de un recipiente a otro.
- o. Evitar el reciclaje de material contaminado, como agujas, jeringas u hojas de bisturí.
- p. Desinfectar y limpiar las superficies y los equipos de trabajo, en caso de contaminación.
- q. En caso de que se rompa material de vidrio contaminado con sangre u otro líquido corporal, recoger los trozos con escoba y recogedor (nunca con las manos) y depositarlos en el contenedor para punzocortantes.
- r. Los recipientes para transporte de muestras deben ser de material irrompible y contar con cierre hermético (tapón de rosca).
- s. Manipular, transportar y enviar las muestras en recipientes seguros, con tapa y rotulación adecuada.

- t. A su vez, transportar las gradillas en recipientes herméticos, de plástico o acrílico, que retengan fugas o derrames accidentales. Además, deben ofrecer facilidad de lavado.
- u. Restringir el ingreso a las áreas de alto riesgo biológico a personal no autorizado, a quien no utilice los elementos de protección personal y a los niños.
- v. Disponer el material patógeno en bolsas resistentes, de color rojo, que se identifiquen con el símbolo de riesgo biológico.
- w. Las personas sometidas a tratamiento con inmunodepresores no deben trabajar en áreas de riesgo biológico. (Gómez, y otros)

10.1.6.2. Medidas generales de protección

- a. Lavarse las manos con frecuencia y al quitarse los guantes.
- b. Usar guantes cuando se manejen líquidos biológicos.
- c. Establecer y respetar áreas sucias y áreas limpias.
- d. No tocar las áreas sin contaminación con guantes contaminados.
- e. Utilizar el pipetor para aspirar sustancias corrosivas a través de la pipeta.
- f. Ingresar sin maquillaje al laboratorio.
- g. Es riesgoso consumir alimentos o masticar chicle en las áreas de trabajo.
- h. No fumar en las áreas de trabajo.
- i. No tapar de nuevo las agujas.
- j. Depositar los objetos punzocortantes (Gómez, y otros)

10.1.6.3. Esterilización de material de laboratorio

Previo a la esterilización, el material debe estar lavado con detergente, enjuagado con agua destilada y seco. Además, el material debe ser envuelto previo a su esterilización para que una vez esterilizado este protegido de la contaminación ambiental durante el transporte y almacenamiento hasta el momento de su utilización. Es fundamental cuando se planifica un muestreo precisar el objetivo del mismo.

10.1.6.4. Materiales necesarios para recolectar Hongos:

- Muestras de suelo
- Tubos de ensayo
- Micro pipetas
- Agitador
- Vasos de precipitación

- Cajas petri,
- Cuchillo y pala.
- Etiquetas adhesivas.
- Lápiz negro.
- Libreta para anotaciones de campo.
- Marcador indeleble.
- Medios de cultivo selectivos para hongos (INIAP, 2002).

10.1.6.5. Almacenamiento y transporte

Cuando los hongos se hayan recolectado y colocado en las bolsas de plástico, se deben mover al lugar de almacenamiento. El vehículo debe estar en condiciones aceptables de esterilización en el interior, se recomienda cubrir la bolsa de plástico con una envoltura de Nylon, para mantenerlo alejado de cualquier contaminación. El intercambio debe realizarse lo más rápido que se pueda, considerando que desde que retiramos el hongo de su sustrato, estos comienzan a oxidarse y descomponerse gradualmente, el ritmo de deterioro depende de la temperatura, por lo que cuando llegamos al lugar de almacenamiento, se debe ponerlos en heladera o cámara de frío (Rodríguez F. , 2016).

10.1.6.6. Procedimiento:

- Realizar muestreo de suelo.
- Colocar 1 g de suelo en 100ml de agua destilada.
- Tomar 1ml de la solución terrosa y colocar en tubos de ensayo con 9 ml de agua destilada.
- Repetir este procedimiento tres veces.
- De las diluciones tomar 1ml y distribuirlo en la caja petri con el medio de cultivo selectivo.
- Colocar las cajas a incubación a 20°C.
- A los 7 días se obtiene colonias de hongos.
- Luego se realiza purificaciones en medios de cultivo selectivo para: *Phytophthora infestans*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Fusarium roseum*, *Cylindrocarpon* sp., *Trichoderma* sp.

- Realizar observaciones de características principales de los diferentes hongos (INIAP, 2002).

10.1.6.7 Preparación de medio de cultivo

- Pesar los componentes sólidos.
- Disolver los componentes en agua destilada (hidratación).
- Regular pH. Si el medio es ácido subir el pH con NaOH (1N) y si es alcalino bajar con H₃PO₄ (1N). No se debe utilizar HCl debido a la alta toxicidad del cloro sobre las bacterias de cultivo.
- Si el medio es sólido, pesar el agar-agar y fundir al calor hasta ebullición para que pueda gelificar cuando se enfría (40-45°C).
- Fraccionar los medios líquidos en frío y los sólidos en caliente, colocar 15-20 mL de medio de cultivo tubos de ensayo o si se van a utilizar para cajas de Petri.
- Acondicionar los envases para esterilizar con tapones de algodón-gasa envueltos en papel poroso o papel aluminio.
- Esterilizar en autoclave: los medios deben siempre esterilizarse en el día durante 25 minutos y a 121°C.
- Conservar los medios estériles en heladera (4-5°C).

10.1.6.8. Inoculación del hongo

- La inoculación se realiza por inmersión de los hongos en una suspensión de conidios de aproximadamente 1.2x10⁵ conidios. ml⁻¹ para cada aislado.
- Posteriormente, los hongos se dejan reposar sobre el papel absorbente durante una hora en una cabina de flujo laminar vertical.

10.1.6.9. Seguimiento del desarrollo de los micelios del hongo

Este ensayo se repite dos veces bajo las mismas condiciones

10.1.6.10. Aislamiento, siembra e incubación de las muestras

- Se pesará 1 g de sustrato vegetal y se diluirá en 9 ml de agua peptona estéril (10⁻¹), se homogenizó y se dejó reposar un momento para que los sólidos decantaran.

- A partir de esta solución se realizarán dos diluciones más (10^{-2} y 10^{-3}) en agua peptona estéril. Para la siembra se tomará 1 ml de cada dilución y se sembrará cada una en agar nutritivo con ayuda de un asa de Drigalsky.
- Rotule las cajas indicando la fecha y la dilución a la que sembró.
- Finalmente se incubarán las cajas por 24 – 48 horas a 37°C de temperatura (Mendoza & Espinoza, 2017).
- Anotar las observaciones y realice el conteo de colonias.

10.1.6.11 Caracterización de los microorganismos

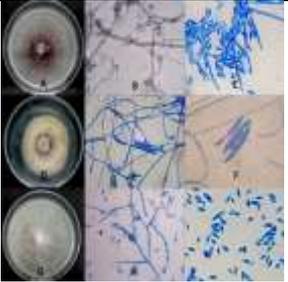
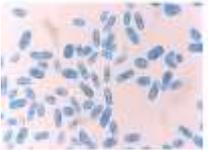
Luego de obtener las colonias de microorganismos en los medios de cultivo en cajas de Petri, se procederá a la caracterización de los mismos.

Se diferenciarán los hongos benéficos de acuerdo a la morfología que presenten en las colonias identificadas.

Para la identificación de hongos se procederá a tomar muestras de micelio con un asa estéril y colocar en un portaobjetos, se añade agua o un colorante diluido para identificar estructuras fúngicas que identifiquen a que clase o familia pertenece con la ayuda de claves de clasificación.

10.1.6.12. Identificación del hongo

Tabla 6. Identificación de hongos.

Nombre.	Examen microscópico	Imagen.
Fusarium sp.	<p>Las esporas del hongo son fácilmente reconocibles al microscopio por su forma de media luna o de canoa</p> <p>Marchitamiento vascular durante el tiempo de evaluación</p> <p>Las blastoconidias son unicelulares y de forma variable y nacen en brotes en los ángulos de las arthroconidias.</p>	
Geotrichum spp	<p>Se observa arthroconidios unicelulares, en cadena, hialinas que resultan de la fragmentación de hifas no diferenciadas por fisión a través de un doble septo, estas estructuras tienen forma rectangular y redondeada en los extremos, semejante a un</p>	

	barril. Carecen de blastoconidias, conidióforos y pseudohifas.	
Cryptococcus neoformans	<p>Levaduras redondas de 7 a 15 μm de diámetro, en algunos casos pueden producir blastoconidias. Su principal característica es la de presentar una cápsula que la circunda, visible al examen directo con la tinta china.</p> <p>Control positivo: Cryptococcus neoformans.</p> <p>Control negativo: Candida albicans.</p>	 

Fuente: (Murray, Candan, & Vázquez, 2019)

10.1.6.13 Claves de identificación

Son numerosos los agentes causales de enfermedades de hongos silvestres en el país. Las principales enfermedades que afectan a este grupo de hongos son:

Tabla 7. Claves de identificación

Identificación	Agente causal
Son de crecimiento rápido, en el período de una semana presentan un color crema o amarillo pálido y bajo y bajo ciertas condiciones adquiere una tonalidad rosa pálido, rojo o púrpura, polvoriento a rugoso. La temperatura óptima de crecimiento en agar papa dextrosa a un 25 °C, la mayoría de las cepas no desarrollan o lo hacen débilmente a 37 °C.	Fusarium spp
Son de rápido desarrollo, liso, plegado, aterciopelado, ceroso, de color blanco – amarillento – crema. La textura plegada es más prominente en el tiempo.	Penicillium digitatum
Son mucoides y brillantes. Sobre el ASD desarrollan un color blanco amarillento, son poco elevadas y de bordes continuos, mientras que sobre el agar niger seed (agar semilla de girasol) desarrollan un color marrón.	Trichosporon spp.

- Fuente: (Murray, Candan, & Vázquez, 2019)

10.1.6.14 Registros.

Los registros de las observaciones microscópicas se deben realizar en una libreta de campo, donde se reportará cada una de las características de los hongos observados, estructura, forma etc.

10.1.6.15. Manejo y gestión de los residuos.

Los desechos no peligrosos serán enviados a una funda negra de basura, mientras que los residuos líquidos si no tienen ningún contaminante deben ser desechados por la coladera. Si algún residuo sea sólido o líquido es toxico o peligroso se deberá proceder de acuerdo a los protocolos establecidos en la grúa de seguridad del laboratorio

10.1.6.16. Bibliografía

Registrar las fuentes bibliográficas citadas, consultadas y revisadas bajo formato de normas APA 7ma edición.

10.1.6.17. Anexo.

Incluir en este apartado información adicional, diagramas de flujo, gráficos, tablas e información indispensable para el desarrollo del ensayo.

11. IMPACTOS

- **TÉCNICO:** Al llevar a cabo la identificación de las especies de hongos en el lugar se obtendrá información sobre la composición de hongos en el recinto los Laureles, para tomar acciones futuras generando un mejoramiento ecológico.
- **SOCIAL:** Establecer la metodología adecuada para así lograr obtener los resultados adecuados para la investigación.
- **AMBIENTAL:** El presente proyecto aporta a la preservación de especies nativas en la zona de estudio.

12. PRESUPUESTO DE LO QUE SE VA A UTILIZAR EN EL PROYECTO

RECURSOS	DESCRIPCIÓN	UNIDADES	V. UNITARIO	V. TOTAL
Humanos.	Investigador	0	\$ -	\$ -
	Tutor	0	\$ -	\$ -
Tecnológicos.	Computadora.	330 h.	\$ 0,75	\$ 247,50
	Flash.	1	\$ 10,00	\$ 10,00
Oficina.	Resma de papel.	2	\$ 3,50	\$ 7,00
	Tinta de impresión	4	\$ 6,00	\$ 24,00
	Carpeta.	5	\$ 0,40	\$ 2,00
	Perforadora.	1	\$ 2,50	\$ 2,50
	Anillados.	2	\$ 5,00	\$ 10,00
	Grapadora.	1	\$ 1,50	\$ 1,50
	Cuaderno.	1	\$ 1,20	\$ 1,20
	Esfero.	3	\$ 0,45	\$ 1,35
	CD	3	\$ 0,50	\$ 1,50
	Copias.	300	\$ 0,05	\$ 15,00
			Subtotal.	\$ 323,55
			Imprevisto 10%	\$ 32,36
			Total.	\$ 355,91

Elaborado: Maldonado, Y. (2020)

Tabla 4. Presupuesto de lo que se utilizara en el proyecto.

Recursos	Cantidad	Unidad	V. Unitario	Valor Total
Materiales de campo				
Transporte	Días	12	\$ 3,00	\$ 36,00
Alimentación	Días	12	\$ 5,00	\$ 60,00
Internet	Plan	1	\$ 20,00	\$ 20,00
Fundas ziploc	Caja	1	\$ 2,00	\$ 2,00
Machete		1	\$ 7,00	\$ 7,00
Guantes	Caja	1	\$ 8,00	\$ 8,00
Pala		1	\$ 25,00	\$ 25,00
Botas	Par	1	\$ 8,00	\$ 8,00
Total				\$ 166,00
Materiales de laboratorio				
Tamices		4	\$ 1,00	\$ 4,00
Nevera		1	\$ 300,00	\$ 300,00
Anaqueles		1	\$ 60,00	\$ 60,00

Bandejas		2	\$ 1,50	\$ 3,00
Frascos contenedores		6	\$ 0,80	\$ 4,80
Placas porta y cubre objetos		6	\$ 1,00	\$ 6,00
Vaso de precipitación		6	\$ 2,00	\$ 12,00
Matraz de Erlenmeyer		4	\$ 4,00	\$ 16,00
Autoclave		1	\$ 350,00	\$ 350,00
Estufa		1	\$ 80,00	\$ 80,00
Microscopio		1	\$ 150,00	\$ 150,00
Estereoscopio		1	\$ 80,00	\$ 80,00
Cajas de Petri	Caja	10	\$ 0,30	\$ 3,00
Tubos de ensayo		10	\$ 1,00	\$ 10,00
Jeringuillas		12	\$ 0,40	\$ 4,80
Tijera		2	\$ 1,00	\$ 2,00
Tubos para centrífuga		5	\$ 15,00	\$ 75,00
Centrífuga		2	\$ 3,00	\$ 6,00
Vidrio reloj		1	\$ 5,00	\$ 5,00
Micropipeta		1	\$ 69,00	\$ 69,00
Papel aluminio		1	\$ 3,00	\$ 3,00
Papel filtro		1	\$ 2,00	\$ 2,00
Computadora		1	\$ 300,00	\$ 300,00
Calculadora		1	\$ 30,00	\$ 30,00
Varilla de vidrio		1	\$ 15,00	\$ 15,00
Vasos de plástico		3	\$ 0,50	\$ 1,50
Turba		1	\$ 38,00	\$ 38,00
Cámara fotográfica		1	\$ 60,00	\$ 60,00
Balanza analítica		1	\$ 30,00	\$ 30,00
Embudo		4	\$ 2,40	\$ 9,60
Total				\$1.738,76
TOTAL, A PAGAR				\$1.904,76

Elaborado: Maldonado, Y. (2020)

13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

De acuerdo a los resultados y a los objetivos propuestos se han llegado a las siguientes conclusiones:

13.1. Conclusiones.

- La información bibliográfica recopilada sobre la metodología y protocolo para la recolección de hongos fue indispensable para la redacción de la fundamentación teórica.
- Se estructuró, redactó la metodología para la recolección de hongos del sustrato vegetal del suelo en el bosque siempre verde pie montano en fases de campo y laboratorio.
- Una vez obtenido los resultados técnicos bibliográficos del estudio se procedió a la redacción de un protocolo de recolección de especies de hongos con el fin de aprovechar de una manera más racional y sostenible los recursos naturales renovables por que representan una fuente innumerable de especies nativas que son aún desconocidas y que pueden proporcionar un valor científico.

13.2. Recomendaciones.

- Se recomienda realizar muestreos de suelo mediante el uso de transectos conociendo si las condiciones del terreno son irregulares.
- Facilitar investigaciones futuras en el campo de la micología con metodologías en fases de campo y laboratorio, para garantizar el aporte de nuevos conocimientos sobre especies de hongos originarios del sustrato vegetal de los bosques siempre verde.
- Utilizar el protocolo presentado en procesos de cultivar, aislar y caracterizar a los hongos pertenecientes al grupo de microorganismos eficientes del sustrato vegetal que se pretendan recolectar

14. BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, M. Z. (2018). *Biodiversidad ecuatoriana...estrategias, herramientas e instrumentos para su manejo y conservación*. Loja-Ecuador: Universidad Nacional de Loja UNI. Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables.
- Alvarado, S. (2008). <https://repositorio.iniap.gob.ec>. Obtenido de <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/2518/1/iniapsc349di.pdf>
- Amaguaña, S. E. (2020). *Implementación de jardines de conservación in situ, en el bosque siempreverde montano bajo de la cordillera occidental de Los Andes (BSBN04), en la parroquia el tingo, cantón Pujili, provincia de Cotopaxi (1400-2000 msnm)*. Latacunga - Ecuador: Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Arenas, R. (1993). *Micología Médica Ilustrada. Clínica, laboratorio y terapéutica. Primera Edición*. . México D.F. 397 pg.: McGraw Hill.
- Arenas, R. (2003). *Micología Médica Ilustrada. Segunda edición*. México D.F. 352 pg.: McGraw Hill.
- Arias, C. E., & Piñeros, E. P. (2008). *Aislamiento e Identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los paramos de Guasca y cruz verde*. Obtenido de Pontifica Universidad Javeriana: <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis226.pdf>
- Asociación Vida Sana. (p. 5-6 de 2015). *Microorganismos del suelo y biofertilización*. Obtenido de Crops for Better Soil” Life 10 ENV ES 471: https://cultivos-tradicionales.com/upload/file/dossier-5_microorganismos-del-suelo-y-biofertilizacion-2.pdf
- Atlas, R., & Bartha, R. (2005). *Ecología microbiana y Microbiología ambiental. 4ta Edición*. . Madrid-España. 677 pg.: Pearson Educación, SA .
- Baquero, F., Sierra, R., Ordoñez, L., Tipán, M., Espinosa, L., Rivera, M. B., & Soria, P. (2004). *LA Vegetación de los Andes del Ecuador. Memoria explicativa de los mapas de vegetación: potencial y remanente a escala 1:250.000 y del modelamiento predictivo con especies indicadoras*. Quito: EcoCiencia/CESLA/Corporación EcoPar/MAG SIGAGRO/CDC - Jatun SachaIDivisión Geográfica - IGM.
- Behar, D. (2008). <http://rdigital.unicv.edu.cv/>. Obtenido de <http://rdigital.unicv.edu.cv/bitstream/123456789/106/3/Libro%20metodologia%20investigacion%20este.pdf>

- Berríos, C., & Gutiérrez, R. (2018). *Manual de Microbiología*. Santiago de Chile: Ediciones UC.
- Brissio, P. (2005). *Evaluación preliminar del estado de contaminación en suelos de la provincia del Neuquén donde se efectúan actividades de explotación hidrocarburífera*. Escuela Superior de Salud y Ambiente Comahue. Obtenido de Universidad Nacional del: <http://www.tesis.bioetica.org/pab4.htm>. (Consulta:7de junio de 2007].
- Burlage, R., Atlas, R., Stahl, O., Geesey, G., & Saylor, G. (1998). *Techniques in Microbial Ecology*. . 239-242 pg.: Oxford University Press. .
- Cabrera, C., & Chitiva, A. (2001). *Aislamiento e Identificación de Hongos Filamentosos del Suelo del Páramo de Guasca (Colombia) en Zona de Vegetación de Frailejones*. *Microbiólogo Industrial* . Bogota O.C. : Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. .
- Camprubí, A., Calvet, C., & Estaún, V. (16 de Mayo de 2003). *Micorrizas arbusculares*. Obtenido de Canales sectoriales: <https://www.interempresas.net/Horticola/Articulos/70971-Micorrizas-arbusculares.html>
- Cano, M. A. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: Micorrizas, *Trichoderma* spp. y *Pseudomonas* spp. *Rev. U.D.C.A Act. & Div. Cient.* , 14(2): 15 - 31.
- Carrillo, L. (2013). *Manual de Microbiología Agrícola*. San Salvador de Jujuy: Editorial Universitaria de Jujuy.
- Casas, G. (1989). *Micología general*. Caracas - Venezuela. 488 pg.: Ediciones de la Biblioteca.
- Castellani, A. (1939). Viability of Some Pathogenic Fungi in Distilled Water. *J. Trop. . Med. Hyg.* , 42:256-226.
- CEPAL. (2012). *Amazonia Posible y Sostenible. La región amazónica*. Obtenido de Patrimonio Natural: https://www.cepal.org/sites/default/files/news/files/folleto_amazonia_posible_y_sostenible.pdf
- Chapuli, P., Jiménez, J., & Rodríguez, R. C. (2019). *Tema 7: Clasificación de los seres vivos. Moneras, Protoctistas y Hongos*. Obtenido de Apuntes Marea Verde: http://www.apuntesmareaverde.org.es/grupos/cn/Temas_1/1_Tema_07_Clasificacion_SSVV.pdf
- Ching, V. L. (2002). *Introducción a la fitopatología. Enfermedades causadas por Ascomycetes y hongos imperfectos*. fitopatología - Agrios.

- Coca Codo Sinclair. (2019). *Flora y fauna representativas de los bosques Piemontano y Montano Bajo del proyecto hidroeléctrico Coca Codo Sinclair*. MECN. Museo Ecuatoriano de Ciencias Naturales. Obtenido en: http://inabio.biodiversidad.gob.ec/wp-content/uploads/2019/02/FLORA_Y_FAUNA_BOSQUES_PIEMONTANO_COCA%20CODOSINCLAIR.pdf.
- Consejería de Medio Ambiente de la Junta de Andalucía. (1999). <https://www.juntadeandalucia.es>. Obtenido de https://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/web/Bloques_Tematicos/Estado_Y_Calidad_De_Los_Recursos_Naturales/Suelo/Criterios_pdf/Muestreo.pdf
- Corredor, I. (2002). *Evaluación del efecto de dos métodos de conservación sobre diferentes microorganismos con interés en control biológico. Microbiólogo Agrícola y veterinaria*. . Bogotá O.C. 134 pg.: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. .
- De la Torre, L., Navarrete, H., Muriel, M. P., Macía, M. J., & Balslev, H. (2008). *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*. Herbario QCA de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Delgado, H. M. (2019). *Los microorganismos del suelo en la nutrición vegetal*. Obtenido de Soluciones con Biotecnología, Asociados con la Vida: https://www.oriusbiootech.com/escrito?nom=Los_microorganismos_del_suelo_en_la_nutrici%C3%B3n_vegetal.#:~:text=Los%20hongos%20movilizan%20nutrientes%20minerales,emitiendo%20sustancias%20que%20los%20inhiben.&text=El%20Aspergillus%20y%20el%20Penicillium,y%20e
- Díaz, N. (2000). *Información Personal. Grupo de investigación en Biotransformación*. Bogotá: Universidad Javeriana.
- Dirección General de Asuntos Ambientales. (2008). *Guía para el muestra y análisis de suelo*. Obtenido de <http://www.mfnem.gob.pe.farchivosfdqaae/legislacion/guias/guiahidroxvii.pdf>.
- Divo, A. (1990). *Microbiología Médica*. México D. F. 446 pg.: Interamericana.
- Domsch, K., Gams, W., & Anderson, T. (1980). *Compendium of Soil Fungi*. Londres 859 p.: Academic Press.
- Esparza, V. C. (2009). *Reducción de Muestras de campo (Cuarteo)*. Obtenido de <https://es.slideshare.net/UCGcertificacionvial/reduccion-de-muestras>

- FAO. (2009). *Monitoreo y Evaluación de los Recursos Forestales Nacionales. Manual para la recolección integrada de datos de campo*. Roma : Versión 2.2. Documento de Trabajo de Monitoreo y Evaluación de los recursos Forestales Nacionales, NFMA 37/S.
- Ferraris, G. (2000). *Muestreo y análisis de suelo*. Facultad de Agronomía UBA. Obtenido de <http://fwww.elsitioagricola.com/articulos/Ferraris/Muestreo%20v%20Analfsis%20de%20Suelo%20%20Punto%20de%20Partida%20hacia%20un%20agnostico%20de%20Fertilidad.asp>.
- Fínch, H., & Finch, A. (1997). *Los hongos comunes que atacan cultivos en América Latina. Segunda Edición*. Trillas: México D.F. 188 pg.
- Franco, J. (2010). *Protocolo de toma de muestras de suelos*. Gobierno de Chile.
- Gamboa, A. M., Heredia, A. G., Reyes, E. M., & De la Rosa, G. S. (2011). *Hongos. Bacterias y hongos microscópicos*. Obtenido de Biodiversidad: <https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Sitios/Biodiversidad/pdfs/Cap4/04%20Bacterias%20y%20hongos.pdf>
- García, L., & Uruburu, F. (Consulta: 13/06/07 de 2000). *Colección Española de Cultivos Tipo (CECT). a conservación de cepas microbianas*. . Obtenido de Universidad de Valencia. Act. SEP.1. .30: 12- 16 : <http://www.cect.org/docs/cons.pdf>.
- García, L., & Verástegui, L. (2001). *Determinación de Metabolitos Secundarios a partir de una cepa Nativa de Aspergillus sp. aislada del Páramo del Tablazo Departamento de Cundinamarca*. Bogotá D.C. 72 pg.: Pontificia Universidad Javeriana.
- Gómez, M. R., Virgen, M. d., Ruiz, L. H., Rodríguez, I. R., Arana, M. L., & García, G. P. (s.f.). *Práctica 1: Normas de bioseguridad y manejo de muestras biológicas, material, equipo y procedimientos*. McGraw Hill. Obtenido de McGraw Hill: <http://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1496§ionid=100109634>
- Google Play. (2018). *GPS Navigator - mapa, gps gratis español*. Obtenido de https://play.google.com/store/apps/details?id=com.gps.route.finder.mobile.location.tracker.maps.navigation&hl=es_EC
- Guzmán, M. (1977). *Micología médica*. Bogotá, Colombia: Instituto Nacional de Salud.
- INEC. (2010). *Resultados Censo 2010 de población y vivienda en el Ecuador: Fascículo provincial Cotopaxi*. Obtenido de Instituto Nacional de Estadística y Censos: <https://www.ecuadorencifras.gob.ec/wp-content/descargas/Manu-lateral/Resultados-provinciales/cotopaxi.pdf>

- INIAP. (2002). *Metodos de Campo. Curso Eco-Suelos: Los secretos de la vida del suelo y su manejo para una agricultura más sostenible*. p.6: INIAP/Estación Experimental Sta. Catalina.
- Instituto Geográfico Nacional. (2010). *Conceptos cartográficos*. España: IGN & UPM-LatinGEO. Obtenido de https://www.ign.es/web/resources/cartografiaEnsenanza/conceptosCarto/descargas/Conceptos_Cartograficos_def.pdf
- Kearney, J. (2005). Guidelines on Processing and Clinical use of Skin Allografts. . *Clinics in Dermatology* , (23):357-364.
- Koneman, E. (1987). *Micología. Tercera edición*. . Buenos Aires.Argentina.70-73 pg.: Médica Panamericana.
- Koneman, E. (2001). *Dagnóstico Microbiológco: texto y atlas color. Editorial Médica Panamericana*. Buenos Aires - Argentina: Bogotá. 1432 pg.
- Koneman, E., & Roberts, G. (1997). *Micología: Práctica de laboratorio*. Buenos Aires, Argentina 221 pg.: Médica Panamericana.
- Kvist, L., Aguirre, Z., & Sánchez, O. (2006). Bosques montanos bajos occidentales en Ecuador y sus planta útiles. *Botánica Económica de los Andes Centrales* , 205 - 223.
- Lagla, T. R. (p.36 de 2017). *Inventario florístico (arbóreo) en el bosque Siempreverde Montano bajo de La Cordillera Occidental de Los Andes, sector la Esperanza, cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi*. Obtenido de Universidad Técnica de Cotopaxi: <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/4280>
- Lagla, T. R. (2017). *Inventario florístico (arbóreo) en el bosque siempreverde montano bajo de la Cordillera Occidental de Los Andes, sector la esperanza, cantón Pujilí, provincia de Cotopaxi*. Latacunga-Ecuador: Universidad Técnica de Cotopaxi.
- López, R. (2002). <http://www.serbi.ula.ve/>. Obtenido de <http://www.serbi.ula.ve/serbiula/libros-electronicos/Libros/degradacion/pfd/librocompleto.pdf>
- Louis, L., & Lim, G. (1988). Effect of Storage of Inoculum on Spore Germination of a Tropical Isolate of *Glomus clarum*. . *Micology* , 80 (2): 157- 161.
- Lucía, D. I., Hugo, N., Muriel, M. P., Macía, M. J., & Balslev, H. (2008). *Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador*. Quito-Ecuador: Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- Maldonado, C. Y. (2020). Cotopaxi.

- Mendoza, R., & Espinoza, A. (2017). <http://repositorio.una.edu.ni>. Obtenido de <http://repositorio.una.edu.ni/3613/1/P33M539.pdf>
- Merck, K. (2007). *Indicaciones generales para el empleo de medios de cultivo deshidratados*. . Obtenido de Darmstadt. Germany.: <http://fwww.merck.de/servlet/PB/menu/1660270/index.html>. [Consulta: 9 de junio de 2007].
- Ministerio de Ambiente del Ecuador. (Quito de 2012). *Sistema de clasificación de los Ecosistemas del Ecuador Continental*. Obtenido de <http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PDOT/NIVEL%20NACIONAL/MAE/ECOSISTEMAS/DOCUMENTOS/Sistema.pdf>
- Ministerio del Ambiente. (2013). *Sistema de Clasificación de los ecosistemas del Ecuador continental*. Quito: Subsecretaría de Patrimonio Natural. Proyecto Mapa de Vegetación. Obtenido en: <http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PDOT/NIVEL%20NACIONAL/MAE/ECOSISTEMAS/DOCUMENTOS/Sistema.pdf>.
- Ministerio del Ambiente. (2015). *Guía para la elaboración de terminos de referencia de estudios de impacto ambiental ex-ante categoría IV: sector hidrocarburos*. Subsecretaría de Calidad Ambiental. Dirección Nacional de Prevención de la Contaminación Ambiental.
- Montaño, N. S., Camargo, S., & Sánchez, J. (2010). Los microorganismos: pequeños gigantes. *Elementos: Ciencia y cultura*, 15 - 23.
- Morales, C., & Guevara, J. B. (2013). *Bosque siempreverde de tierras bajas del Chocó ecuatorial*. Pp. 38–39, en: *Sistema de clasificación de los ecosistemas del Ecuador continental. Proyecto Mapa de Vegetación del Ecuador*, . Quito: Ministerio del Ambiente del Ecuador.
- Mostacedo, B. (2000). *Manual de Métodos Básicos de Muestreo y Análisis en Ecología Vegetal*. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia: Bolfor.
- Mueller, G., Bills, G., & Foster, M. (2004). *Biodiversity of Fungi: inventory and monitoring methods*. . Londres.777 pg.: Elsevier Academic Press. .
- Murray, R., Candan, A. P., & Vázquez, D. (2019). *Manual de poscosecha de frutas*. Buenos Aires: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA.
- Norma Técnica Colombiana NTC 4113-6. (s.f.). *Gestión ambiental. Calidad de suelo. Muestreo. Guía para la recolección, manejo y almacenamiento de suelo para la evaluación de procesos microbianos aeróbicos en el laboratorio*. Bogotá D.C. p.5.

- Ortega, L. (2002). *Determinación de hongos filamentosos asociados a cráneos de colección del instituto Alexander Von Humboldt y evaluación in Vitro de sustancias biocidas para su control*. Bogotá D.C. 74 pg.: Pontificia Universidad Javeriana.
- Paillacho, C. F. (2010). *Evaluación de la efectividad de las micorrizas arbusculares nativas sobre el desarrollo y estado nutritivo del palmito (bactris gasipaes hbk) en etapa de vivero en santo domingo de los Tsáchilas*. p. 22-23. Santo Domingo de los Tsáchilas: Escuela Politécnica del Ejército.
- Pfenning, L. H., & Magalhães, d. A. (p. 247-249 de 2012). *Capítulo 8 Hongos del suelo saprófitos y patógenos de plantas*. Obtenido de <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/667/cap8.pdf>
- Pfenning, L. H., & Magalhães, d. A. (2012). *Capítulo 8 Hongos del suelo saprófitos y patógenos de plantas*. México: Obtenido de <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones2/libros/667/cap8.pdf>.
- Poveda, B. G., & Andrade, G. C. (2018). *Afectación del cambio climático en la captura y comercialización del cangrejo azul (Cardosma Guanhumí) en el Ecuador*. Guayaquil-Ecuador: Universidad de Guayaquil.
- Proaño, B. M. (p. 38-39 de 2015). *Plan de Acción para la Conservación de los Murciélagos del Ecuador*. Obtenido de Pontificia Universidad Católica del Ecuador: http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/9935/Tesis_PlanAccion_MDP.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- PUCE. (2019). *Regiones Naturales*. Obtenido de <https://bioweb.bio/faunaweb/amphibiaweb/RegionesNaturales>
- Ramírez, C. F. (2005). *El muestreo de suelos*. Obtenido de http://www.mag.go.cr/biblioteca_virtual_ciencia/muestreo_suelos.pdf
- Robles, M. G. (2007). *MANUAL DE PROCEDIMIENTOS Y*. Lima: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria INTA.
- Rodríguez, B. (2016). *Acremonium sp*. Obtenido de Atlas de Identificación Micológica: <https://atlasdemicologia.wordpress.com/2016/06/22/acremonium-sp/#:~:text=Caracter%C3%ADsticas%20Macrosc%C3%B3picas%3A,de%20%E2%80%9Cpelos%20de%20rat%C3%B3n%E2%80%9D>.
- Rodríguez, F. (2016). *Procedimiento operativo Recolección de hongos*. Consejo Federal de Inversiones CFI.

- Sarabia, V. G. (2019). *Implementación de jardines de conservación in situ en el (bspn01) bosque siempre verde piemontano de la Cordillera Occidental De Los Andes provincia de Cotopaxi-cantón LA Maná-Recinto los Laureles*. Latacunga – Ecuador: Universidad Técnica de Cotopaxi.
- Tan, C., Van Ingen, W., Talsma, H., Van, J., Steffensen, C., Vlug, H., & Stalpers, A. (1995). Freeze-Drying of Fungi: Influence of Composition and Glass Transition Temperature of the Protectant. *Cryobology*, (32):60-67.
- UNESCO. (2020). *COVID-19 y educación superior: De los efectos inmediatos al día después. Análisis de impactos, respuestas políticas y recomendaciones*. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Educación la Ciencia y la Cultura: <http://www.iesalc.unesco.org/wp-content/uploads/2020/05/COVID-19-ES-130520.pdf>
- Universidad Nacional de Córdoba. (2015). <http://agro.unc.edu.ar>. Obtenido de <http://agro.unc.edu.ar/~microbiologia/wp-content/uploads/2014/04/Guia-de-Trabajos-Practicos.pdf>
- Universidad San Francisco de Quito. (2009). *El clima en el Distrito Metropolitano de Quito*. Obtenido de Atlas ambiental del Distrito Metropolitano de Quito: https://www.usfq.edu.ec/programas_academicos/colegios/cociba/quitoambiente/temas_ambientales/cambio_climatico/Documents/DC2AC1_atlas_ambiental_dmq_clima.pdf
- Universidad Técnica de Cotopaxi. (2020). *Estructura del proyecto de investigación. Proyecto de titulación II*. Latacunga-Ecuador.
- Universidad Univer Colima. (2011). *¿Cómo hacer un Protocolo de Tesis?*
- Valaskova, V., & Balorian, P. (2006). Estimation of bound and free fractions of lignocellulose-degrading enzymes of wood-rotting fungi *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor* and *Piptoporus betulinus*. *Research in Microbiology*, (157):11-124.
- Valer, C. K. (2018). *Contaminación Ambiental / Prevención y Control de la Contaminación Industrial*. Universidad Nacional de Ingeniería. Facultad de Ingeniería Ambiental. Obtenido de <http://fiauni.pe/sitio/wp-content/uploads/2018/10/SA172-HO140-Contaminaci%C3%B3n-Ambiental-Prevenci%C3%B3n-Y-Control-De-La-Contaminaci%C3%B3n-Industrial.pdf>
- Vera, D. (2016). <http://repositorio.espam.edu.ec>. Obtenido de <http://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/279/1/TMA81.pdf>

- Vishno, S., Naidu, J., Singh, S., & Vishno, R. (2005). Pathogenicity of *Curvularia geniculata* (*C. senegalensis*) for albino rats: study of clinical isolate from blood of a cancer patient. *Journal de Mycologie Medicale* , (15):97-102.
- Warcup, J. (1950). *The Soil Plate Method for Isolation of Fungi From soil. Nature 166: 177-118.*

15. ANEXOS

Anexo 1. Aval de Traducción.



Universidad
Técnica de
Cotacachi

CENTRO DE IDIOMAS

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotacachi, en forma legal **CERTIFICO** que: La traducción del resumen del proyecto de investigación al Idioma Inglés presentado por la Seta, Egresada de la Carrera de **INGENIERIA EN MEDIO AMBIENTE** de la **FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES**; **MALDONADO CAMPAÑA YAJAIRA ELIZABETH**, cuyo título versa **"ELABORACIÓN DE UN PROTOCOLO Y METODOLOGÍA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES DE HONGOS EN LA ESTRUCTURA DEL SUSTRATO VEGETAL DEL BOSQUE SIEMPRE VERDE PIE MONTANO (B&P&01) DE LA CORDILLERA OCCIDENTAL DE LOS ANDES EN EL RECINTO LOS LAURELES ENTRE EL CANTÓN PANGUA Y LA MANÁ EN EL PERÍODO 2019 – 2020."**, lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo a la posicionaria hacer uso del presente certificado de la manera que estime conveniente.

Latacunga, septiembre del 2020.

Acentamiento,



Lic. Marcelo Pacheco Mg.
DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 050261735-0



CENTRO
DE IDIOMAS

Anexo 2. Currículo Vitae del Tutor



Universidad
Técnica de
Cotopaxi

Unidad de Administración de Talento Humano



SIITH
Sistema Informático
Integrado de Talento
Humano

FICHA SIITH

Favor ingresar todos los datos solicitados, con absoluta veracidad, esta información es indispensable para el ingreso de los servidores públicos al Sistema Informático Integrado de Talento Humano (SIITH)



DATOS PERSONALES								
NACIONALIDAD	CÉDULA	PASAPORTE	AÑOS DE RESIDENCIA	NOMBRES	APELLIDOS	FECHA DE NACIMIENTO	LIBRETA MILITAR	ESTADO CIVIL
			llene si extranjero					SOLTERA/O
DISCAPACIDAD	N° CARNE CONADIS	TIPO DE DISCAPACIDAD	MODALIDAD DE INGRESO	FECHA DEL PRIMER INGRESO AL SECTOR PÚBLICO	FECHA DE INGRESO A LA INSTITUCIÓN	FECHA DE INGRESO AL PUESTO	GENERO	TIPO DE SANGRE
MODALIDAD DE INGRESO LA INSTITUCIÓN			FECHA INICIO	FECHA FIN	Mº CONTRATO	CARGO	UNIDAD ADMINISTRATIVA	
ejemplo: NOMBRAMIENTO			13/01/2017				FACULTAD - CAREN	
TELÉFONOS		DIRECCIÓN DOMICILIARIA PERMANETE						
TELÉFONO DOMICILIO	TELÉFONO CELULAR	CALLE PRINCIPAL	CALLE SECUNDARIA	N°	REFERENCIA	PROVINCIA	CANTÓN	PARROQUIA
03- 2 886135	09 99827814	QUITO	SUCRE	51 - 119	CERCA - COLEGIO FERNANDO ORTIZ CRISPO	PICHINCHA	QUITO	ZAMBELA
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL				AUTOIDENTIFICACIÓN ÉTNICA				
TELÉFONO DEL TRABAJO	EXTENSIÓN	CORREO ELECTRÓNICO INSTITUCIONAL	CORREO ELECTRÓNICO PERSONAL	AUTOIDENTIFICACIÓN ÉTNICA	ESPECIFIQUE NACIONALIDAD INDÍGENA	ESPECIFIQUE SI SELECCIONÓ OTRA		
03) 2252346	300	jaime.lemma@utc.edu.ec	jaimelenna@yahoo.es	MESTIZO		No		
CONTACTO DE EMERGENCIA				DECLARACIÓN JURAMENTADA DE BIENES				
TELÉFONO DOMICILIO	TELÉFONO CELULAR	NOMBRES	APELLIDOS	Nº. DE NOTARIA	LUGAR DE NOTARIA	FECHA		
02 - 2886 115	0 97935978	MÓNICA PATRICIA	TUPIZA COBACANGO					
INFORMACIÓN BANCARIA				DATOS DEL CONYUGE O CONVIVIENTE				
NÚMERO DE CUENTA	TIPO DE CUENTA	INSTITUCIÓN FINANCIERA	APELLIDOS	NOMBRES	Nº. DE CÉDULA	TIPO DE RELACIÓN	TRABAJO	
3016221100	AHORRO	BANCO DEL PICHINCHA	TUPIZA COBACANGO	MÓNICA PATRICIA	1737708877	CONYUGE	ESTUDIANTE	
INFORMACIÓN DE HIJOS				FAMILIARES CON DISCAPACIDAD				
Nº. DE CÉDULA	FECHA DE NACIMIENTO	NOMBRES	APELLIDOS	NIVEL DE INSTRUCCIÓN	PARENTESCO	N° CARNE CONADIS	TIPO DE DISCAPACIDAD	
175279636-5	18/01/2007	TANIA ESMERALDA	LEMA TUPIZA	EDUCACIÓN BÁSICA (3ER CURSO)				
175789733-3	25/01/2017	SOL MONSERRAT	LEMA TUPIZA	SIN INSTRUCCIÓN				
FORMACIÓN ACADÉMICA								
NIVEL DE INSTRUCCIÓN	Nº. DE REGISTRO (SENESCYT)	INSTITUCIÓN EDUCATIVA	TÍTULO OBTENIDO	EGRESADO	AREA DE CONOCIMIENTO	PERIODOS APROBADOS	TIPO DE PERIODO	PAIS
4TO NIVEL - MAESTRÍA	3005-14-88049002	UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR	MAGISTER EN EDUCACIÓN AMBIENTAL		SERVICIO			ECUADOR
TERCER NIVEL	3005-06-677229	UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR	LICENCIADO EN TURISMO ECOLÓGICO		SERVICIO			ECUADOR

ESPACIO EN BLANCO PA

AREA PERFORAR

EVENTOS DE CAPACITACIÓN							
TIPO	NOMBRE DEL EVENTO (TEMA)	EMPRESA / INSTITUCIÓN QUE ORGANIZA EL EVENTO	DURACIÓN HORAS	TIPO DE CERTIFICADO	FECHA DE INICIO	FECHA DE FIN	PAÍS
CONGRESO	IV CONGRESO INTERNACIONAL DE CIENCIA TECNOLOGÍA INNOVACIÓN Y EMPRENDIMIENTO	UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR	40	APROBACIÓN	05-jul-17	07-jul-17	ECUADOR
TALLER	I TALLER DE BANCOS DE GERMOPLASMA VEGETAL	MINISTERIO DEL AMBIENTE	16	APROBACIÓN	28/09/2016	29/09/2017	ECUADOR
SEMINARIO	SEMINARIO DE CAPACITACIÓN EN CALIDAD AMBIENTAL	CONGOFE	8	APROBACIÓN	15/09/2016	15/09/2016	ECUADOR
SEMINARIO	SEMINARIO DE AGROFORESTERIA	UTC - EXTENSIÓN DE LA MANA	40	APROBACIÓN	18/06/2015	26/06/2015	ECUADOR
CONFERENCIA	I CONFERENCIA DE MEDICINA TRADICIONAL	GAD MUNICIPAL LA MANA	8	APROBACIÓN	01/05/2015	01/05/2015	ECUADOR
SEMINARIO	SEMINARIO DE AGROBIOTECNOLOGÍA EMPLEO DE ROZ	UTC - EXTENSIÓN DE LA MANA	40	APROBACIÓN	10/12/2014	120/12/2014	ECUADOR
ENCUENTRO	MOODLE DAY	ESCUELA POLITÉCNICA NACOR	8	APROBACIÓN	27/06/2014	28/06/2014	ECUADOR
SEMINARIO	SEMINARIO DE CONSERVACIÓN DE SUELOS	UNIVERSIDAD TÉCNICA DE CO	40	APROBACIÓN	01/12/2014	07/12/2014	ECUADOR
DISERTACIÓN	CHARLAS ESPECIALIZADAS SOBRE EL AMBIENTE	FUNDACIÓN HERPETOLOGICA	8	APROBACIÓN	13/06/2013	13/06/2013	ECUADOR
TRAYECTORIA LABORAL RELACIONADA AL PUESTO							
NOMBRE DE LA INSTITUCIÓN / ORGANIZACIÓN	UNIDAD ADMINISTRATIVA (DEPARTAMENTO / ÁREA / DIRECCIÓN)	DEROMINACIÓN DEL PUESTO	TIPO DE INSTITUCIÓN	FECHA DE INGRESO	FECHA DE SALIDA		MOTIVO DE SALIDA
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI	FACULTAD DE CAREN - IMAN	DOCENTE	PÚBLICA OTRA	13/01/2017			NOMBRAMIENTO PERMANENTE
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI	FACULTAD DE CAREN - IMAN	DOCENTE	PÚBLICA OTRA	01/01/2016	30/09/2016		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI	FACULTAD DE CAREN - LA MANA	COORDINADOR CARRERA ECO	PÚBLICA OTRA	01/10/2015	30/12/2016		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA	NIVELACIÓN	DOCENTE	PÚBLICA OTRA	25/06/2014	09/09/2014		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
ENERGY & ENVIRONMENTAL CIA. LTDA.	CONSULTORIA AMBIENTAL Y ENERGIA	CONSULTOR AMBIENTAL	PRIVADA	01/01/2008	30/09/2014		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
GREEN DEL MANEJO AMBIENTAL	CONSULTORIA AMBIENTAL	CONSULTOR AMBIENTAL	PRIVADA	01/01/2011	30/09/2014		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
CORPORACIÓN SEGURIDAD & AMBIENTE CORPOYANAPANA S.A.	CONSULTORIA AMBIENTAL	CONSULTOR AMBIENTAL	PRIVADA	01/01/2011	30/09/2014		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
OPERADORA OMF	INSTRUCTOR POR COMPETENCIAS L	INSTRUCTOR AMBIENTAL	PRIVADA	01/01/2011	30/09/2014		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR	COORDINADOR EDUCACIÓN A DISTAN	COORDINADOR	PÚBLICA OTRA	01/01/2006	30/12/20199		CONTRATO SERVICIOS OCASIONALES
MISIÓN DEL PUESTO							
ACTIVIDADES ESCENCIALES							

* Adjuntar historial laboral del IESS hoja resumen

* Todos la información registrada en el presente formulario debe constar en el expediente personal del archivo que maneja la Dirección de Talento Humano


 FIRMA

Anexo 3. Currículo Vitae del Estudiante**HOJA DE VIDA****I. DATOS PERSONALES.**

NOMBRES: Yajaira Elizabeth.

APELLIDOS: Maldonado Campaña.

LUGAR DE NACIMIENTO: Sigchos– Ecuador.

CÉDULA DE CIUDADANÍA: 050376075-3.

FECHA DE NACIMIENTO: 01 de octubre de 1996.

EDAD: 24 años.

ESTADO CIVIL: Soltera.

CIUDAD DOMICILIARIA: Sigchos

DIRECCIÓN: Barrio 24 de Mayo

TELÉFONO FIJO: (03) 281-18182

CELULAR: 0989523210

E-MAIL: yajaira.maldonado@utc.edu.ec

**II. DATOS DE INSTRUCCIÓN.**

ESTUDIOS PRIMARIOS:

“Escuela Manuel Cuello Peñaherrera.”

“Escuela Doctor Cesar Suarez.”

ESTUDIOS SECUNDARIOS:

“Unidad Educativa Juan Montalvo Fiallos”

Títulos: Bachiller en Ciencias

ESTUDIOS UNIVERSITARIOS:

Universidad Técnica de Cotopaxi (2015 – 2020)

Título: Cursando el Décimo Ciclo de la Carrera de Ingeniería en Medio Ambiente

Suficiencia en el Idioma inglés, en la Universidad Técnica de Cotopaxi U.T.C.

Anexo 4. Hoja de campo

localidad_____

Lugar_____

Fecha_____

N ^a	Familia	Nombre científico	Nombre Vulgar	DAP	Observaciones	Coordenadas X	Coordenadas Y

Anexo 6. Perfil del suelo

El suelo



Figura 2: Perfil del suelo

Fuente: Delgado, 2001

Anexo 7. Textura y Estructura del Suelo



Figura 3: Triangulo de texturas a partir del cual se obtienen los nombres de las clases de las texturas.

Fuente Alexander, 1980

Anexo 8. Especies de hongos micorrícicos arbusculares

Aspergillus sp.

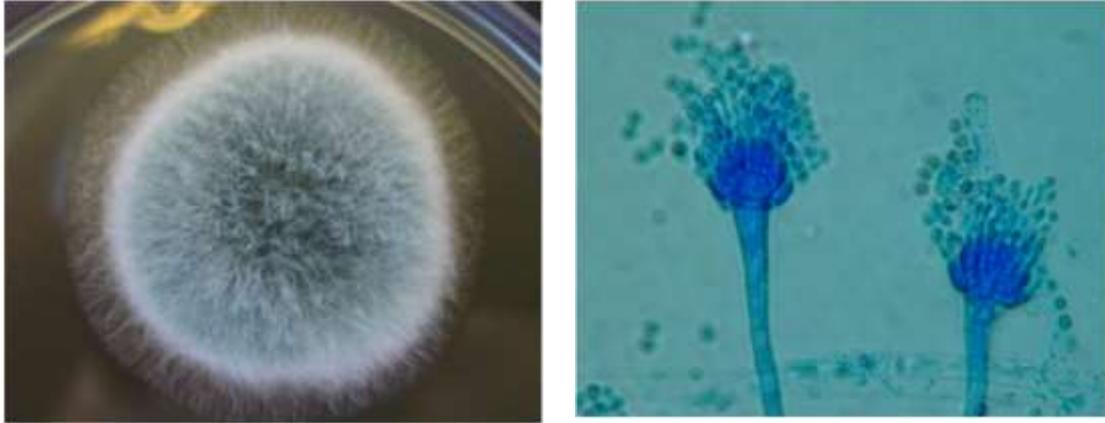


Figura 4: Características macroscópicas de *Aspergillus fumigatus*
Fuente: Pitt, 1998

Penicillium sp.

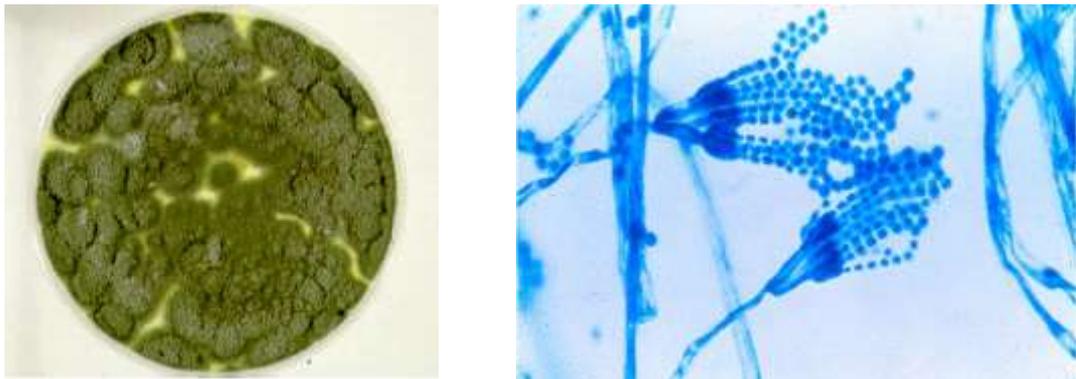


Figura 5: Características macroscópicas de *Penicillium sp*
Fuente: Salfelder, 2000

Acremonium sp.



Figura 6: Características macroscópicas de
Acremonium falciforme
Fuente: Ellis y Hermanis, 2003

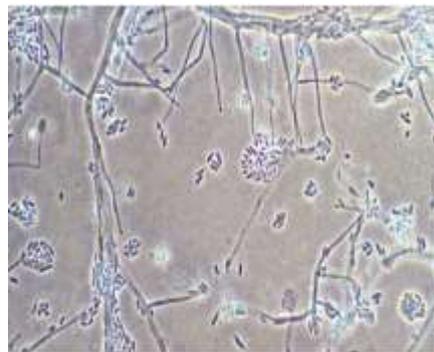


Figura 7: Características macroscópicas de
Acremonium sp
Fuente: Ellis y Hermanis, 2003

Fusarium sp.

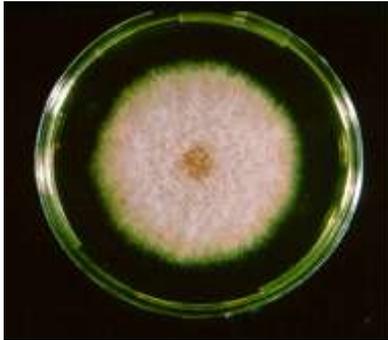


Figura 8: Características macroscópicas de *Fusarium sp*

Fuente: Universidad de Adelaide, 2006



Figura 9: Características macroscópicas de *Fusarium solani*

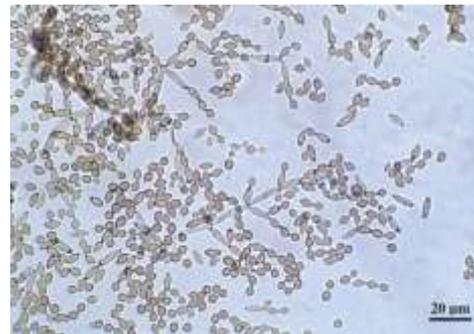
Fuente: Universidad de Adelaide, 2006

Cladosporium sp.



Figura 10: Características macroscópicas de *Cladosporium cladosporioides*

Fuente: Universidad de Adelaide, 2006



Trichoderma sp.



Figura 11: Características macroscópicas de *Trichoderma sp*

Fuente: Universidad de Adelaide, 2006



Figura 12: Características macroscópicas de *Trichoderma harzianum*

Fuente: Universidad de Adelaide, 2006