



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**  
**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y**  
**RECURSOS NATURALES**  
**CARRERA DE INGENIERÍA EN MEDIO AMBIENTE**

**TESIS DE GRADO**

**TEMA.**

“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS BENÉFICAS MEDIANTE CULTIVOS MICROBIOLÓGICOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN EL SECTOR LA CALZADA (HUMEDAL) DEL CANTÓN SAQUISILÍ, PROVINCIA DE COTOPAXI, 2013”

**Trabajo de investigación previo a la obtención de Título de Ingeniero en Medio Ambiente**

**Autor:** Luis Javier Puruncajas Viera

**Directora:** Ing. Ivonne Endara Campaña

**Latacunga - Ecuador**

**Diciembre 2013**

## **DECLARACIÓN DE AUTORÍA**

Yo, **PURUNCAJAS VIERA LUIS JAVIER**; declaro bajo juramento que el trabajo descrito es de mi autoría, que no ha sido previamente presentada en ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento. A través de la presente declaración cedo mi derecho de propiedad intelectual correspondiente a lo desarrollado en este trabajo, a la UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI, según lo establecido por la ley de la propiedad intelectual, por su reglamento y por su normativa institucional vigente.

### **POSTULANTE:**

-----

Puruncajas Viera Luis Javier.

C.I. 0503122467

## **AVAL DEL DIRECTOR DE TESIS**

Yo, Ing. Ivonne Endara Campaña, Docente de la Universidad Técnica de Cotopaxi y Directora de la presente Tesis de Grado: “**IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS BENÉFICAS MEDIANTE CULTIVOS MICROBIOLÓGICOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN EL SECTOR LA CALZADA (HUMEDAL) DEL CANTÓN SAQUISILÍ, PROVINCIA DE COTOPAXI, 2013**”.

De autoría del señor Luis Javier Puruncajas Viera de la especialidad de Ingeniería en Medio Ambiente.

**CERTIFICO:** Que ha sido prolijamente realizada las correcciones emitidas por el Tribunal de Tesis. Por tanto Autorizo la presentación de este empastado; mismo que está de acuerdo a las normas establecidas en el **REGLAMENTO INTERNO DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI**, vigente.

-----  
Ing. Ivonne Endara Campaña.

**DIRECTORA DE TESIS**



**“UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI”**

**UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y  
RECURSOS NATURALES**

**LATACUNGA-COTOPAXI-ECUADOR**

## **CERTIFICACIÓN**

En calidad de miembros del tribunal para el acto de Defensa de Tesis del Sr. postulante: **Puruncajas Viera Luis Javier** con el tema: **“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS BENÉFICAS MEDIANTE CULTIVOS MICROBIOLÓGICOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN EL SECTOR LA CALZADA (HUMEDAL) DEL CANTÓN SAQUISILÍ, PROVINCIA DE COTOPAXI, 2013”**, se emitieron algunas sugerencias, mismas que han sido ejecutado a entera satisfacción, por lo que autorizamos a continuar con el trámite correspondiente.

-----  
Msc. Patricio Clavijo

**Presidente del Tribunal**

-----  
Ing. Adán Herrera

**Miembro del Tribunal**

-----  
Ing. Eduardo Cajas

**Opositor del Tribunal**

## **CERTIFICACIÓN SUMMARY**

Yo, **Lic. Patricia Marcela Chacón Porras** con cédula de identidad N° **0502211196** en mi calidad de profesora del idioma inglés de la Universidad Técnica de Cotopaxi, certifico haber revisado el resumen de la tesis de Luis Javier Puruncajas Viera, egresado de la Unidad Académica en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, carrera de Ingeniería de Medio Ambiente de la Universidad Técnica de Cotopaxi. Dejando el contenido bien estructurado y libre de errores.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, el interesado puede hacer uso del presente documento como crea conveniente.

Lo certifico:

-----

**Licda. Patricia Marcela Chacón Porras**

**CI. N° 0502211196**

## **AGRADECIMIENTO**

La gratitud es un valor imborrable de los seres humanos, por ello dejo constancia de mi sentida gratitud a la Universidad Técnica de Cotopaxi, noble institución que ha formado muchos profesionales idóneos, los cuales están contribuyendo al desarrollo de nuestra patria.

A los maestros forjadores del cambio y la transformación social.

A la ingeniera Ivonne Endara directora de tesis.

Un agradecimiento especial al Ingeniero Vladimir Ortiz, dilecto maestro, compañero y amigo, quien con sus sabios conocimientos y con ese espíritu altruista supo ayudarme y guiarme para terminar mis estudios profesionales.

## DEDICATORIA

*Luis Santiago Puruncajas Falconí.*

*Cuanto habría dado porque por siempre y para siempre estés conmigo.*

*Ángel mío que desde el cielo vigilando estas, llenándome de fuerzas quiero dedicarte la razón de tu partida.*

*Los esfuerzos serán reflejados en ti, mi vida por tu recuerdo no morirá jamás.*

*Santy hermano, compañero, amigo, siempre permanecerás aquí. 20/01/13*

# ÍNDICE GENERAL

<b>Contenido</b>	<b>Pág.</b>
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT.....	xvi
INTRODUCCIÓN .....	1
I. OBJETIVOS .....	3
OBJETIVO GENERAL.....	3
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
CAPITULO I	
1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	4
1. 1. Antecedentes .....	4
1.2. Marco teórico .....	7
1.2.1. <i>Humedales</i> .....	7
1.2.2. <i>Aguas Residuales</i> .....	8
1.2.3 <i>Tratamiento de aguas residuales</i> .....	13
1.2.3.1 <i>Tratamiento biológico</i> .....	13
1.2.4. <i>Microorganismos utilizados en el tratamiento de aguas residuales</i> .....	15
1.2.4.1 <i>Microorganismos importantes en el tratamiento de aguas residuales</i> .....	16
1.2.4.2. <i>Células eucariotas y procariotas</i> .....	16
1.2.4.3. <i>Microorganismos presentes en aguas residuales</i> .....	17
1.2.4.4. <i>Taxonomía bacteriana</i> .....	19
1.2.4.5. <i>Tipos de bacterias remediadoras</i> .....	20
1.2.4.6. <i>Bacterias remediadoras</i> .....	21
1.2.5. <i>Métodos microbiológicos</i> .....	22
1.2.5.1. <i>Factores de crecimiento bacteriano</i> .....	22

1.2.5.2. <i>Destrucción de bacterias</i> .....	23
1.2.5.3. <i>Metabolismo bacteriano</i> .....	23
1.2.5.4. <i>Sistemas aerobios</i> .....	24
1.2.5.5. <i>Sistemas anaerobios</i> .....	25
1.2.6. <i>Medios de cultivo</i> .....	25
1.2.6.2. <i>Tipos químicos y físicos de medios de cultivo</i> .....	30
1.2.6.3. <i>Tipos funcionales de medios de cultivo</i> .....	30
1.2.6.4. <i>Aislamiento de cultivos puros</i> .....	30
1.2.6.5. <i>Enriquecimiento y aislamiento de cultivos puros</i> .....	33
1.2.6.6. <i>Identificación Microbiana</i> .....	33
1.2.7. <i>Aspectos legales</i> .....	41
<b>CAPITULO II</b>	
2. <i>DESARROLLO METODOLÓGICO</i> .....	43
2.1. <i>Descripción del área de estudio</i> .....	43
2.1.1. <i>Delimitación</i> .....	43
2.1.2. <i>Diagnóstico del sistema ecológico ambiental</i> .....	43
2.1.2.1. <i>Clima</i> .....	43
2.1.2.2. <i>Clima ecuatorial de alta montaña</i> .....	44
2.1.2.3. <i>Clima ecuatorial mesotérmico semi-húmedo</i> .....	44
2.1.2.4. <i>Clima ecuatorial mesotérmico seco</i> .....	45
2.1.2.5. <i>Temperatura</i> .....	45
2.1.2.6. <i>Precipitaciones</i> .....	45
2.1.2.7. <i>Aire</i> .....	46
2.1.2.8. <i>Hidrología</i> .....	46
2.1.2.8.1. <i>Sistema hídrico (cuencas, subcuencas y microcuencas)</i> .....	46
2.1.2.8.2. <i>Cuencas hidrográficas</i> .....	46

2.1.2.8.3. Subcuencas hidrográficas .....	47
2.1.2.8.4. Micro cuencas hidrográficas .....	47
2.1.2.8.5. Red hídrica y orden fluvial Strahler .....	48
2.1.3. Clasificación de pendientes.....	49
2.1.3.1. Modelo altitudinal.....	50
2.1.3.2. Montano alto .....	50
2.1.3.3. Páramo.....	51
2.1.4. Susceptibilidad a la erosión .....	51
2.1.5. Suelos .....	51
2.1.6. Características del sector el calzado (humedal) del cantón Saquisilí.....	54
2.2. MÉTODOS .....	56
2.2.1. Tipo de Investigación .....	56
2.2.2. Metodología .....	56
2.2.2.1. Toma de muestras .....	56
2.2.2.2. Número de muestras.....	57
2.2.2.3. Manejo y conservación .....	58
2.2.2.3.1. Recipientes .....	58
2.2.2.3.1.1. Preparación de recipientes .....	58
2.2.2.3.1.2. Llenado de recipientes .....	58
2.2.2.4. Identificación de muestras .....	59
2.2.2.5. Transporte de muestras.....	59
2.2.2.6. Recepción de muestras en el laboratorio.....	59
2.2.3. Unidad de Estudio.....	60
2.2.3.1. Muestra .....	60
2.2.4. Métodos y Técnicas a ser empleadas .....	61

## CAPITULO III

3.2. <i>Introducción</i> .....	62
3.3. <i>Objetivo de la propuesta</i> .....	64
3.4. <i>Justificación de la propuesta</i> .....	64
3.5. <i>Desarrollo de la propuesta</i> .....	65
3.5.1 <i>Procedimiento realizado en el laboratorio</i> .....	65
3.5.1.1. <i>Material de laboratorio</i> .....	65
3.5.2. <i>Preparación del material de vidrio y medio de cultivo</i> .....	70
3.5.3. <i>Preparación de las cajas de Petri y tubos con medios de cultivo</i> .....	70
3.5.4. <i>Preparación de los diferentes tipos de agar: Agar Sangre y Agar MacConkey</i> .....	71
3.5.5. <i>Preparación de los diferentes tipos de Agar Biggy y Agar Sabouraud</i> .....	72
3.6. <i>Procedimiento</i> .....	73
3.6.1 <i>Pruebas bioquímicas de identificación</i> .....	74
3.6.1.1. <i>Interpretación de los resultados</i> .....	76
3.6.2. <i>Acinetobacter</i> .....	80
3.6.3. <i>Escherichia coli</i> .....	81
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
<i>CONCLUSIONES</i> .....	82
<i>RECOMENDACIONES</i> .....	84
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	
<i>LIBROS</i> .....	86
<i>TESIS PUBLICADAS</i> .....	88
<i>LEGISLACIÓN</i> .....	89
<i>LINCOGRAFÍAS</i> .....	90
<i>ANEXOS Y GRÁFICOS</i> .....	92 - 95

## Índice de Tablas

Tabla 1. Efectos causados por los contaminantes en las aguas residuales. ....	11
Tabla 2. Tratamiento, reúso del agua. ....	15
Tabla 3. Clasificación simplificada de microorganismos. ....	17
Tabla 4. Formas de bacterias. ....	18
Tabla 5. Categorías taxonómicas. ....	20
Tabla 6. Tipos de medio de cultivo. ....	26
Tabla 7. Definición de pruebas de identificación bacteriana. ....	37
Tabla 8. Rango de pendientes. ....	49
Tabla 9. Pruebas bioquímicas utilizadas en la identificación de las bacterias Acinetobacter y Escherichia coli. ....	75
Tabla 10. Resultado microbiológico Acinetobacter y Escherichia coli .....	79

## Índice de Imágenes

Imagen 1. Diversidad de formas bacteriana. ....	21
Imagen 2. Siembra por extensión. ....	31
Imagen 3. Siembra por estrías. ....	32
Imagen 4. Siembra en profundidad. ....	33
Imagen 5. Muestreo y recolección de muestras: ....	57
Imagen 6. Área de estudio. ....	60
Imagen 7. Agar Sangre, Agar MacConkey. ....	72
Imagen 8. Pico de flauta. ....	73
Imagen 9 . Técnica inocular realizando siembra a partir del cultivo de microorganismos en estudio. Incubación a 37° C por 24 horas. ....	78

## Índice de Figuras

Figura 1. Descomposición aerobia. ....	24
Figura 2. Descomposición anaerobia. ....	25

## **TEMA DE TESIS.**

### **“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS BENÉFICAS MEDIANTE CULTIVOS MICROBIOLÓGICOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES EN EL SECTOR LA CALZADA (HUMEDAL) DEL CANTÓN SAQUISILÍ, PROVINCIA DE COTOPAXI, 2013”.**

**AUTOR:** LUIS JAVIER PURUNCAJAS VIERA.

**DIRECTORA:** ING. IVONNE ENDARA CAMPAÑA.

## **RESUMEN**

El presente trabajo establece la identificación de las bacterias benéficas existentes en el sector La Calzada. Es así que se realizó un muestreo en forma sistemática, cubriendo la totalidad del área del cual se tomó un número representativo de muestras en diferentes partes del humedal y a diversas profundidades. Fundamentalmente por las condiciones aerobias y anaerobias que posee un ecosistema y sobre las cuales se desarrollan los microorganismos.

En este estudio se manejaron variedad de métodos: analítico, el científico y de campo. Es así que el método analítico, se utilizó en el laboratorio para identificar taxonómica a las bacterias y para determinar la densidad y sus aplicaciones, mientras que el método científico permitió justificar si la presunción planteada es verdadera.

La investigación se efectuó en el humedal denominado La Calzada, ubicado en el nororiente del cantón Saquisilí, tiene un área aproximada de 10000 m<sup>2</sup>. Se realizó

en el campo y laboratorio, en la fase de campo se tomaron 5 muestras de agua, de acuerdo a lo señalado en las recomendaciones técnicas establecidas según la norma NTE INEN 2 169:98. La finalidad perseguida al establecer estas recomendaciones, es la de proporcionar una metodología de toma de muestras que garanticen su representatividad, así como su conservación en las condiciones más adecuadas durante el tiempo transcurrido entre la toma y el análisis por el laboratorio.

Se ejecutó in situ, en diversos sitios de muestreo y a varias profundidades para la determinación de los parámetros biológicos. Para la determinación biológica se extrajeron muestras de 120 ml de un total de 150 ml de agua del frasco, que fueron envasadas en recipientes de plástico y debidamente conservadas.

Mediante estudios de las aguas residuales en el sector La Calzada (humedal) del cantón Saquisilí, realizados en el laboratorio microbiológico, se determinó la actividad máxima específica de microorganismos, entre ellos destacándose las bacterias *Acinetobacter* y *Escherichia coli*, en donde se estableció un proceso biológico adecuado para el tratamiento de aguas residuales contaminadas con altas concentraciones de materia orgánica.

## **TOPIC OF THESIS**

**“IDENTIFICATION OF BENEFICIAL BACTERIA THROUGH MICROBIOLOGICAL CULTURE FOR THE TREATMENT OF WASTEWATER IN “LA CALZADA” SECTOR (WETLAND) SAQUISILÍ TOWN , COTOPAXI PROVINCE , 2013 ”.**

**AUTHOR:** LUIS JAVIER PURUNCAJAS VIERA.

**DIRECTRESS:** ENGINEER IVONNE ENDARA CAMPAÑA.

## **ABSTRACT**

This study establishes the identification of beneficial bacteria which are in the “La Calzada” sector. Thus, a sample was done systematically, covering the entire area which took a representative number of samples in different parts of the wetland and at various depths. Basically, it determines the aerobic and the anaerobic conditions of an ecosystem under which microorganisms grow up.

In this study a variety of methods were employed such as : The analytical, the scientific and the field one; Thus, the analytical method was used in the laboratory to identify the taxonomic in the bacteria and to determine the density and its applications, while the scientific method allowed justify whether the presumption raised is true.

The research was conducted in the wetland named “La Calzada”, located in the northeastern Saquisilí town, it has an approximate area of 10000 m<sup>2</sup>. It was conducted in the field and laboratory, in the field phase it was taken 5 samples of water, according to the recommendations established under the standard techniques NTE INEN 2 169:98. The objective of the group in establishing these guidelines is to provide a convenience sampling methodology to ensure its representativeness, and its retention in the most appropriate state during the time between collection and the laboratory analysis.

It was executed in situ, at various sampling sites and at various depths to determine biological parameters. A total of 120 ml samples were extracted from a total of 150 ml bottles for the biological determination, which were packed in plastic containers and properly maintained.

Through studies of wastewater in “La Calzada” sector (wetland) Saquisilí town, made in the microbiological laboratory, we determined the maximum specific activity of microorganisms, highlighting among them the bacteria called *Acinetobacter* and *Escherichia coli*, which established a biological process suitable for treating wastewater contaminated with high concentrations of organic matter.

# INTRODUCCIÓN

El tratamiento de aguas residuales, es un proceso de tratamiento que incorpora transformaciones físicas, químicas y biológicas del agua, efluente del uso humano. El objetivo del procedimiento es la identificación de bacterias benéficas mediante cultivos microbiológicos para el tratamiento de aguas residuales en el sector La Calzada (humedal) del cantón Saquisilí, provincia de Cotopaxi.

Las aguas están constituidas fundamentalmente por las aguas de abastecimiento después de haber pasado por las diversas actividades o usos por parte de la población y son generadas por residencias, instituciones y locales comerciales e industriales.

Si estas aguas no se manejan adecuadamente generan impactos ambientales adversos y diversos en el medio ambiente y por esto es que es muy importante cumplir con las exigencias de la normatividad.

En el Capítulo I se hace referencia a la puntuación teórica que vigoriza la investigación el mismo que está estructurado por categorías fundamentales tales como: humedales, tratamiento de aguas residuales, bacterias, uso de las bacterias, cultivo y manejo de bacterias residuales, aspectos legales.

En el Capítulo II se establecen las metodologías a utilizar las mismas que servirán de apoyo para la orientación metodológica, sistemática, relacionada y lógica que llevará la investigación con el fin de encontrar el camino, las herramientas y dirección

metodológica propicia para desarrollar la propuesta, además se indican las expresiones cualitativas y cuantitativas de los resultados para su respectivo análisis.

En su Capítulo III se propone identificar las bacterias benéficas existentes en el sector La Calzada (humedal), para su aplicación en el tratamiento de aguas residuales y disminuir el índice de contaminación en el cantón Saquisilí provincia de Cotopaxi.

## **I. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Identificar bacterias benéficas mediante cultivos microbiológicos para el tratamiento de aguas residuales en el sector La Calzada (humedal) del Cantón Saquisilí, Provincia de Cotopaxi.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Determinar los problemas de la contaminación ambiental de las aguas y su tratamiento con la utilización de bacterias benéficas en el sector La Calzada (humedal) del cantón Saquisilí provincia de Cotopaxi.
2. Establecer los métodos y técnicas para la identificación de bacterias mediante cultivos microbiológicos, en ensayos de laboratorio.
3. Identificar las bacterias benéficas existentes en el sector La Calzada (humedal), para su aplicación en el tratamiento de aguas residuales y disminuir el índice de contaminación.

# CAPITULO I

## 1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

### 1. 1. Antecedentes

HERWOOD M, LINDA. (2008) *“Microbiología es el estudio de los organismos microscópicos, deriva de tres palabras griegas: micros (pequeño) bios (vida) y logos (ciencia) que conjuntamente significan el estudio de la vida microscópica”* (p 6).

Las primeras bacterias fueron observadas por Antón Van Leeuwenhoek en 1683 usando un microscopio de lente simple diseñado por él mismo. Inicialmente las denominó animálculos.

Louis Pasteur demostró en 1859 que los procesos de fermentación eran causados por el crecimiento de microorganismos.

Pasteur, al igual que su contemporáneo y colega Robert Koch, fue uno de los primeros defensores de la teoría germinal de las enfermedades infecciosas.

Robert Koch fue pionero en la microbiología médica, trabajando con diferentes enfermedades infecciosas, como el cólera, el carbunco y la tuberculosis. Koch logró probar la teoría germinal de las enfermedades infecciosas tras sus investigaciones en tuberculosis. ADRIAN N. C. DELAAT (1968).

K. PIATKIN (2008). La microbiología es una ciencia biológica que estudia la estructura, fisiología, genética ecología y las aplicaciones socioeconómicas de los microorganismos. Es decir, de aquellos seres vivos comprendidos en los reinos Fungí (hongos), Protista y Mónera (bacterias), incluyendo a los virus y a otros organismos moleculares.

La microbiología en la actualidad es una ciencia especializada y exacta que con el tiempo se ha hecho indispensable para la industria y para la calidad de nuestra vida.

MUJERIEGO (1990) *“Una agua residual puede definirse como un residuo líquido recogido mediante la red de alcantarillado para su envío a una planta depurada.”* (p1).

Las aguas residuales pueden ser clasificadas en domésticas o urbanas, industriales, agropecuarias, de origen controladas (vertidos ilegales, infiltraciones) y pluviales.

CHRISTENSSON, 1997 (p 1). El consumo medio de agua por persona y día entre (100 y 400 L/hab. día) determina su concentración (cantidad), mientras que la dieta de los usos de la población tributaria caracteriza especialmente su composición química (calidad). Las sustancias contaminantes presentes en un agua residual pueden estar en forma disuelta, de partículas decantables o en un estado físico intermedio denominado coloidal en suspensión. En cualquier caso la mayoría de los compuestos presentes están constituidos por la materia orgánica e inorgánica, nutrientes y microorganismos. Una considerable parte de estos componentes se encuentra en forma particular, y comúnmente, se valora mediante la concentración de materia en suspensión.

El principio de tratamiento biológico de las aguas residuales es el mismo que el de la purificación espontánea en las aguas naturales. Se realiza especialmente en reactores para mantener los microorganismos bajo condiciones controladas, acelerando el proceso natural de descomposición y neutralización de los residuos, antes de que las aguas sean finalmente vertidas a las masas de aguas receptoras. En el proceso participan distintas reacciones microbiológicas para eliminar o transformar diferentes tipos de materia orgánica, nutrientes y muchos otros elementos tales como el sulfuro y los metales.

Aunque se han desarrollado diferentes tipos de procesos biológicos, los más empleados en el tratamiento de aguas residuales son en el proceso de fangos activados y la biotecnología biopelícula. Este estudio está dedicado a los procesos de La Calzada (humedal) cantón Saquisilí, provincia de Cotopaxi.

## **1.2. Marco teórico**

### ***1.2.1. Humedales***

DUGAN 1997, Un humedal es una zona de tierras, generalmente plantas, en la que la superficie se inunda de manera permanente o intermitente. Al cubrirse regularmente de agua, el suelo se satura, quedando desprovisto de oxígeno y dando lugar a un ecosistema híbrido entre los puramente acuáticos y los terrestres.

Siendo estos ecosistemas uno de los más importantes a nivel de los ciclos biogeoquímicos, pues al constituirse en reservas de agua dulce, permiten que la circulación atmosférica del agua se desarrolle, tanto así que varios organismos internacionales, han considerado de interés mundial los humedales dentro del convenio RAMSAR. Más aun cuando tras diversos estudios técnicos ven en estos ecosistemas una verdadera industria de depuración del agua tanto por los microorganismos presentes en estos, como por sus lechos filtrantes y concentración de nutrientes que contribuyen a la biodegradación de contaminantes.

FEDERAL 1987, Los humedales son áreas de transición entre sistemas acuáticos y terrestres frecuentemente inundadas o saturadas de aguas superficiales o subterráneas, durante un periodo de tiempo suficiente para que crezca un tipo de vegetación especialmente adaptada para vivir en estas condiciones.

Nuestros humedales son por lo general llanos costeros de sedimento fijo y suelto que retiene aguas de mar o marea alta, o escorrentías terrestres de agua dulce. Históricamente estas aguas fueron consideradas por mucho tiempo como terrenos

baldíos, donde abundan los mosquitos y en ocasiones se utilizaban como verteros clandestinos.

### ***1.2.2. Aguas Residuales***

CRITES (2000), manifiesta que las aguas residuales ***“Son aguas modificadas por diversos usos en actividades, domésticas, industriales y comunitarias.”***(p 2).

Así también, MARTÍNEZ (2005). ***“Se considera aguas residuales a los líquidos que han sido utilizados en las actividades diarias de una ciudad (domésticas, comerciales, industriales y de servicios.”***(p4).

Mientras que ALVARADO, 2012 (p 6). Define al término aguas residuales como un tipo de agua que está contaminada con sustancias fecales y orina, procedentes de desechos orgánicos humanos o animales. Su importancia es tal que requiere sistemas de canalización, tratamiento y desalojo. Su tratamiento nulo o indebido genera graves problemas de contaminación.

Sin embargo para, RAMALHO, 1996 (p 12). Las aguas residuales también se les llaman aguas servidas, fecales o cloacales. Son residuales, habiendo sido usada el agua, constituyen un residuo, algo que no sirve para el usuario directo; y cloacales porque son transportadas mediante cloacas (del latín cloaca, alcantarilla), nombre que se le da habitualmente al colector.

Según su origen las aguas residuales resultan de la combinación de líquidos y residuos sólidos transportados por el agua que proviene de residencias, oficinas, edificios comerciales e instituciones, junto con los residuos de las industrias y de actividades agrícolas, así como de aguas subterráneas, superficiales o de precipitación que también puede agregarse eventualmente al agua residual. Así, de acuerdo con su origen, las aguas residuales pueden ser clasificadas como:

**Domésticas:** Son aquellas utilizadas con fines higiénicos (baños, cocinas, lavanderías, etc.). Consiste básicamente en residuos humanos que llegan a las redes de alcantarillado por medio de descargas de instalaciones hidráulicas de la edificación también en residuos originados en establecimientos comerciales, públicos y similares.

**Industriales:** Son líquidos generados en los procesos industriales. Poseen características específicas, dependiendo del tipo de industria.

**Infiltración y caudal adicionales:** Las aguas de infiltración penetran en el sistema de alcantarillado a través de los empalmes de las tuberías, paredes de las tuberías defectuosas, tuberías de inspección y limpieza, etc. Hay también aguas pluviales, que son descargadas, por medio de varias fuentes, como canales, drenajes y colectores de aguas lluvias.

**Pluviales:** Son aguas de lluvia, que descargan grandes cantidades de agua sobre el suelo. Parte de esta agua es drenada y otra escurre por la superficie, arrastrando arena, tierra, hojas y otros residuos que pueden estar sobre el suelo.

(MARA Y CAIRNCROSS) 1990. Cada persona genera 1.8 litros de material fecal diariamente, correspondiendo a 113.5 gramos de sólido seco, incluidos 90 gramos de materia orgánica, 20 gramos de nitrógeno, más otros nutrientes, principalmente fósforo y potasio.

Los olores característicos de las aguas residuales son causados por los gases formados en el proceso de descomposición anaerobia. Principales tipos de olores:

Olor a moho: Razonablemente soportable, típico de agua residual fresca.

Olor a huevo podrido: “Insoportable”; típico de agua residual vieja o séptica, que ocurre debido a la formación de sulfuro de hidrógeno que proviene de la descomposición de materia orgánica contenida en los residuos.

Olores variados: De productos descompuestos, como repollo legumbres, pescados, de materia fecal, de productos rancios de acuerdo con el predominio de productos sulfurosos, nitrogenados, ácidos orgánicos, etc.

**Tabla 2.** Efectos causados por los contaminantes presentes en las aguas residuales.

<b>Contaminantes</b>	<b>Parámetros de caracterización</b>	<b>Tipos de efluentes</b>	<b>Consecuencias</b>
Sólidos suspendidos	Sólidos suspendidos totales	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Domésticos</li> <li>▪ Industriales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Problemas estéticos</li> <li>▪ Depósitos de barro</li> <li>▪ Absorción de contaminantes</li> <li>▪ Protección de patógenos</li> </ul>
Sólidos flotantes	Aceites y grasas	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Domésticos</li> <li>▪ Industriales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Problemas estéticos</li> </ul>
Materia orgánica biodegradable	DBO	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Domésticos</li> <li>▪ Industriales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Consumo de oxígeno</li> <li>▪ Mortalidad de peces</li> <li>▪ Condiciones sépticas</li> </ul>
Patógenos	Coliformes	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Domésticos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Enfermedades transmitidas por el agua</li> </ul>
Nutrientes	Nitrógeno Fosforo	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Domésticos</li> <li>▪ Industriales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Crecimiento excesivo de algas (eutrofización del cuerpo receptor)</li> <li>▪ Toxicidad para los peces (amonio)</li> </ul>

			<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Enfermedades en niños (nitratos)</li> <li>▪ Contaminantes del agua subterránea</li> </ul>
Compuestos no biodegradables	Pesticidas Detergentes Otros	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Industriales</li> <li>▪ Agrícolas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Toxicidad (varios)</li> <li>▪ Espumas (detergentes)</li> <li>▪ Reducción de la transferencia de oxígeno (detergentes)</li> <li>▪ No biodegradabilidad</li> <li>▪ Malos olores</li> </ul>
Metales pesados	Elementos específicos ( As, Cd, Cr, Cu, Hg, Ni ,Pb, Zn)	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Industriales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Toxicidad</li> <li>▪ Inhibición al tratamiento biológico de las aguas residuales</li> <li>▪ Problemas con la disposición de los barros en la agricultura</li> <li>▪ Contaminación del agua subterránea</li> </ul>

**Fuente:** [http://www.frbb.utn.edu.ar/carreras/efluentes/tema\\_9.pdf](http://www.frbb.utn.edu.ar/carreras/efluentes/tema_9.pdf),1994.

### ***1.2.3 Tratamiento de aguas residuales***

#### ***1.2.3.1 Tratamiento biológico***

WHESLEY (2008). Los tratamientos biológicos se basan en la utilización de microorganismos capaces de asimilar las sustancias en suspensión o disueltas presentes en el agua residual, a fin de incorporarlas a su metabolismo celular y obtener energía para sus funciones vitales y promover el desarrollo orgánico. Con un control adecuado de las condiciones ambientales (presencia o ausencia de oxígeno, pH óptimo, temperatura y mezcla).

Muchos autores como PIATKIN, 1968 (p 9). Manifiestan que los microorganismos incluyen seres pertenecientes a varios grupos: procariota (bacterias y archaea), eucariotas (hongos y protozoos) y virus (no celulares).

Es posible conseguir el desarrollo de una biomasa capaz de depurar el agua residual hasta alcanzar el grado de tratamiento deseado. Los tratamientos biológicos se diseñan para acelerar los procesos naturales de degradación y estabilización de las aguas residuales previo a su disposición o reutilización.

Donde investigadores como SCHLEGEL, 1997 (p 19), consideran que el estudio de los microorganismos comprende el conocimiento de su forma, estructura, reproducción, fisiología, metabolismo e identificación. Trata de su distribución en la naturaleza, de sus relaciones recíprocas y con los demás seres vivos, de los efectos beneficiosos o perjudiciales para el hombre y de las transformaciones físicas y químicas que ejercen en su medio circundante.

Por ello, BROCK, 199 (p 27), dice que los microorganismos son un grupo grande y diverso de seres vivos que pueden existir como células individuales o como agrupaciones simples de células. Las células microbianas son en este sentido, distintas de las células de animales y plantas, puesto que estas últimas no son capaces de vivir aisladas en la naturaleza si no es en grupos característicos (tejidos). Una célula microbiana sola, es generalmente capaz de llevar a cabo los procesos vitales de crecimiento, respiración y reproducción con independencia de otras células del mismo tipo o de tipo diferente.

Así también para METCALF & EDDY, (1996). Es muy importante en el tratamiento de aguas residuales, tener un conocimiento exhaustivo sobre las características biológicas y además estar familiarizado con los siguientes aspectos:

Principales grupos de microorganismos biológicos, incluidos los que intervienen en el tratamiento biológico.

- Organismos patógenos presentes en aguas residuales.
- Organismos usados como indicadores de contaminación y su importancia.
- Métodos empleados para determinar los organismos indicadores.
- Métodos empleados para determinar la toxicidad de aguas residuales.

**Tabla 2.** Tratamiento, reúso del agua.

Secundario convencional	Remoción de materia orgánica biodegradable (en solución o suspensión) y sólidos suspendidos. Un proceso de desinfección típica también puede ser incluido en el nivel secundario convencional de tratamiento.
Secundario con remoción de nutrientes	Remoción de materia orgánica biodegradable, sólidos suspendidos y nutrientes (nitrógeno fosforo o ambos).
Avanzado	Remoción de sólidos totales disueltos y constituyentes traza como lo requieran o lo especifiquen las aplicaciones del reúso del agua.

**Fuente:** ASANO, Takashi et al. Water Reuse: Issues, Technologies, and Applications.2007

#### ***1.2.4. Microorganismos utilizados en el tratamiento de aguas residuales***

CLOETE, 1997 (p 7). Las aguas residuales contienen una gran variedad de microorganismos: virus, bacterias, hongos, protozoos y nematodos. Se estima que existen alrededor de 5 millones de especies de microorganismos en el medio ambiente, de los cuales menos del 5% han sido catalogadas, de los cuales 3500 son bacterias, 90.000 son hongos, 100.000 son protistas y 4.000 son virus. Los microorganismos se transforman los compuestos orgánicos, contribuyendo a la depuración de los desechos en ambientes acuáticos y terrestres.

#### ***1.2.4.1 Microorganismos importantes en el tratamiento de aguas residuales***

La mayoría de organismos en las aguas residuales son microorganismos. Algunos de estos microorganismos pueden ser dañinos, otros pueden ser significativos en la descomposición de desechos.

Por tal motivo, su estudio y su conocimiento es de gran importancia, debido a su estrecha relación con la salud pública y su rol dentro de los procesos de tratamiento de aguas superficiales y residuales.

#### ***1.2.4.2. Células eucariotas y procariotas***

SPELLMAN, 2000, La presencia o ausencia de una membrana distintiva que limite al núcleo determina la existencia de dos tipos diferentes de células en el mundo microbiano, las células procariotas y las eucariotas.

Las células eucariotas tienen un núcleo “verdadero”, ya que este se allá contenido en una membrana nuclear; las células procariotas tienen un núcleo primitivo (nucleoide), debido a que su ADN no está encerrado en una membrana nuclear.

**Tabla 3.** Clasificación simplificada de microorganismos.

<b>Reino</b>	<b>Miembros</b>	<b>Clasificación celular</b>
Animal	Rotíferos Crustáceos Gusanos y larvas	Eucariotas
Vegetal	Helechos Musgos	
Hongos	Hongos Protozoos Algas	
Protista	Bacterias Formas más bajas de algas	Procariotas

**Fuente:** SPELLMAN, F.R., Microbiology for Waste Wastewater Operators (revised Ed.). Technomic Public. Lancaster, PA. 2000.

#### ***1.2.4.3. Microorganismos presentes en aguas residuales***

SPELLMAN, 2003 (p 45). Para entender como minimizar o aumentar al máximo el crecimiento de microorganismos y controlar los patógenos, se debe estudiar la estructura y característica de los microorganismos. A continuación se describe cada

uno de los grupos de mayor importancia en el tratamiento de aguas residuales, con relación a su tamaño, forma, tipos, necesidades nutricionales y control.

- a) **Bacterias:** Las bacterias constituyen el sistema de vida más simple, ellas están entre los microorganismos más comunes en el agua. Las bacterias son primitivas, procariotas, unicelulares, no presentan núcleo bien definido, se reproducen por fisión binaria y presentan una variedad de formas y de alimentación. Las bacterias contienen aproximadamente 85% de agua y 15% de polvo o materia mineral. Las bacterias se clasifican en base a su forma, en tres grupos (tabla ):

**Tabla 4.** Formas de bacterias.

Forma	Nombre técnico		Ejemplo
	Singular	Plural	
Esférica	Coccus	Cocci	Streptococcus
Bastón	Bacillum	Bacilli	Bacillus typhosis
Curva o espiral	Spirillum	Spirilla	Spirillum cholera

**Fuente:** SPELLMAN, F.R., Microbiology for Waste Wastewater Operators (revised Ed.). Technomic Public. Lancaster, PA. 2000

La mayoría de las bacterias requieren alimentos orgánicos para sobrevivir y multiplicarse. La materia vegetal y animal que entra en el agua provee la fuente de alimento. Las bacterias convierten el alimento en energía y usan la energía para sustentarse y multiplicarse. Algunas bacterias pueden usar materia inorgánica como fuente de energía para existir e incluso multiplicarse cuando no hay disponible materia orgánica.

#### ***1.2.4.4. Taxonomía bacteriana***

PATRICK R, 2003 (p 57). La categoría taxonómica básica en la clasificación especie, integrada por un grupo de individuos que comparten cierto número de características destacadas o presentan un gran parecido. Las agrupaciones de individuos de la misma especie se denominan en microbiología cepas o clones. Una cepa es un cultivo puro derivado de un solo aislamiento. Clon es un cultivo puro formado por los descendientes de una sola bacteria.

El género está formado por un grupo de especies relacionadas. Un grupo de géneros estrechamente relacionados constituyen una familia.

Las categorías taxonómicas superiores se definen de igual manera y son las siguientes: Orden, Clase, División y Reino.

En taxonomía bacteriana, cuando se da nombre a una nueva especie, una cepa concreta se designa como cepa tipo. Las cepas tipo se conservan en colecciones de

cultivos y es importante con fines de nomenclatura, ya que el nombre específico va ligado a ella.

En la ordenación taxonómica las distintas especies se van agrupando sucesivamente en una serie de categorías de orden superior género, familia, orden, clase y división. Esta es la llamada ordenación jerárquica porque cada categoría en la serie descendente, agrupa un número cada vez mayor de unidades taxonómicas, basándose en un número cada vez menor de propiedades compartidas.

**Tabla 5.** Categorías taxonómicas.

Reino	Procaryotae
División	Gracillicutes
Clase	Scotobacteria
Orden	Spirochaetales
Familia	Leptospiraceae
Género	Leptospira
Especie	Leptospira interrogans

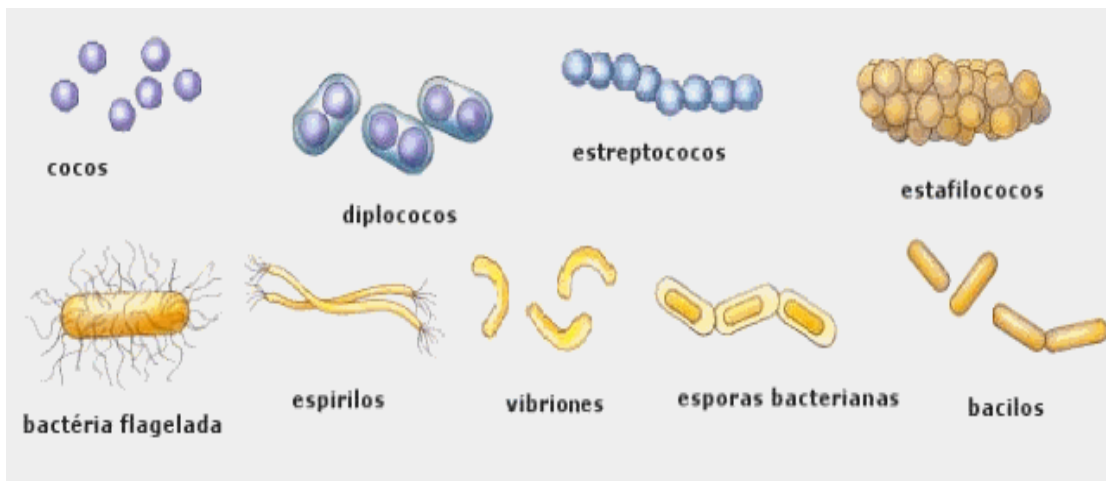
**Fuente:** PATRICK R. Microbiología médica, quinta edición Lancaster, PA. 2000, pág. (58)

#### ***1.2.4.5. Tipos de bacterias remediadoras***

CLOETE, 1997 (p 28). El método más antiguo para identificar los organismos es por su apariencia física. Las formas de los roceriotas es un resultado de su pared celular. Las baterías exhiben una considerable variedad de formas. Las formas rectas o en

bastón de *Escherichia coli* se conoce como bacilo, la forma cilíndrica se llama coco y las varillas largas en hélices se llaman espirilos. Hay un cuarto grupo de formas, los vibriones, formados por cortos bastones encorvados que se piensan hélices incompletas.

**Imagen 1.** Diversidad de formas bacteriana.



**Fuente:** CLOETE, 1997 (p 72). Microbiología, quinta edición Lancaster, PA. 2000

#### ***1.2.4.6. Bacterias remediadoras***

##### ***1.2.4.6.1. Acinetobacter sp***

Los fosfatos son eliminados de las aguas residuales por esta bacteria aeróbica. Pueden absorber una mayor cantidad de fosfatos, la cual es almacenada en las células en forma de polifosfatos.

#### ***1.2.4.6.2. Escherichia coli***

Estas bacterias digieren y se alimentan de materia orgánica descomponiéndola en partículas más simples, en tal virtud al final de este proceso el desecho orgánico se elimina y deja de ser contaminante al igual que disminuye notablemente olores desagradables en un amplio rango.

#### ***1.2.4.6.3. Pseudomona aeruginosa***

Es la bacteria más utilizada para realizar bioensayos, de modo que detecta concentraciones bajas de metales pesados en agua. Este tipo de bacteria es utilizada ampliamente, debido principalmente a su presencia mayoritaria en aguas contaminadas.

### ***1.2.5. Métodos microbiológicos***

#### ***1.2.5.1. Factores de crecimiento bacteriano***

Varios factores afectan la tasa de crecimiento bacteriano, incluyendo temperatura, pH, y los niveles de oxígeno. La tasa de crecimiento aumenta con la temperatura, generalmente por cada incremento de 10° C la tasa de crecimiento se duplica, pero las temperaturas extremas pueden ocasionar su muerte. La mayoría de las bacterias crece mejor a pH neutro. Las bacterias pueden ser aerobias, anaerobias, o facultativas, se reproducen por fisión binaria. Bajo condiciones óptimas las bacterias pueden duplicarse su número cada (20 a 30) minutos.

### ***1.2.5.2. Destrucción de bacterias***

SPELLMAN, 2003. ***“La destrucción de bacterias se llama desinfección, lo cual no significa que todas las formas microbianas son eliminadas.”***

La destrucción total de toda forma microbiana se llama esterilización. La desinfección reduce el número de enfermedades causadas por estas. Las bacterias jóvenes son fáciles de controlar por desinfección. Sin embargo algunas bacterias (formas de esporas) son difíciles de destruir, ya que es difícil para la desinfección penetrar el material de las cáscaras protectoras de las esporas.

### ***b) Protozoos***

Son organismos eucariotas, heterótrofos, no fotosintéticos, quimio heterotróficos, que pertenecen al reino protista. Su cuerpo está formado por una sola célula o por una colonia de células iguales entre sí. Son las gigantes del mundo microbiano, muchas veces más grandes que las bacterias, existen en solitario o en colonias, la mayoría son intactos pero otros son parasitarios. Estos se alimentan de bacterias, desechos de otros organismos, algas y protozoos. Son principalmente aerobios o facultativos en cuanto a oxígeno, los materiales tóxicos, el pH y la temperatura afectan su tasa de crecimiento.

### ***1.2.5.3. Metabolismo bacteriano***

CRITES 2000, ***“Las principales reacciones que conforman el proceso metabólico bacteriano son las reacciones catabólicas y las anabólicas”.***

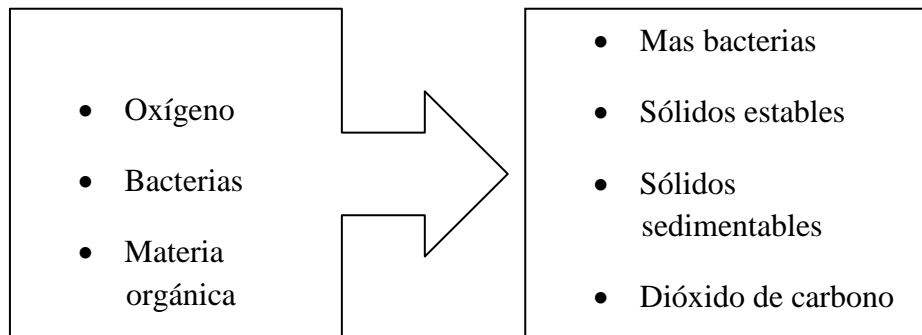
De vital importancia para las reacciones catabólicas y anabólicas es la acción de las enzimas, pues tienen la capacidad de aumentar la velocidad de las reacciones químicas sin alterarse, la actividad enzimática es afectada por el pH, la temperatura y la concentración de sustratos. Las bacterias necesitan nutrientes para su crecimiento especialmente nitrógeno y fósforo.

#### ***1.2.5.4. Sistemas aerobios***

La presencia de O<sub>2</sub> hace que estos elementos sea el receptor de electrones, por lo que se obtiene unos rendimientos energéticos elevados, provocando una importante generación de fangos, debido al alto crecimiento de las bacterias aerobias. Su aplicación a aguas residuales puede estar muy condicionada por la baja solubilidad del oxígeno en el agua.

En procesos de tratamiento aerobio, los organismos usan simultáneamente oxígeno libre, materia orgánica, nutrientes (nitrógeno, fósforo) y metales traza (hierro, etc.) para producir más organismos sólidos disueltos estables, sólidos suspendidos y dióxido de carbono.

**Figura 3.** Descomposición aerobia.

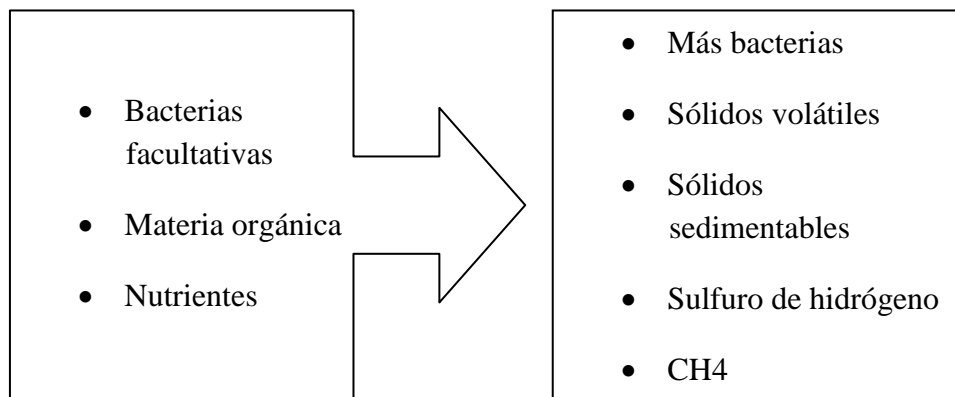


**Fuente:** <http://dspace.utpl.edu.ec/handle/123456789/>

#### 1.2.5.5. Sistemas anaerobios

La utilización de este sistema, tiene como ventaja importante, la obtención de un gas combustible. Los procesos de tratamiento anaerobios ocurren completamente en ausencia de oxígeno y producen un sub producto utilizable (metano). Los microorganismos facultativos usan la materia orgánica como alimento para producir más organismos, ácidos volátiles (orgánicos), dióxido de carbono, sulfuro de hidrógeno, otros gases y algunos sólidos estables capaz de ser usados.

Figura 4. Descomposición anaerobia.



Fuente: <http://dspace.utpl.edu.ec/handle/123456789/>

#### 1.2.6. Medios de cultivo

**PRESCOTT, HARLEY Y KLEIN, 2009** indica que, *“Gran parte de investigación microbiana depende de la capacidad para cultivar y mantener microorganismos en laboratorio, y esto solo es posible si se dispone de medios de cultivo adecuados.”*(p110).

Un medio de cultivo es una preparación sólida o líquida empleada para cultivar, transportar y almacenar microorganismos. Para ser efectivo el medio debe contener todos los nutrientes que el microorganismo necesita para multiplicarse. Los medios especializados son esenciales en el aislamiento y en la identificación de microorganismos, en ensayos de sensibilidad a antibióticos, análisis de alimentos y de agua microbiológica industrial. Aunque todos los microorganismos necesitan fuente de energía, carbono, nitrógeno, fósforo, azufre y varios minerales, la composición precisa de un medio satisfactorio dependerá de la especie que se desea cultivar.

El conocimiento del hábitat normal del microorganismo suele ser útil para seleccionar un medio de cultivo apropiado, ya que sus necesidades nutricionales son un reflejo de su entorno natural.

Los medios de cultivo pueden clasificarse en base a varios parámetros: sus componentes químicos, su naturaleza física y su función.

**Tabla 6.** Tipos de medio de cultivo.

<b>Estado físico</b>	<b>Composición química</b>	<b>Tipo funcional</b>
Líquido	Definido (sintético)	General (de mantenimiento)
Semisólido	Complejo	Enriquecido
Sólido		Selectivo
		Diferencial

**Fuente:** Microbiología de Prescott, Harley y Klein, séptima edición. (p 111)

### ***1.2.6.1. Estructura de Agar***

La palabra agar viene del malayo Agar-Agar, que significa jalea. Esta gelatina es un polisacárido sin ramificaciones obtenidos de la pared celular de varias especies de algas de los géneros Gelidium, Euchema y Gracilaria entre otros, resultando según la especie de un color característico.

En su estado natural, el Agar se presenta como un carbohidrato estructural de la pared celular, donde existen en la forma de sales de calcio o de una mixtura de sales de calcio y magnesio. Es una mixtura compleja de polisacáridos compuesta por dos fracciones principales: la agarosa, un polímero neutro y la agaropectina.

- ***Agar Sangre***

Es una combinación de un Agar base (agar nutritivo) con el agregado del 5% de sangre ovina, también puede usarse sangre humana. El Agar Sangre aporta muchos factores de enriquecimiento, es un medio de aislamiento especialmente diseñado para facilitar el crecimiento de microorganismos exigentes, contiene una mezcla de peptonas particularmente adaptada al cultivo. La presencia de sangre permite la determinación de la hemólisis, criterio básico en la orientación hacia la identificación bacteriana.

#### ***Composición.***

Infusión de músculo del corazón	10,0 g
Peptona	10,0 g
Cloruro de sodio	5,0 g

Agua purificada	1000 ml
Agar	16,0
pH final : 7,3 ±0,2	

- *Agar MacConkey.*

Es un medio selectivo diferencial, utilizado para el aislamiento y diferenciación de bacilos Gram negativo fermentadores y no fermentadores de lactosa. Se utiliza con frecuencia para el aislamiento de coliformes.

***Composición.***

Digerido pancreático de gelatina	17,0 g
Digerido pancreático de caseína	1,5 g
Digerido péptico de tejido animal	1,5 g
Lactosa	10,0 g
Mezcla de sales biliares	1,5 g
Cloruro de sodio	5,0 g
Agar	13,5 g
Rojo neutro	30,0 mg
Cristal violeta	1,0 mg
Agua destilada	1.000 ml
pH final :7,1 ±0,2	

- ***Agar Biggy***

El Agar Biggy (Bismuth Glucose Glycine Yeast), es un medio de diferenciación parcialmente selectivo para el aislamiento y la diferenciación de las especies.

***Composición.***

Citrato de amonio y bismuto	5,0 g
Sulfito sódico	3,0 g
Glucosa	10,0 g
Glicina	10,0 g
Extracto de levadura	1,0 g
Agar	16,0
pH final :6,8 ±0,2	

- ***Agar Sabouraud***

Medio utilizado para el aislamiento, identificación y conservación de hongos patógenos y saprófitos. También es útil para el cultivo de levaduras.

***Composición.***

Peptona	5,0 g
Tripteína	5,0 g
Glucosa	40,0 g
Cloranfenicol	0,05 g
Agar	15,0
pH final :5,6 ±0,2	

#### ***1.2.6.2. Tipos químicos y físicos de medios de cultivo***

**PRESCOTT, HARLEY Y KLEIN, 2009** “*Un medio del cual conocemos todos sus componentes químicos se denomina medio definido o sintético.*”(p 111).

Pueden existir en forma líquida (caldo) o solidificada por las adiciones de un agente como el agar. Los medios definidos suelen usarse para cultivar autótrofos fotolitótrofos, como las cianobacterias y los protistas fotosintéticos. Estos organismos pueden ser cultivados en medios relativamente sencillos, conteniendo CO<sub>2</sub> como fuente de carbono; nitrato o amoníaco como fuente de nitrógeno; sulfato, fosfato y varios minerales.

#### ***1.2.6.3. Tipos funcionales de medios de cultivo***

Algunos medios como el caldo trípico de soja y el agar trípico de soja, son útiles para cultivar muchos microorganismos diferentes y se los denomina medios generales o de mantenimiento.

Para facilitar el crecimiento de microbios exigentes, se puede añadir sangre y otros nutrientes especiales a un medio de uso general. Estos medios especialmente fortalecidos, reciben el nombre de medios enriquecidos. PRESCOTT, HARLEY Y KLEIN (2009).

#### ***1.2.6.4. Aislamiento de cultivos puros***

En su hábitat natural, los microorganismos suelen crecer en complejas poblaciones mixtas formadas por muchas especies. Para caracterizar una especie individual es necesario obtener un cultivo puro, una población de células que derivan de una única

célula inicial. Existen varias técnicas de preparar cultivos puros; a continuación se detallan algunas de las más comunes: PRESCOTT, HARLEY Y KLEIN (2009).

- ***Siembra por extensión y siembra en estrías***

Es una manera fácil y directa de obtener ese resultado. Para ellos, se transfiere un pequeño volumen de una mezcla diluida de microbios (conteniendo entre 30 y 300 células, aproximadamente) al centro de una placa de medio sólido; seguidamente se extiende la muestra uniformemente por toda la superficie, con la ayuda de una varilla acodada estéril, generalmente hecha de vidrio. Las células dispersas dan lugar a colonias aisladas. Dado que el número de colonias debe ser igual al número de organismos viables de la muestra, la siembra por extensión puede usarse para el recuento de la población microbiana.

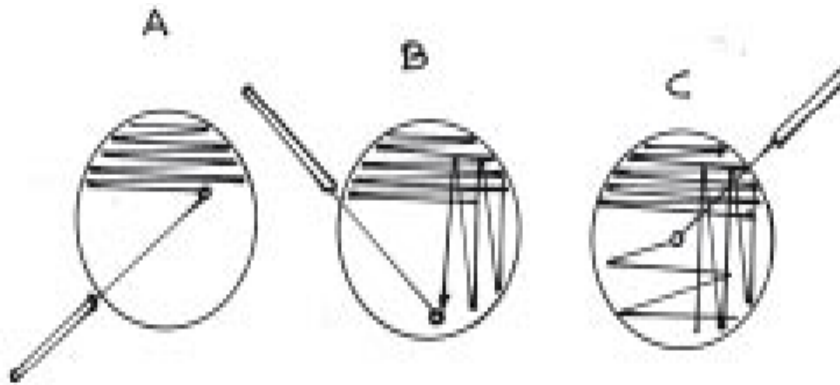
**Imagen 2.** Siembra por extensión.



La siembra en estrías, en este caso, la mezcla microbiana es colocada a la periferia de una placa de medio sólido con la ayuda de un asa de siembra o un hisopo, y luego es extendida formando estrías o líneas por toda la superficie, siguiendo un patrón

definido. Después de sembrar un primer sector, el asa de siembra es esterilizada y se obtiene un inóculo para el segundo sector a partir del primer sector. Se sigue un proceso similar para sembrar el tercer sector, excepto que el inóculo procede del segundo sector. Se trata de un proceso de dilución. PRESCOTT, HARLEY Y KLEIN (2009).

**Imagen 3.** Siembra por estrías.



- ***Siembra en profundidad***

Es muy usada para procariotas y hongos, también da lugar a colonias aisladas. En primer lugar hace varias diluciones de la muestra original para reducir la población microbiana suficiente, con el fin de obtener colonias aisladas en las placas.

**Imagen 4.** Siembra en profundidad.



#### ***1.2.6.5. Enriquecimiento y aislamiento de cultivos puros***

Uno de los principales problemas prácticos en microbiología es la preparación de cultivos puros a partir de muestras en las que los microorganismos están presentes en cantidades muy pequeñas. Los métodos de siembra en placas (por extensión, en estrías, en profundidad) pueden combinarse con el empleo de medios selectivos o diferenciales para enriquecer y aislar los microorganismos infrecuentes. PRESCOTT, HARLEY Y KLEIN (2009).

#### ***1.2.6.6. Identificación Microbiana***

***PRESCOTT, (2009). “Se entiende por identificación microbiana al conjunto de técnicas y procedimientos que se aplican para establecer la identidad de un microorganismo.”***

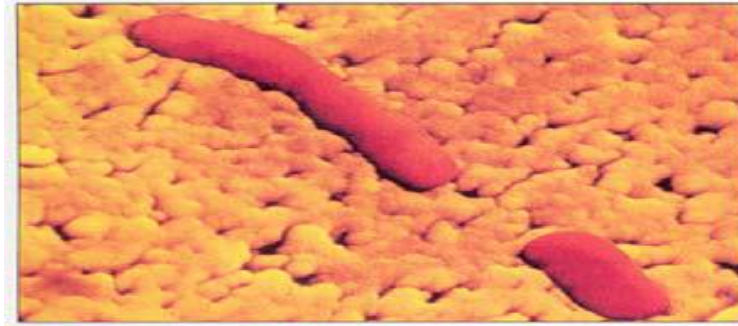
#### ***1.2.6.6.1. Clasificación de los métodos de identificación microbiana***

Los métodos más utilizados para la identificación microbiana, los podemos clasificar en:

- Métodos basados en criterios morfológicos.
- Métodos basados en tinción diferencial.
- Métodos basados en pruebas bioquímicas.
- Métodos basados en tipificación con fangos.
- Métodos basados en pruebas serológicas.
- Métodos basados en detección molecular.
  
- ***Métodos basados en criterios morfológicos***

Los rasgos morfológicos (estructurales) han ayudado a los taxonomistas por muchos años a clasificar organismos. Los organismos superiores tienen rasgos anatómicos tan diferentes que pueden ser fácilmente utilizados en su clasificación, pero con respecto a los microorganismos, estos lucen bajo el microscopio tan similares que se les dificulta su clasificación. Es decir, que estos microorganismos que se ven tan parecidos bajo un microscopio, pueden diferir en propiedades bioquímicas, fisiológicas y/o serológicas.

Sin embargo, aun cuando la morfología celular dice poco sobre las relaciones filogenéticas, sigue siendo útil para la identificación bacteriana. PRESCOTT, HARLEY Y KLEIN (2009).



- *Métodos basados en tinción diferencial*

Es posible sacar conclusiones en relación con la morfología de una bacteria, examinando una lámina que fue sometida a un proceso de tinción diferencial.

Estos criterios morfológicos encabezan las primeras etapas del proceso de identificación bacteriana. La mayor parte de las bacterias, teñidas con Gram, las podemos clasificar como Gram positivas o negativas, otras tinciones diferenciales, como ácido resistente, se aplican a otro tipo de bacterias. PRESCOTT, HARLEY Y KLEIN (2009).



- *Métodos basados en pruebas bioquímicas*

Las pruebas bioquímicas, nos indican una serie de características metabólicas que en conjunto nos permitirán diferenciar unas bacterias de otras. Las pruebas se basan en:

- Origen de la cepa (de dónde la hemos aislado).
- Condiciones bajo las que ha sido aislada.
- Morfología.
- Tinción, especialmente la de Gram.
- Posibilidad de formación de esporos.
- Posibilidad de formación de cápsula.

Las pruebas bioquímicas han sido ampliamente utilizadas para diferenciar bacterias. Estas pruebas se fundamentan en demostrar si el microorganismo es capaz de fermentar azúcares, la presencia de enzimas, la degradación de compuestos, la producción de compuestos coloreados, etc. Aunque las bacterias fuertemente relacionadas pueden separarse en dos especies diferentes con base a pruebas bioquímicas. Por ejemplo, las bacterias entéricas Gram negativas, forman un grupo muy grande y heterogéneo cuyo hábitat natural es el tracto gastrointestinal de humanos y otros animales.

**Tabla 7.** Definición de pruebas de identificación bacteriana.

Citrato	<p>Se utiliza para determinar la capacidad de un microorganismo para usar citrato como única fuente de carbono. Esta reacción se lleva a cabo por la enzima citrasa.</p> <p>Crecimiento con un color azul intenso en el pico de flauta (+), no se observa crecimiento ni cambio de color, apareciendo verde (-).</p>
Hidrolisis de Urea	<p>Prueba útil para distinguir Proteus de otras bacterias entéricas Gram.</p> <p>Presencia de un precipitado en el fondo del tubo (+), ausencia del precipitado (-).</p>
Indol	<p>Se usa para identificar bacterias capaces de producir indol del triptófano (son bacterias que producen la enzima triptofanasa). El aminoácido triptófano puede ser convertido por las bacterias que contienen la enzima triptofanasa, a indol y ácido pirúvico.</p> <p>Anillo de color rojo en la superficie del medio (+), anillo del color del reactivo de Kovac (ocre oscuro), (-).</p>
Lactosa	<p>Esta prueba se usa para diferenciar entre las enterobacterias y el grupo de las coliformes. Se trata por tanto de una prueba de gran importancia debido a que los coliformes se utilizan como organismos indicadores de contaminación fecal en análisis sobre todo de aguas.</p> <p>Las colonias lactosa (+) aparecerán de color rojo o violeta contrastado con la coloración amarillenta de las colonias lactosa (-).</p>
LIA (Lysine Iron Agar ó	<p>Esta prueba permite diferenciar los microorganismos que producen</p>

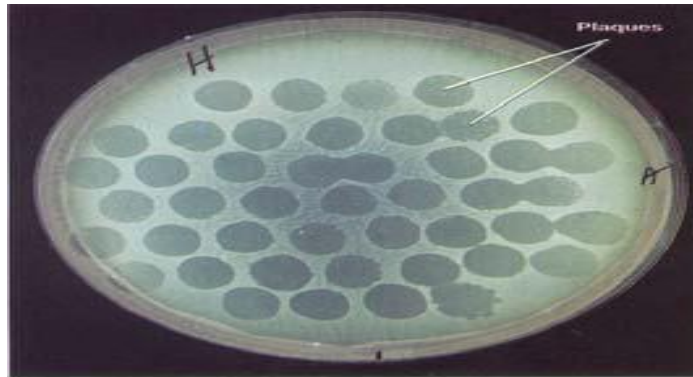
<p>Agar Lisina Hierro)</p>	<p>descarboxilación o desaminación de la lisina.</p> <p>Pico violeta/fondo violeta (+).</p> <p>Pico violeta/fondo amarillo (-).</p>
<p>MIO (Motilidad- Indol-Ornitina)</p>	<p>Este medio se usa para la identificación de enterobacterias en base a su movilidad, producción de indol y actividad de ornitina descarboxilasa.</p> <p>Motilidad: Presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra (+), crecimiento solamente en la línea de siembra (-).</p> <p>Indol: Color rojo al agregar el reactivo revelador (+), por otra parte el color del reactivo revelador permanece incoloro-amarillento (-).</p> <p>Ornitina: Color purpura (+), color amarillo (-).</p>
<p>Rojo Metilo</p>	<p>Se usa para determinar si un microorganismo que crece en un medio peptonado, glucosado y tamponado (medio de Clark y Lubs, RMVP) es capaz de producir ácidos en cantidad suficiente para bajar el pH a valores inferiores a 4.4, lo que se comprueba con el viraje del indicador de pH, el rojo de metilo, añadido al final de la incubación.</p> <p>Color rojo del medio (+), color amarillento o cobrizo en la superficie del medio (-).</p>
<p>TSI (Triple Sugar Iron ó Triple Azúcar Hierro)</p>	<p>El TSI es un medio nutriente y diferencial que permite estudiar la capacidad de producción de ácido y gas a partir de glucosa, sacarosa y lactosa en un único medio.</p> <p>Pico amarillo/fondo amarillo, el microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa (+).</p>

	Pico rojo/fondo rojo, el microorganismo no es fermentador de azúcares (-).
Voges-Proskauer	Se utiliza para determinar la formación de acetil metil carbino, que es un producto intermediario de la fermentación que produce a la formación de 2,3 butanodiol que indicará que la glucosa es fermentada por vía butanodioica.  Color rojo-rosado en la superficie del medio (presencia de acetoina) (+), no existe cambio de color (-).

**Fuente:** [http://www.importance/bacterianas/tema\\_9.pdf](http://www.importance/bacterianas/tema_9.pdf),1994

- *Métodos basados en tipificación con fangos*

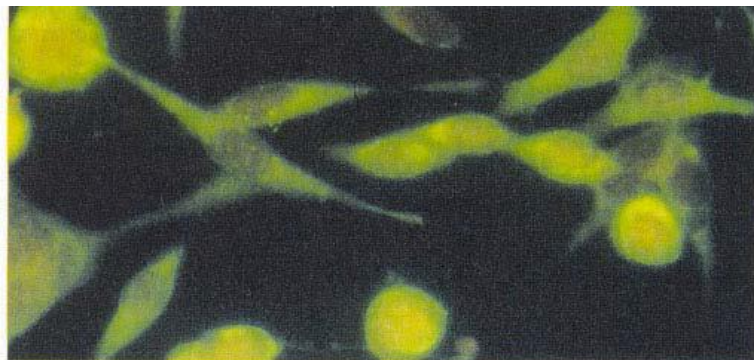
La interacción entre un virus bacteriano (fago) y su célula bacteriana sensible es sumamente específica, ya que el proceso de adsorción se encuentra mediado por receptores específicos tanto en virus como en la célula bacteriana. A una placa con medio de cultivo sólido inoculado con un cultivo puro de una determinada bacteria, se le añade una alícuota de un fango específico; este puede ocasionar la lisis de las bacterias, hecho que se evidencia en el cultivo como zonas claras definidas, denominadas placas, que indican que hubo infección y lisis celular. El uso de fangos específicos permite identificar las bacterias dentro de una misma especie. HARLEY Y KLEIN (2009).



- ***Métodos basados en pruebas serológicas***

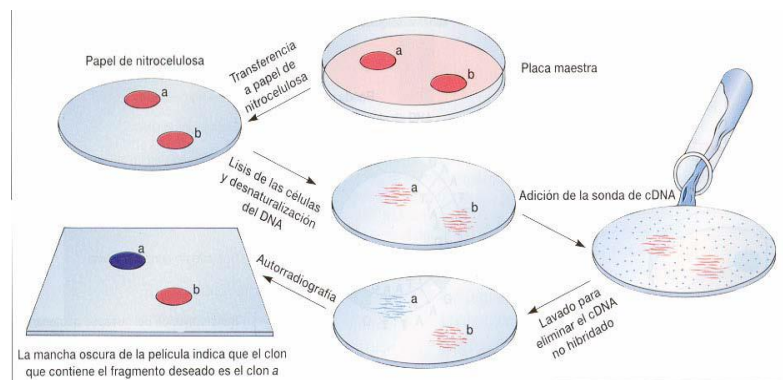
Los métodos serológicos, implican la utilización de preparaciones de inmunoglobulinas específicas provenientes del suero o de un reactivo, y que pueden ser de gran utilidad en la identificación microbiana en muestras puras o muestras biológicas.

Cada uno de los métodos tiene su fundamento particular, pero en líneas generales, todos se basan en la reacción de un antígeno presente en el agente microbiano con su anticuerpo correspondiente.



- **Métodos basados en detección molecular**

Modernamente adquiere más importancia el uso de métodos basados en biología molecular donde, a través de procedimientos y reactivos, se pueden detectar determinadas secuencias de ADN que son propias de un determinado agente microbiano. HARLEY Y KLEIN (2009).



### **1.2.7. Aspectos legales**

A nivel mundial se han establecido leyes o normativas para preservar y conservar el medio ambiente.

En el Ecuador los aspectos legales sobre el manejo y tratamiento de aguas residuales, es decir, los límites de descarga en cuerpos de agua dulce han sido establecidos por el Ministerio del Ambiente (MAE) y se encuentra en el Texto Unificado de Legislación Ambiental (TULAS) puesto en vigencia mediante Decreto Ejecutivo No. 3515 publicado en el registro oficial No. 2 Edición Especial; de fecha 31 de Marzo 2003.

La tabla tomada del libro VI Calidad Ambiental, Anexo 1 Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes, Limites de Descarga a un Cuerpo de Agua Dulce resume los parámetros más importantes que se deben determinar para evaluar si el agua residual puede ser vertida en ambientes naturales o si requieren en tratamiento previo a su disposición.

Según el COOTAD, en su Art. 4, de los gobiernos autónomos descentralizados, establece “la recuperación y conservación de la naturaleza y el mantenimiento de un ambiente sostenible y sustentable.”

De la prevención y control de la contaminación de las aguas establece es su Art. 16.- “Queda prohibido descargar, sin sujetarse a las correspondientes normas técnicas y regulaciones, a las redes de alcantarillado, o en las quebradas, acequias, ríos, lagos naturales o artificiales, o en las aguas marítimas, así como infiltrar en terrenos, las aguas residuales que contengan contaminantes que sean nocivos a la salud humana, a la fauna, a la flora y a las propiedades.”

De la Salud y seguridad ambiental en su Art. 95.- establece que, “La autoridad sanitaria nacional en coordinación con el Ministerio de Ambiente, establecerá las normas básicas para la preservación del ambiente en materias relacionadas con la salud humana, las mismas que serán de cumplimiento obligatorio para todas las personas naturales, entidades públicas, privadas y comunitarias.”

## **CAPITULO II**

### ***2. DESARROLLO METODOLÓGICO***

#### ***2.1. Descripción del área de estudio***

##### ***2.1.1. Delimitación***

El cantón Saquisilí está conformado por la cabecera cantonal del mismo nombre y tres parroquias rurales: Canchagua, Chantilin y Cochapamba. Las mismas que se emplazan dentro de los linderos: por el norte, sur y este, limita con el cantón Latacunga. Por el oeste con los cantones Sigchos y Pujili.

##### ***2.1.2. Diagnóstico del sistema ecológico ambiental***

###### ***2.1.2.1. Clima***

Es un fenómeno natural que se da a nivel atmosférico y que se caracteriza por ser una conjunción de numerosos elementos tales como: temperatura, humedad, presión, lluvia, viento y otros. Se trata de un fenómeno geográfico que de acuerdo a las condiciones de cada lugar como la latitud, altitud, continental, corrientes marinas, vegetación y vientos varía y presenta notorias diferencias entre lugar y lugar.

La caracterización climática sirve para interpretar aspectos del medio físico como (uso de suelo, vegetación natural). Los factores climatológicos más importantes son la precipitación, la evaporación, la temperatura, la humedad del aire, y los vientos.

El cantón Saquisilí presenta tres clases de clima que son: el clima Ecuatorial de alta montaña, con el 85,11% el cual se localiza en las parroquias: Cochapamba, Canchagua y Saquisilí, el clima mesotérmico semi-húmedo está ubicado en la parte este del cantón con el 14,77%, se localiza en las parroquias Canchagua, Saquisilí y Chantilin, el clima mesotérmico seco con el 0,12% no tiene mayor incidencia en el territorio, debido a la poca superficie que este abarca.

#### ***2.1.2.2. Clima ecuatorial de alta montaña***

En el cantón este clima se presenta abarcando 17489,61 ha, que corresponde al 85,11% de su territorio, ubicándose al 60,04% del mismo en la parroquia Cochapamba, el 28,77% en la parroquia Canchagua y el 11,19% en la parroquia Saquisilí.

#### ***2.1.2.3. Clima ecuatorial mesotérmico semi-húmedo***

Se presenta abarcando 3034,18 ha, que corresponde al 14,77% de su territorio, ubicándose el 67,88% del mismo en la parroquia Saquisilí, el 19,59% en la parroquia Canchagua y el 12,53% en la parroquia Chantilin.

#### ***2.1.2.4. Clima ecuatorial mesotérmico seco***

Presenta este clima en una superficie de 25,50 ha, que corresponde al 0,12% de su territorio aproximadamente, el mismo que se localiza en la parroquia Chantilin.

#### ***2.1.2.5. Temperatura***

En el cantón Saquisilí, la temperatura de 6 a 14°C, el rango de 6 a 8°C se localiza en la parte oeste del cantón abarcando la mayor parte de la superficie de la parroquia Cochapamba, el rango más significativo varia de 8-10°C, localizado en la parte central del cantón, abarcando las parroquias Canchagua, Cochapamba y Saquisilí el rango varía entre 10-12°C se localiza en la parte este del cantón abarcando parte de las parroquias Canchagua, Saquisilí y Chantilin y finalmente siendo el menos representativo en el cantón se encuentra en el rango entre 12-14°C que se ubica en la parte sur de la parroquia Chantilin.

#### ***2.1.2.6. Precipitaciones***

La pluviosidad se sitúa en un rango de 500 mm a 1000 mm. El rango más bajo de precipitaciones se presenta en la parte norte y noreste del cantón, abarcando el 55,97% del total del territorio cantonal, donde los rangos varían entre 500 a 750 mm anuales, abarcando la totalidad de la superficie de la parroquia Chantilin y parte de la superficie de las parroquias Canchagua y Cochapamba; aproximadamente en el 44,03% del territorio del cantón, estas precipitaciones se presentan a un rango de 750 a 1000 mm anuales.

#### ***2.1.2.7. Aire***

El aire del cantón Saquisilí, es de alta calidad durante las horas de la noche y de la mañana antes de iniciar las actividades humanas. Lo cual significa que durante el día presenta ciertos niveles de contaminación por la presencia de automotores y procesos de producción agropecuaria.

#### ***2.1.2.8. Hidrología***

En la actualidad la hidrología tiene un papel muy importante en el planeamiento del uso de los recursos hídricos y ha llegado a convertirse en parte fundamental de los proyectos de ingeniería que tiene que ver con suministros de agua, disposiciones de agua servida, drenaje, protección contra la acción de ríos y recreación.

##### ***2.1.2.8.1. Sistema hídrico (cuencas, subcuencas y microcuencas)***

El estudio del sistema hídrico permite mejorar la evaluación de los riesgos de inundación y la gestión de los recursos hídricos gracias a que es posible medir la entrada, acumulación y salida de sus aguas y planificar su aprovechamiento analíticamente.

##### ***2.1.2.8.2. Cuencas hidrográficas***

La hidrografía del cantón se encuentra dentro del sistema Pastaza que forma parte del sistema que desemboca al océano atlántico.

#### ***2.1.2.8.3. Subcuencas hidrográficas***

El cantón Saquisilí está ubicado en dos subcuencas distribuidas de la siguiente manera:

Sub cuenca del río Patate. Pertenece al sistema Pastaza y se encuentra sobre una superficie de 19192,05 ha, que representa el 93,40% del territorio cantonal; esta subcuenca está formada por las microcuencas, del río Blanco, río Negro, quebrada. Catelilla y drenajes menores.

#### ***2.1.2.8.4. Micro cuencas hidrográficas***

El cantón se encuentra ubicado en ocho microcuencas distribuidas de la siguiente manera:

Microcuenca del río Blanco. Pertenece al sistema Pastaza abarca 985,36 ha, que representa el 4,80% del territorio cantonal.

Microcuenca del río Negro. Pertenece al sistema Pastaza y es una de las que mayor superficie abarca con 13229,70 ha, que representa al 64,38% del territorio cantonal.

Microcuenca de la quebrada Catelilla. Pertenece al sistema Pastaza, abarca 2976,47 ha, que representa el 14,48% del territorio cantonal.

Microcuenca de drenajes menores. Pertenece al sistema Pastaza, abarca 2000,52 ha, que representa el 9,74% del territorio cantonal.

Microcuenca del río Tigua. Pertenece al sistema Esmeraldas, abarca una superficie de 39,60 ha, que representa el 0,19% del territorio cantonal.

Microcuenca del río Guangaje. Pertenece al sistema Esmeraldas, abarca una superficie de 90,85 ha, que representa el 0,44% del territorio cantonal.

Microcuenca de la quebrada Chasupi. Pertenece al sistema Esmeraldas, abarca una superficie de 3,65 ha, que representa el 0,02% del territorio cantonal aproximadamente.

Microcuenca del río Jatuncama. Pertenece al sistema Esmeraldas, abarca una superficie de 1223,17 ha, que representa el 5,95% del territorio cantonal.

El principal eje de salida de agua va desde los páramos de Saquisilí, cuya divisoria está en el flanco derecho de la cordillera es el río Pumacunchi, con todos sus afluentes.

#### ***2.1.2.8.5. Red hídrica y orden fluvial Strahler***

La red hídrica hace referencia a la presencia de ríos y quebradas así como también de cuerpos lagunares. La aplicación del orden de las corrientes de Strahler a la

hidrología, se usa para definir el tamaño de una corriente, basándose en la jerarquía de los afluentes.

La red hídrica del cantón Saquisilí está formada principalmente por el río Chinchil, río Acchin y río Pumacunchi, los cuales se alimentan de diferentes quebradas.

### **2.1.3. Clasificación de pendientes**

Las características topográficas del cantón Saquisilí están determinadas por las inclinaciones u ondulaciones geográficas naturales, las que permiten determinar los suelos aptos para la implantación de asentamientos urbanos desde el punto de vista topográfico. Para el análisis topográfico de toda el área considera los siguientes rangos de pendientes:

**Tabla 8.** Rango de pendientes.

0 – 5%	denominada planicie
>5 – 12%	denominado ondulado
>12 – 25%	denominado inclinado
>25 – 50%	denominado escarpado
>50 – 70%	denominado muy escarpado
> de 70%	denominado precipicio

El cantón Saquisilí presenta diferentes rangos de pendientes, predominando superficies escarpadas con el rango de >25 – 50% abarcando 6749,89 ha, que corresponde al 32,85% del total de la superficie cantonal, le sigue los terrenos inclinados con un rango de >12 – 25% abarca 5054,80% ha, que corresponde al 24,60% presentándose pendientes mayores a 50% denominadas muy escarpadas y precipicios con 5659,21 ha, con el 27,54% del total de la superficie.

Las pendientes leves se presentan en el cantón en 1744,72 ha, que representa el 8,49%, mientras que las pendientes onduladas se presentan en el cantón 1340,67 ha, que representa el 8,48% del total de la superficie del cantón.

#### ***2.1.3.1. Modelo altitudinal***

Los suelos del cantón Saquisilí se localizan entre las altitudes 2840 y 4280 m.s.n.m. el rango más bajo de altitud es de 2840-3600 m.s.n.m., en tanto que el rango más alto 3600-4280 m.s.n.m., pertenece a la mayor parte del territorio cantonal, correspondiente a la zona de páramo, y se localiza la mayor parte en la parroquia Cochapamba.

#### ***2.1.3.2. Montano alto***

Corresponde a la franja final de la vegetación no herbácea su límite coincide con la distribución inferior de los páramos. Se encuentra sobre la faja montaña, en un rango altitudinal aproximado que va desde los 3.000 a 3.400 m en el norte de las estribaciones occidentales de los Andes, de 2.900 a 3.300 m en el sur.

### ***2.1.3.3. Páramo***

Es una formación ecológica que en el Ecuador se extiende aproximadamente entre los 3.600 y los 4.500 m, es un ecosistema tropical alto andino.

### ***2.1.4. Susceptibilidad a la erosión***

En el cantón se presenta grandes superficies de suelo susceptibles a que sobre ellos se produzca una erosión moderada y baja abarcando 11562,2 ha, que corresponde al 56,26% del total de la superficie del cantón.

### ***2.1.5. Suelos***

Es una capa del sistema natural denominado corteza terrestre. El suelo está sometido a las leyes de la litósfera, hidrósfera, biosfera y atmósfera.

El cantón Saquisilí dispone en su mayoría, una agrología de “tierras no cultivables con severas limitaciones de humedad, aptas para pastos”; como también, es un territorio de “tierras aptas para la conservación de vida silvestre”. Se identificó una clasificación taxonómica de tres suelos acorde a la clasificación más generalizada denominada “SoilTaxonomy”, desarrollada y coordinada internacionalmente; Mollison es suelo que cubre el 63% del cantón que representa 3536,59 ha, siendo el primer tipo de suelo, Entisol, abarca el 63% que representa 1884,32 ha, e Inceptisol dispone de este tipo de suelo en un área de 205,94 ha, que pertenece al 4% del territorio.

El suelo del cantón Saquisilí se asienta sobre la placa tectónica sudamericana y acorde a sus fases distales, Saquisilí se determina de piroclastos primarios y retrabajos (cangahua), avalanchas de escombros, lahares y flujo de lava (volcánicos Cotopaxi).

La geomorfología está formada por colinas medianas dentro del 28,84% del territorio; seguido por vertientes cóncavas con el 18,80%, a estas le sigue vertientes irregulares, valles interandinos, superficies de aplanamiento y al final con un relieve montañoso del 1,61%. Toda esta formación dentro de un rango de altura de 2840 a 4280 msnm.

Dentro de la cobertura vegetal y uso del suelo, permite analizar y clasificar las diferentes coberturas que presenta el suelo de la parroquia los cuales se encuentran asociados con las actividades humanas en zonas determinadas.

Es así que el cantón Saquisilí se identifica diferentes tipos de cobertura vegetal y usos de suelo, como son:

- Vegetación arbustiva y eucalipto
- Área erosionada (bosque pino)
- Área urbana
- Pasto natural/pantano
- Agricultura intensiva
- Suelo erosionado
- Páramo
- Cultivos en suelo erosionados
- Pajonal

- Páramo intervenido
- Cultivos

En la actualidad predomina los cultivos con una superficie de 6659,90 ha, que corresponde al 32,41% del territorio, ubicados en su mayoría en las parroquias Canchagua, Saquisilí y Chantilín.

La inestabilidad del suelo se puede producir por: razones geológicas (laderas posiblemente inestables, estratificación, meteorización, etc.), variación del nivel freático (situaciones estacionales, u obras realizadas por el hombre). El cantón se caracteriza por poseer un suelo estable en la mayor parte de su territorio, con el 84,03% (17269,05 ha) de este.

El cantón Saquisilí se encuentra ubicado entre dos volcanes que son el Cotopaxi y el Quilotoa, lo que implica una amenaza para el cantón, ya que dichos volcanes tienen una posibilidad activa alta, sin embargo la zona es considerada como de menor peligro con respecto a la caída de ceniza.

Teodoro Wolf (1878), el volcán Cotopaxi ha demostrado su potencial destructivo en innumerables ocasiones y con efectos devastadores como la que señala en la última erupción de 1877.

- Flujo de lodos y escombros.
- Caída de piroplastos y ceniza
- Fallas sísmicas
- Terremotos

- Área susceptible a inundaciones

#### ***2.1.6. Características del sector La Calzada (humedal) del cantón Saquisilí***

El territorio en la actualidad, no debe ser entendido únicamente como lo físico-espacial, sino como una concreción real de la cultura en interrelación con la naturaleza.

El área de humedales (pantanos), son áreas generalmente plantas, cubiertas de agua, de régimen natural, las que reciben lluvias permanentes o temporales y posee escaso drenaje.

Las áreas de humedales son ecosistemas de gran importancia por los procesos hídricos y ecológicos que en ellos ocurren y la diversidad biológica que sustentan.

La ciudad de Saquisilí se encuentra asentada sobre la cota 2920 msnm su cota más alta es de 2960 msnm y la más baja de 2908 msnm con coordenadas de 9907205 N y 759705 E, en el parque central la Concordia.

El sector La Calzada (humedal), está ubicado en la parte nororiental del cantón Saquisilí, en el perímetro urbano, junto a la parroquia Chantilin Centro, localizada a una distancia de 1 km del centro cantonal, cuyo acceso se realiza mediante una carretera asfaltada, con una altitud que va desde los 2240 a los 4280 msnm, una temperatura media de 14 °C y una precipitación anual de 750 milímetros.

El rango altitudinal del sector La Calzada (humedal) corresponde a 2922 msnm, se encuentra sobre la faja montaña, en un rango altitudinal que va desde 2900 a 3300 en el sur de las estribaciones de los Andes, con coordenadas 9907402 N y 760658 E.

El suelo es una capa del sistema natural denominado corteza terrestre, sistema de sobrevivencia de la especie; por tanto, dentro de la formación del suelo intervienen un conjunto de procesos muy heterogéneos, es así que la cobertura vegetal existente en el calzado (humedal) es una vegetación permanente, puede dedicarse a pasto o a bosques, tienen escasa o ninguna erosión, sin embargo no permite el cultivo por su carácter encharcado, o por otras causas. El pastoreo (ganado, ovino, porcino, otros, etc.) debe ser regulado para evitar la destrucción de la cubierta vegetal.

Las unidades ecológicas se define como una unidad territorial con características propias y homogéneas hacia el interior, estas se conforman por elementos de carácter abiótico (tipo de suelo, clima, altitud) y biótico (flora y fauna). Es importante conocer estas áreas para la conservación ambiental y de los recursos naturales.

La Calzada es una formación ecológica, por un área geográfica que cubre aproximadamente 3 ha, lo que representa a 7062.50 m<sup>2</sup>.

**Fuente:** Plan de desarrollo y ordenamiento territorial del cantón Saquisilí 2011-2030 págs. (9-260)

## **2.2. MÉTODOS**

### **2.2.1. Tipo de Investigación**

Por la rigurosidad del método la investigación es experimental debido a que se manejaron variables, como contaminación de aguas residuales y como mitigar el impacto ambiental de las aguas mediante el tratamiento con bacterias.

### **2.2.2. Metodología**

Se realizó en el campo y laboratorio, en la fase de campo se tomaron 5 muestras de agua del humedal LA CALZADA, de acuerdo a lo señalado en las recomendaciones técnicas establecidas según la norma NTE INEN 2 169:98, la cual hace referencia al AGUA CALIDAD DEL AGUA MUESTREO MANEJO Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS, las que consistieron en:

#### **2.2.2.1. Toma de muestras**

La finalidad perseguida al establecer estas recomendaciones, es la de proporcionar una metodología de toma de muestras que garanticen su representatividad, así como su conservación en las condiciones más adecuadas durante el tiempo transcurrido entre la toma y el análisis por el laboratorio.

Se realizó in situ, en diversos puntos de muestreo, se efectuó a diversas profundidades para la determinación de los parámetros biológicos.

### 2.2.2.2. Número de muestras

Generalmente fueron cinco muestras tomadas en el área de estudio (sector La Calzada, humedal), especificándose de esta manera:

Muestra 1. Superficial.

Muestra 2. Drenaje de agua

Muestra 3. A un rango de 20 cm, de profundidad.

Muestra 4. A un rango de 50 cm, de profundidad.

Muestra 5. A un rango de 1 m, de profundidad.

#### **Imagen 5.** Muestreo y recolección de muestras:

Muestreo y recolección de muestras



Muestreo y recolección de muestras



Muestreo y recolección de muestras.



Muestreo y recolección de muestras



Muestreo y recolección de muestras



Para la determinación biológica se extrajeron muestras de 120 ml de un total de 150 ml de agua del frasco, que fueron envasadas en recipientes de plástico y debidamente conservadas.

### ***2.2.2.3. Manejo y conservación***

Fue muy importante escoger y preparar los recipientes que contenían las muestras para su análisis.

#### ***2.2.2.3.1. Recipientes***

Los recipientes empleados en la toma y almacenamiento de muestras para el análisis microbiológico, fueron de plástico.

##### ***2.2.2.3.1.1. Preparación de recipientes***

Respecto a la limpieza de los recipientes (plástico), se limpió con agua y detergente seguido de un enjuague con agua destilada, luego fueron enjuagados con ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) a una concentración del 5% al 10%, seguido de un enjuague con agua destilada para remover cualquier residuo de metales.

##### ***2.2.2.3.1.2. Llenado de recipientes***

Para el análisis microbiológico, los recipientes no fueron llenados completamente, debido a que se dejó un espacio de aire después de colocar la tapa. Esto permitió mezclar la muestra antes del análisis y evitó una contaminación accidental.

#### ***2.2.2.4. Identificación de muestras***

Los recipientes que contenían las muestras fueron marcados de una manera clara y permanente, la cual permitió que en el laboratorio se identificaran sin error.

En el momento del muestreo se anotó todos los detalles que ayudaron a una correcta interpretación de los resultados (fecha y hora del muestreo, nombre de la persona que muestreó, naturaleza y cantidad de los perseverantes adicionados, tipo de análisis a realizarse).

#### ***2.2.2.5. Transporte de muestras***

Durante la transportación, las muestras fueron protegidas y selladas de manera que no se deterioren o se pierdan cualquier parte de ellos durante el transporte, los empaques protegieron a los recipientes de la posible contaminación externa.

#### ***2.2.2.6. Recepción de muestras en el laboratorio***

Al arribo al laboratorio, las muestras fueron conservadas bajo condiciones asépticas y a una temperatura de 37<sup>0</sup> C, evitando cualquier contaminación externa y previniendo cambios en su contenido.

En la fase de laboratorio, se determinó taxonómicamente las bacterias, para lo cual se aislaron en medios de cultivos específicos para estos microorganismos.

### ***2.2.3. Unidad de Estudio***

La investigación se realizó en el humedal denominado La Calzada, ubicado en el nororiente del cantón Saquisilí, que tiene un área aproximada de 10000 m<sup>2</sup>.

**Imagen 6.** Área de estudio.



#### ***2.2.3.1. Muestra***

El muestreo se realizó en forma sistemática y cubriendo la totalidad del humedal, del cual se tomó un número representativo, (5 muestras) en diferentes sectores del humedal y a diversas profundidades.

Fundamentalmente por las condiciones aerobias y anaerobias que posee un ecosistema humedal y sobre las cuales se desarrollan los microorganismos.

#### ***2.2.4. Métodos y Técnicas a ser empleadas***

En este ensayo se utilizaron variedad de métodos: analítico, el científico, de campo, y técnicas como la estadística.

El método analítico, se utilizó en el laboratorio para la identificación taxonómica a las bacterias y también para determinar la densidad y sus aplicaciones.

El método científico, permitió dilucidar si la hipótesis planteada es verdadera.

Método de campo, en el afán de definir las áreas de muestreo del estudio, se desarrollaron varias caminatas, para la definición de los 5 puntos de muestreo.

Dicha actividad se aplicó en el campo, en el sector La Calzada (humedal) del cantón Saquisilí, provincia de Cotopaxi.

Método estadístico, el mismo que permitió tabular la información y comparar los parámetros medidos para poseer una interpretación tanto numérica como gráfica de los resultados obtenidos.

## **CAPITULO III**

### **3. IDENTIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS BENÉFICAS EXISTENTES EN EL SECTOR LA CALZADA (HUMEDAL), PARA SU APLICACIÓN EN EL TRATAMIENTO DE AGUAS RESIDUALES Y DISMINUIR EL ÍNDICE DE CONTAMINACIÓN.**

#### ***3.2. Introducción***

El agua es uno de los cuatro recursos básicos en que se apoya el desarrollo, junto con el aire, la tierra y la energía; sin embargo, puede llegar a estar tan contaminada por las actividades humanas (crecimiento demográfico, al desarrollo industrial y a la urbanización) que ya no sea útil, sino de calidad deficiente o nociva.

La importancia que ha cobrado la calidad del agua ha permitido evidenciar que entre los factores o agentes que causan su contaminación se encuentran agentes patógenos, desechos que consumen oxígeno, sustancias químicas orgánicas e inorgánicas,

nutrientes vegetales que ocasionan el crecimiento excesivo de plantas acuáticas, sedimentos o materiales suspendidos.

En países en desarrollo, entre el 90 y 95 por ciento de las aguas residuales y el 70 por ciento de los desechos industriales se vierten sin ningún tratamiento en cuerpos acuáticos que consecuentemente pueden también contaminar las fuentes de agua potable.

La presencia cada vez mayor de contaminantes tóxicos en el medio ambiente ha llevado al estudio de nuevas tecnologías para el control, corrección y regeneración de los ecosistemas afectados. La degradación biológica es un método de descontaminación del agua muy utilizado, ya que elimina de manera efectiva estos compuestos, aunque es necesario adaptar microorganismos con capacidades para hacerlo, debido a que suelen carecer de las enzimas necesarias para degradarlos; además, las cargas de estos contaminantes frecuentemente son inestables, lo que representa un inconveniente importante para tales procesos, ya que a altas concentraciones inhiben e incluso bloquean la actividad microbiana.

En este trabajo de investigación se pretende aumentar la eficacia de los sistemas biológicos de depuración de compuestos tóxicos, por medio de la obtención de un consorcio microbiano.

### ***3.3. Objetivo de la propuesta***

Identificar las bacterias benéficas existentes en el sector La Calzada (humedal), para su aplicación en el tratamiento de aguas residuales y disminuir el índice de contaminación en el cantón Saquisilí, provincia de Cotopaxi.

### ***3.4. Justificación de la propuesta***

Toda comunidad genera residuos tanto sólidos como líquidos, la descontaminación de las aguas residuales es una operación muy importante, sea para cumplir con normas ambientales o para evitar impactos negativos al ambiente.

En tal virtud de las crecientes demandas de reúso de agua, y de los reglamentos de la normativa ambiental, es necesario disponer de sistemas eficientes de tratamiento de aguas residuales. Tales sistemas deben garantizar la remoción de compuestos contaminantes, según establece los criterios de la calidad de agua. La presente propuesta plantea el uso de bacterias *Acinetobacter* y *Escherichia coli* como una alternativa para el tratamiento de aguas residuales.

### ***3.5. Desarrollo de la propuesta***

#### ***3.5.1 Procedimiento realizado en el laboratorio***

Los microorganismos como otros seres vivos, son susceptibles a los cambios de condiciones ambientales y en medida en que se han podido adaptar a estos cambios, se han distribuido en una gran diversidad de hábitats incluyendo los de condiciones extremas sobre todo de tipo físico y químico.

Se realizó diversos procesos de desinfección y esterilización, es así que la esterilización con calor seco y húmedo fueron los procedimientos de mayor utilización.

##### ***3.5.1.1. Material de laboratorio***

El material usado en el laboratorio de microbiología fue muy variado, dependió de las líneas de trabajo a investigar.

El material básico que se utilizó en el laboratorio fue:

### ***A) Materiales de uso corriente***

- ***Material de vidrio o plástico que se usa para contener o medir***

Entre ellos: tubos de ensayo, vasos de precipitado, embudos, probetas, pipetas, dosificadores, etc., todos ellos de distintos tamaños y capacidades. También incluimos las placas de Petri, los portaobjetos y cubreobjetos, cámaras de recuento, cestillos y cubetas para efectuar tinciones, jarra para incubar en anaerobiosis, etc.

- ***Material de siembra***

Constituidos principalmente por asas y filamentos de platino, asas de Drigalski y pipetas estériles.

- ***Material para toma de muestras e inoculaciones***

Escobillones estériles, tubos y frascos, jeringas, agujas y material de disección.

### ***B) Aparatos productores de calor***

Se utilizó con diversas finalidades:

- ***Para esterilización***

Autoclave (calor húmedo), horno Pasteur (calor seco) y mechero Bunsen (esterilización por calentamiento directo).

- ***Para incubación***

Estufas, baños de agua, de aceite o parafina y de arena.

### ***C) Aparatos productores de frío***

- ***Refrigeradores***

Fueron indispensables para conservar los medios de cultivo, productos biológicos y patológicos, así como para mantener la supervivencia de algunos microorganismos, su temperatura oscila alrededor de los 4 °C.

- ***Congeladores***

Alcanzan temperaturas entre -20 y -70 °C, eran indispensables para conservar determinados productos biológicos (sueros, células, microorganismos).

### ***D) Material óptico***

Fue de gran importancia en el laboratorio ya que permitió la observación de los microorganismos.

- ***Microscopio***

En su distintas versiones (campo claro, contraste de fases, fluorescencia).

- *Lupa estereoscópica*

Permitió observar colonias bajo distintas condiciones de iluminación.

*E) Otro tipo de materiales y aparatos*

- Cámara fotográfica
- Tubo de cristal (10ml)
- Centrifuga
- Porta y cubre objeto
- Una caja bipetri
- Agar Sangre
- Agar MacConkey
- Agar Biggy
- Agar Sabouraud
- Estufa (36.9<sup>0</sup>C, 37<sup>0</sup>C)

Las bacterias deben ser cultivadas en medios de cultivo de laboratorio para caracterizar su crecimiento, hacer su identificación y determinar sus actividades metabólicas. Un medio de cultivo es una solución acuosa de diferente compuesto que contiene todos los elementos indispensables que requieren los microorganismos para crecer.

Generalmente las bacterias son inoculadas o introducidas en medios líquidos (caldos) o solidificados con agar para su preparación y/o conservación, así como para estudiar su características de crecimiento. Es importante recordar que la inoculación de los microorganismos en los medios de cultivo, siempre deberán realizarse en zona aséptica (cerca del mechero o en campana de flujo laminada), condiciones que limitan la presencia de microorganismos indeseables o contaminantes.

Las técnicas de aislamiento, permiten la obtención de microorganismos a partir de muestras complejas (suelo, agua, etc.) en las que hay gran diversidad microbiana, así como para comprobar la pureza de los cultivos obtenidos.

Los cultivos puros están formados por un solo tipo de microorganismos; y son indispensables para conocer las características morfológicas, propiedades de tinción, actividad bioquímica, patogenicidad sensibilidad a antibióticos e identificación de las especies microbianas.

El aislamiento de cultivos microbianos pueden realizarse por métodos de dilución, en medios sólido por estría en placa o en medios líquidos. En el primer caso se considera que cada célula bacteriana que se separa dará origen a una población que formará una colonia característica, visible a simple vista.

Para favorecer el aislamiento de cultivos de baja densidad, se aplicó métodos de cultivo especial, en los que se utilizaron medios que contienen nutrientes especiales, luz y temperatura para favorecer el crecimiento del microorganismo.

A estos medios se los especificó como medios diferenciales y son de gran utilidad para la caracterización e identificación de especies bacterianas.

### ***3.5.2. Preparación del material de vidrio y medio de cultivo***

- Lavar perfectamente las cajas de Petri y pipetas con escobillón y detergente. Enjuagar con abundante agua corriente.
  
- Escurrir el exceso de agua y enjuagar el material con agua destilada, por las paredes interiores. Dejar escurrir el material sobre una toalla o papel de envoltura. No debe secar el material por otro medio.
  
- Una vez seco el material, se procede a envolver las cajas de Petri y pipetas con papel de estraza.

### ***3.5.3. Preparación de las cajas de Petri y tubos con medios de cultivo.***

- Los tubos con medio de cultivo con Agar, se deberán colocar en una superficie inclinada de tal forma que el medio se solidifique.
  
- Dejar que los medios de cultivo en matraces que se han secado se enfríen a una temperatura aproximada de 40-50 °C, que coincide con la posibilidad de sostener el matraz en la palma de la mano sin sentir un calor excesivo.

Posteriormente se dejó que se solidifique los medios de cultivo.

#### ***3.5.4. Preparación de los diferentes tipos de agar: Agar Sangre y Agar MacConkey***

- Se obtuvo 10 ml de muestra, el cual se procedió a centrifugar a 5000 rpm durante 5 minutos.
- Una vez pesado en la balanza analítica, se agregó 250 ml de agua destilada y se realizó la mezcla en el recipiente matraz.
- Posteriormente se trasladó hacia una cocineta eléctrica el cual, al llegar a su punto de ebullición se dejó un minuto por hervir.
- Se trasladó la mezcla hacia el equipo autoclave hasta que alcance los 121 °C para su esterilización por completo.
- Se sacó para enfriar, para que tome su temperatura ambiente de 45 a 50 °C.
- Se colocó en la caja Petri, la cual se identifica en la imagen 7.

**Imagen 7.** Agar Sangre, Agar MacConkey.



### ***3.5.5. Preparación de los diferentes tipos de Agar Biggy y Agar Sabouraud***

- Se obtuvo 10 ml de muestra, el cual se procedió a centrifugar a 5000 rpm durante 5 minutos.
- Una vez pesado en la balanza analítica, se agregó 82 ml de agua destilada y se realizó la mezcla en el recipiente matraz.
- Posteriormente se trasladó hacia una cocineta eléctrica el cual al llegar a su punto de ebullición se dejó un minuto más por hervir.
- Se sacó la muestra y se dejó enfriar hasta que obtenga su temperatura ambiente de 40 a 50 °C.

- En un tubo de 4ml se realizó el llamado pico de flauta (imagen 8), el cual facilita para el estriamiento y siembra.

**Imagen 8.** Pico de flauta.



Al tiempo de 24 horas y posteriormente a los 15 días se realizó las respectivas observaciones para la obtención de resultados.

### ***3.6. Procedimiento***

- a) Se tomó 10 ml, con el cual se procedió a centrifugar para obtener sedimento y tener mayor concentración de microorganismos tanto parásitos como bacterias.
- b) Se sacó de la centrifuga, se desechó al sobre rodante y se obtuvo el sedimento.

- c) Se analizó el sedimento microscópicamente, el mismo que se dividió; uno para el microscopio (parásitos, bacterias, hongos) y la segunda para el cultivo.
  
- d) Para el cultivo del sedimento, se tomó 50ul (landas), de la siguiente manera: 50 ul de Agar Sangre; 50 ul de Agar MacConkey.
  
- e) Se colocó en la estufa a una temperatura de 37 °C.
  
- f) Luego de 24 horas se realizó la primera observación, y se observó un crecimiento mínimo de bacterias, por lo que se dejó un periodo de 24 horas más.
  
- g) 48 horas después, se observó e identificó la reacción bacteriana, y se utilizó pruebas bioquímicas, donde se obtuvo el siguiente resultado:

### ***3.6.1 Pruebas bioquímicas de identificación.***

Se tomó cinco muestras de agua compuesta, en diversos puntos de muestreo y se efectuó a diversas profundidades. Para la determinación biológica se extrajeron muestras de 120 ml de un total de 150 ml de agua del frasco, que fueron envasadas en recipientes de plástico y debidamente conservadas.

**Tabla 9.** Pruebas bioquímicas utilizadas en la identificación de las bacterias *Acinetobacter* y *Escherichia coli*.

Prueba o sustrato	<i>Acinetobacter</i> .	<i>Escherichia coli</i> .
Rojo Metilo	-	+
Voges-Proskauer	-	-
Citrato	+	-
Motilidad	+	+
Indol	-	+
Hidrólisis de Urea	-	-
Lactosa	+	+
Gas de la glucosa	-	+
+ Indica la presencia del microorganismo. - Indica ausencia del microorganismo. + o – Indica que ocurre una variación entre las especies, pero la mayoría son positivas.		

### **3.6.1.1. Interpretación de los resultados**

#### ***Rojo metilo***

Resultado (+) *Escherichia coli*. Color rojo del medio.

Resultado (-) *Acinetobacter*. Color amarillento en la superficie del medio.

#### ***Voges-Proskauer***

Resultado (-) *Acinetobacter* - *Escherichia coli*. No existe cambio de color.

#### ***Citrato***

Resultado (+) *Acinetobacter*. Crecimiento con un color azul intenso.

Resultado (-) *Escherichia coli*. No se observa crecimiento ni cambio de color.

#### ***Motilidad***

Resultado (+) *Acinetobacter* - *Escherichia coli*. Presencia de turbidez o crecimiento más allá de la línea de siembra.

### ***Indol***

Resultado (+) *Escherichia coli*. Color rojo al agregar el reactivo revelador.

Resultado (-) *Acinetobacter*. Anillo del color del reactivo (ocre oscuro).

### ***Hidrólisis de Urea***

Resultado (-) *Acinetobacter* - *Escherichia coli*. Ausencia del precipitado.

### ***Lactosa***

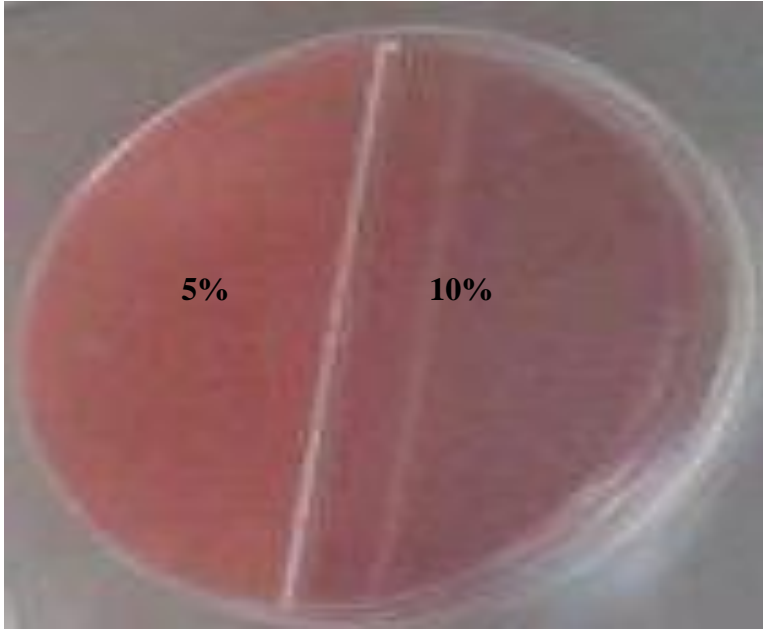
Resultado (+) *Acinetobacter* - *Escherichia coli*. Las colonias aparecen de color rojo o violeta.

### ***Gas de la glucosa***

Resultado (+) *Escherichia coli*. Presencia de turbidez que se extiende más allá de la línea de siembra.



Resultado (-) *Acinetobacter*. Solo se observa turbidez en la línea de siembra.

**Imagen 9.** Técnica inocular realizando siembra a partir del cultivo de microorganismos en estudio. Incubación a 37° C por 24 horas.

Porcentaje de colonias (%).	
Acinetobacter	Escherichia coli
	

- *La bacteria identificada fue Acinetobacter.*
- *Se encontró escasas colonias de Escherichia coli.*

**Tabla 10.** Resultado microbiológico *Acinetobacter* y *Escherichia coli*.

<b>Resultado microbiológico</b>	<b>Acinetobacter</b>	<b>Escherichia coli</b>
<b>Observación microscópica</b>		
<b>Clasificación científica</b>	<p><b>Reino:</b> Bacteria.</p> <p><b>Filo:</b> Proteobacteria.</p> <p><b>Clase:</b> Gammaproteobacteria.</p> <p><b>Orden:</b> Pseudomonadales.</p> <p><b>Familia:</b> Moraxellaceae.</p> <p><b>Género:</b> Acinetobacter.</p> <p><b>Especie:</b> A. baumannii.</p>	<p><b>Reino:</b> Bacteria.</p> <p><b>Filo:</b> Proteobacteria.</p> <p><b>Clase:</b> Gammaproteobacteria.</p> <p><b>Orden:</b> Enterobacteriales.</p> <p><b>Familia:</b> Enterobacteriaceae.</p> <p><b>Género:</b> Escherichia.</p> <p><b>Especie:</b> E. coli (E. freundii).</p>

### ***3.6.2. Acinetobacter***

Es un género de bacterias Gram-negativas que pertenece al filo Proteobacteria. Las especies de *Acinetobacter* son bacilos estrictamente aerobios no fermentadores, no móviles, oxidasa-negativos que se presentan en pares al microscopio. Se distribuyen ampliamente en la naturaleza, son importantes en el suelo y contribuyen en su mineralización.

Muchas de las características de *Acinetobacter* apuntan a la posibilidad de explotación de sus particulares aplicaciones biotecnológicas. Las cepas de *Acinetobacter* son a menudo omnipresentes, muestran gran versatilidad metabólica, son robustas y algunas son adecuadas para los sistemas modernos de manipulación genética molecular.

Los fosfatos pueden ser eliminados de las aguas residuales dentro del proceso metabólico que realiza la bacteria *Acinetobacter*, puede absorber una mayor cantidad de fosfatos que necesita para su síntesis celular, la cantidad de fosfatos es almacenada en las células en forma de polifosfatos. El almacenamiento de polifosfatos hace que las *Acinetobacter* sean capaces de sobrevivir temporalmente en circunstancias anaeróbicas.

Cuando las *Acinetobacter* residen en una zona anaeróbica en las aguas residuales, absorben ácidos grasos y los almacena como sustancias de reserva. Durante este proceso, los polifosfatos se descomponen para obtención de energía, haciendo que se liberen fosfatos en la zona aerobia. Cuando entran en la zona aeróbica absorben fosfatos y los almacena en forma de polifosfatos en los tejidos celulares. Esto hace que el contenido de fosfatos del agua residual disminuya.

### ***3.6.3. Escherichia coli***

También conocida por la abreviación de su nombre, *E. coli*, es quizás el organismo procariota más estudiado por el ser humano. Se trata de una Enterobacteria que se encuentra generalmente en los intestinos animales, y por ende en las aguas negras, pero se lo puede encontrar en todos lados dado que es un organismo ubicuo.

Estas bacterias digieren y se alimentan de materia orgánica descomponiéndola en partículas más simples, en tal virtud al final de este proceso el desecho orgánico se elimina y deja de ser contaminante al igual que disminuye notablemente olores desagradables en un amplio rango.

**Fuente:** [http://www.who.int/drugresistance/AMR\\_Importance/es/](http://www.who.int/drugresistance/AMR_Importance/es/)

# CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

## *CONCLUSIONES*

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

- Las muestras tomadas deben ser de tipo compuesto y a diversas profundidades hasta llegar a un volumen de un galón de agua, por lo que el recipiente deberá ser de plástico.
- Cuando se toma una muestra simple, al realizar las observaciones microscópicas, no se visualiza ningún tipo de actividad microbiana.
- En las muestras que se van a utilizar en el análisis microbiológico, los recipientes no deben llenarse completamente de modo que se deje un espacio de aire después de colocar la tapa. Esto permitirá mezclar la muestra antes del análisis y evitar una contaminación accidental.
- Los recipientes deben ser aptos para resistir la temperatura de esterilización ( $175^{\circ}$  C), los cuales no realicen cambios químicos que impidan la actividad biológica.

- Los recipientes que contienen las muestras deben estar marcados de una manera clara y permanente, que en el laboratorio permita la identificación sin error.
- Al realizar en el laboratorio las pruebas bioquímicas, permitió obtener mayor información, la cual facilitó las observaciones de la morfología y tamaño de las bacterias sin alteración.
- Una vez concluido el trabajo investigativo, mediante pruebas bioquímicas se ha descubierto en un porcentaje mínimo de colonias, a *Acinetobacter* con el 5% y 10 % a *Escherichia coli*, bacterias benéficas que sirven para ayudar en el proceso de descontaminación de las aguas residuales.

## ***RECOMENDACIONES***

- Anotar en el momento del muestreo todos los detalles que ayuden a una correcta interpretación de los resultados (fecha y hora de muestreo, nombre de la persona que muestreo, tipo de análisis a realizarse, etc.).
- Los recipientes que contienen las muestras deben ser protegidos y sellados de manera que no se deterioren o pierda cualquier parte de ellos durante el transporte.
- Al arribo al laboratorio, las muestras deben ser conservadas bajo condiciones que eviten cualquier contaminación externa y que prevengan cambios en su contenido.
- Es recomendable para este propósito el uso de refrigeradoras o de lugares fríos y oscuros.
- Poner especial cuidado para asegurar que los recipientes porta muestras estén libres de contaminación.
- En el proceso de descontaminación se deberán utilizar a *Acinetobacter* y *Escherichia coli*, organismos benéficos que facilitarán en el proceso de purificación, sin la utilización de contaminantes químicos, ruidosos, etc.

- Las autoridades competentes, deberán mitigar la problemática actual mediante el debido tratamiento de aguas residuales, aprovechando el beneficio de las bacterias.
- Aprovechar el trabajo realizado en esta investigación, para mitigar el impacto que generan las aguas residuales.
- Elaborar campañas educativas, orientadas a prevenir la incorporación de desechos de naturaleza peligrosa a las aguas. Los actores locales (GAD Municipal, ONG, instituciones privadas y educativas, etc.), están comprometidos a coordinar esfuerzos de concientización ambiental, para la protección de los cuerpos receptores.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

### *LIBROS*

1. ALVARADO. “Tratamiento biológico de aguas residuales” Editorial 2012, Segunda Edición. Página 6.
2. Association, A.W.W., Calidad y Tratamiento de Agua 5th ed. 2002, Madrid: Mc Graw Hill.
3. BROCK. “Brock Biología de los Microorganismos 10ª Ed” Editorial 2003, décima edición. Página 27.
4. CRITES-TCHOBANOGLIOUS. “Tratamiento de Aguas Residuales con Pequeñas Poblaciones.” Editorial Emma Ariza H. Páginas 1, 244.
5. FAIR-GEYER-OKUN. “Abastecimiento de agua y remoción de aguas residuales” Editorial 1998, Limusa, S.A de CV. México.
6. K. PIATKIN “Microbiología” Editorial, Mir ISBN 1968 Página 9.

7. METCALF & EDDY, I., Wastewater Engineering Treatment and Reuse 4th ed. 2003, New York: McGraw-Hill.
8. NORIEGA. "Manual de Tratamiento de Aguas Negras" Editorial Limusa, S.A de CV. Páginas 41, 42, 43, 44.
9. PRESCOTT-HARLEY-KLEIN. "Microbiología" Séptima edición. Páginas. 110, 111, 112, 113, 114, 115.
10. Public Health Association (APHA). Mark J. Hammer and Mark J. Hammer, J., Water and Wastewater Technology Sixth ed. 2008 New Jersey Pearson Prentice Hall.
11. RAMALHO, R.S., Tratamiento de Aguas Residuales Segunda ed. 1993, Barcelona, España: Reverte S. A.
12. RAMALHO. "Tratamiento de aguas residuales" Editorial Reverté, S.A. 1996. Página 12.
13. ROMERO-ROJAS, J.A., "Tratamiento de Aguas Residuales: Teoría y Principios de Diseño.", Editorial. E.E.C.d. Ingeniería. 1999, Santafé de Bogotá, Colombia.

14. SCHLEGEL. “Microbiología general” Editorial, Omega ISBN 84-282-1030-6 1997. Página 9. T. D. BROCK, 199 (p 27).
  
15. TCHOBANOGLOUS George. “Ingeniería de Aguas Residuales: Tratamiento, Vertido y Reutilización.” Ingeniería Sanitaria de Aguas Residuales. Editorial 1995, McGraw-Hill (Madrid).
  
16. TERENCE J. McGhee. “Abastecimiento de Agua y Alcantarillado” Ingeniería Ambiental Sexta Edición. Editorial Emma Ariza H.
  
17. WANG JL, Z.X., Feng YC, Qian Y., Effect of Salinity variations on the performance of activated sludge system. Biomedical and Environmental Science, 2005: p. 4.
  
18. WINKLER, M., “Tratamiento Biológico de Aguas Residuales.”, 1986, México Editorial Limusa S. A.

### ***TESIS PUBLICADAS***

1. LÓPEZ, Jessica. “Evaluación de la eficiencia de un reactor anaeróbico de flujo ascendente y manto de lodos UASB para el tratamiento de aguas residuales – escala laboratorio.” Presentada en la Universidad San Francisco de Quito, para la obtención de título en ingeniera química. Quito 2011.

2. ORTIZ, Diego. “Manual de tratamientos biológicos de aguas residuales para poblaciones medianas de la región sur del Ecuador.”. Presentada en la Universidad técnica de Loja, para obtener el grado de título en ingeniero civil. Loja 2011.
3. VALAREZO, Natazha. “Efecto de la concentración de la biomasa y la presencia de aceites vegetales, aceites vegetales quemados, sales e hidrocarburos en los lodos activados.” Presentada en la Universidad San Francisco de Quito, para la obtención de título en ingeniería ambiental. Quito 2010.

### ***LEGISLACIÓN***

1. Ecuador, Límites permisibles Libro VI Calidad Ambiental, Anexo 1 Norma de Calidad Ambiental y de Descarga de Efluentes, Límites de Descarga a un Cuerpo de Agua. Texto Unificado de Legislación Ambiental Secundaria en Decreto Ejecutivo No. 3516, P.L. Asamblea Constituyente, Editor. 2003, Registro Oficial No. 2.
2. Código Orgánico de Organización Territorial, Autonomía y Descentralización COOTAD.
3. Fuentes de la presente edición de la Ley de Prevención y Control de la Contaminación Ambiental

- a. Decreto Supremo 374 (Registro Oficial 97, 31-V-76)
  - b. Ley 12 (Suplemento del Registro Oficial 82, 9-VI-97)
  - c. Ley 99-37 (Registro Oficial 245, 30-VII-99).
- 
1. Ley de Aguas, Codificación. Codificación 16, Registro Oficial 339 de 20 de Mayo del 2004.
  2. Ley Orgánica de Salud. Ley 67, Registro Oficial Suplemento 423 de 22 de Diciembre del 2006. (p 16-17)

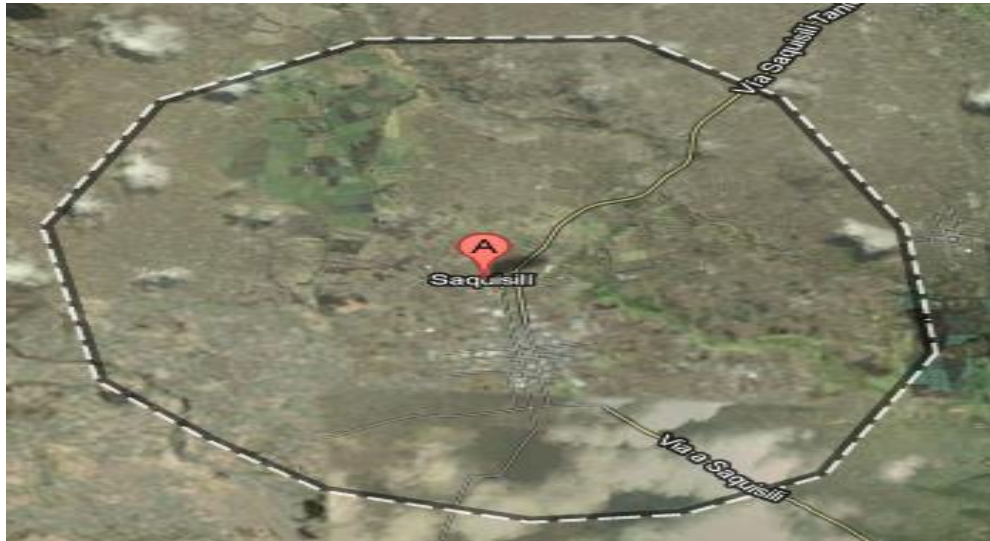
### ***LINCOGRAFÍAS***

1. [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/wastewater/es/](http://www.who.int/water_sanitation_health/wastewater/es/)[Consulta:9 de Abril 2013].
2. [http://www.psa.es/webesp/projects/solarsafewater/documents/libro/02\\_Capitulo\\_02.pdf](http://www.psa.es/webesp/projects/solarsafewater/documents/libro/02_Capitulo_02.pdf) [Consulta: 9 de Abril 2013].
3. <http://www.ictsl.net/downloads/microbiologia.pdf>[Consulta: 11 de Abril 2013].

4. <http://www.lenntech.es/glosario-agua.htm>[Consulta: 17 de Abril 2013].
5. [http://www.elcastellano.org/glosario\\_ambiental.pdf](http://www.elcastellano.org/glosario_ambiental.pdf)[Consulta: 17 de Abril 2013].
6. <http://www.recaiecuador.com/Biblioteca%20Ambiental%20Digital/TULAS.pdf/LIBRO%20VI%20Anexo%201.pdf>[Consulta: 22 de Abril 2013].
7. <http://www.bvsde.paho.org/bvsair/e/manuales/glosarioES.pdf>[Consulta: 22 de Abril 2013].

# ***ANEXOS Y GRÁFICOS***

## ***ANEXO 1. ÁREA DE ESTUDIO.***



**Fuente: Google Eart, Autor, 2013**

**ANEXO 2.**  
**RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.**

Muestra 1. Superficial.



Muestra 2. Drenaje de agua



Muestra 3. A un rango de 20 cm, de profundidad.



Muestra 4. A un rango de 50 cm, de profundidad.



Muestra 5. A un rango de 1 m, de profundidad

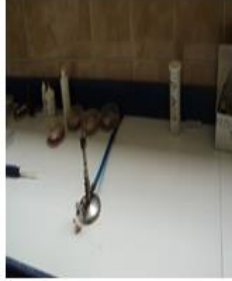


**ANEXO 3.**  
**MATERIALES DE LABORATORIO.**

estufa



mechero



Cámaras de seguridad biológica



Probeta gradual, matraz



Tubos con medio sólido



Frigorífico o cámaras refrigeradas



balanza

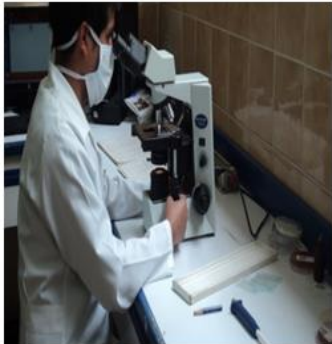


Agar sangre, macconkey, biggy, sabouraud



**ANEXO 4.**  
**OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA.**

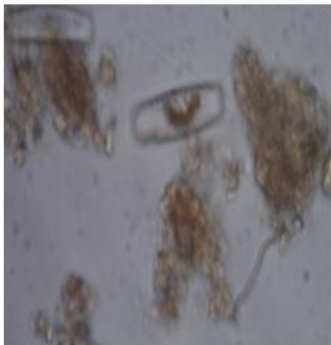
Observación microscópica



Microrganismos



Escherichia coli



Acinetobacter



Pico de flauta



Medio de cultivo

