



**UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**CARRERA INGENIERÍA AGRONÓMICA**



**TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:**

**BACTERIAS AISLADAS CON POTENCIAL DE DEGRADACIÓN DE POLIETILENO Y SUS EFECTOS EN SUELOS CONTAMINADOS CON DESPERDICIOS PLÁSTICOS, CANTÓN QUEVEDO. AÑO 2018**

**AUTOR:**

Verdesoto Valencia Angel Vinicio  
angelverdesoto95@Hotmail.com

**DIRECTOR :**

Dr. Hoyron Fabricio Canchignia Martínez

**Quevedo – Los Ríos - Ecuador.**

**2018**

# INTRODUCCIÓN

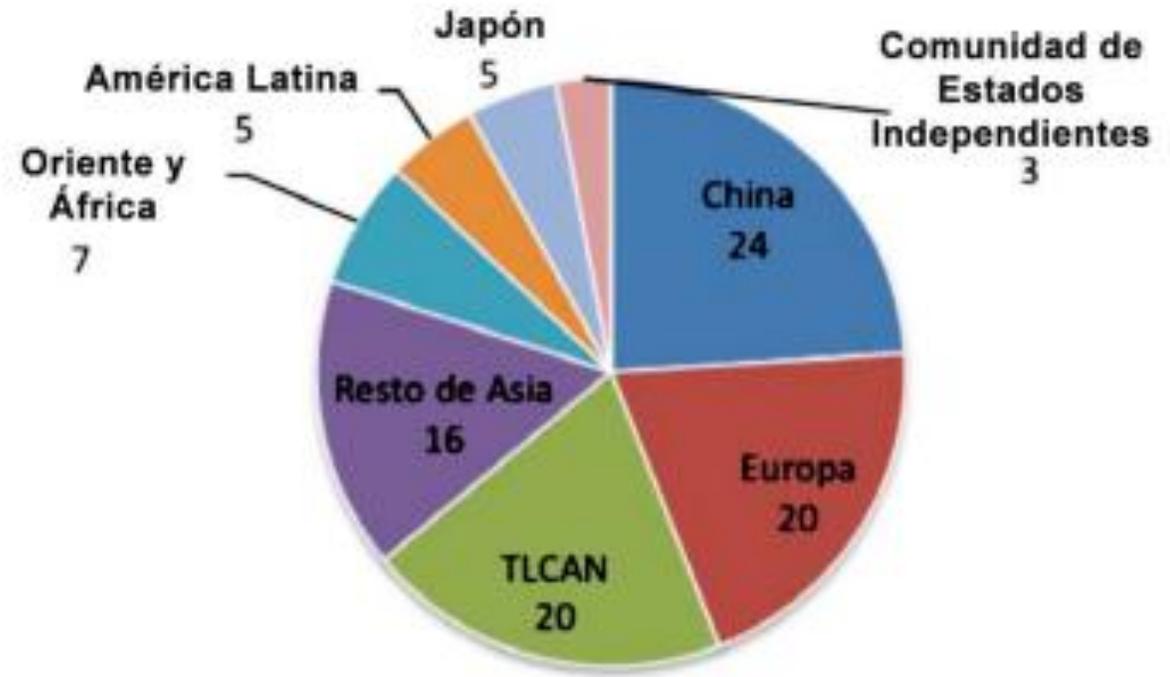
## Producción de productos plásticos



500.000 millones de botellas anualmente

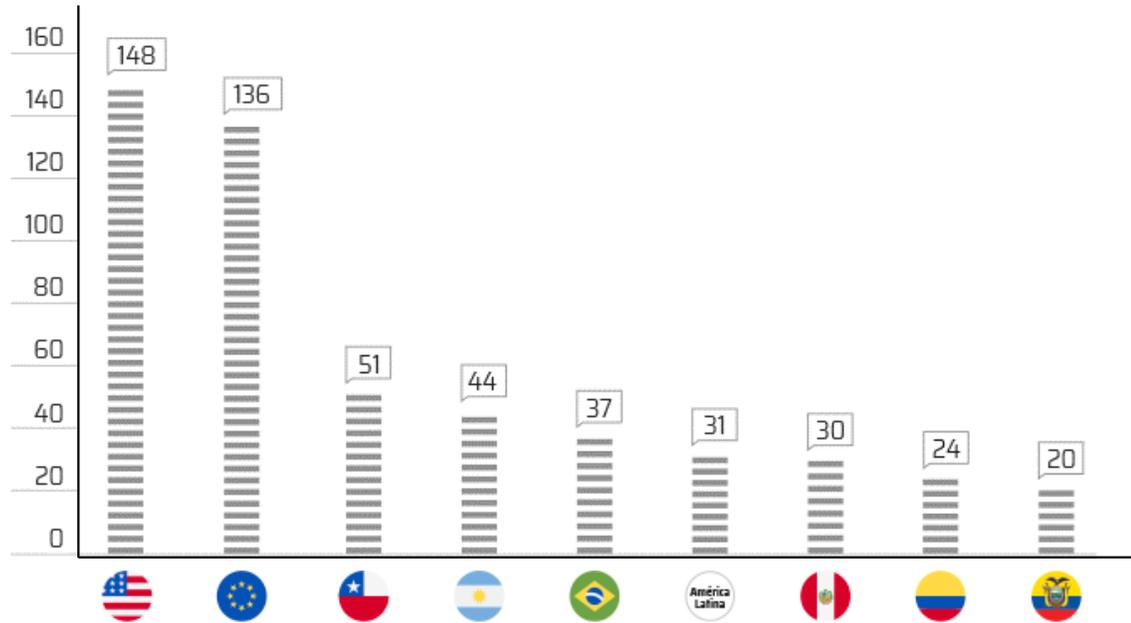


Un trillón de bolsas plásticas al año



Producción mundial de plásticos por regiones económicas, 2012

# Empleo de productos plásticos en el Ecuador



Empleo de plásticos per cápita kg/año



20,2 kg/año de plásticos es utilizado por habitante

# Impacto ambiental del plástico



Contaminación de ríos,  
fuentes de agua, lagos, mares,  
océanos.

Contaminación de suelos con  
desechos solidos



Muerte de animales silvestres  
por ingestión de plástico

Las bolsas de plástico, fabricadas con polietileno de baja densidad, tardan más de un siglo en descomponerse totalmente, mientras que las botellas plásticas tardan en degradarse hasta **1000 años** si permanecen enterradas (Rodríguez, 2011).

# Contaminación de las aguas



Contaminación de las aguas con residuos plásticos



Otorga las condiciones para la proliferación de algas.

Micropásticos



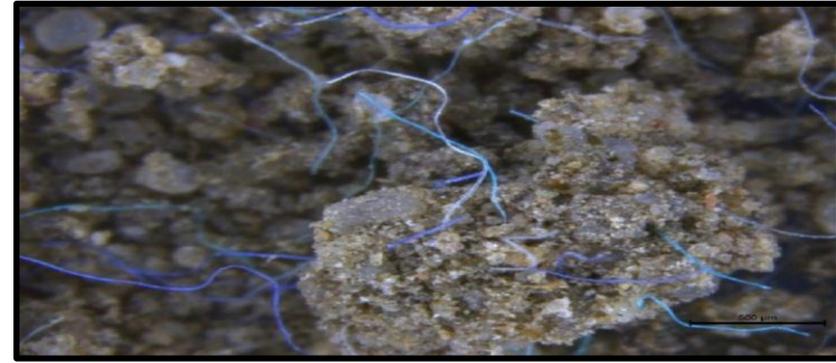
Pez plata con residuos plásticos en su estomago (GYRES INSTITUTE, 2017)

Por lo general los plásticos tardan un año en degradarse por diversos factores en los, ríos, lagos y océanos (Knight 2012).

# Contaminación de suelos



Contaminación de suelos con desechos solidos



Suelo con presencia de fibras poliacrílicas



Las microfibras se adhieren a los alimentos

Los animales ingieren estas fibras provocándoles intoxicación

# Eliminación de los desechos plásticos



Recolección y eliminación de plásticos

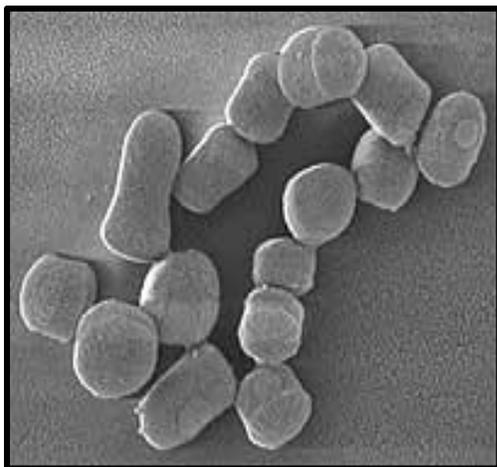


Reciclaje

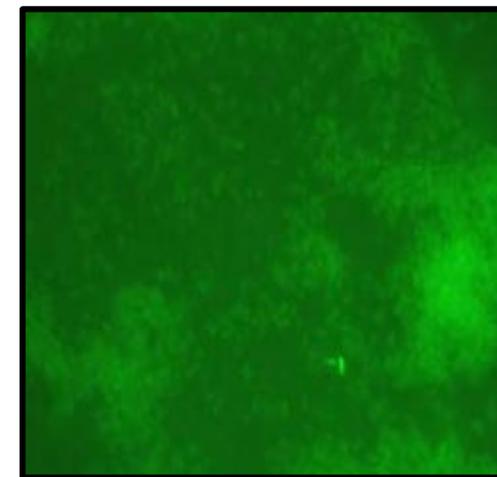


Utilización de microorganismos

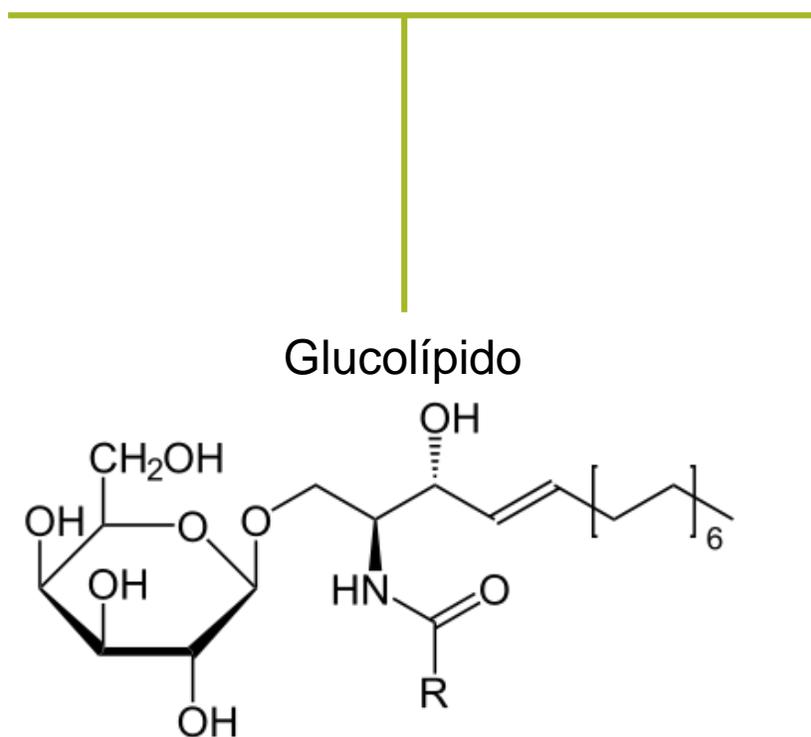
# Bacterias degradadoras de Polietileno



*Arthrobacter sp.*



Colonias de *Arthrobacter sp.* en agar mínimo con polietileno (Balasubramanian et al., 2010.)



Incremento de la degradación y dispersión de hidrocarburos, emulsificación de hidrocarburos y aceites vegetales, remoción de metales del suelo (Nuvia et al., 2014).

# ESQUEMA DE LA INVESTIGACIÓN

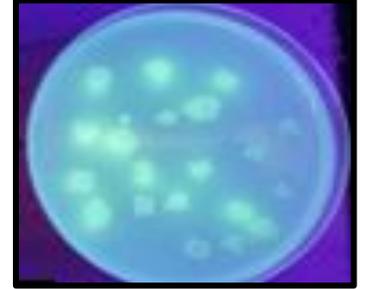
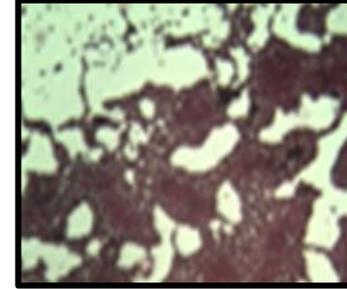
## AISLAMIENTO



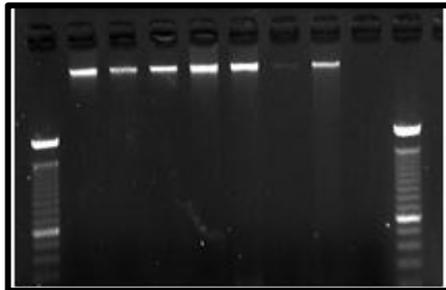
## IDENTIFICACIÓN DE COLONIAS



## CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA



## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR



## ENSAYOS DE LAS BACTERIAS

### DEGRADADORAS



# RESULTADOS

## AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN

Procedencia de la Muestra	Codificación
Muestra de Agua	AP-1
Muestra de Agua	AP-2
Muestra de Agua	AP-3
Muestra de Agua	AP-5
Muestra de Agua	AP-6
Muestra de Suelo	SP-1
Muestra de Suelo	SP-2
Muestra de Suelo	SP-4
Muestra de Suelo	SP-5
Muestra de Suelo	SP-6
Muestra de Suelo	SP-7
Muestra de Suelo	SP-8



AP-1

SP-1

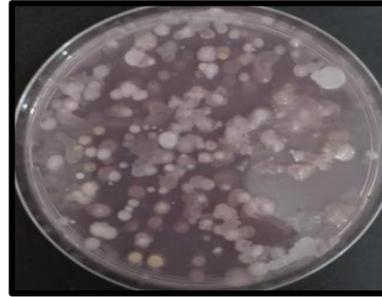


# ESQUEMA DE LA INVESTIGACIÓN

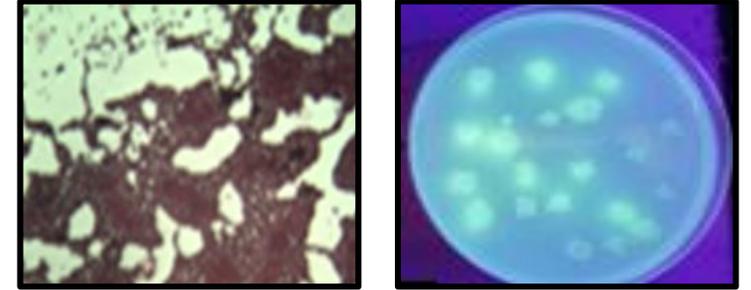
## AISLAMIENTO



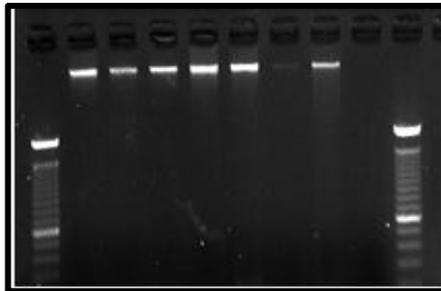
## IDENTIFICACIÓN DE COLONIAS



## CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA



## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR



## ENSAYOS DE LAS BACTERIAS

### DEGRADADORAS

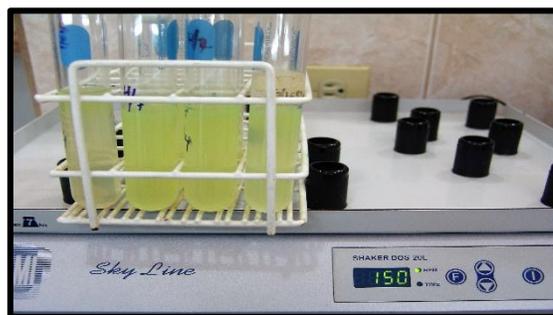


# METODOLOGÍA

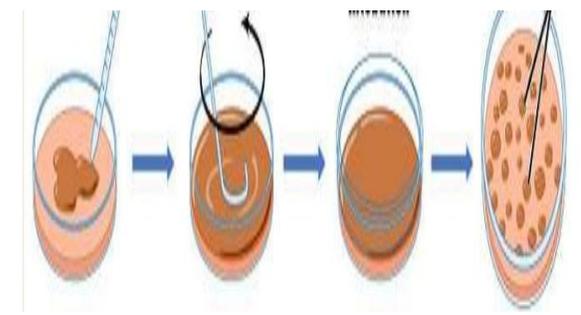
## CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA



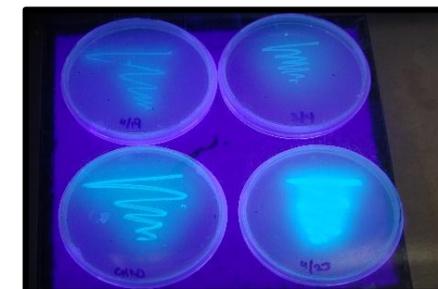
Aislados bacterianos



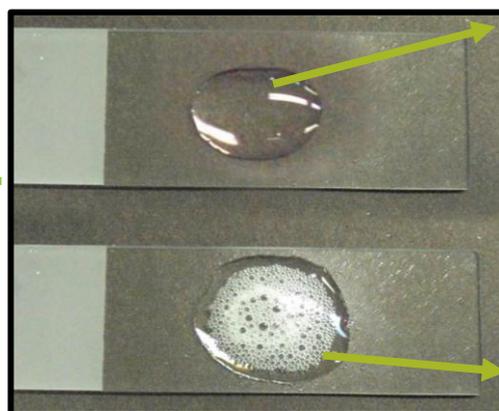
Medio King B  
(King *et al.* 1954)



Barrido e identificación de forma, elevación y margen de la colonia



Fluorescencia bajo lámpara UV



Peróxido de hidrogeno

Peróxido de hidrogeno +  
cepa aisladas

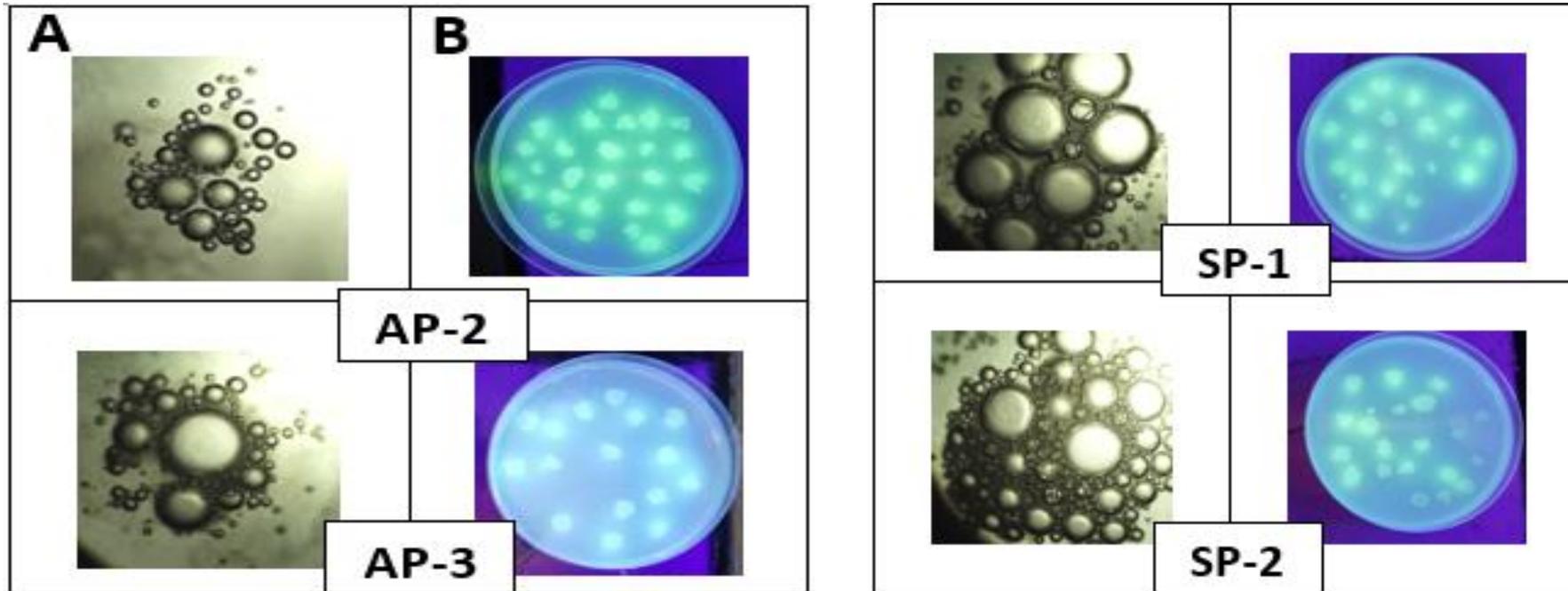
Prueba de catalasa



Enzimas de catalasa

# RESULTADOS

## CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA

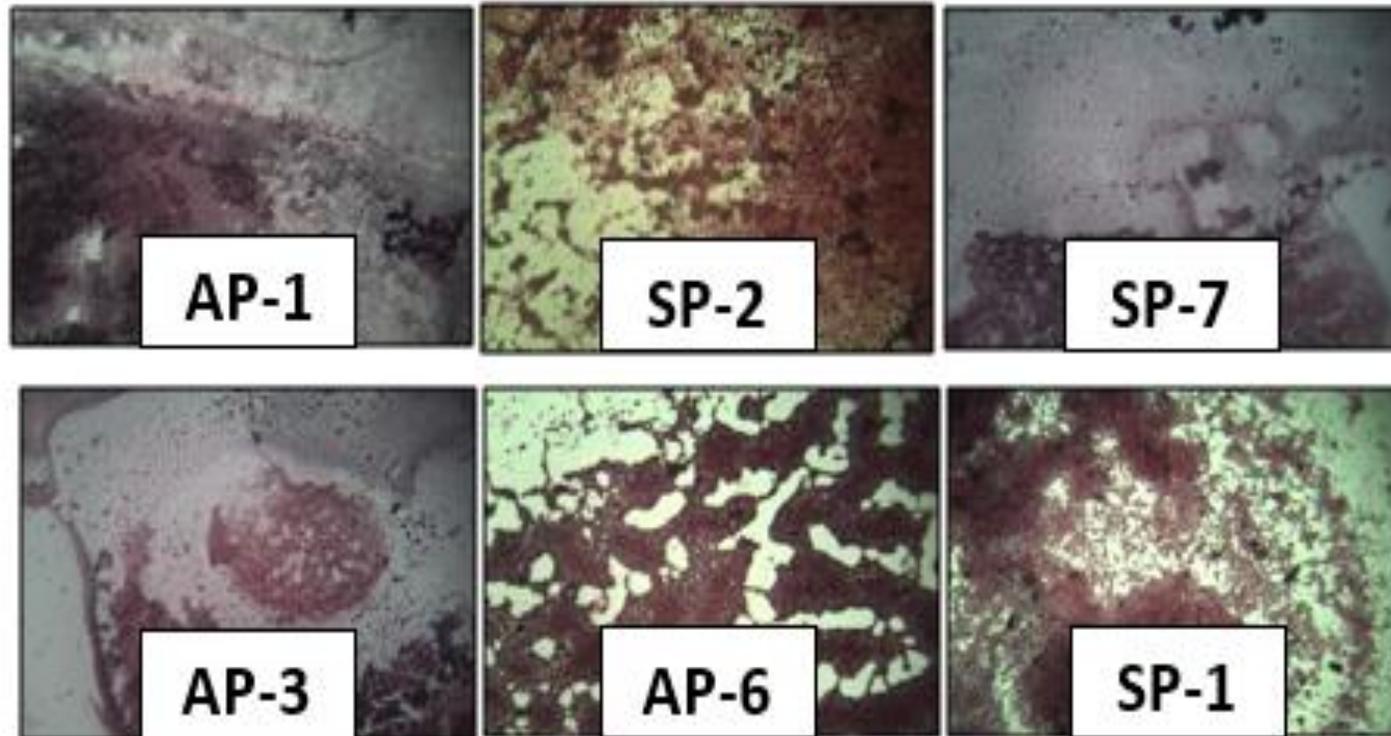


Caracterización Bioquímica de las bacterias con capacidad degradadora de polietileno. A. Producción de catalasa; B. Emisión de fluorescencia.

# RESULTADOS

## CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA

### TINCIÓN DE GRAM



Caracterización mediante la tinción de Gram de las cepas bacterianas con capacidad degradadora de polietileno.

# RESULTADOS

## CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

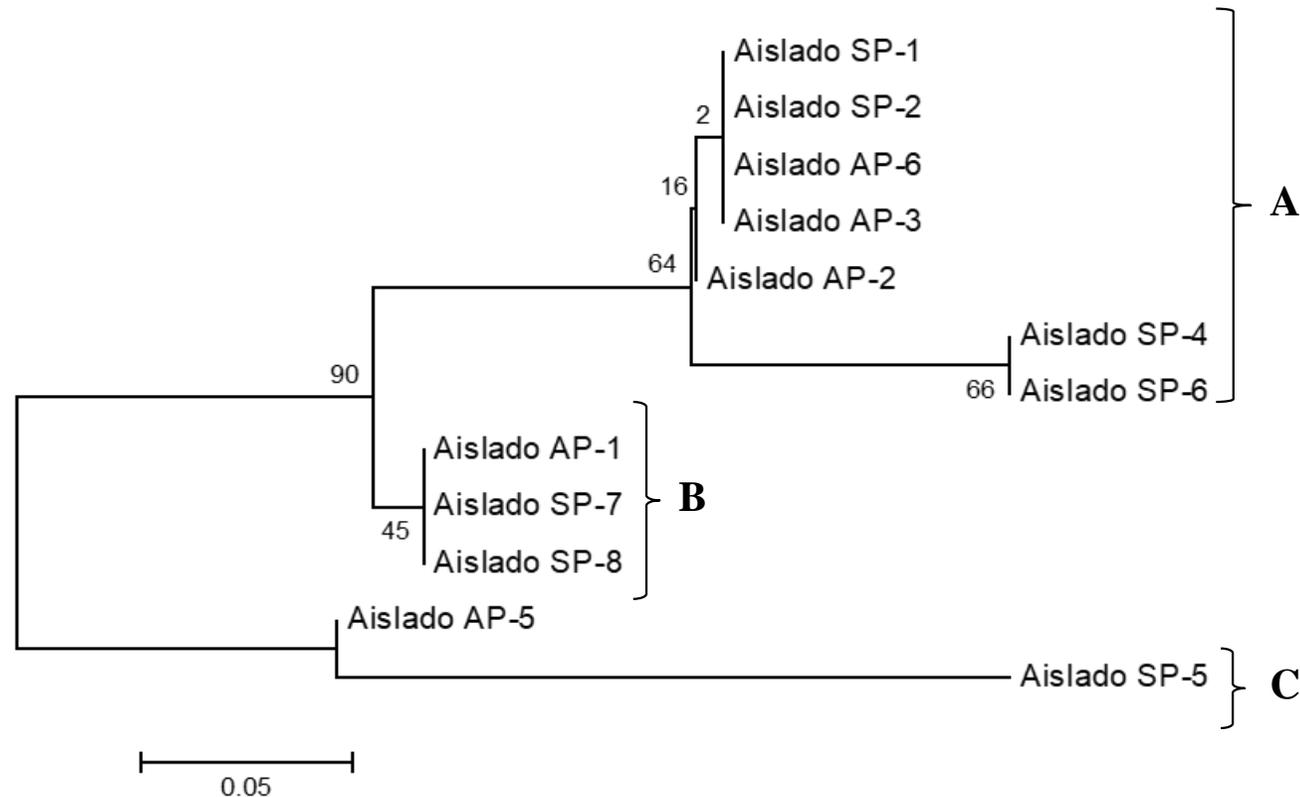
### TABLA DE CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

	Muestras	Tinción De Gram		Catalasa	Forma			Elevación			Margen				Fluorescencia
		Positivo	Negativo		Circular	Filamentosa	Granular	Plana	Elevada	Convexa	Entera	Ondulada	Lobulada	Dentada	
1	SP-8	0	1	++	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
2	AP-1	0	1	++	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
3	AP-2	0	1	++	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
4	AP-3	0	1	++	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
5	AP-5	0	1	++	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
6	AP-6	0	1	++	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
7	SP-1	0	1	++	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
8	SP-2	0	1	++	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
9	SP-3	0	1	+	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
10	SP-4	0	1	++	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0
11	SP-6	0	1	+	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1
12	SP-7	0	1	++	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0

Caracterización bioquímica y morfológica de las cepas bacterianas con capacidad degradadora de polietileno, + productor, ++ gran productor.

# RESULTADOS

## Relación filogenética de los aislados bacterianos con capacidad degradadora de polietileno



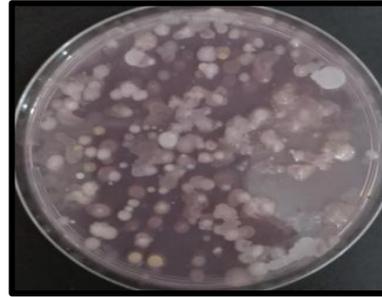
Dendrograma construido con datos de caracteres morfológicos y bioquímicos de los aislados correspondientes a las muestras obtenidas de suelos y aguas contaminadas con desechos plásticos. La distancia evolutiva se dedujo empleando el método Neighbor-Joining. El árbol filogenético se construyó empleando Maximum Composite Likelihood. Los números representan porcentajes de bootstrap.

# ESQUEMA DE LA INVESTIGACIÓN

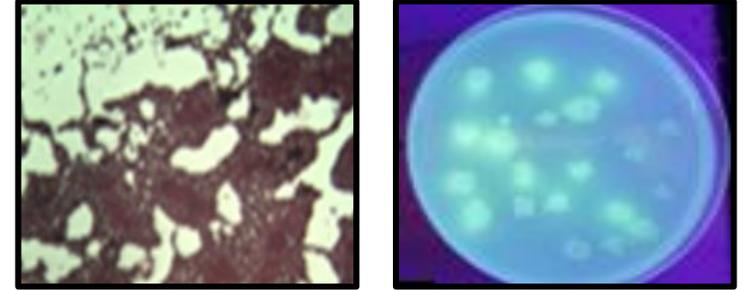
## AISLAMIENTO



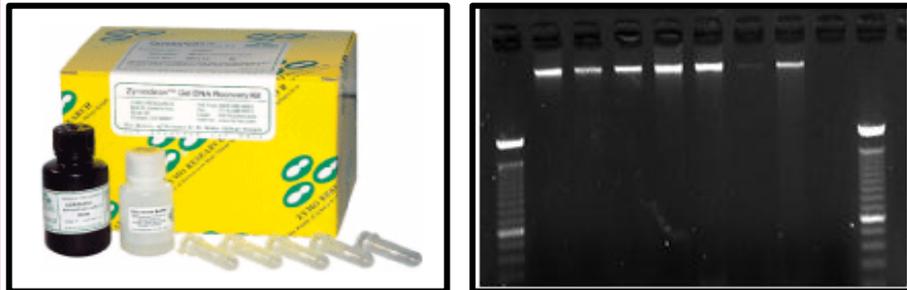
## IDENTIFICACIÓN DE COLONIAS



## CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA



## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR



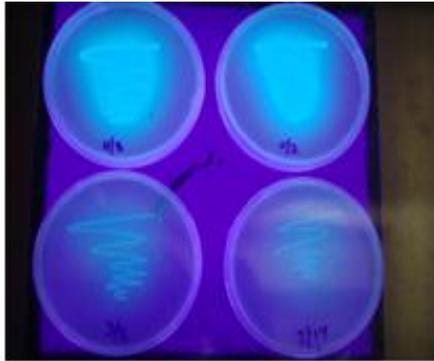
## ENSAYOS DE LAS BACTERIAS

### DEGRADADORAS



# METODOLOGÍA

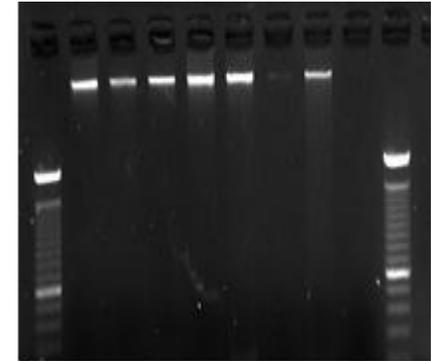
## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR



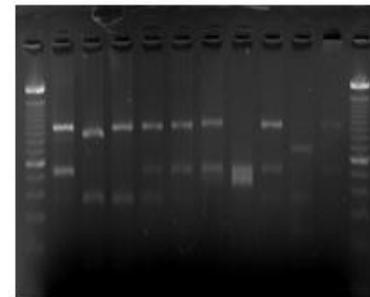
Aislados bacterianos



Extracción de ADN



Electroforesis del ADN extraído



Amplificación por ERIC-PCR


$$\begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \end{bmatrix}$$

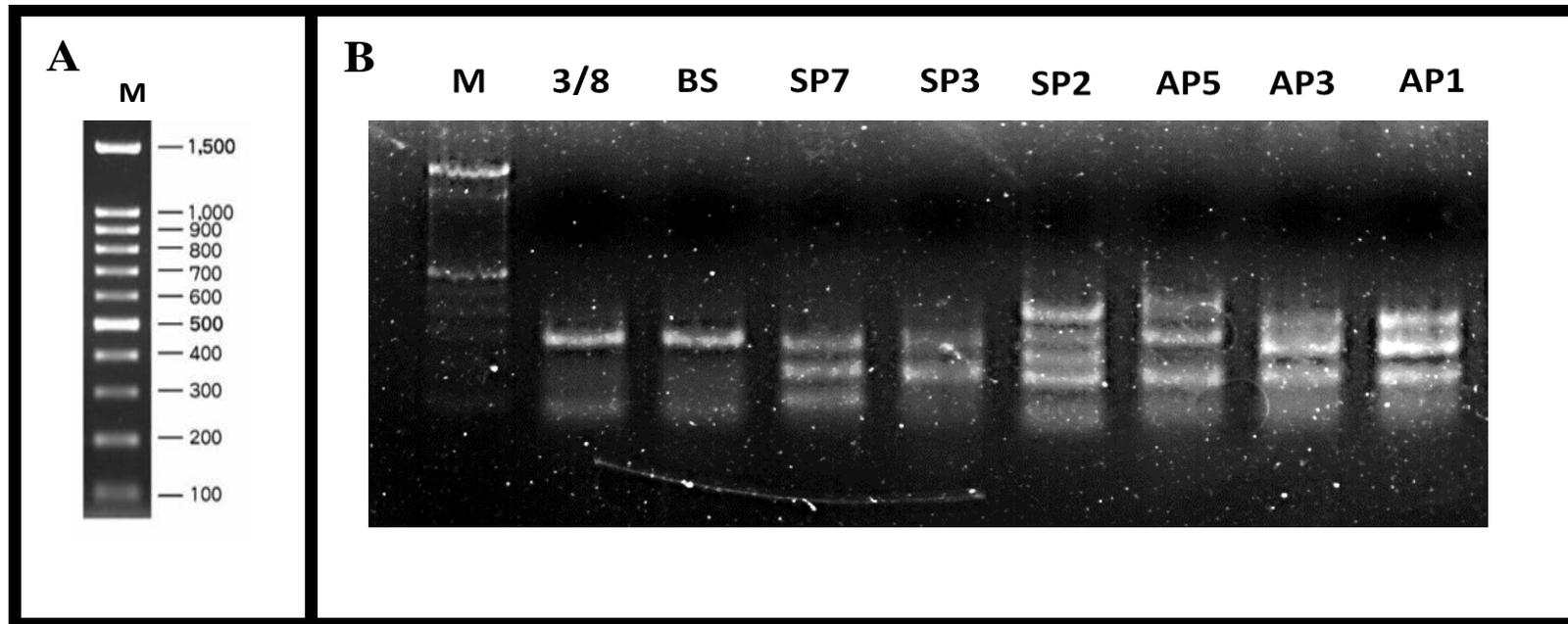
Incorporación de bandeo en matriz binaria



# RESULTADOS

## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR

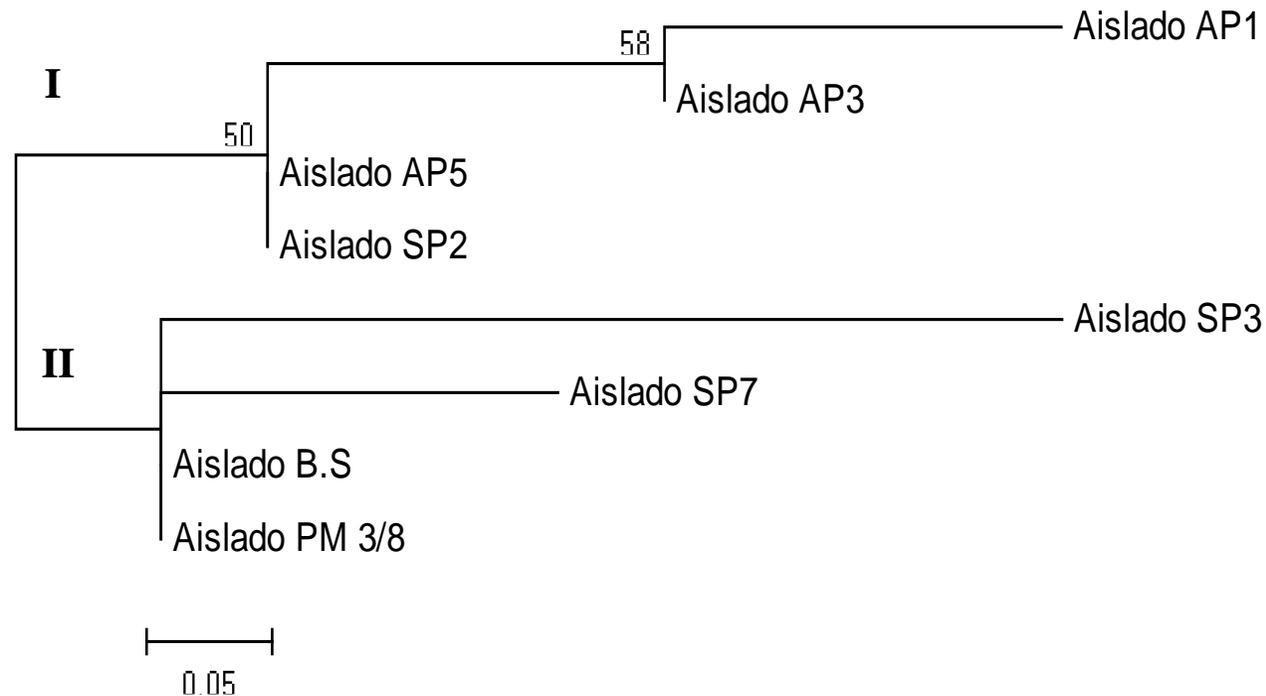
### RELACIÓN GENÉTICA DE LOS AISLADOS DE BACTERIAS CON CAPACIDAD DEGRADADORA DE POLIETILENO MEDIANTE MARCADORES MOLECULARES REP-PCR.



**A**, marcador de peso molecular. **B**, perfil de amplificación de las cepas con capacidad degradadora de polietileno, (SP7, SP3, SP2) cepas de suelos contaminados con residuos plásticos, (AP5, AP3, AP1) cepas de aguas contaminadas con residuos plásticos, (3/8 y BS) cepas control.

# RESULTADOS

## Agrupamiento filogenético de los aislados de bacterias con capacidad degradadora de polietileno mediante ERIC-PCR



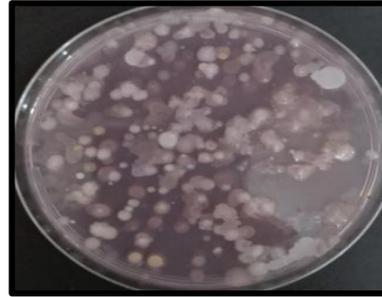
Dendrograma construido con datos de caracteres morfológicos y bioquímicos de los aislados correspondientes a las muestras obtenidas de suelos y aguas contaminadas con desechos plásticos. La distancia evolutiva se dedujo empleando el método Neighbor-Joining. El árbol filogenético se construyó empleando Maximum Composite Likelihood. Los números representan porcentajes de bootstrap.

# ESQUEMA DE LA INVESTIGACIÓN

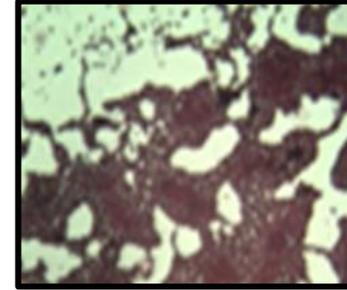
## AISLAMIENTO



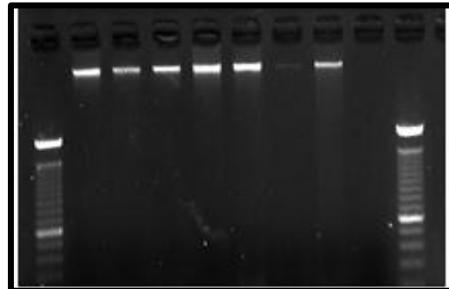
## IDENTIFICACIÓN DE COLONIAS



## CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA



## CARACTERIZACIÓN MOLECULAR



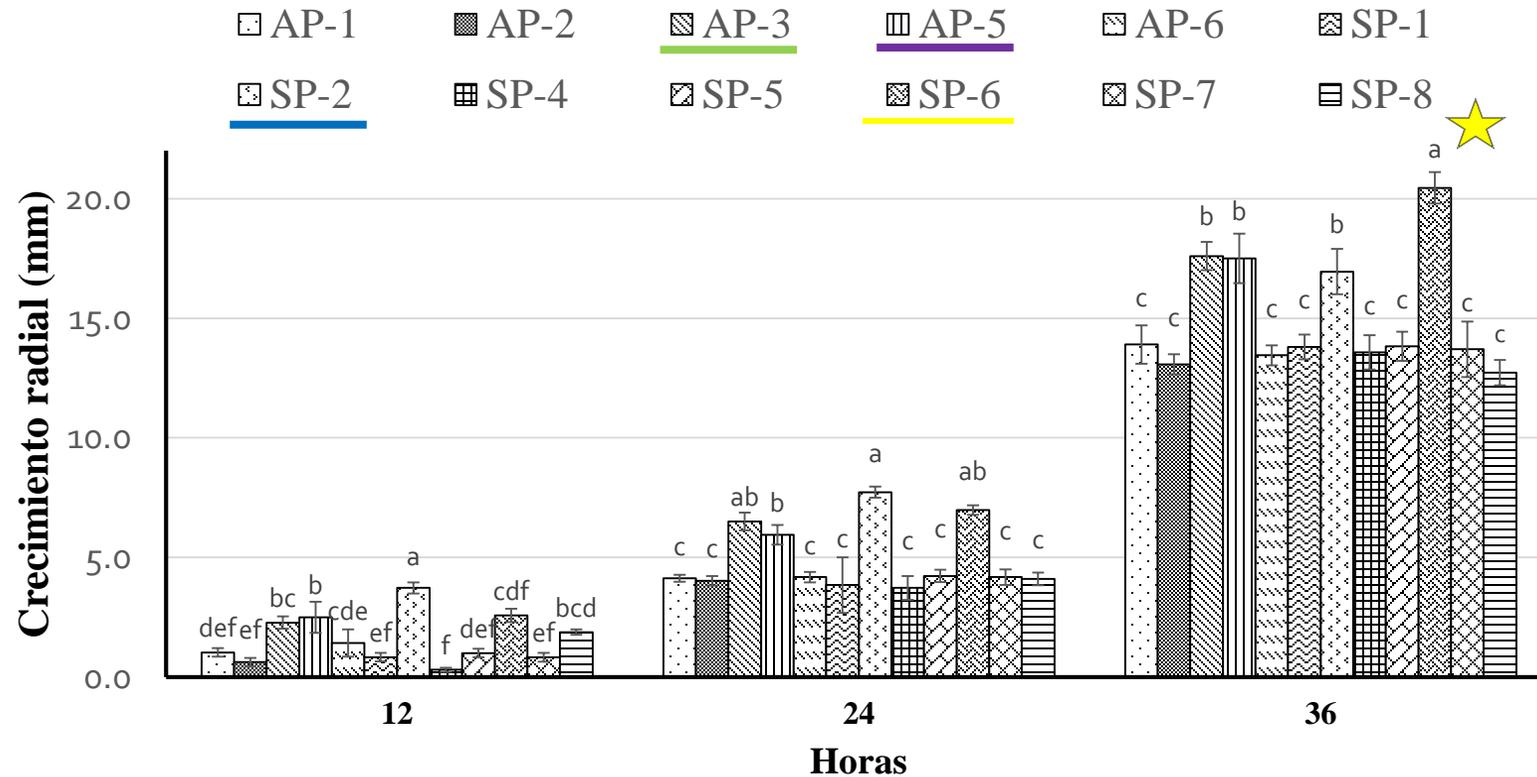
## ENSAYOS DE LAS BACTERIAS

### DEGRADADORAS



# RESULTADOS

## ESCRINING DE BACTERIAS DEGRADADORAS

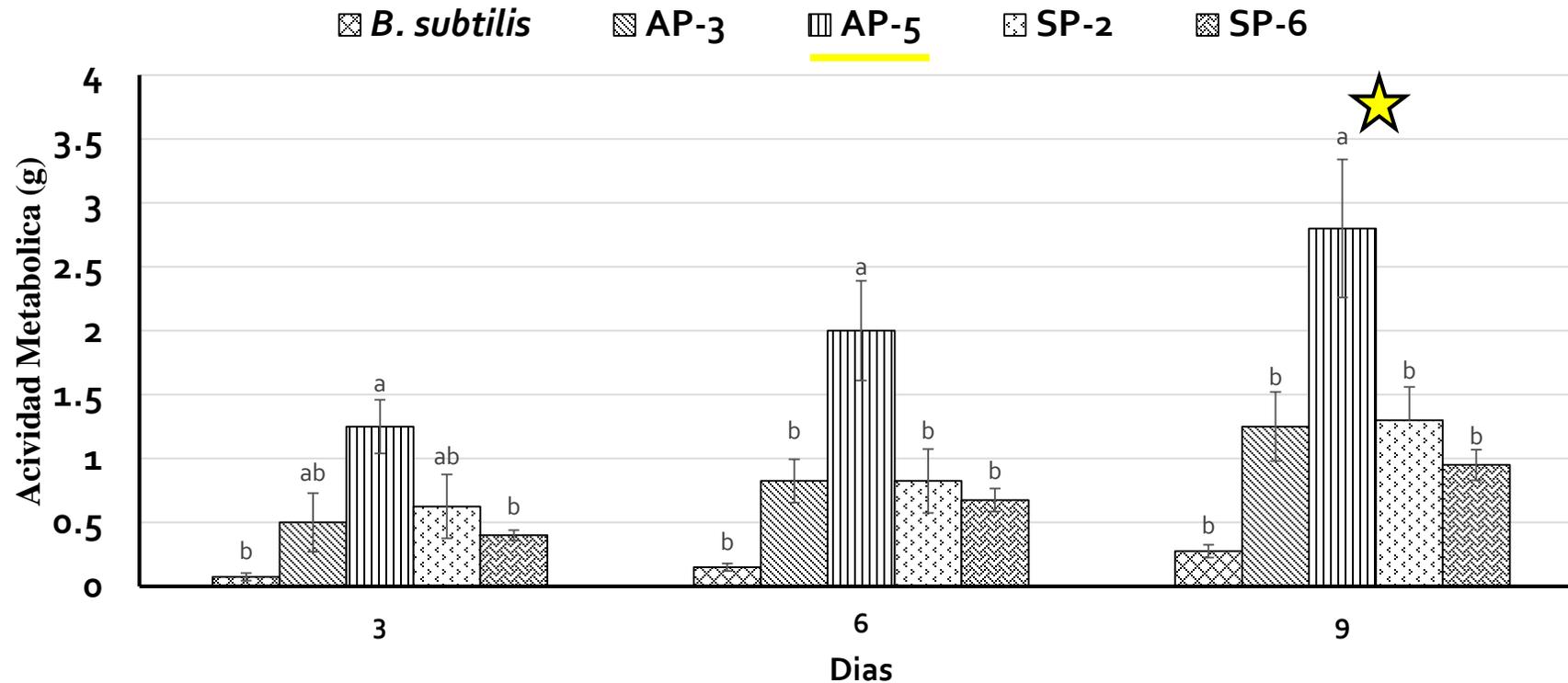


Las líneas de error indican  $\pm$ ES; letras diferentes indican diferencias significativas entre los promedios a  $p < 0.05$  (prueba de Duncan). Las barras indican el crecimiento bacteriano correspondiente de cada cepa, mostrando resultados simultáneos a las 12, 24 y 36 horas después de la inoculación.

# RESULTADOS

## ENSAYOS DE LAS BACTERIAS DEGRADADORAS

### Determinación de la capacidad degradadora de polietileno en condiciones in vitro



Las líneas de error indican  $\pm$ ES; letras diferentes indican diferencias significativas entre los promedios a  $p < 0.05$  (prueba de Duncan). Las barras indican el crecimiento bacteriano correspondiente de cada cepa, mostrando resultados simultáneos a las 3, 6 y 9 días después de la inoculación.

# RESULTADOS

## ENSAYOS DE LAS BACTERIAS DEGRADADORAS



*B. subtilis*



*AP-3*



*AP-5*



*SP-2*



*SP-6*



**10 minutos  
en tus manos  
150 años  
en la tierra**

TEAM



INGP2



*GRACIAS...*