



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



**TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:**

“CARACTERIZACIÓN DE CONSORCIOS MICROBIANOS CON CAPACIDAD BIORREMEDIADORA DE PESTICIDAS, Piretroides (CIPERMETRINA), Organofosforados (CLORPIRIFOS) Y N-(fosfometil) glicina (GLIFOSATO).”

**AUTORES**

Luis Fernando Vera

Angel Cedeño Moreira

Hayron Canchignia Martínez

**Quevedo – Los Ríos - Ecuador.**

**2019**

# INTRODUCCION

## Efectos de pesticidas sobre el medio Ambiente

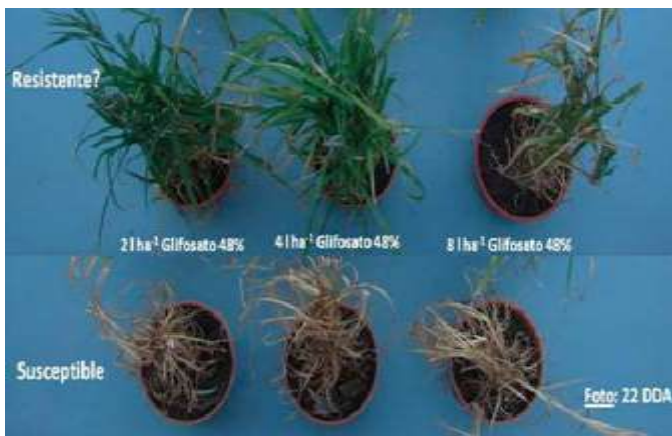
Generación de organismos resistentes

Persistencia ambiental de residuos tóxicos

Contaminación de recursos hídricos

Degradación de la flora y fauna

Problemas en la salud humana



## Biorremediación de suelos contaminados

### Biodep



Agrequima 2010

- ✓ Creado en Suecia como camas biológicas (Torstensson, L. and M. d. P. Castillo (1997).
- ✓ Compuesta en su mayoría por un sustrato vegetal(arroz , trigo , maíz ) fuente de energía para microorganismos descomponedores de moléculas de pesticidas
- ✓ Usada para verter excedentes de pesticidas para su posterior degradación microbiológica

Degradación enzimática

Remediación microbiana

Fitorremediación

BIORREMEDIACIÓN

# METODOLOGIA



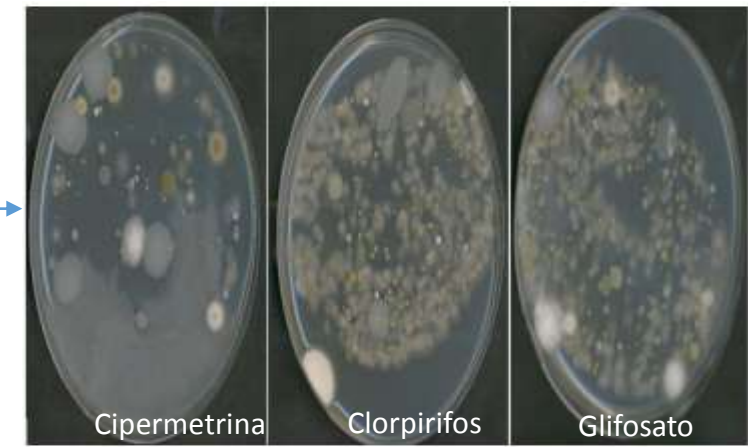
Cama biológica "Biodep"



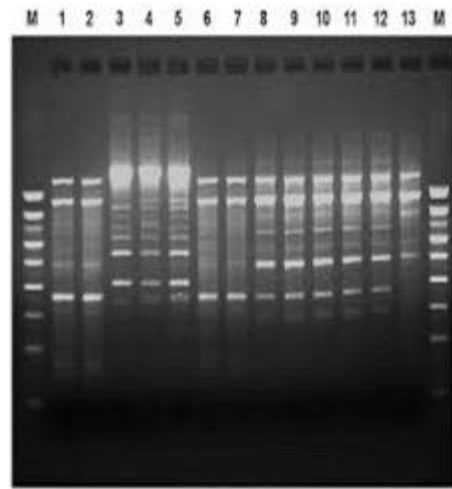
Siembra inicial de muestras en medio de cultivo King B



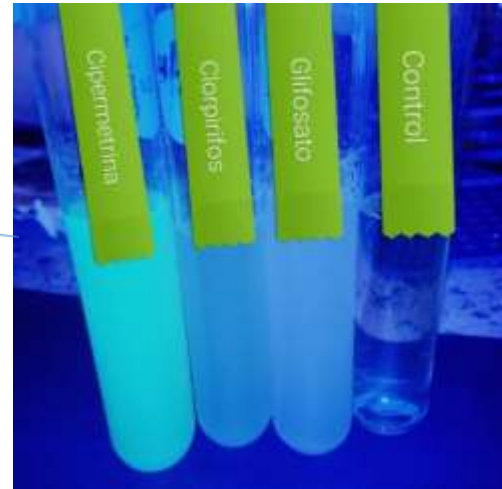
Siembra de pre-inóculo en medio mineral contaminado de pesticidas



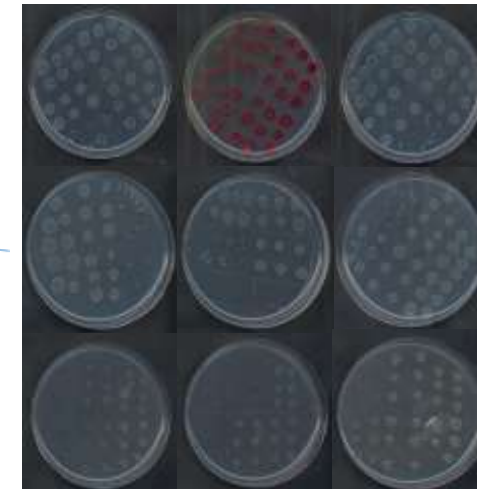
Desarrollo de las colonias microbianas 48 horas después de la inoculación.



Extracción de DNA y PCR



Ensayos de biodegradación de las cepas seleccionadas

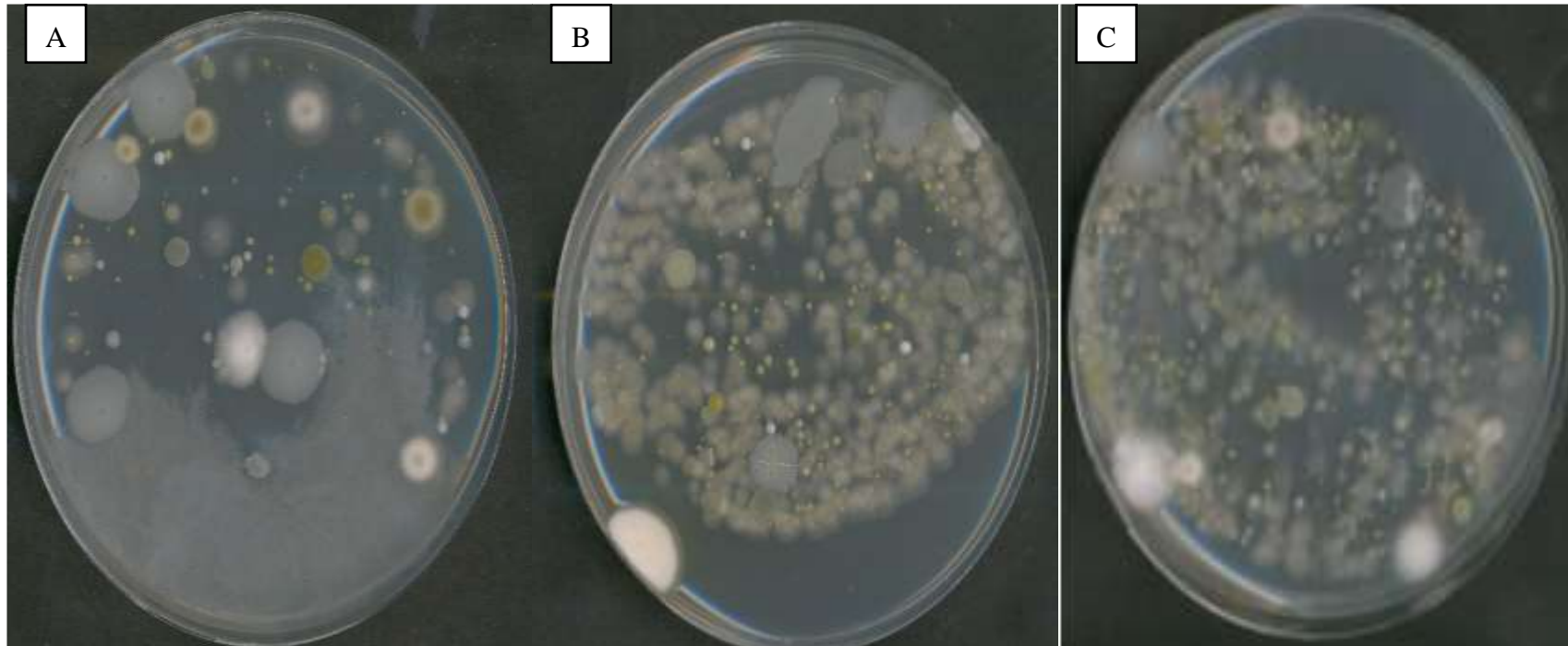


Caracterización de cepas seleccionadas como degradadoras de pesticidas



pruebas individuales de adaptación en medio contaminado (0.01 , 1 y 5 %)

## Resultados



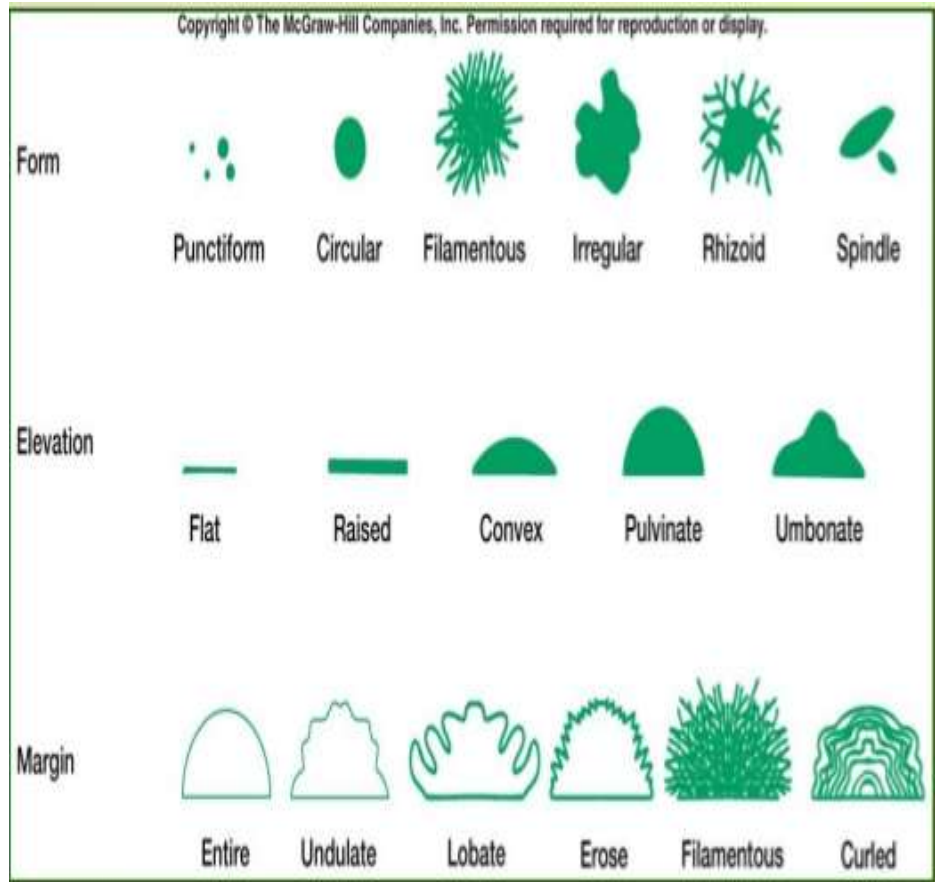
Aislamiento de microorganismos descomponedores de pesticidas. **A**, consorcio microbiano desarrollado en medio contaminado con glifosato. **B**, consorcio microbiano desarrollado en medio contaminado con Cipermetrina. **C**, consorcio microbiano desarrollado en medios contaminado con Clorpirifos.

# Resultados

		<b>Aislado</b>	<b>Antibiótico</b>	<b>Fungicida</b>	<b>0,01%</b>	<b>1%</b>	<b>5%</b>
<b>Cipermetrina</b>		<b>cp1</b>	0	1	1	1	1
		<b>cp2</b>	0	1	1	1	1
		<b>cp3</b>	0	1	1	1	1
		<b>cp4</b>	0	1	1	1	0
		<b>cp5</b>	1	0	1	0	0
<b>Glifosato</b>		<b>gl1</b>	0	1	1	1	1
		<b>gl2</b>	0	1	1	1	1
		<b>gl3</b>	0	1	1	1	1
		<b>gl4</b>	1	0	1	0	0
<b>Clorpirifos</b>		<b>cl1</b>	0	1	1	1	1
		<b>cl2</b>	0	1	1	1	1
		<b>cl3</b>	0	1	1	1	1
		<b>cl4</b>	1	0	1	1	0
		<b>cl5</b>	1	1	1	0	0
		<b>cl6</b>	1	1	1	0	0

**Clasificación microbiana en diferentes concentraciones de contaminantes**

## Clave de identificación morfológica bacteriana

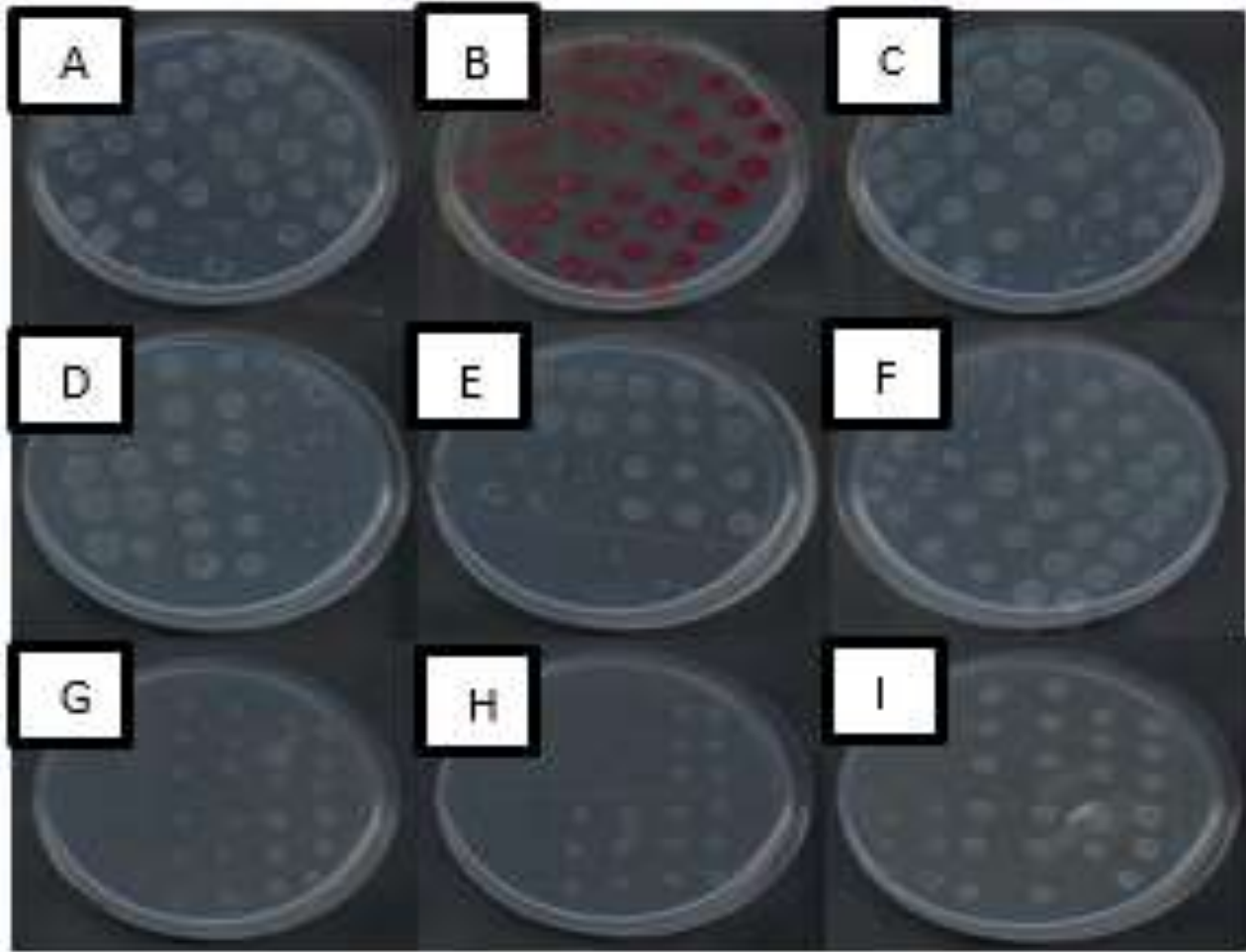


## Resultados

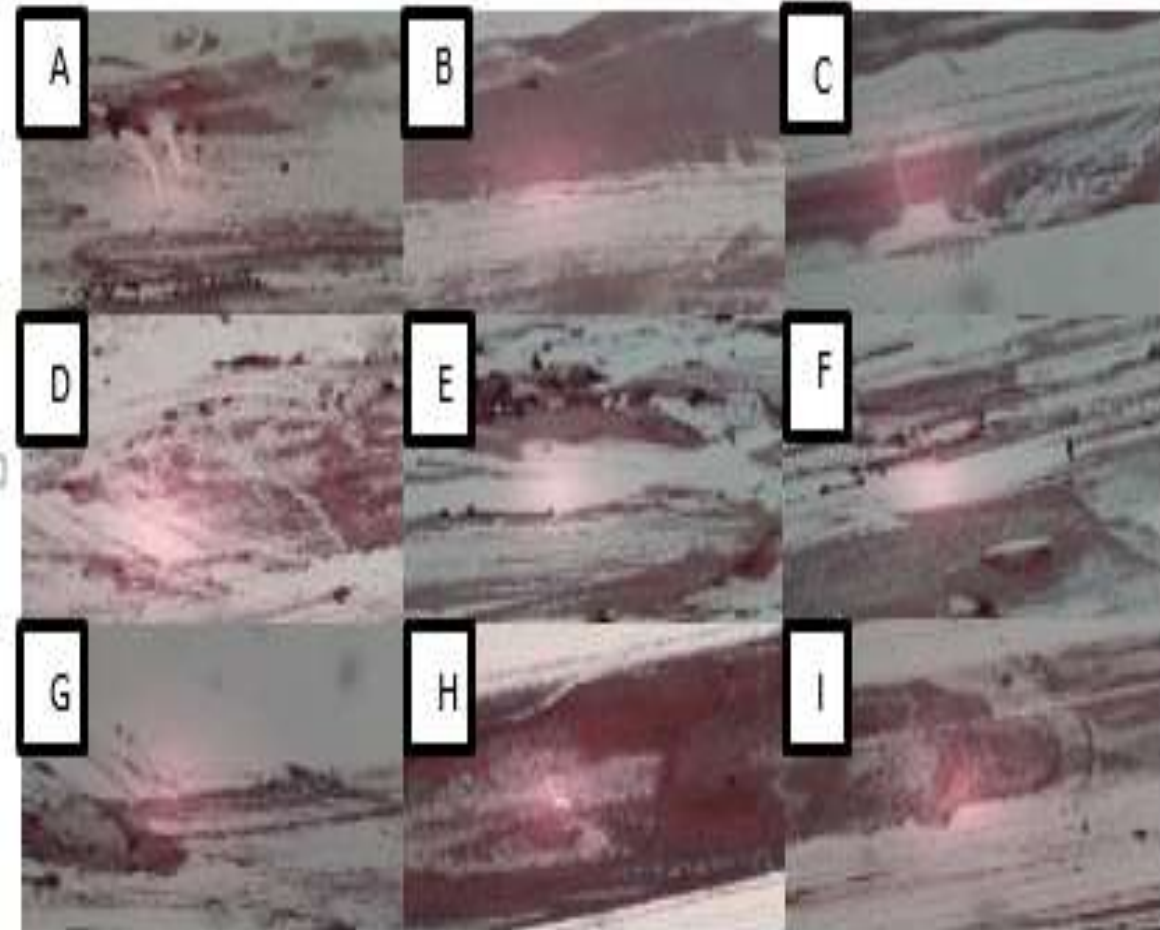
CEPA	FORMA			ELEVACIÓN			MARGEN			CATALASA		PROTEASA	
	C	F	G	P	C	PL	E	O	D	P	N	P	N
CL1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0
CL2	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1
CL3	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0
CP1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1
CP2	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0
CP3	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1
GL1	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0
GL2	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0
GL3	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0

**Caracteres morfológicos y bioquímicos.** FORMA: Circular (C), Filamentosa (F), Granular (G). ELEVACION: Plana (P), Convexa (C), Pulvinada (PL). MARGEN: Entera (E), Ondulada (O), Lobulada (L). CATALASA Y PROTEASA: Positivo (P), Negativo (N).

## Resultados



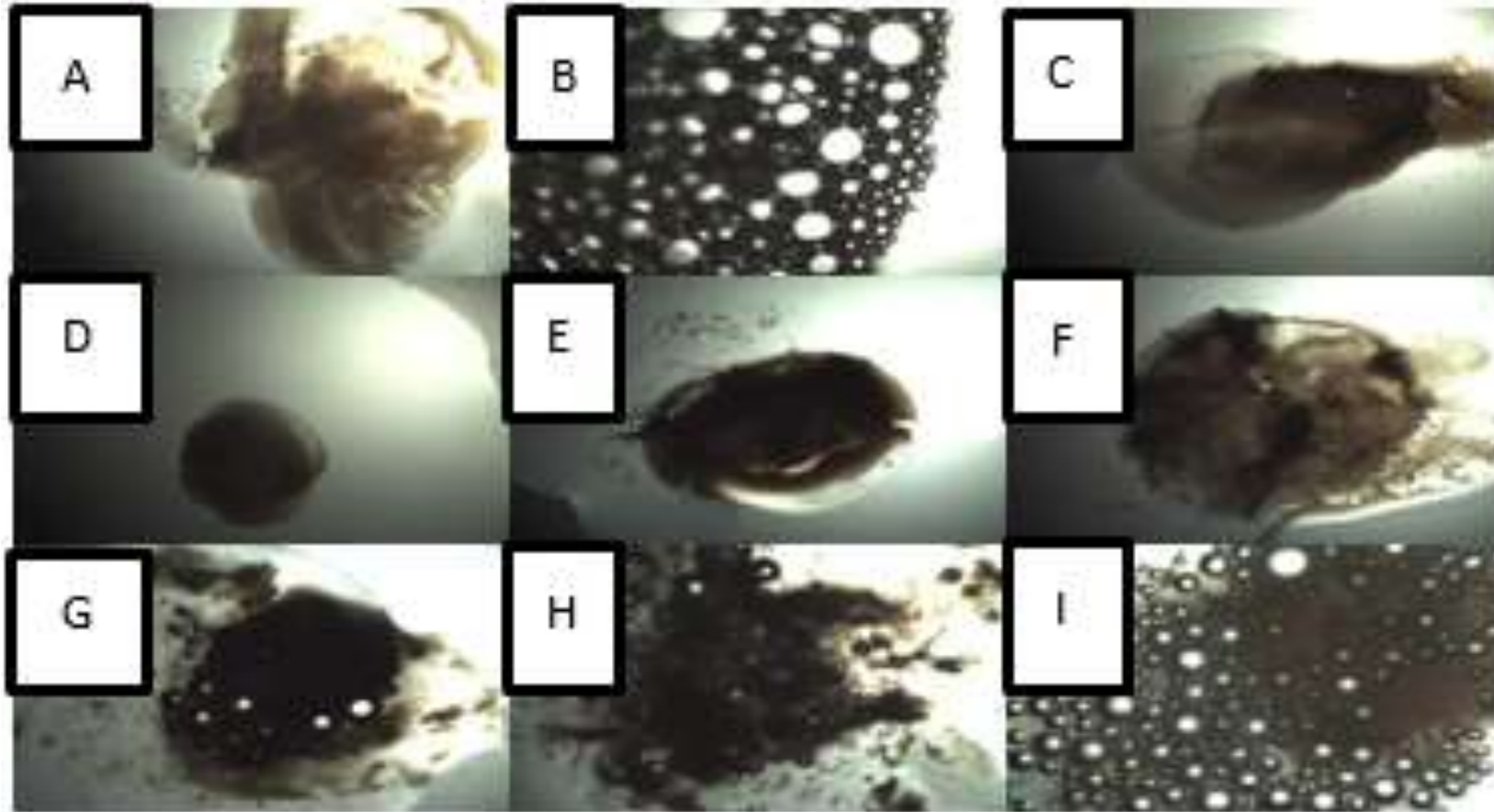
**Caracteres morfológicos coloniales.** Corresponden a la evaluación de las cepas a las 48 horas de crecimiento en medio King B sólido, **A** CL1, **B** CL2, **C** CL3, cepas pertenecientes al grupo de Clorpirifos. **D** CP1, **E** CP2, **F** CP3, grupo Cipermetrina. **G** GL1, **H** GL2, **I** GL3, grupo Glifosato.



Tinción de GRAM. Células bacterianas con 24 horas de crecimiento en medio de cultivo sólido, **A** CL1, **B** CL2, **C** CL3, cepas pertenecientes al grupo de Clorpirifos. **D** CP1, **E** CP2, **F** CP3, grupo Cipermetrina. **G** GL1, **H** GL2, **I** GL3, grupo Glifosato.

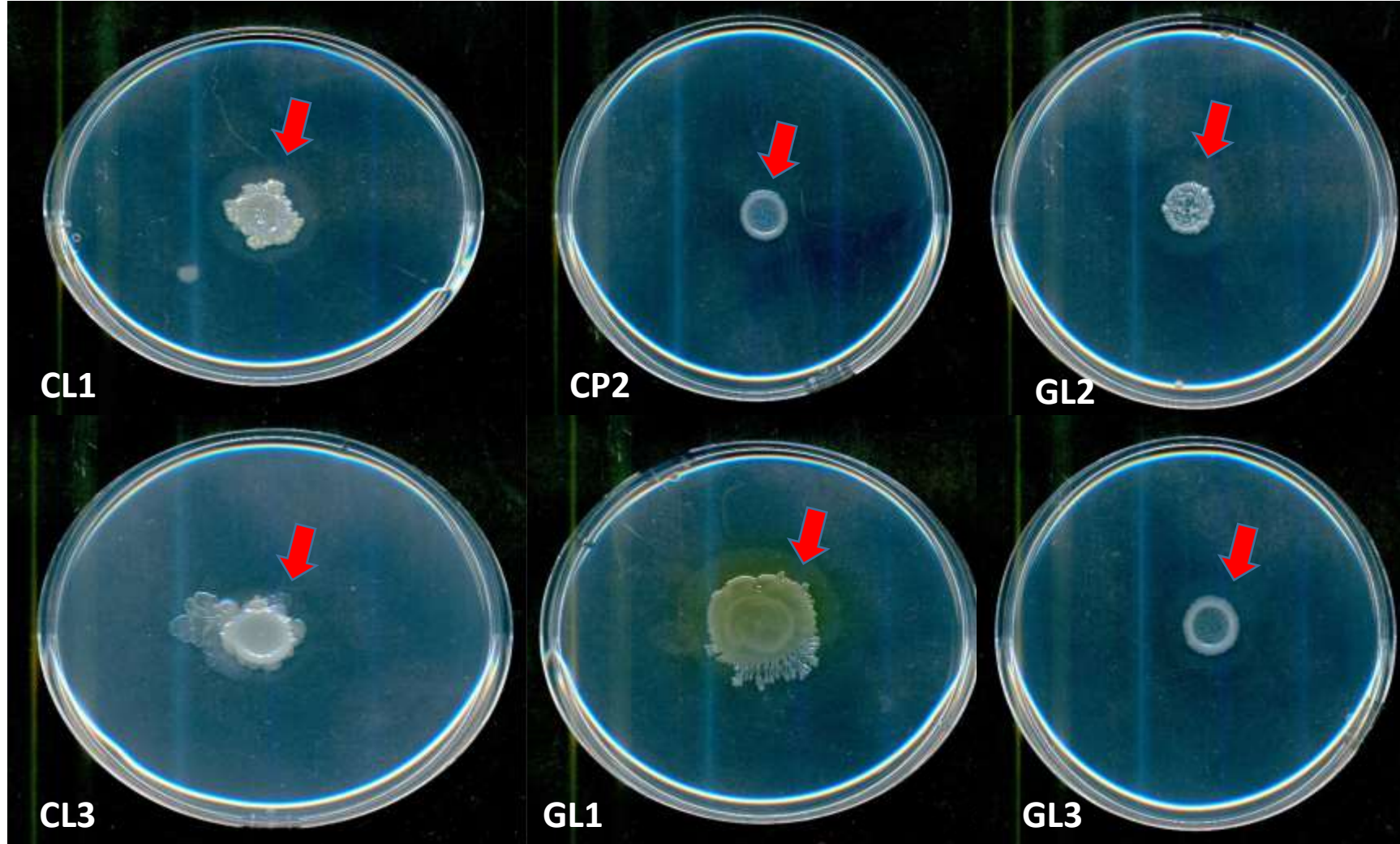


## Resultados

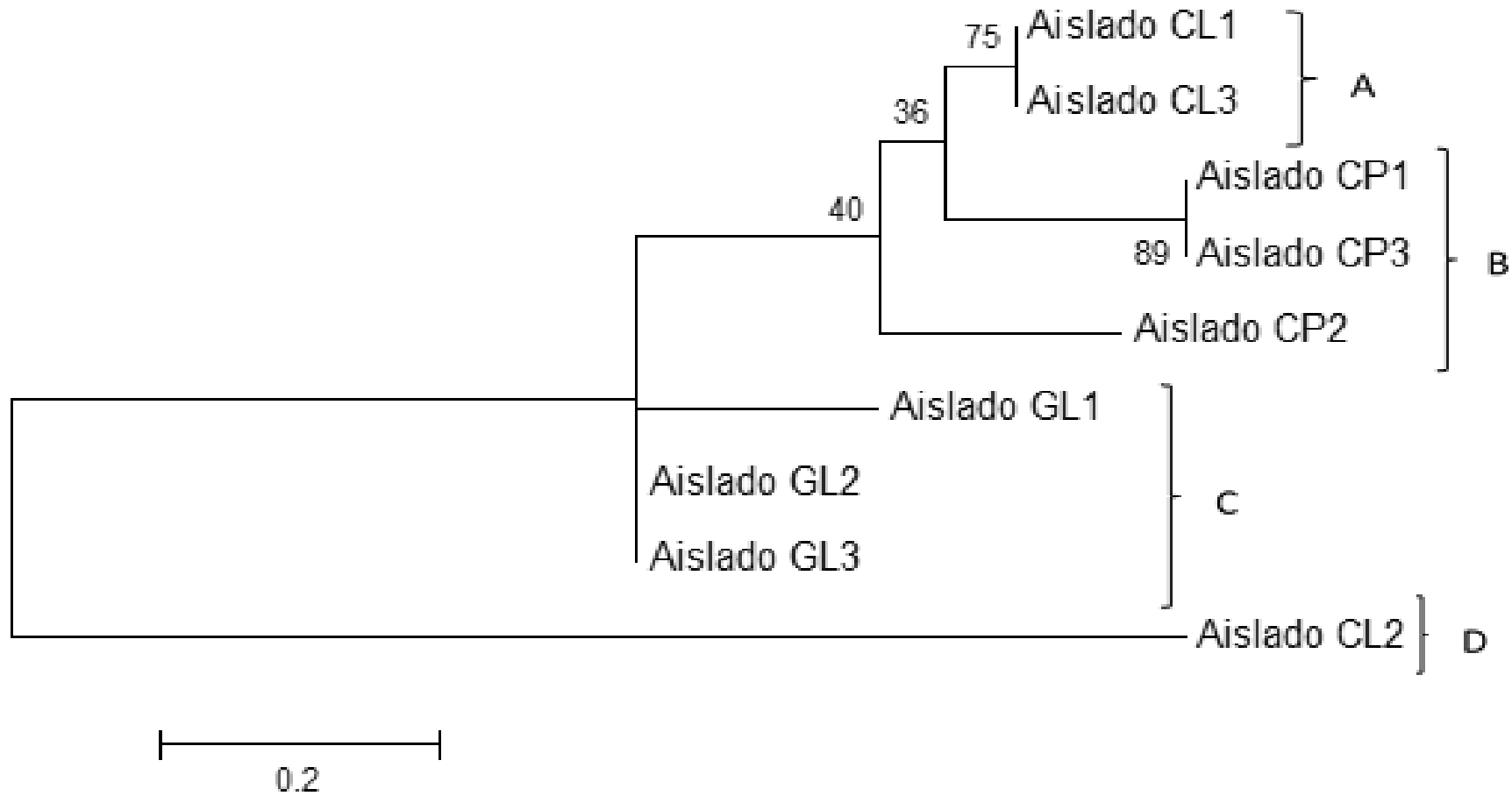


**Prueba de catalasa.,** A CL1, B CL2, C CL3, cepas pertenecientes al grupo de Clorpirifos. D CP1, E CP2, F CP3, grupo Cipermetrina. G GL1, H GL2, I GL3, grupo Glifosato.

# Prueba de proteasa

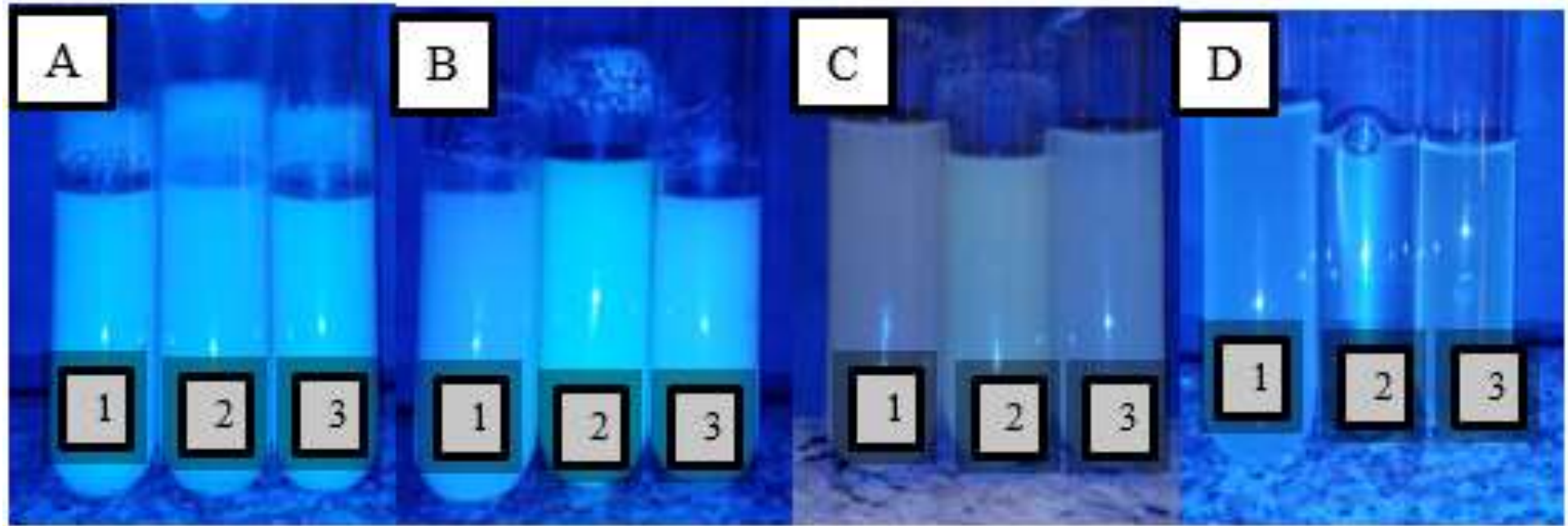


## Resultados



Relación filogenética de aislados asociados a degradación de pesticidas. Dendrograma construido con datos de caracteres morfológicos y bioquímicos de los aislados correspondientes a la degradación de *Piretroides* (CIPERMETRINA), Organofosforados (*CLORPIRIFOS*) Y *N*-(fosfometil) glicina (GLIFOSATO). 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.

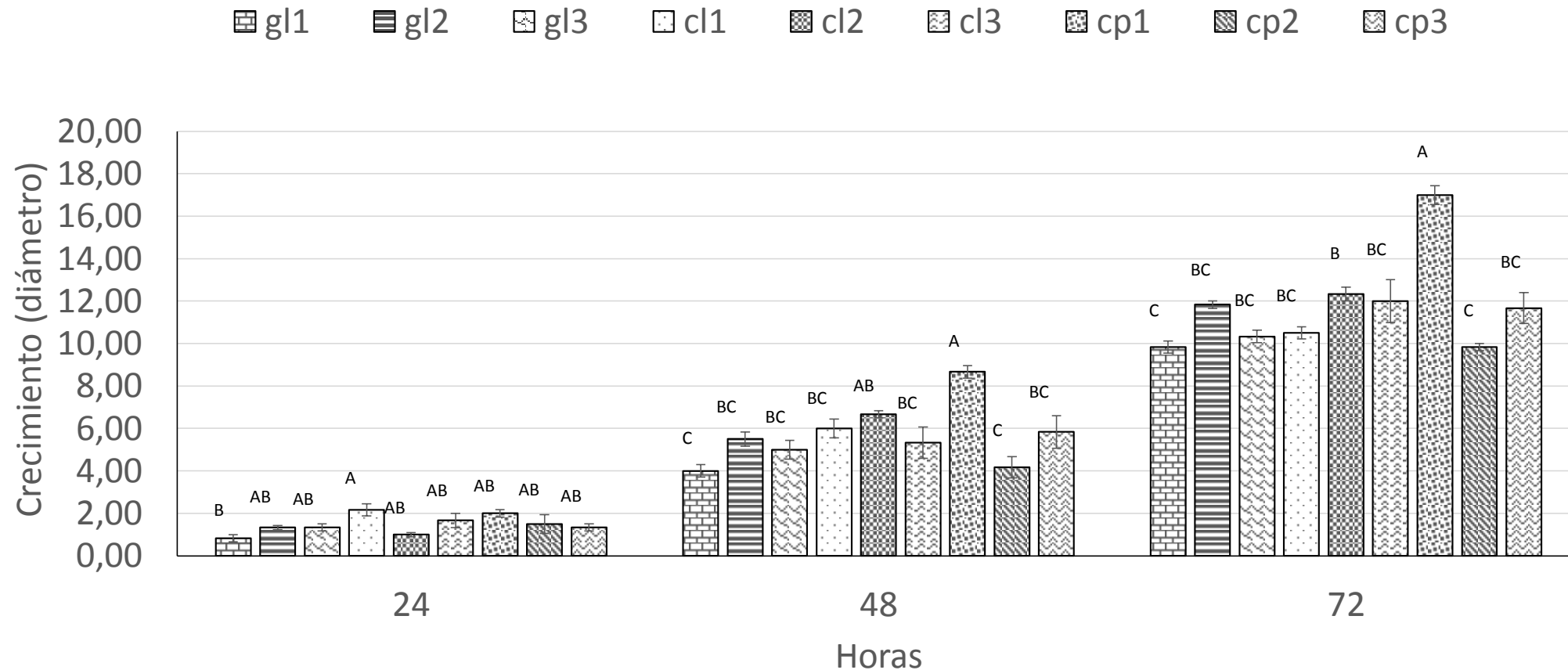
## Resultados



**Figura 9.** Desarrollo de microorganismos en medios contaminados. A, grupo perteneciente al apartado Cipermetrina A1, aislado CP1, A2, aislado CP2, A3, aislado CP3. B, grupo Clorpirifos, B1, aislado CL1, B2, aislado CL2, B3, aislado CL3. C, grupo glifosato, C1, aislado GL1, C2, aislado GL2, C3, aislado GL3. D) control

# Resultados

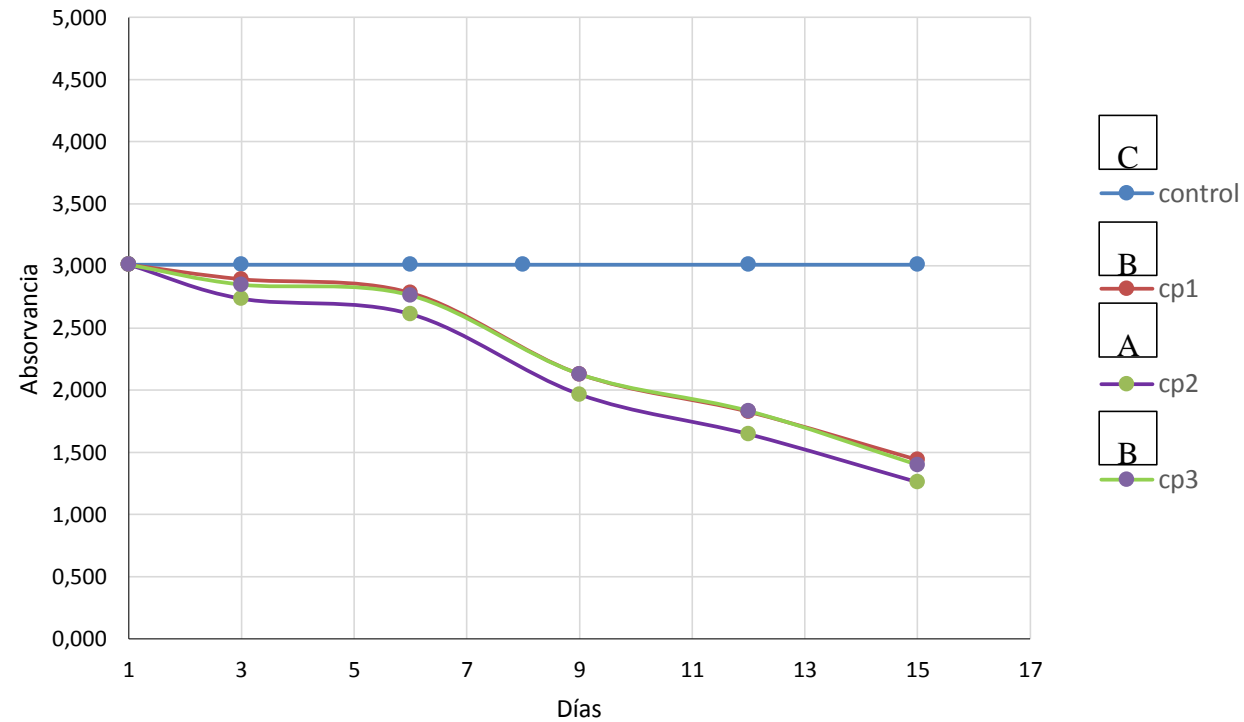
## CRECIMIENTO COLONIAL



**Velocidad de crecimiento bacteriano en medios contaminados.** Los valores con letras similares no representan diferencia estadística, a un nivel de significancia de ( $P \leq 0.05$ ). Las barras indican el crecimiento bacteriano correspondiente de cada tratamiento, mostrando resultados simultáneos a las 24, 48 y 72 horas después de la inoculación.

# Resultados

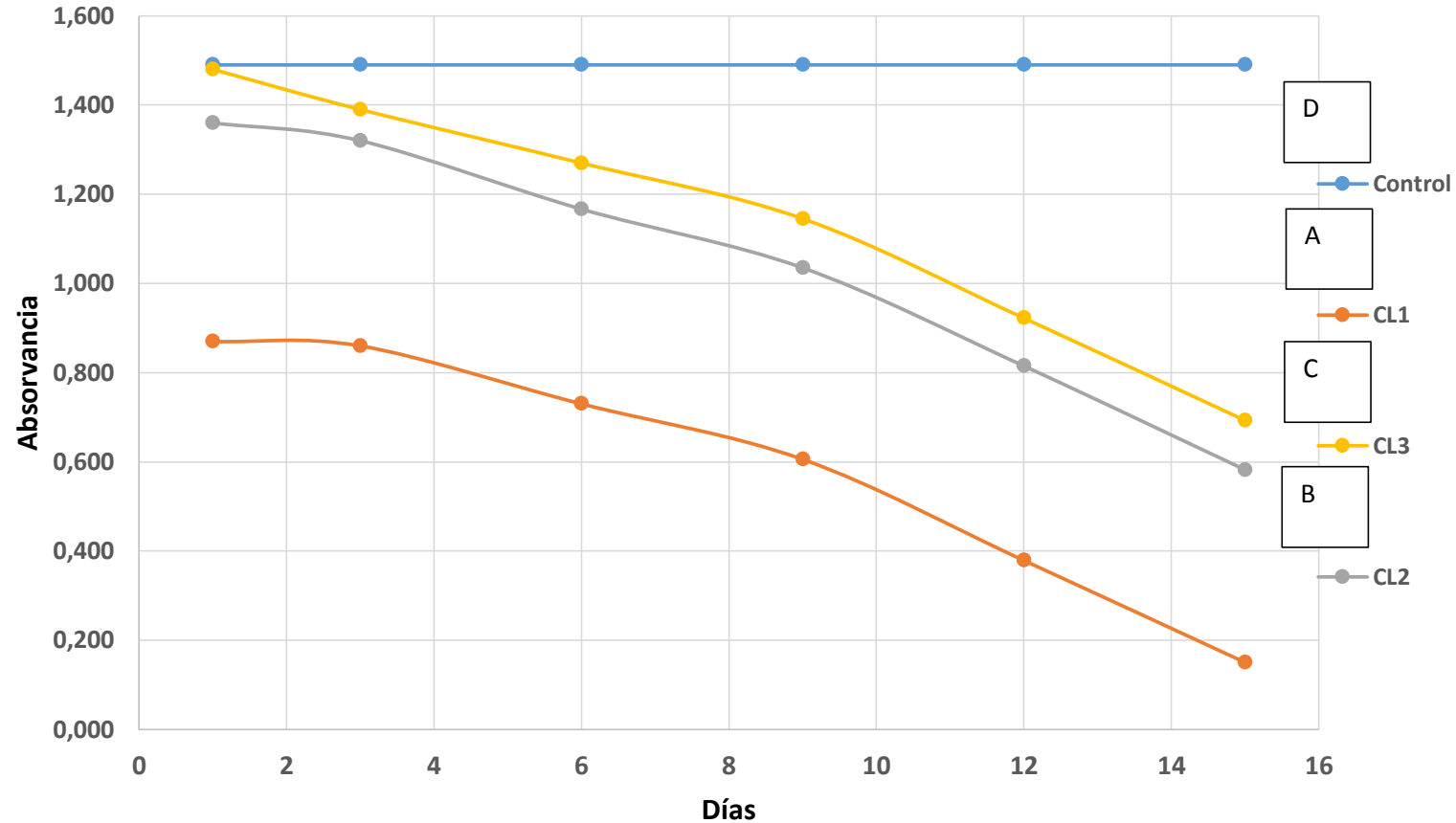
## Degradación Cipermetrina



**Figura 11. Espectrofotometría Degradación de Cipermetrina.** Los valores con letras similares no representan diferencia estadística, a un nivel de significancia de ( $P \leq 0.05$ ). Las líneas de tendencia de cada tratamiento muestran el progreso y disminución del compuesto contaminante, eje de las y muestra los valores de absorbancia y eje de las x proyección en días.

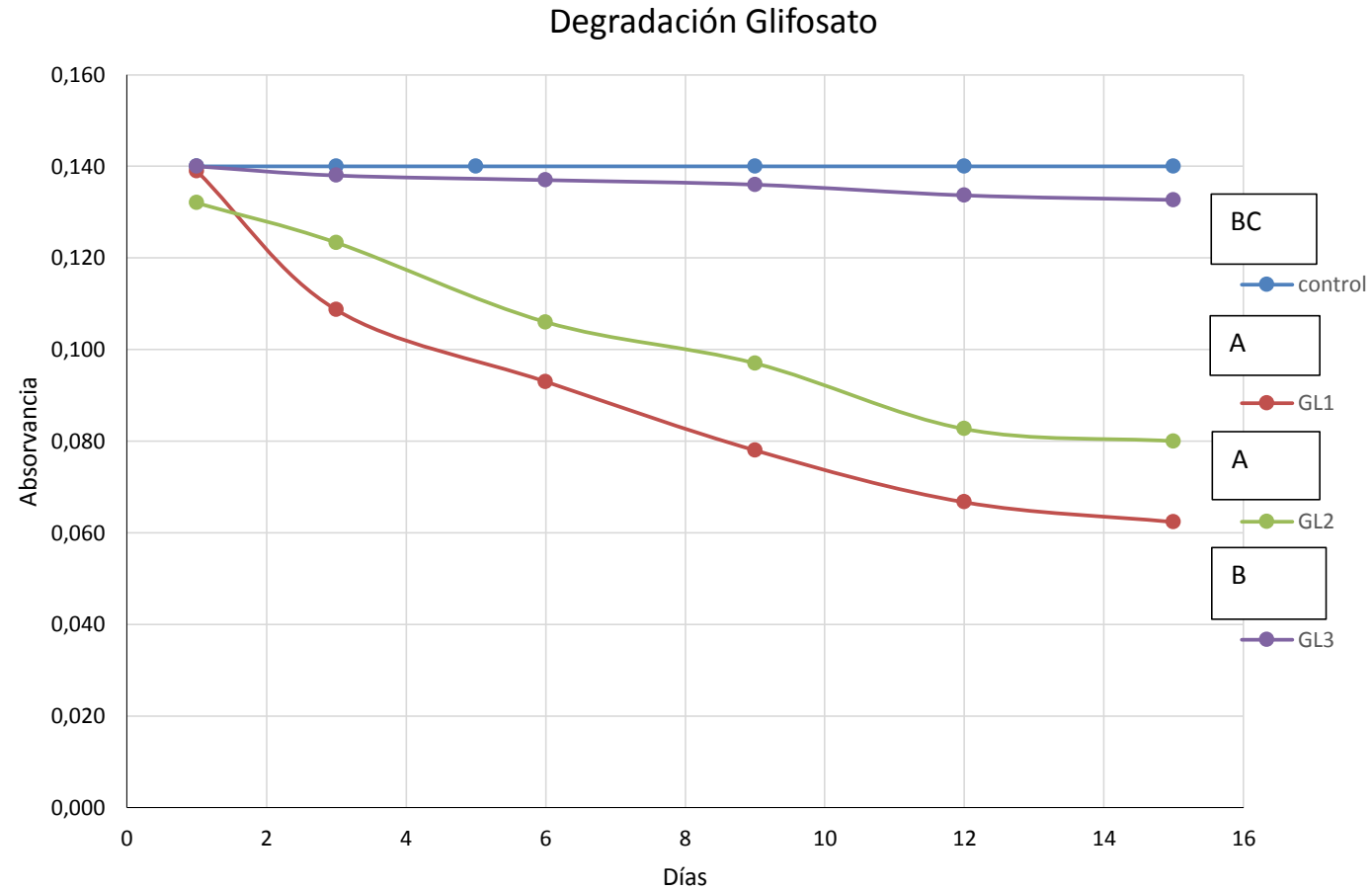
# Resultados

## Degradación Clorpirifo



**Espectrofotometría Degradación de Clorpirifo.** Los valores con letras similares no representan diferencia estadística, a un nivel de significancia de ( $P \leq 0.05$ ). Las líneas de tendencia de cada tratamiento muestran el progreso y disminución del compuesto contaminante, eje de las y muestra los valores de absorbancia y eje de las x proyección en días.

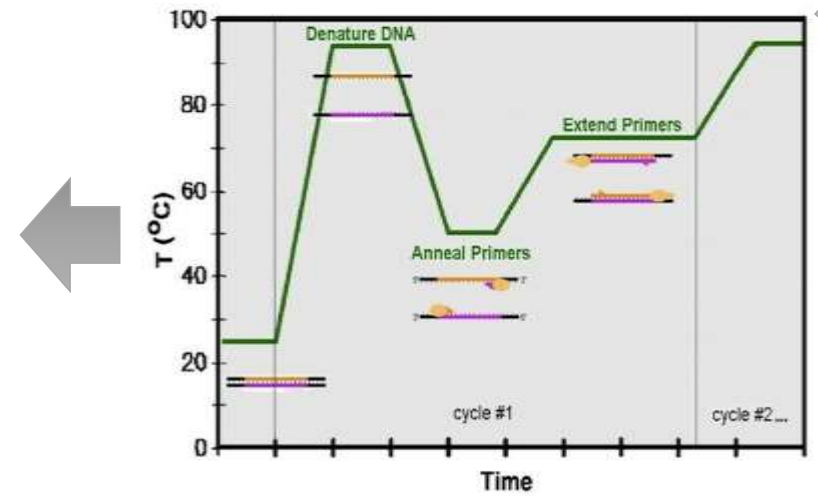
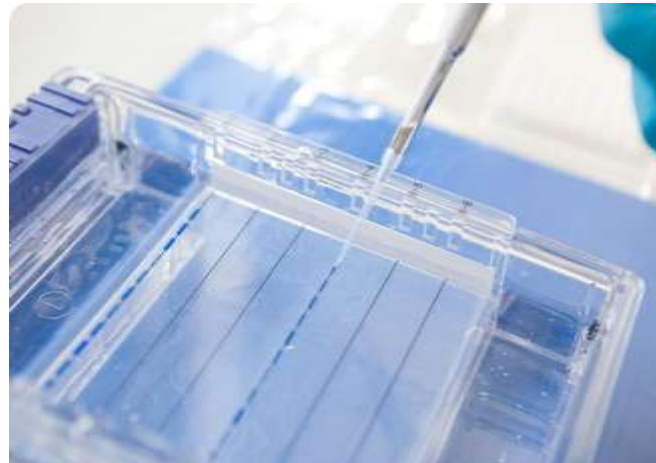
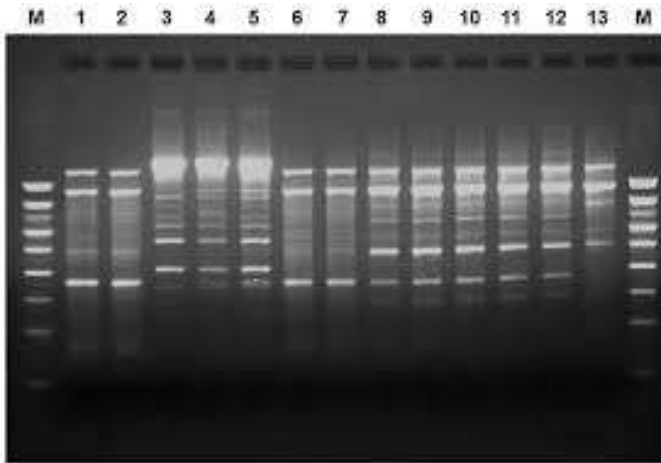
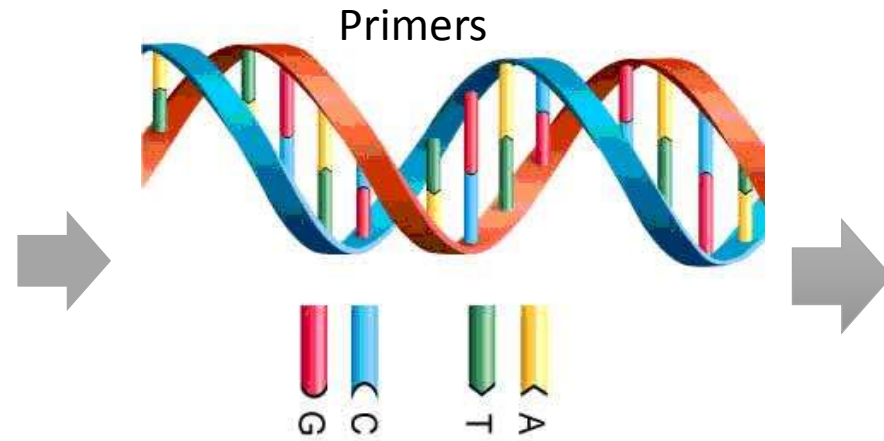
# Resultados



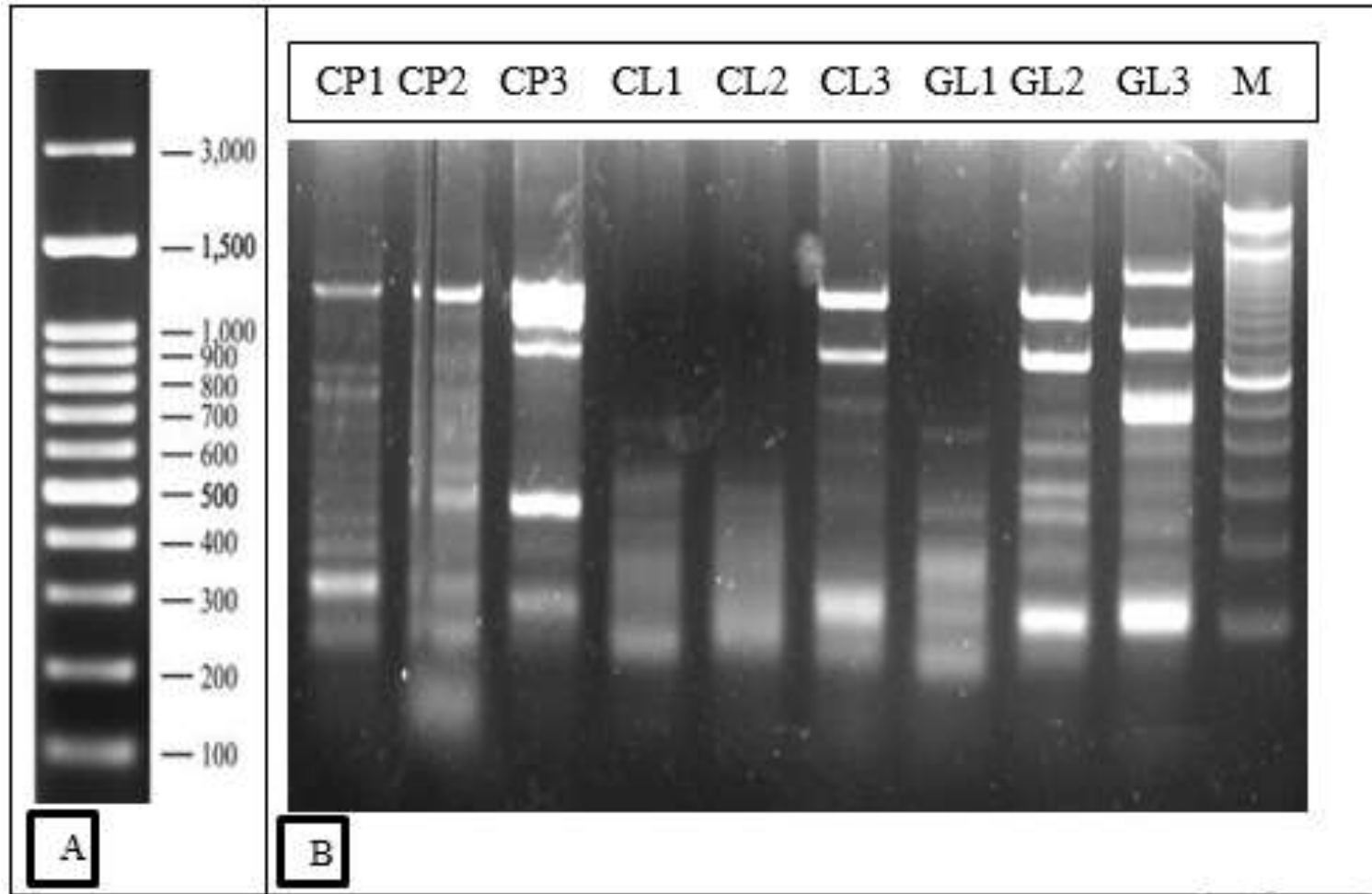
**Espectrofotometría Degradación de glifosato.** Los valores con letras similares no representan diferencia estadística, a un nivel de significancia de ( $P \leq 0.05$ ). Las líneas de tendencia de cada tratamiento muestran el progreso y disminución del compuesto contaminante, eje de las Y muestra los valores de absorbancia y eje de las X proyección en días.



# Caracterización molecular

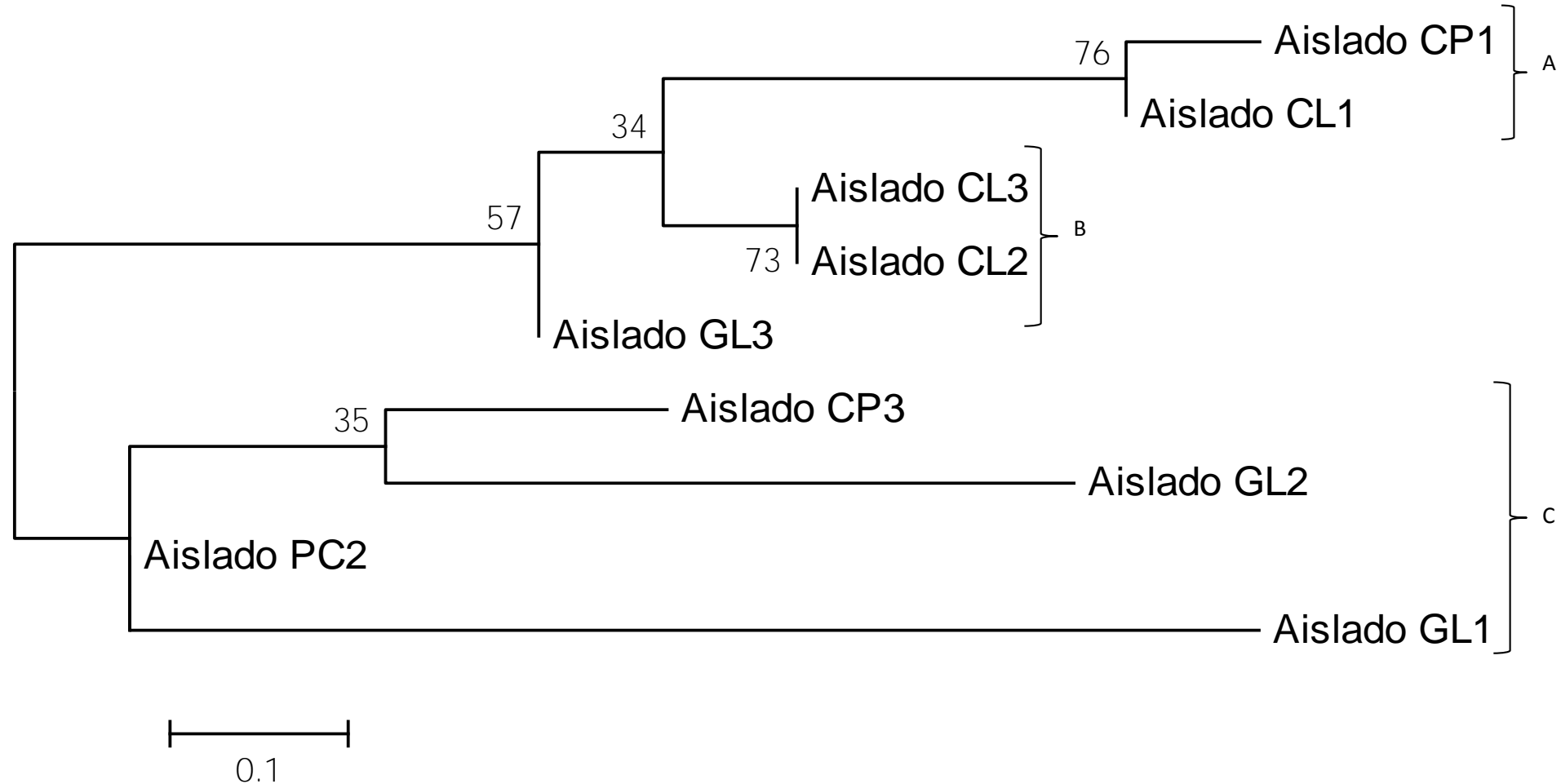


# Resultados



**Perfiles electroforéticos generados por ERIC-PCR. A, marcador de peso molecular. B, mapeo genómico de las cepas correspondientes a la degradación de PESTICIDAS, CP1, CP2, CP3, grupo correspondiente al tratamiento Cipermetrina. CL1, CL2, CL3, grupo Clorpirifo y GL1, GL, GL3, grupo Glifosato.**

## Resultados



Relación filogenética de aislados asociados a degradación de pesticidas. Dendrograma construido con datos binarios procedentes de ERIC PCR obtenidos a partir de aislados correspondientes a la degradación de *Piretroides* (CIPERMETRINA), Organofosforados (*CLORPIRIFOS*) Y *N*-(fosfonometil) glicina (GLIFOSATO). 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.



LA AGRICULTURA ES LA  
PROFESIÓN PROPIA DEL  
SABIO, LA MÁS ADECUADA  
AL SENCILLO Y LA OCUPACIÓN  
MÁS DIGNA PARA TODO  
HOMBRE LIBRE.

*Cicerón*