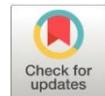


Aislamiento e identificación de microorganismos con interés agroindustrial a partir de muestras de suelo de bosques primarios del cantón Colta

Isolation and identification of microorganisms with agro-industrial interest from soil samples from primary forests in Colta city

- ¹ Alejandro Guillermo Orellana Quinchuela  <https://orcid.org/0009-0003-3067-6765>
Investigador independiente, Riobamba, Ecuador.
- ² María Verónica González Cabrera  <https://orcid.org/0000-0002-5358-798X>
Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Riobamba, Ecuador.
mariav.gonzalez@esepoch.edu.ec
- ³ Carmen Alicia Zavala Tocano  <https://orcid.org/0000-0003-0720-3479>
Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Riobamba, Ecuador.
alicia.zaval@esepoch.edu.ec
- ⁴ Gabriela Margarita Vayas Castillo  <https://orcid.org/0000-0001-5402-740X>
Ciencias Pecuarias, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo (ESPOCH), Riobamba, Ecuador.
gabriela.vayas@esepoch.edu.ec



Artículo de Investigación Científica y Tecnológica

Enviado: 09/02/2023

Revisado: 17/03/2023

Aceptado: 12/04/2023

Publicado: 30/05/2023

DOI: <https://doi.org/10.33262/concienciadigital.v6i2.1.2563>

Cítese:

Orellana Quinchuela, A. G., González Cabrera, M. V., Zavala Tocano, C. A., & Vayas Castillo, G. M. (2023). Aislamiento e identificación de microorganismos con interés agroindustrial a partir de muestras de suelo de bosques primarios del cantón Colta. *ConcienciaDigital*, 6(2.1), 24-40. <https://doi.org/10.33262/concienciadigital.v6i2.1.2563>



CONCIENCIA DIGITAL, es una revista multidisciplinar, **trimestral**, que se publicará en soporte electrónico tiene como **misión** contribuir a la formación de profesionales competentes con visión humanística y crítica que sean capaces de exponer sus resultados investigativos y científicos en la misma medida que se promueva mediante su intervención cambios positivos en la sociedad. <https://concienciadigital.org>

La revista es editada por la Editorial Ciencia Digital (Editorial de prestigio registrada en la Cámara Ecuatoriana de Libro con No de Afiliación 663) www.celibro.org.ec



Esta revista está protegida bajo una licencia Creative Commons Attribution Non Commercial No Derivatives 4.0 International. Copia de la licencia: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Palabras**claves:**

Aerobio,
Anaerobiosis,
UFC, lactosa,
fructuosa

Resumen

Introducción: Los bosques primarios mantienen zonas vírgenes en las cuales existe mucha diversidad biológica aún desconocidas.

Objetivo: El presente estudio tiene la finalidad de aislar especies no conocidas de bacterias ácido-lácticas (BAL), levaduras fermentativas y bacterias aerobias fermentativas de suelos de bosques primarios, para verificar su potencial uso en la agroindustria. **Metodología.** para el caso de bacterias ácido-lácticas se sembró a partir de las muestras de suelo del bosque primario de Cañi en medio ácido con MRS y anaerobiosis con $13,3 \times 10^5$ UFC/mL presentes a 35°C , las especies aisladas degradaron la lactosa y acidificaron el sustrato. En las levaduras se sembró a partir de las muestras del suelo usando 12×10^5 UFC/mL presentes, en medio YPD neutro con presencia de dextrosa en presencia de oxígeno y un inhibidor de crecimiento bacteriano a 30°C , luego se seleccionó las especies resistentes al alcohol al 8%, fermentaron la glucosa y fructuosa de buena manera menos la lactosa y se realizó una fermentación en jugo de cítricos por 45 días eliminando agentes patógenos y se obtuvo producción de etanol y CO_2 . Las bacterias fermentativas se las sembró a partir de las muestras del suelo del bosque primario con 12×10^5 UFC/mL presentes, en agar de GYC en condiciones aerobias a 30°C . **Resultados.** Se caracterizaron a los microorganismos especialmente bacterias ácido-lácticas de las cuales sólo dos especies aisladas fermentaron la lactosa con mucha facilidad la C3R2 y la muestra C3R1 las cuales metabolizaron la lactosa muy rápido en las levaduras. La muestra 001 BC1 fue la que pudo generar mayor producción de gas y pasó la prueba del SH_2 con lo que no es nocivo para su uso para degradar biomasa, en bacterias fermentativas las muestras 009C2 y 007C1' fueron las que sobrevivieron al alcohol y las que fermentaron de mejor manera y en la prueba de SH_2 se presentaron resultados negativos con lo cual también se puede inferir que no afecta al uso humano, finalmente las levaduras aisladas luego de 45 días metabolizando el zumo de los cítricos con la liberación de etanol siendo una fermentación de interés agroindustrial. **Conclusión.** Con este trabajo se obtienen bacterias ácido-lácticas aisladas de suelo de bosques primarios con capacidades fermentativas frente a la lactosa además de su posible aplicación para degradar biomasa, finalmente las levaduras aisladas metabolizan el zumo de los cítricos con la liberación de etanol siendo una fermentación de interés agroindustrial. **Área de estudio**

general: Agroindustria. **Área de estudio específica:** Microbiología Industrial.

Keywords:

Aerobic,
Anaerobic,
CFU, lactose,
fructose

Abstract

Introduction: Primary forests maintain virgin areas in which there is much unknown biological diversity. **Objective:** The purpose of this study is to isolate unknown species of lactic acid bacteria (LAB), fermentative yeasts, and aerobic fermentative bacteria from primary forest soils, to verify their potential use in agroindustry. **Methodology.** In the case of lactic acid bacteria, soil samples from the primary forest of Cañi were planted in an acid medium with MRS and anaerobiosis with 13.3×10^5 CFU/mL present at 35°C, the isolated species degraded the lactose and acidified the substrate. Yeasts were sown from soil samples using 12×10^5 CFU/mL present, in a neutral YPD medium with the presence of dextrose in the presence of oxygen and a bacterial growth inhibitor at 30°C, then the species were selected. resistant to 8% alcohol, glucose and fructose fermented well except lactose and fermentation was conducted in citrus juice for 45 days, eliminating pathogens and ethanol and CO₂ production was obtained. Fermentative bacteria were planted from of primary forest soil samples with 12×10^5 CFU/mL present, on GYC agar under aerobic conditions at 30°C. **Results.** The microorganisms, especially lactic acid bacteria, of which only two isolated species fermented lactose very easily, C3R2 and the sample C3R1, which metabolized lactose very quickly in yeasts, were characterized. Sample 001 BC1 was the one that could generate the greatest gas production and passed the SH2 test, which is not harmful for its use to degrade biomass. In fermentative bacteria, samples 009C2 and 007C1' were the ones that survived alcohol and those that they fermented in a better way and in the SH2 test negative results were presented, with which it can also be inferred that it does not affect human use, finally the yeasts isolated after 45 days metabolizing the citrus juice with the release of ethanol being a fermentation of agro-industrial interest. **Conclusion.** With this work, lactic acid bacteria isolated from the soil of primary forests with fermentative capacities against lactose are obtained, in addition to their application to degrade biomass. Finally, the isolated yeasts metabolize the citrus juice with the release of ethanol, being a fermentation of agro-industrial interest

Introducción

La biodiversidad que se encuentra en los bosques primarios es muy rica tanto en especies animales como en especies vegetales y ni hablar de las especies microbianas existentes es por esto que es un ecosistema considerado como uno de los más importantes y la vez frágiles según la evaluación de los recursos forestales mundiales (FRA) dirigido por la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2020), esta organización estima que ecosistemas del tipo bosques primarios corresponden en la actualidad a un 30,8% de la superficie terrestre. Pero de la misma manera que más de la mitad de este porcentaje global se hallan distribuidos en cinco países: Rusia, Brasil, Estados Unidos y China y además dos tercios de las tierras que pertenecen a los bosques primarios es decir aproximadamente un 66% le pertenecen a tan sólo 10 países por lo que se puede ver una disparidad en lo que se refiere la distribución de áreas destinadas a salvaguardar la flora y fauna (Meena et al., 2017), y por consiguiente a la microflora que se encuentran en los suelos primarios (FAO, 2020).

Esta biodiversidad determina la importancia de los microorganismos presentes en los suelos primarios (FAO, 2021), ya que la disponibilidad de nutrientes inorgánicos permite el desarrollo adecuado de infinidad de especies tales como bacterias ácido-lácticas y levaduras cuyas funciones biológicas presentan interés para la industria de las fermentaciones y elaboración de alimentos funcionales como alternativas a los problemas de salud relacionados a los alimentos (Hoda et al. 2021).

Metodología

En la presente investigación se aplicó el método científico dando inicio al proceso con la observación de la realidad, continuando con el planteamiento del problema, consideración del marco teórico y por último la formulación y verificación de la hipótesis. Al tener un desarrollo que va de lo general como son teorías revisadas en tesis, revistas científicas y libros; a situaciones específicas o particulares como el aislamiento de las bacterias ácido-lácticas y levaduras presentes en el suelo del bosque primario a través de un análisis microbiológico exhaustivo

De igual manera para este trabajo de investigación se considera la aplicación del enfoque cuantitativo, ya que los valores o datos obtenidos son procesados con el uso de la estadística, medición numérica y conteo para contestar las preguntas que permiten la verificación de la hipótesis planteada. En lo referente al tipo de investigación se puede considerar el presente estudio como del tipo aplicada; ya que la característica principal es que tiene fines prácticos para actuar, modificar sectores y poder transformar una determinada zona. El estudio también se considera está dentro del nivel descriptivo ya que se identificó y se describió las características más importantes de cada microorganismo encontrados en los laboratorios de la Facultad de Ciencias Pecuarias de

la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Al mencionar el diseño de la investigación podemos considerarlo como descriptivo puesto que se identificó y se describió las características importantes de cada microorganismo encontrado.

Resultados

Recolección de muestras

Para el análisis del suelo la muestra se lo hizo de forma sistemática, cada muestra estuvo compuesta por 5 submuestras, aproximándonos a un 80% de precisión. La cantidad de suelo utilizado para análisis de rutina es 0.25 kg de suelo, pero es preferible llevar de 0.5 kg a 1kg al laboratorio cabe mencionar que antes de los 30 cm de profundidad aquí es en donde se retira la capa de materia orgánica existente (horizonte O) y se tomará el suelo de la rizosfera (horizonte A) (Chen et al., 2015).

Previo al proceso de siembra y asilamiento de microorganismos; las 5 muestras de suelo recogidas en la fase de campo fueron sometidas a un proceso de tamización obteniéndose un total de 10g de cada una de las 5 muestras del suelo seleccionadas al azar. Una vez codificadas estas son usadas para la preparación de la primera dilución con agua destilada (10 gramos de muestra de suelo + 90mL de agua destilada), considerándose una dilución madre 10^{-1} por cada muestra seleccionada en total 5 diluciones madre (FAO, 2020).

El pH del suelo

De las muestras de suelo de bosques primarios recolectadas fueron seleccionadas 5 muestras al azar; utilizando un total de 5 a 10g de cada muestra y diluyéndolas en 15mL agua destilada, procediendo luego al filtrado y la medición del pH con potenciómetro según el método establecido por la A.O.A.C (Sociedad Española de Microbiología, 2017).

Materia Orgánica

Se debe desecar a unos crisoles para tener un peso constante esto se lo hace en una mufla por unas 6 horas, luego se tamizó 5 muestras fresca de suelo se pesó 5 gramos de cada muestra en una balanza analítica los cuales se los lleva a unos crisoles, se procedió a realizar una calcinación por 5 horas removiendo la muestra de suelo cada 20 minutos con una varilla de agitación, luego se toma el crisol con la muestra de suelo calcinado en su interior y se la lleva a la mufla a 600°C por 7 horas luego de este tiempo se saca la muestra de la mufla con unas pinzas y se la lleva al desecador hasta que se enfríe, después la cantidad de materia orgánica se la calcula con el peso constante que se anotó del crisol vacío que se lo puso en la mufla por 6 horas, restándole el peso que nos dio al final luego de haber puesto la muestra de suelo calcinada en el crisol que se lo puso en la mufla por 7 horas.

Cantidad de potasio en el suelo del bosque primario

Se tomó una muestra de suelo fresco de 5g por cada muestra de suelo se tamizó se mezcló con 15mL de agua destilada en un matraz y se lo agitó en un vórtex se lo filtró con papeles filtro, embudos y matraces luego de 5 horas el agua se filtró por completo se va a retirar y tomar el filtrado se lo colocó en la celda del espectrofotómetro que es de aproximadamente 10mL y a este se le adicionó el reactivo de lectura del mineral en nuestro caso el reactivo de potasio que vino en forma de polvo, se colocó la celda dentro del espectrofotómetro y se procedió a darle inicio para que el equipo haga la lectura al final en la pantalla nos indicó la cantidad en forma de mg/L es decir miligramos por litros de potasio en la muestra.

Siembra de los microorganismos

Partiendo de las muestras en los tubos de ensayo a partir de la solución madre desde 1×10^{-1} hasta 1×10^{-11} se procedió a sembrar por vertido en placa las disoluciones de 1×10^{-3} 1×10^{-5} 1×10^{-7} y 1×10^{-9} con 3 repeticiones por cada una de estas y se incubó por 48 horas a 35°C todo este procedimiento es sólo para una muestra de suelo es por ello que este procedimiento se tuvo que repetir con las otras 4 muestras de suelo para estudiar a todas las 5 muestras de microorganismo a obtener en dichas muestras de suelo, luego se escogió la UFC/mL más adecuada que se encuentre dentro del rango de 10 a 150 (Secretaría de Gobernación Mexicana, 1994), debido a que las colonias crecidas no estaban muy concentradas.

Aislamiento de los microorganismos

Se hace una nueva siembra por vertido en placa en base a la unidad formadora de colonias (UFC) con las especies que se obtuvieron de las muestras de suelo, rotuladas como (002), (006), (007), (011), y (012) y se va a hacer con 2 repeticiones las cuales tienen unas UFC/mL promedio de $(4,6 \times 10^9)$, $(13,3 \times 10^5)$, (7×10^7) , $(4,3 \times 10^9)$ y $(5,3 \times 10^7)$ respectivamente y se manejó con estos valores en base a la norma oficial mexicana (Secretaría de Gobernación Mexicana, 1994), que maneja valores cercanos a 10 UFC/mL como valor mínimo este proceso va a ser para los 3 tipos de microorganismos BAL, levaduras y bacterias aerobias fermentativas y se hizo la siembra en agar MRS para las BAL en condiciones anaerobias y a un pH entre 4.8 a 5.2 a 37°C por 48 horas, Para las levaduras se hizo en condiciones aerobias en agar Sabouraud un pH de neutro a 30°C por 48 horas y con un inhibidor de crecimiento bacteriano cloranfenicol en este caso 0,05g/L (FAO, 2020). Para las bacterias aerobias fermentativas se lo hizo en presencia de oxígeno en agar GYC en pH neutro a 30°C por 48 horas. Para este paso a las especies en el caso de las BAL se hizo una resiembra esta vez por estriado en agar MRS en condiciones anaerobias y a un pH entre 4.8 a 5.2 a 37°C por 48 horas ya que por lo general estas llegan a ocupar toda la caja Petri pasada las 48 horas. Para las levaduras se hizo una resiembra

por estrías en agar YPD (Condalab, 2021), en presencia de oxígeno pH neutro por 48 horas. Para las bacterias aerobias fermentativas se hizo una resiembra por estrías en presencia de oxígeno en agar GYC en pH neutro a 30°C por 48 horas, todo este proceso también lleva sus repeticiones como en la siembra primaria y la finalidad es lograr aislar colonias axénicas. Luego de esto se trató de hacer una selección macroscópica en base a las características morfológicas de cada una de las especies de interés a partir de investigaciones anteriores y de bibliografía acerca de cada una de las especies a obtener y se hizo una nueva resiembra por estriado en agar MRS en condiciones anaerobias y a un pH entre 4.8 a 5.2 a 37°C por 48 horas y se aisló 5 especies. Para las levaduras se hizo una resiembra por estrías en agar YPD en presencia de oxígeno pH neutro por 48 horas. Para las bacterias aerobias fermentativas se hizo una resiembra por estrías en presencia de oxígeno en agar GYC en pH neutro a 30°C por 48 horas se tuvo de referencia (Madigan et al., 2015).

Preselección de especies microbiológicas

Se hizo la tinción Gram se pudo ver que todas las 5 especies de las BAL mostraron una coloración violeta y violeta azulado es la característica de la familia de las bacterias ácido-lácticas a excepción de la primera la muestra (H), para el caso de las bacterias aerobias fermentativas se obtuvieron bacterias Gram negativa en 5 especies y en 3 especies se obtuvieron bacterias Gram positiva, para las levaduras se utilizó coloración de Wright.

Luego se hizo la prueba de catalasa y oxidasa a todas las especies preseleccionadas para poder tener una idea acerca del tipo de microorganismo con el que se pudiera esperar un mejor proceso fermentativo

Degradación de azúcares de BAL

Luego de la purificación se procedió a enriquecer las muestras que se aisló en agua de peptona, se las dejó por 24 o 48 horas, luego se preparó el caldo rojo fenol con lactosa después se agregó 1mL de la muestra enriquecida de las candidatas de BAL y se inoculó dentro de los tubos con el caldo rojo fenol más lactosa estéril su color fue anaranjado al comienzo y al cabo de 24 o 48 horas se hizo el análisis

Degradación de azúcares de Levaduras

Hecha la purificación de las levaduras en agar YPD se procedió a enriquecer las muestras que se aisló en agua de peptona, se las dejó por 24 o 48 horas y se preparó el caldo rojo fenol con dextrosa después se agregó 1mL de la muestra enriquecida de las candidatas de levaduras y se inoculó dentro de los tubos con el caldo rojo fenol más lactosa estéril su color fue anaranjado al inicio y pasado de 24 o 48 horas se hizo el análisis (FutureLearn, 2019).

Degradación de bacterias aerobias fermentativas

Realizada la purificación de las bacterias aerobias fermentativas en agar GYC se procedió a enriquecer las muestras que se aisló en agua de peptona, se las dejó por 24 o 48 horas y se preparó el caldo rojo fenol con dextrosa después se agregó 1mL de la muestra enriquecida de las candidatas de levaduras y se inoculó dentro de los tubos con el caldo rojo fenol más lactosa estéril su color fue anaranjado al empezar el análisis y posteriormente de 24 o 48 horas se hizo el análisis y continuará así hasta alcanzar la etapa estacionaria (Cerra et al., 2013).

Resistencia al alcohol en Levaduras

Se calculó la cantidad de alcohol y de agua que se utilizó para llegar a la concentración requerida, en la presente investigación se trabajó con concentraciones de alcohol al 8% para elegir la resistencia para lo cual se utilizó la ecuación de $C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$ por ejemplo se trabajó con 8 muestras, pero se realizó una muestra de más total se trabajó con relación a 9 muestras (90mL) en cada tubo de ensayo de 10mL se procedió a hacer el cálculo para concentración de alcohol al 8% y se utilizó alcohol al 70% y se siguió la ecuación $V2 = [(8\% \times 90\text{mL}) / 70\%] = 10,29\text{mL}$ de alcohol y luego el cálculo para el agua destilada (90mL Agua destilada - 10,29mL) = 79,71mL de agua" destilada fue lo que se utilizó y luego se le adicionó el agar YPD, a esterilizar sólo se puso el agar disuelto en los 70,71mL del agua destilada, luego de esterilizado se esperó a que la temperatura baje un poco y se le adicionó el alcohol al 70%, esto se debió a que la temperatura de ebullición del etanol está por encima de los 70°C, se incubó a 30°C por 48 horas y se evaluó los resultados

Resistencia al alcohol en bacterias aerobias fermentativas

Se realizó el cálculo de la cantidad de alcohol y de agua que requirió, en la presente investigación se trabajó con concentraciones de alcohol al 8% para elegir la resistencia para lo cual se utilizó la ecuación de $C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$ y luego se preparó con el agar GYC y luego se esperó 24 o 28 horas para ver los resultados a 30°C

Fermentación de las levaduras en zumo de cítricos

Se realizó un almíbar en proporción 2:1 de azúcar con agua, 1,5L de almíbar se preparó, y se mezcló con el jugo natural de naranja mezclado con mandarina, el zumo de los cítricos tiene que ser de 1,5L luego se mezcló el almíbar con el zumo de los cítricos y se pasteurizó a 80°C por unos 5 a 10 minutos se llenó aproximadamente unos 350mL de la mezcla zumo almíbar en las botellas plásticas por cada una de las muestras de las levaduras aisladas que fueron un total de 8, se tomó una pequeña muestra para medir su pH y grados brix se tomó 1mL con la micropipeta de la muestra, de las levaduras las cuales se enriquecieron en un caldo nutritivo 24 horas antes de inocularlo y se lo colocó dentro de las botellas con el almíbar, se llevó las botellas plásticas inoculadas a una

incubadora a unos 30°C y cerradas luego de 24 horas se procedió a verificarlas al igual que en la fermentación hecha por levaduras de cerveza (Ferreya et al., 2009), donde existió actividad biológica en forma de burbujas se procedió a dejar liberar el gas, en la presente investigación las botellas se las cerró nuevamente, cada 2 días se repitió este proceso por 45 días y se evitó que las botellas se queden con demasiado gas en su interior. La medición de pH se lo hizo cada semana y además se verificó la liberación de CO₂

Producción de ácido sulfhídrico

Se tomó 1mL de ácido acético glacial y se le adicionó a 100mL de una solución de acetato de plomo que haya sido preparada al 5% es decir que se añade una parte de solución del acetato de plomo con una parte en 5% de volumen y se empapó estas tiras de papel filtro (Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN], 2012), con esta solución se dejó secar y se hizo sumergió en las muestras de zumo de cítricos que fueron inoculadas con los microorganismos se tomó como base (INEN, 2012), y con la ayuda de lo que indica la norma (INEN, 2013).

Identificación de las especies microbiológicas

La identificación de las especies halladas en la presente investigación se las hizo en base a sus características fenotípicas para las bacterias ácido-lácticas se la hizo en relación con las familias (*Streptococcus*, *Lactobacillus*) como son la morfológica en bacterias, la tolerancia a pH ácido por debajo de 5, el crecimiento en un medio en ausencia de oxígeno, metabolización de la lactosa de la leche, la fermentación de azúcares, la liberación de gas como subproducto de la respiración celular. Para las levaduras fermentativas, se las hizo en relación con la familia (*Saccharomyces*) su morfolología la tolerancia a distintas concentraciones de etanol, la degradación de la glucosa y la fructuosa como lo dice Heredia & Chiayan (2015), la producción de etanol al estar en un medio con exceso de azúcar, la liberación de CO₂ en forma de burbujas la no producción de ácido sulfhídrico. Para hallar bacterias aerobias fermentativas se basó en relación con las características de la familia de las (*Acetobacter*) como lo propone Parés & Juárez (2012).

Discusión

pH del suelo

De los datos obtenidos se puede ver que la media de pH en dicha zona de bosque tiene un pH de 7.372 con lo que se considera un suelo neutro, es por ello que en dicho pH obtenido en la investigación fue muy factible encontrar bacterias, actinomicetos y en mayor medida a microorganismos fúngicos, esto se pudo constatar ya que se encontró pocas bacterias ácido lácticas de aproximadamente 5 especies y en cambio para especies fúngicas como levaduras se obtuvo 8 especies cabe mencionar que a medida que el pH es menor a 7 existe mayor posibilidad de hallar bacterias las cuales sobreviven y generan la

descomposición de la materia orgánica y se desarrollan de mejor manera en pH un poco ácidos según lo señala (Center for Agriculture, Food, and Environment, 2018).

Tabla 1

pH de las muestras de suelo del bosque primario

Muestra de suelo	pH
M1=002	8,01
M2=006	7,65
M3=007	7,42
M4=011	6,81
M5=012	6,97

Materia Orgánica

Como se puede observar en la gráfica de los resultados obtenidos el porcentaje de materia orgánica es de menos del 1% debido a que es un bosque primario en la cual es de esperarse que este valor sea bajo si se lo compara con suelos en donde existe la presencia humana pero a nivel de ser un suelo silvestre es bastante bueno ronda una media de 0,302 % de materia orgánica en la cual según FAO (2009), es de esperarse esta carga de materia orgánica además de que va a dar un color gris si se la somete al proceso de estudio de materia orgánica por vía seca, con lo cual se pudo verificar que la tonalidad fue gris en el suelo de estudio en la investigación.

Tabla 2

Materia orgánica de las muestras de suelo del bosque de Cañi

Muestra	Muestra inicial (g)	Muestra final (g)	Materia orgánica (g)
M1(002)	2,076	2,0682	0,0078
M2(006)	2,4732	2,4685	0,0047
M3(007)	2,1988	2,1926	0,0062
M4(011)	2,2575	2,2508	0,0067
M5(012)	2,1847	2,1769	0,0078

Cantidad de potasio en las muestras de suelo

Se obtuvo 17,518 ppm de potasio con lo cual el valor mencionado este suelo estudiado se considera un suelo pobre ya que como lo da a conocer Laboratorio Agrolab (2017), que los valores se hallan en valores por debajo de 150 ppm son considerados suelos pobres es decir suelos bajos en potasio.

Tabla 3I

Cantidad de potasio en las muestras del suelo

Muestra	Potasio (mg/L) o (ppm)
M1(002)	20
M2(006)	20
M3(007)	12,23
M4(011)	20
M5(012)	15,36

Fermentación de azúcares hecho por las BAL

Se trabajó con 5 azúcares: lactosa, fructuosa, manitol, glucosa y galactosa las cuales fueron inoculadas junto con las 5 especies aisladas de los microorganismos del bosque primario de Cañi, en condiciones anaerobias a 35°C por 48 horas, se realiza este tipo de pruebas buscando saber si es que las especies obtenidas pueden llegar a degradarlos azúcares principales pero el glúcido que más importa saber si es que logran metabolizar es la lactosa, ya que esta sería la principal fuente para producir ácido láctico en el caso de la familia de los lactobacillus.

Tabla 4

Fermentación de los principales azúcares hecho por las BAL

Muestra de suelo origen	Código de la especie	Lactosa	Fructuosa	Manitol	Glucosa	Galactosa
(002)	C3R2 (H)	-	+	+	+	-
(006)	C2 (I)	+	-	-	+	+
(007)	C1(J)	+	+	+	+	+
(011)	C3R1 (K)	+	+	+	+	+
(012)	C4 (L)	+	-	-	+	+

Cuando se realizó esta prueba se vio que no todas las especies metabolizaron todos los azúcares a estudiar, pero sí que todas fermentaron la glucosa fue el azúcar que todas lo pudieron metabolizar al igual que en el estudio de Taye et al. (2021), en donde explica que todas las especies de bacterias ácido lácticas (BAL) si utilizan como fuente principal la glucosa estas son homofermentativas en esta clasificación se hallan familias como *Lactococcus* y *Streptococcus* , para las cepas denominada (I) y (K) pasadas las 24 horas a 32°C fueron las que de mejor manera utilizaron la lactosa como fuente de energía y la pudieron degradar cuando se las observó al microscopio con el lente de 100X se pudo ver que la forma de estas dos especies era la (I) en forma de bacilos largos y Gram positivos que si lo comparamos lo que dice Parés & Juárez (2012), que la forma en forma de bastones que desprende CO₂ corresponde a la familia de los *Lactobacillus* (p. 76).

Fermentación de las Levaduras

La fermentación realizada por las levaduras se las hizo en zumo de cítricos y al final de 45 días se pudo ver que el pH se redujo y todas las muestras fermentaron prueba de ello fue la liberación de CO₂

Tabla 5

Fermentación de las levaduras luego de 45 días

Nombre Código	Liberación de CO ₂	Liberación de H ₂ S	El tiempo de fermentación de 45 días	
			pH Inicio	pH Final
001AC2	+	-	7	5,9
001BC2	+	-	7	5,4
001BC1	+	-	7	5,42
009C2	+	-	7	5,6
003C1A	+	-	7	5,9
006C1´	+	-	7	6
006C1	+	-	7	6
007C1´	+	-	7	6,1

Fermentación de bacterias aerobias fermentativas

La fermentación de las bacterias aerobias fermentativas se la pudo comprobar por la liberación de CO₂ una baja en el pH además de la comprobación de la liberación de H₂S

Tabla 6

Fermentación de las l bacterias aerobias fermentativas s luego de 45 días

Nombre Código	Liberación de CO ₂	Liberación de H ₂ S	El tiempo de fermentación de un mes y medio	
			pH Inicio	pH Final
001AC2	+	-	7	5,75
001BC2	+	-	7	6
001BC1	+	-	7	6,2
009C2	+	-	7	6,1
003C1A	+	-	7	5,4
006C1´	+	-	7	6,2
006C1	+	-	7	6,3
007C1´	+	-	7	6,2

Identificación de los microorganismos de interés agroindustrial

Se pudo identificar las BAL porque en el estudio las especies halladas todas fermentaron y metabolizaron la glucosa fue el azúcar que todas lo pudieron metabolizar al igual que en el estudio de Teye et al. (2021), en donde explica que todas las especies de bacterias ácido lácticas (BAL) si utilizan como fuente principal la glucosa estas son homofermentativas en esta clasificación se hallan familias como Lactococcus y Streptococcus es por ello que se podría hablar de que en nuestra investigación también hubo especies denominada (I) y (K) pasadas las 24 horas a 32°C fueron las que de mejor manera utilizaron la lactosa como fuente de energía y la pudieron degradar cuando se las observó al microscopio con el lente de 100X se pudo ver que la forma de estas dos especies era la (I) en forma de bacilos largos y Gram positivos y la muestra K y estas dos coinciden con lo que dice la investigación Parés & Juárez (2012), que la forma en forma de bastones que desprende CO₂ corresponde a la familia de los lactobacillus (p. 76).

Por otra parte, se pudo determinar en la presente investigación que ninguna de las especies de levaduras no logró degradar la lactosa y esto se debe a que el proceso de glucólisis lo realiza de mejor manera con moléculas de glucosa o componentes de ella si se la compara con los análisis de Gilces et al. (2006), en la cual coincide los azúcares a fermentar por parte de las levaduras en la cual se utilizó fructuosa, sacarosa, y glucosa obteniendo resultados positivos al igual que en la investigación de Heredia & Chiayan (2015).

Figura 1

Resultados del proceso de fermentación en zumo de cítricos



Finalmente, para la identificación de bacterias aerobias fermentativas se vio que todas ellas fermentaron y en la tinción de Gram dieron 5 especies fueron Gram negativas y 3 fueron Gram positivas por lo que a las 5 bacterias que fueron Gram negativas se la puede catalogar como parte de la familia de las Acetobacter ya que dichas características coinciden con las mostradas por Parés & Juárez (2012).

Conclusiones

- Se analizó las características físicas, químicas del suelo y se pudo y en base a los valores que obtuvimos un pH de media de 7,372 con lo que nos dice que es un suelo bastante equilibrado dentro de la categoría de suelos neutros, pero también se vio algunas muestras con pH de valor de 6,81 y 6,97 que les da la categoría de suelos ácidos, se obtuvo las muestras es una zona muy lluviosa y el nitrógeno continuamente va siendo arrastrado hacia las zonas más bajas, el nivel de potasio (K) también es muy bajo de 17,518 ppm si se lo compara con suelos cultivables, y la materia orgánica arrojó resultados de 0,32 que también es muy baja por lo que es un suelo pobre en materia orgánica.
- Se caracterizaron a los microorganismos especialmente bacterias ácido-lácticas de las cuales sólo dos especies aisladas fermentaron la lactosa con mucha facilidad la C3R2 y la muestra C3R1 las cuales metabolizaron la lactosa muy rápido en las levaduras. La muestra 001 BC1 fue la que pudo generar mayor producción de gas y pasó la prueba del SH2 con lo que no es nocivo para su uso para degradar biomasa, en bacterias fermentativas las muestras 009C2 y 007C1´ fueron las que sobrevivieron al alcohol y las que fermentaron de mejor manera y en la prueba de SH2 se presentaron resultados negativos con lo cual también se puede inferir que no afecta al uso humano, finalmente las levaduras aisladas luego de 45 días metabolizando el zumo de los cítricos con la liberación de etanol siendo una fermentación de interés agroindustrial.

Conflicto de intereses

Los autores deben declarar si existe o no conflicto de intereses en relación con el artículo presentado.

Referencias Bibliográficas

- Center for Agriculture, Food, and Environment. (2018, Mayo 15). *Soil pH and Liming*. <https://ag.umass.edu/turf/fact-sheets/soil-ph-liming>
- Cerra, H., Fernández, M., Horak, C., Lagomarsino, M., Torno, G., & Zerankin, E. (2013). *Manual de microbiología aplicada, las industrias farmacéuticas y de productos médicos*. Buenos Aires, Argentina: Asociación argentina de microbiología. <https://www.aam.org.ar/descarga-archivos/manual-microbiologia-aplicada.pdf>
- Chen, Y., Yanagida, F., & Shinohara, T. (2015). Isolation and identification of lactic acid bacteria from soil using an enrichment procedure. *Letters in Applied Microbiology*, (40), 195–200. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2005.01653.x>

- Condalab. (2021, enero 20). *Agar YPD*.
https://www.condalab.com/int/es/index.php?controller=attachment&id_attachment=19847
- Ferreya, M. M., Schvab, M. D., Gerard, L. M., Zapata, L. M., Davies, C. V., & Hours, R. A. (2009). Fermentación alcohólica de jugo de naranja con *S cerevisiae*. *Ciencia, Docencia y Tecnología*, (39), 143-158.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14512426008>
- FutureLearn. (2019, Agosto). *Glosario Microbiológico*.
<https://www.futurelearn.com/info/courses/antimicrobial-stewardship-espanol/0/steps/116527>
- Gilces, P., Farías, P., & Pinto, P. (2006). *Estudio del uso de los nutrientes para la levadura en fermentación con el propósito de mejorar la producción del alcohol etílico*. [Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil, Guayaquil, Ecuador].
<http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/737>
- Heredia, K., & Chiayan, E. (2015). *Aislamiento e Identificación de las taxa de levaduras presentes en el fruto de taxo (Passiflora mollissima), con capacidad fermentativa y resistencia alcohólica*. [Tesis de pregrado, Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador]. Dspace UPS.
<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9052/1/UPS-QT06733.pdf>
- Hoda, E., Abdel-rhman, A., Nasr, N., Yasser, E., & Ashwak, H. (2021). Isolation and identification of lactic acid bacteria from the intestinal tracts of honeybees, *Apis mellifera* L. *Journal of Apicultural Research*, Volume 60(2), 349-357. DOI: 10.1080/00218839.2020.1746019
- Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN]. (2012). Carne y productos cárnicos. Ensayo de ácido Sulphídrico. (NTE INEN 790:2012).
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjYrK-2x575AhW4RzABHetvB6gQFnoECBEQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.normalizacion.gob.ec%2Fbuzon%2Fnormas%2FNTE_INEN_790.pdf&usg=AOvVaw1Gsfs2l7AzO-56JNnf3uEB
- Instituto Ecuatoriano de Normalización [INEN]. (2013). Control microbiológico de los alimentos. Mohos y levaduras viables (NTE INEN 1529-10:2013).
https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjCubywwJ35AhU5kIQIHfz7A2sQFnoECAkQAQ&url=https%3A%2F%2Fwww.normalizacion.gob.ec%2Fbuzon%2Fnormas%2Fnte_inen_1529-10-1.pdf&usg=AOvVaw1a1ItmVX0JRci0bYtPi6A

Laboratorio Agrolab. (2017, Septiembre 27). *Guía De referencia para la interpretacion analisis de suelos*.

http://www.agrolab.com.mx/sitev002/sitev001/assets/interpretacion_fertsuel.pdf

Madigan, M., Martinko, J., Bender, K., Buckley, D., & Stahl, D. (2015). *Biología de los Microorganismos* (Décima Cuarta ed.). Madrid: Pearson Educación.

https://www.academia.edu/39077515/Biolog%C3%ADa_de_los_microorganismos_BROCK

Meena, V., Mishra, P., Bisht, Dr., & Pattanayak, A. (2017). *Agriculturally important microbes for sustainable agriculture*. Volume (1) Singapur: Springer

https://www.researchgate.net/profile/Vijay-Meena-2/publication/319938730_Agriculturally_Important_Microbes_for_Sustainable_Agriculture/links/5a4f9e01a6fdccaefdf8521c/Agriculturally-Important-

Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO]. (2009). *Guía para la descripción de Suelos*. Roma: FAO.

<https://www.fao.org/3/a0541s/a0541s.pdf>

Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura [FAO]. (2020, Mayo 15). *El estado de los bosques del mundo*.

<http://www.fao.org/3/ca8642es/CA8642ES.pdf>

Organización de las Naciones Unidas para la alimentación y la Agricultura [FAO]. (2021, Abril 19). *Portal de suelos: la biodiversidad del suelo*.

<https://www.fao.org/soils-portal/soil-biodiversity/es/>

Parés, R., & Juárez, A. (2012). *Bioquímica de los microorganismos*. Barcelona: Editorial Reverté, S.A.

https://www.academia.edu/35895755/Bioquimica_de_Los_Microorganismos

Secretaría de Gobernación Mexicana. (1994). *Bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos (111-SSA1-1994)*.

[https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4881226&fecha=13/09/1995#gsc.ta
b=0](https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4881226&fecha=13/09/1995#gsc.tab=0)

Sociedad Española de Microbiología. (2017). *Glosario de microbiología en lenguaje de signos*. <https://www.semicrobiologia.org/glosario-microbiologia-lenguaje-de-signos>

Taye, Y., Degu, T., Fesseha, H., & Mathewos, M. (2021). Isolation and identification of lactic acid bacteria from cow milk and milk products. *The Scientific World Journal*, 2021, 1-6. <https://doi.org/10.1155/2021/4697445>

El artículo que se publica es de exclusiva responsabilidad de los autores y no necesariamente reflejan el pensamiento de la **Revista Conciencia Digital**.



El artículo queda en propiedad de la revista y, por tanto, su publicación parcial y/o total en otro medio tiene que ser autorizado por el director de la **Revista Conciencia Digital**.



Indexaciones

