



**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR**  
**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**DEGRADACIÓN DE PRODUCTOS DERIVADOS DE POLIETILENO  
MEDIANTE LA APLICACIÓN DEL HONGO SAPRÓFITO: *Aspergillus* spp.**

**TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR**

**Previo a la obtención del título de:**

**BIÓLOGO**

**FREDDY WALTHER SALTOS PONCE**

**DOCENTE TUTORA:**

**Q.F. MERY ROSARIO RAMÍREZ MUÑOZ, PHD**

**PERÍODO**

**2025**

**UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE  
SANTA ELENA FACULTAD DE CIENCIAS  
DEL MAR**

**CARRERA DE BIOLOGÍA**

**DEGRADACIÓN DE PRODUCTOS DERIVADOS DE  
POLIETILENO MEDIANTE LA APLICACIÓN DEL  
HONGO SAPRÓFITO: *Aspergillus spp.***

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Previo a la obtención del título de :

BIÓLOGO

AUTOR:

FREDDY WALTHER SALTOS PONCE

TUTORA:

Q.F. MERY ROSARIO RAMÍREZ MUÑOZ, PHD

LIBERTAD- ECUDOR  
2025

UPSE

# DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular, “**Degradación de productos derivados de polietileno mediante la aplicación del hongo saprófito: *Aspergillus spp.*** elaborado por **Freddy Walther Saltos Ponce** estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo/a, me permito declarar que luego de haber dirigido su desarrollo y estructura final del trabajo, este cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, apruebo en todas sus partes, encontrándose apto para la evaluación del docente especialista.

Atentamente

A handwritten signature in blue ink, reading "Mery Rosario Ramirez Muñoz", is written over a horizontal line. The signature is enclosed within a large, loopy circular scribble.

**Q.F. Mery Rosario Ramírez Muñoz, PhD**

C.I. 0907694186

# DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista, del Trabajo de Integración Curricular “**Degradación de productos derivados de polietileno mediante la aplicación del hongo saprófito: *Aspergillus spp.*** “, elaborado por **Freddy Walther Saltos Ponce** estudiantes de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Biólogo, me permito declarar que luego de haber evaluado el desarrollo y estructura final del trabajo, éste cumple y se ajusta a los estándares académicos, razón por la cual, declaro que se encuentra apto para su sustentación.

Atentamente

  
Blga. **Dadsania Rodriguez Moreira, Mgtr**

C.I: 0913042008

## **DEDICATORIA**

A la Universidad Península de Santa Elena agradecido por permitirme crecer y desarrollar el ámbito educativo.

Mi dedicatoria es para cada docente de la carrera Biología por el apoyo emocional y el aporte de sus conocimientos. Hoy me siento afortunado de que hayan sido parte de mi formación profesional a lo largo de estos 5 años en la carrera de Biología

A mis familiares, mi madre Miriam Ponce Pachó por brindarme su tiempo, paciencia, amor y fe en cada paso que he dado en mi vida.

Freddy Walther Saltos Ponce

## AGRADECIMIENTO

“Si he logrado ver más lejos, ha sido porque he subido a hombros de gigantes”.

-Isaac Newton

Quiero expresar mi agradecimiento a las autoridades y docentes de la Facultad Ciencias del Mar quienes compartieron sus conocimientos y fortalecieron mi carrera profesional.

A mi querida tutora Q.F. Mery Ramírez Muñoz, Ph.D. por su tiempo y comprensión dedicado para el desarrollo del presente trabajo; no está de más agradecer por transmitirme ese espíritu científico que la caracteriza y que nos inspira a ser mejores profesionales.

Al Ph. D Sebastián Ponce por su paciencia y ayuda en el análisis de espectroscopia de infrarrojo y a la empresa MICROBIOLAB por colaborar en la identificación de las especies.

Agradezco el poder culminar este trabajo con éxito y disfrutar a la vez del privilegio de ser grato con esa persona que se preocupó por mí en cada momento y con su gran paciencia hizo de esto posible a mi madre, Lic. Miriam Ponce.

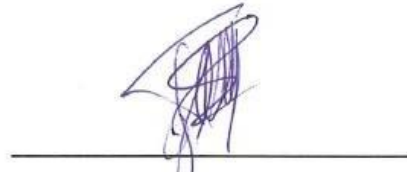
# TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **Freddy Walther Saltos Ponce** como requisito parcial para la obtención del grado de Biólogo/a de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular **APROBADO** el: 11/12/2024



Blgo. Richard Duque Marín, Mgtr.  
**DOCENTE GUÍA DE LA UIC II**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Ing. Jimmy Villón Moreno, Ms.C.  
**DIRECTOR DE LA CARRERA**  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**



Q.F Mery Ramírez Muñoz, Ph.D  
**DOCENTE TUTOR**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Blga. Dadsania Rodríguez Moreira, Mgtr  
**DOCENTE DE ÁREA**  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**



Lcdo. Pascual Roca Silvestre, Mgtr.  
**SECRETARIO DEL TRIBUNAL**

## DECLARACIÓN EXPRESA

Yo, FREDDY WALTHER SALTOS PONCE con cédula de identidad 2400068439 declaro bajo juramento que la responsabilidad por las ideas, contenido y análisis de los resultados expuestos en el presente trabajo de titulación “DEGRADACIÓN DE PRODUCTOS DERIVADOS DE POLIETILENO MEDIANTE LA APLICACIÓN DEL HONGO SAPRÓFITO: *Aspergillus spp*” corresponden de manera exclusiva y el patrimonio intelectual del mismo lo con la Universidad Estatal Península Santa Elena,



Freddy Saltos Ponce

C.I.2400068439



## ÍNDICE GENERAL

|  |    |
|--|----|
| INTRODUCCIÓN .....   | 18 |
| PROBLEMA.....  | 20 |
| JUSTIFICACIÓN .....  | 21 |
| OBJETIVO GENERAL.....  | 23 |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....  | 23 |
| HIPÓTESIS .....  | 24 |
| CAPÍTULO I.....  | 25 |
| 1    MARCO TEÓRICO.....  | 25 |
| 1.1    EL GÉNERO ASPERGILLUS .....   | 25 |
| 1.1.1 Importancia.....   | 25 |
| 1.1.2 Diagnósis.....   | 26 |
| 1.1.3 Taxonomía.....   | 27 |
| 1.1.4 Sustancias producidas por <i>Aspergillus spp</i> .....   | 28 |
| 1.1.5 Método de captura de microorganismos en los suelos; trampa de arroz .....  | 29 |
| 1.1.6 Espectroscopia de infrarrojo (IR).....   | 30 |
| 1.2 MARCO LEGAL.....   | 31 |
| CAPÍTULO II.....   | 33 |
| 2    MATERIALES Y MÉTODOS .....  | 33 |
| 2.1 Área de estudio.....   | 33 |
| 2.2 Estación 1: Sector campo verde.....  | 34 |
| 2.3 Estación 2: Centro de Bella Aurora .....   | 34 |
| 2.4 Estación 3: Zona poblada del SNA.....  | 35 |
| 2.5 FASE DE CAMPO.....   | 36 |
| 2.5.1 Recolección de las muestras fúngicas.....  | 36 |
| 2.6. FASE DE LABORATORIO .....   | 38 |
| 2.6.1 Siembra en superficie .....  | 38 |
| 2.6.2 Aislamiento de colonias viables .....  | 40 |
| 2.6.3 Purificación de hongos filamentosos.....   | 41 |
| 2.6.4 Caracterización morfológica.....   | 41 |
| 2.6.5 Curvas de crecimiento .....  | 43 |
| 2.6.6. Evaluación de la actividad degradadora ante los polímeros de baja densidad.....   | 45 |
| 2.6.7 Determinación de la biodegradación de nylon y fundas de polietileno por la técnica de Espectroscopia Infrarroja (IR) ..... | 46 |

|   |    |
|---|----|
| CAÍTULO III .....   | 47 |
| 3 RESULTADOS .....  | 47 |
| 3.1 Aislamiento y caracterización de hongos obtenidos a partir de muestras de trampas de arroz      | 47 |
| 3.2 Aislamiento de cepas fúngicas en placas Petri .....   | 48 |
| 3.3 Caracterización morfológica .....   | 50 |
| 3.4 Especies identificadas.....   | 52 |
| 3.5 Pérdida de masa de los polímeros de baja densidad .....   | 55 |
| 3.5.1 Polímero nylon .....  | 55 |
| 3.5.2 Funda plástica.....   | 65 |
| 3.6 Curvas de crecimiento .....   | 68 |
| 3.7 Degradación de polímeros por parte de los sistemas fúngicos, <i>Aspergillus flavipes</i> y..... | 75 |
| 3.8 Espectroscopia de infrarrojo (IR) .....   | 78 |
| 3.8.2 Semana 5 a 10 .....   | 80 |
| 3.8.3 Semana 10 a 15 .....  | 82 |
| 4 CAPÍTULO IV .....   | 84 |
| 4.1 DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....   | 84 |
| 4.2 DISCUSIÓN .....   | 84 |
| 4.3 CONCLUSIONES .....  | 86 |
| 4.4 RECOMENDACIONES .....   | 89 |
| 5 CAPÍTULO V .....  | 91 |
| 5.2 BIBLIOGRAFÍA.....   | 91 |
| 5.3 ANEXO.....  | 95 |

## INDICE DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura 1 Esquema de las estructuras morfológicas características del género <i>Aspergillus</i> .....   | 20 |
| Figura 1 Género <i>Aspergillus</i> spp a 40x   | 21 |
| Figura 2 Trampas de arroz...   | 24 |
| Figura 4 Ubicación del área de estudios en el sector Nueva Aurora /San José y sus respectivas estaciones (E1, E2, y E3)                                      | 27 |
| Figura 5: Estación 1 Sector campo verde  | 28 |
| Figura 6 Estación 2 Centro Bella Aurora.   | 29 |
| Figura 7 Estación 3 Zona poblada   | 29 |
| Figura 8 Trampas de arroz  | 30 |
| Figura 9 Estaciones y las replicadas para la recolección de las muestras fúngicas  | 31 |
| Figura 3 Estación 1 , método de captura  | 31 |
| Figura 11: PDA utilizado para la preparación de 10 cajas Petri esterilizadas.  | 32 |
| Figura 12 a) Cámara de flujo laminar, b) PDA utilizado para la preparación de 10 cajas Petri esterilizadas, c) trampa de arroz para la inoculación de hongos | 33 |
| Figura 13 Vista de las hifas a través de un estereoscopio  | 34 |
| Figura 14 Hifas más jóvenes del micelio y reinsertadas en placas Petri con PDA y cloranfenicol.....  | 34 |
| Figura 15 Cultivo del hongo <i>Aspergillus</i> spp características macroscópicas.  | 36 |
| Figura 16 Hongo <i>Aspergillus</i> spp al microscopio, objetivo; 40x   | 36 |
| Figura 17 Curva de crecimiento de los hongos   | 37 |
| Figura 18 Clave taxonómica del género <i>Aspergillus</i>   | 42 |
| Figura 19 Hongo <i>Aspergillus</i> spp al microscopio, objetivo; 40x   | 43 |
| Figura 20 Hongo <i>Aspergillus</i> y sus especies identificadas por estaciones   | 46 |
| Figura 4 Polietileno (nylon) en aislamiento con cepas de <i>Aspergillus</i>  | 47 |
| Figura 22 Pesos del polímero Nylon, ubicado en la E1 de la réplica 1 mediante la aplicación del hongos; <i>Aspergillus flavipes</i>                          | 48 |
| Figura 23 Pesos del polímero Nylon, ubicado en la E1 de la réplica 1 mediante la aplicación del hongos; <i>Aspergillus neoflavipes</i>                       | 51 |
| Figura 24: Pesos del polímero Nylon, ubicado en la E1 de la réplica 1 mediante la aplicación del hongos; <i>Aspergillus keveil</i>                           | 53 |
| Figura 25 : Pesos del polímero Nylon, ubicado en la E1 de la réplica 1 mediante la aplicación del hongos; <i>Aspergillus flavipe</i>                         | 55 |

|  |     |
|--|-----|
| Figura 5 Polietileno (funda) en aislamiento con cepas de <i>Aspergillus</i>                          | 56  |
| Figura 27. Curva de crecimiento del aislamiento de <i>Aspergillus flavipe</i>                        | 59  |
| Figura 28 Curva de crecimiento del aislamiento de <i>Aspergillus neoflavipe</i>                      | 62  |
| <i>noaflavIpes E2</i>  | 67. |
| Figura 30: Espectroscopia del polietileno (nylon) con el aislamiento <i>Aspergillus flavIpes E1</i>  | 68  |
| Figura 31 Espectroscopia del polietileno (nylon) con el aislamiento <i>Aspergillus flavIpe E2</i>    | 69. |
| Figura 32: Espectroscopia del polietileno (funda) con el aislamiento. <i>Aspergillus noaflavIpes</i> | 70  |
| Figura 33 Espectroscopia del polietileno (funda) con el aislamiento <i>Aspergillus noaflavipes</i>   | 71  |
| Figura 34: Espectroscopia del polietileno (nylon) con el aislamiento <i>Aspergillus flavIpes</i>     | 72  |

## INDICE DE TABLA

|   |    |
|---|----|
| Tabla 1 Sustancias producidas por <i>Aspergillus</i>  | 12 |
| Tabla 2 Numero de trampas de arroz empleadas en el proyecto   | 40 |
| Tabla 3 Placas Petri inoculadas   | 42 |
| Tabla 4: Caracterización macroscópica y microscópica del género <i>Aspergillus</i> y sus especies identificadas.  | 45 |
| Tabla 5: Pesos del polímero Nylon, ubicado en la E1 de la réplica 1 mediante la aplicación del hongos; <i>Aspérgillus flavipe</i>                                   | 48 |
| Tabla 6 Pesos del polímero Nylon, ubicado en la E1 de la réplica 2 mediante la aplicación del hongos; <i>Aspergillus neoflavipe</i>                                 | 50 |
| Tabla 7 Pesos del polímero Nylon, ubicado en la E1 de la réplica 3 mediante la aplicación del hongos; <i>Aspérgillus keveil</i>                                     | 52 |
| Tabla 8 Pesos del polímero Nylon, ubicado en la E2 de la réplica 3 mediante la aplicación del hongos; <i>Aspeérgillus flavipe</i>                                   | 54 |
| Tabla 9 Pesos del polímero Funda Plasctica, ubicado en la E2 de la réplica 1 mediante la aplicación del hongos; <i>Aspergillus flavipe</i>                          | 57 |
| Tabla 10 Pesos del polímero Funda Plasctica, ubicado en la E2 de la réplica 1 mediante la aplicación del hongos; <i>Aspergillus neoflavipei</i>                     | 58 |
| Tabla 11 Comparación entre los valores obtenidos de masa del aislamiento PITS_A01 <i>Aspergillus flavipes</i> para la curva de crecimiento mostrada en la figura 27 | 61 |
| Tabla 12 Comparación entre los valores obtenidos de masa del aislamiento <i>Aspergillus neoflavipes</i> para la curva de crecimiento mostrada en la figura 28       | 63 |

## INDICE DE ANEXOS

|  |    |
|--|----|
| Anexo 1: tabla de trampas de arroz empleadas en agosto /septiembre2024                 | 81 |
| Anexo 2: tabla para la clasificación de las especies del género aspergillus            | 81 |
| Anexo 3: tabla del peso del polietileno durante 15 semanas de pruebas                  | 81 |
| Anexo 4 : informe del análisis molecular de las muestras de las especie de aspergillus | 83 |

## GLOSARIO

**Asca:** Saco o envoltura que alberga las esporas en los Ascomicetos.

**Basidio:** Saco o envoltura que alberga las esporas en los Basidiomicetos

**Basidiospora:** Espora de los Basidiomicetos

**Espora:** célula producto de reproducción sexual o asexual. Unidad de propagación y dispersión que posee la capacidad de generar un organismo nuevo a partir de su desarrollo.

**Estípite:** pie de la seta. **Hifas:** filamentos cilíndricos con crecimiento apical. Pueden ser septadas (con tabiques transversales) o sifonadas (sin tabiques).

**Hifas:** filamentos cilíndricos con crecimiento apical. Pueden ser septadas (con tabiques transversales) o sifonadas (sin tabiques).

**Himenio:** estrato o capa donde se desarrollan los basidios junto con las células estériles (cistidios, setas). Su estructura puede ser de laminillas, tubos/poros, en agujones o lisa. **Micelio:** conjunto de hifas que constituyen el cuerpo vegetativos o talo de los hongos. **Micología:** Es la ciencia encargada del estudio de los hongos.

# DEGRADACIÓN DE PRODUCTOS DERIVADOS DE POLIETILENO MEDIANTE LA APLICACIÓN DEL HONGO SAPRÓFITO: *Aspergillus* spp.,

**Autor :** FREDDY WALTHER SALTOS PONCE

**Tutora:** Q.F. MERY ROSARIO RAMÍREZ MUÑOZ, PHD

## **RESUMEN**

Los productos derivados de hidrocarburos como los polietilenos son ampliamente utilizados y la mayoría no son reciclados y terminan contaminando los ecosistemas en general, siendo necesario buscar estrategias de manejo que permitan mitigar la acción de estos contaminantes. Los avances y descubrimientos científicos aportan información de estrategias de biorremediación como una alternativa amigable para el ambiente, dentro de las que se destaca el uso de sistemas fúngicos. Los sistemas fúngicos cumplen un rol muy fundamental en nuestros bosques debido a la simbiosis que realizan con las raíces y el sustrato donde se encuentran. El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo evaluar la capacidad biodegradadora de *Aspergillus* spp. aplicado al polietileno como una alternativa biológica en la gestión de residuos sólidos. La metodología incluyó el cultivo de cepas fúngicas de *Aspergillus* spp. en los bosques húmedos tropicales de la zona norte de Santa Elena. Se utilizó 9 trampas de arroz en 3 estaciones (E1, E2, E3), con 3 repeticiones. Se obtuvieron muestras de sistemas fúngicos, las que identificaron por secuenciación según el banco de genes según resultado en el laboratorio Microbiolab ubicado en la ciudad de Quito, identificándose *Aspergillus flavipes*, *Aspergillus neoflavipes*, *Aspergillus keveii*, *Aspergillus assiutensis*, *Aspergillus pseudonomiae*. Los que fueron sembrados en agar PDA para su multiplicación. En concentración  $10^4$  - $10^5$  UFC/ml de cultivo fúngico se aplicó derivados de muestras derivadas de polietileno, tales como el nylon con una longitud de 3 cm y fundas plásticas de 2 x 2cm en placas Petri durante el periodo de 12 semanas en incubación en 37°C. El resultado demostró una pérdida de peso de *Aspergillus neoflavipes* para fundas con un 20,21% y *Aspergillus flevipes* para nylon con un 35.30% de degradación. Estos datos se corroboraron con el análisis de espectroscopía de infrarrojo (FTIR) donde el resultado revela que los enlaces químicos nativos presentes en el polietileno (nylon) y funda plástica se alteraron por la sinergia del *Aspergillus*.

**Palabras claves:** Espectroscopia de infrarrojo, *Aspergillus* spp. Biorremediación.



# **DEGRADATION OF POLYETHYLENE DERIVED PRODUCTS BY APPLICATION OF THE SAPROPHYTIC FUNGUS: *Aspergillus* spp.,**

**Author:** FREDDY WALTHER SALTOS PONCE  
**Tutor:** Q.F MERY ROSARIO RAMÍREZ MUÑOZ, PHD

## **SUMMARY**

Hydrocarbon-derived products such as polyethylene are widely used and most are not recycled and end up contaminating ecosystems in general, making it necessary to find management strategies that allow mitigating the action of these pollutants. Scientific advances and discoveries provide information on bioremediation strategies as an environmentally friendly alternative, among which the use of fungal systems stands out. Fungal systems play a very fundamental role in our forests due to the symbiosis they perform with the roots and the substrate where they are found. The present research work aimed to evaluate the biodegrading capacity of *Aspergillus* spp. applied to polyethylene as a biological alternative in solid waste management. The methodology included the cultivation of fungal strains of *Aspergillus* spp. in the tropical rainforests of the northern area of Santa Elena. 9 rice traps were used in 3 stations (E1, E2, E3), with 3 repetitions. Samples of fungal systems were obtained, which were identified by sequencing according to the gene bank according to the result in the Microbiolab laboratory located in the city of Quito, identifying *Aspergillus flavipes*, *Aspergillus neoflavipes*, *Aspergillus keveii*, *Aspergillus assiutensis*, *Aspergillus pseudonomiae*. Which were planted in PDA agar for multiplication. In a concentration of 10<sup>4</sup> -10<sup>5</sup> CFU/ml of fungal culture, derivatives of polyethylene-derived samples were applied, such as nylon with a length of 3 cm and plastic covers of 2 x 2 cm in Petri dishes during the period of 12 weeks in incubation at 37 ° C. The result showed a weight loss of *Aspergillus neoflavipes* for covers with 20.21% and *Aspergillus flavipes* for nylon with 35.30% degradation. These data were corroborated by infrared spectroscopy (FTIR) analysis, where the result reveals that the native chemical bonds present in polyethylene (nylon) and plastic sheath were altered by the synergy of *Aspergillus*.

**Keywords:** Infrared spectroscopy, *Aspergillus* spp. Bioremediation..

## INTRODUCCIÓN

El polietileno es un material plástico usualmente presente en envases descartables, fundas plásticas, redes de pescas entre otros son muy utilizados y fabricados en grandes cantidades y, considerados como un problema ambiental debido a su difícil degradación (Allsopp et al. 2007). El uso extensivo de este material genera desechos que se acumulan en el ambiente a una tasa de 25 millones de toneladas al año, 40 % de las cuales son dispuestas en rellenos sanitarios, mientras que cientos de miles de toneladas son arrojadas como contaminantes más importantes a cuerpos de agua, ríos y océanos. Este hecho ocasiona graves problemas, como contaminación visual y muerte de animales que los ingieren accidentalmente (Sudhakar M. et al. 2008).

Se han elaborado compuestos utilizando estos materiales y son denominados de “difícil degradación”; esto significa que su descomposición natural emplea periodos de tiempo largos. Por lo que es necesario emplear métodos externos para degradar estos materiales y/o ayudar a que su descomposición sea más rápida. Sin embargo, el uso de estos métodos puede involucrar sustancias o recursos en exceso o pueden causar de forma colateral algún efecto poco deseado para el medio. Por lo que, se decidió emplear una técnica de biorremediación utilizando elementos propios de la naturaleza que actúen en sinergia a una biodegradación de estos polímeros con la menor cantidad de efectos negativos para el ambiente.

Los organismos seleccionados para este proyecto fueron los hongos, respondiendo a unas muestras fúngicas que crecieron en recipientes con nutrientes y conocer qué tipo de hongos pueden ayudar en la biorremediación de sustancias hidrocarbonadas, y con esto, disminuir su

tiempo de degradación con la ayuda de estos organismos; y de este modo, contribuir con la descontaminación de estas sustancias en los diversos medios de una forma natural, empleando menos recursos y capital y generando una menor cantidad de sustancias tóxicas para el ambiente. En el desarrollo de la investigación, se clasificaron diecinueve aislamientos diferentes, dentro de ocho géneros reconocidos: *Acremonium* sp., *Aspergillus* sp., *Botrytis* sp., *Chaetomium* sp., *Mucor* sp., *Penicillium* sp., *Phialophora* sp., y *Rhodotorula* sp. Dentro de estos aislamientos, se seleccionaron seis, los cuales se pusieron en pruebas preliminares con petróleo

## **PROBLEMA**

El petróleo, uno de los hidrocarburos más significativos, desempeña un papel fundamental como materia prima en la fabricación de una amplia variedad de productos que utilizamos en nuestra vida cotidiana. Su utilidad es tan diversa que se ha vuelto esencial buscar nuevas fuentes de extracción, a pesar de ser un recurso no renovable. El uso excesivo de este recurso ha generado problemas ambientales, como la degradación de la vegetación, las alteraciones de los hábitats naturales, la sobreexplotación de yacimientos, la contaminación por vertidos, las emisiones de gases y partículas, así como la producción de subproductos y residuos tóxicos.

La problemática en varios entornos no solo se origina a causa del petróleo, sino también debido a otros compuestos hidrocarbonados en los que se utiliza el petróleo como una de las materias primas para su producción. Muchos de estos compuestos son considerados difíciles de degradar, ya que necesitan varios años para descomponerse. Algunos de los compuestos hidrocarbonados que son difíciles de degradar incluyen las gomas, el caucho, el diésel y el poliestireno. En estos casos, es esencial que los agentes utilizados para la remediación sean capaces de romper las cadenas dobles y triples de los enlaces que forman estos materiales, así como sus ramificaciones, con el objetivo de desestabilizar su estructura carbonada y facilitar su posterior detoxificación y degradación.

Las consecuencias ambientales provocadas por estos hidrocarburos han destacado la necesidad de abordar la contaminación generada por estas sustancias. Para llevar a cabo este proceso, existen diversas técnicas disponibles, que pueden ser físicas, químicas, térmicas, eléctricas o biológicas, e incluso la combinación de algunas de ellas. La elección de la técnica adecuada se basa en la evaluación del método más apropiado, teniendo en cuenta el impacto en los recursos naturales y la naturaleza de la sustancia contaminante.

## JUSTIFICACIÓN

Los graves problemas ambientales resultantes del uso extendido e indiscriminado de hidrocarburos han impulsado la búsqueda de soluciones para mitigar los daños al medio ambiente. Estos problemas han surgido principalmente debido a la introducción de sustancias externas que, cuando se utilizan de manera inapropiada, han causado graves impactos ambientales. Por tanto, se ha reconocido la necesidad de encontrar alternativas naturales que permitan mejorar diversos entornos sin causar daños adicionales a los mismos.

Las técnicas de remediación ambiental como la aplicación de bacterias, hongos están siendo de mucha utilidad en éstos procesos desempeñando un papel importante en este proceso. Los hongos pueden ser preferibles en estrategias de biorremediación debido a factores como su menor tasa de proliferación y mayor estabilidad genética. Además, son eficaces gracias a sus características intrínsecas, como su resistencia y habilidad para sobrevivir en entornos con recursos limitados y en condiciones de pH que oscilan entre 4 y 6,5. Por estas razones, los hongos son agentes prometedores para llevar a cabo la remediación de hidrocarburos, ya que son capaces de adaptarse a medios con disponibilidad limitada de nutrientes y diferentes niveles de salinidad. Hay una importante variedad de hongos que tienen la capacidad de degradar compuestos hidrocarbonados; pero dentro de estos se conoce que el filo Ascomycetes del dominio fungi, existiendo mayor variedad de especies y se distinguen con esta capacidad degradadora en sustancias hidrocarbonadas

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar la capacidad biodegradadora de *Aspergillus spp.* sobre productos derivados de polietileno en condiciones controladas, como una alternativa biológica para la gestión de residuos plásticos.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Aislar las muestras fúngicas de *Aspergillus spp.*, por medio de la utilización de trampas de arroz para la propagación de las colonias viables en un cultivo agar-papa dextrosa (PDA).
- Caracterizar morfológicamente las cepas de *Aspergillus spp.* con ayuda de las claves taxonómicas de organismos filamentosas dadas por Domsch y Gams, mediante la tinción con azul de lactofenol y observación de las muestrasteñidas al microscopio.
- Establecer la actividad degradadora de *Aspergillus spp.* ante los productos de polietileno a través de las tendencias de crecimiento, porcentaje de masas y análisis de espectroscopia de infrarrojo.

## **HIPÓTESIS :**

- Ho: El tratamiento biológico de *Aspergillus spp*, favorece la biodegradación de los productos derivados del polietileno.

# CAPÍTULO I

## 1 MARCO TEÓRICO

### 1.1 EL GÉNERO ASPERGILLUS

#### 1.1.1 Importancia

Según Pitt & Hocking (1997). Manifiesta que el género *Aspergillus* se encuentra entre los géneros fúngicos más reconocidos y mejor estudiados. La primera descripción data de 1729, y fue realizada por Micheli en "Nova Plantarum Genera", pero a mediados del siglo XX comenzó a ser mencionado como un agente activo en la síntesis de compuestos químicos, transformaciones biosintéticas y producción enzimática (Pitt & Hocking, 1997). Las especies de este género se encuentran distribuidas en la naturaleza pudiéndose aislar de una variedad de sustratos. Muchas de ellas son xerófilas, y capaces de deteriorar alimentos que apenas exceden los límites seguros de humedad. Pitt & Hocking (1985) mencionan que existe gran número de especies están también estrechamente relacionadas con alimentos humanos, particularmente cereales y nueces Si bien algunas especies se utilizan en la producción de alimentos, por ejemplo *A. oryzae* (Ahlburg) Cohn, en la manufactura de salsa de soja. La mayoría de las especies de *Aspergillus* aparecen en los alimentos como agentes de deterioro (Hocking, 1997).

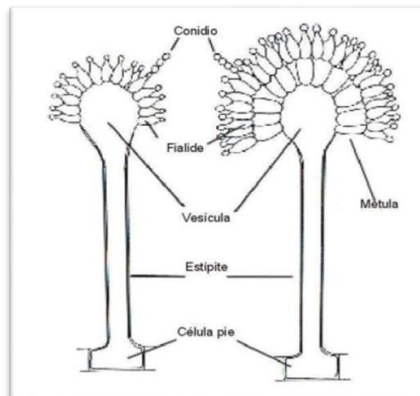


### 1.1.2 Diagnósis

El género *Aspergillus* se caracteriza, en términos generales, por la alineación de conidióforos con estípites largos no septados y ápices usualmente ensanchados formando una vesícula por lo general esférica; sin embargo, en algunas especies son más elongadas y no tan conspicuamente ensanchadas, y llevan mètulas y fialides en toda su superficie (**Figura. 1**). Los conidióforos y cabezuelas están producidos a partir de una célula especializada denominada “célula pie” (**Fig. 1**). Raper & Fennell (1965) enfatizan que los conidios varían en color, tamaño y forma. A su vez, Pitt & Hocking, (1997) exteriorizan que para una rápida determinación de miembros de este género puede ser obtenida por el análisis a microscopía óptica de los conidióforos típicos de *Aspergillus*, una de las características más útiles para la identificación taxonómica de especies del género.

**Figura 6**

Esquema de las estructuras morfológicas características del género *Aspergillus*

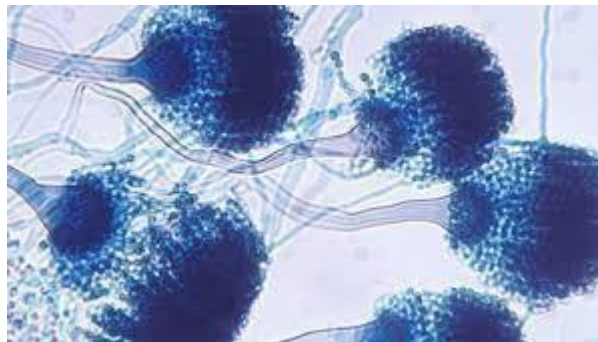


**Fuente:** Pitt & Hocking (1997)

### 1.1.3 Taxonomía

*Aspergillus* spp es un hongo filamentososo hialino, saprofito, perteneciente al filo Ascomycota. Se encuentra formado por hifas hialinas septadas y puede tener reproducción sexual (con formación de ascosporas en el interior de ascas) y asexual (con formación de conidios) (**Figura 7**).

**Figura 8** Género *Aspergillus* spp a 40x



- **Reino** Fungi
  - **Filo** Ascomycota
    - **subfilo** Pezizomycotina
      - **Clase** Eurotiomycetes
        - **Subclase** Eurotiomycetidae
          - **orden** Eurotiales
            - **Familia** Aspergillaceae

#### 1.1.4 género *Aspergillus spp* Sustancias producidas por *Aspergillus spp*

Dhandapani, (2020) enfatiza que el hongo *Aspergillus* origina diversas sustancias, entre ellas enzimas, micotoxinas y péptidos bioactivos

(Tabla 1):

**Tabla 4**

Sustancias producidas por *Aspergillus*

| Sustancia            | Descripción de su acción  |
|----------------------|---|
| Enzimas              | Es capaz de secretar un alto nivel de enzimas al medioambiente, teniendo una importancia comercial y son utilizados en la industria como aditivos y suplementos alimenticios        |
| Micotoxinas          | El género <i>Aspergillus</i> es uno de los principales sistemas fúngicos productores de micotoxinas como las aflatoxinas, desoxinivalenol, fumonisinas, patulina y la ocratoxina A. |
| Péptidos bioactivos: | El género <i>Aspergillus</i> posee un potencial de péptidos bioactivos.   |

**Fuente:** Dhandapani (2020)

### 1.1.5 Método de captura de microorganismos en los suelos; trampa de arroz

Según Coutinho de Andrade (2020), las técnicas relacionadas al uso de los microorganismos eficientes están basadas en el método natural de formación del suelo. Se trata de comunidades de microorganismos encontrados naturalmente en ambientes sanos, que transforman la materia orgánica poniendo a disposición el alimento para producir plantas vigorosas y mantener la estabilidad del sistema. Las trampas de arroz para Coutinho de Andrade (2020), son las comunes y fáciles de aplicar para la identificación de hongos y levaduras de los distintos suelos que se vaya a extraer. El arroz constituye el sustrato para la reproducción de los microorganismos. La relación o rendimiento del arroz, aunque dependerá del tamaño de los del recipiente con el que se vaya a utilizar, es 20 g de arroz por cada frasco posteriormente se tapa con una malla y se entierran a una profundidad de 5 a 10 cm dependerá de la calidad del suelo la proliferación de microorganismos (**Figura 3**).

*Figura 9*

Trampas de arroz



### **1.1.6 Espectroscopia de infrarrojo (IR)**

La espectroscopia se basa en la absorción de la radiación IR por las moléculas en vibración. Una molécula absorberá la energía de un haz de luz infrarroja cuando dicha energía incidente sea igual a la necesaria para una transición vibracional de la molécula. Es decir, la molécula comienza a vibrar de una determinada manera gracias a la energía que se le suministra mediante luz infrarroja. Pueden distinguirse dos categorías básicas de vibraciones: de tensión y de flexión. Las vibraciones de tensión son cambios en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos. Las vibraciones de flexión están originadas por cambios en el ángulo que forman dos enlaces

## 1.2 MARCO LEGAL

La Constitución de la República del Ecuador (2008), en sus artículos 395, 400 y 406, reconoce principios ambientales que garantiza un modelo sustentable de desarrollo, guiado a la conservación de la biodiversidad y la capacidad de regeneración natural en los ecosistemas, y expresa el bienestar de las futuras y presentes generaciones, declarando así la participación del cuidado ambiental como interés público. Además, regula la conservación, manejo y uso sostenible, restauración y delimitación de ecosistemas frágiles y amenazados; incluyendo humedales, bosques nubosos, bosques tropicales secos y húmedos y manglares, ecosistemas marinos y marino-costeros.

Del mismo modo en la sección 2ª “Investigación Ambiental” del reglamento del Código Orgánico del Ambiente se instituyen los siguientes artículos: Que el Art.28 literal c) menciona que es necesario promover la investigación ambiental basada en prioridades nacionales, regionales y locales, apoyándose en el involucramiento de los diversos actores y en el establecimiento de programas de formación.

Que el Art. 31.- Proyectos de investigación ambiental. - Los Gobiernos Autónomos Descentralizados elaborarán, implementarán y evaluarán proyectos de investigación. Igualmente, la Estrategia Nacional de Biodiversidad (2015-2030) tiene como objetivo profundizar el conocimiento de los recursos biológicos disponibles y potencialmente aprovechables, proteger los valores intangibles asociados a éstos, restaurar ecosistemas, a su vez emprender procesos sostenidos de investigación,

desarrollo e innovación tecnológica basada en la biodiversidad; y, vincular estratégicamente iniciativas locales de aprovechamiento de la biodiversidad con las dinámicas económicas nacionales y globales (Ministerio del Ambiente del Ecuador, 2016).

Por tanto, la información que generara el proyecto cumple parámetros legales en la línea de investigación tanto a nivel nacional como local, fomentando la conservación de la biodiversidad en los ecosistemas donde se desarrollan.

## CAPÍTULO II

### 2 MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1 Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la comuna San José perteneciente a la Parroquia Manglaralto. Está ubicado en la zona norte del Cantón Santa Elena. Sus límites son: al Norte, con la Comuna Las Núñez; al Sur, con la Comuna Curia; al Este con la Comuna Olón y, al Oeste con el Océano Pacífico. Sus coordenadas son -1.76025,S- 80.76894 N. (Figura 4).

*Figura 10*

Ubicación del área de estudios en el sector Nueva Aurora /San José y sus respectivas estaciones (E1, E2, y E3)



Fuente: Google earth, (2024)



## 2.2 Estación 1: Sector campo verde

Se encuentra ubicada a 127 msnm en el núcleo 1 del SNA, específicamente en las coordenadas 2°9'23''S y 79°57'47''W. Según las observaciones realizadas, posee una alta densidad de vegetación en la que se destacan cultivos de plátano, hortalizas y ciertas plantas medicinales de la región, se catalogó como un sitio idóneo para la proliferación de microorganismos presentes en los suelos del bosque húmedos tropical de San José (**Figura 5**).

**Figura 11**

Estación 1 Sector campo verde



## 2.3 Estación 2: Centro de Bella Aurora

Se ubica a una altitud de 211msnm y sus coordenadas son 2°9'26''S y 79°57'56''W. Según las observaciones realizadas, posee una alta densidad de especies vegetales herbáceas ubicadas en el centro de la estación. Alrededor se ubican especies arbóreas caducifolias que desarrollan hojas al empezar la temporada lluviosa y presencia de maleza (**Figura 6**) Adicionalmente, se registró la presencia de anfibios (*Epipedobates machalilla*) y mamíferos como caballos (*Equus caballus*

**Figura 12**

Estación 2 Centro Bella Aurora



### **2.4 Estación 3: Zona poblada del SNA**

Se encuentra a una altitud de 80 msnm específicamente en las coordenadas 2°9'10''S y 79°56'23''W. El suelo es más compacto que en las otras estaciones y en sus alrededores se encuentran árboles frutales tales como; limón, mango, naranja entre otros (**Figura 7**).

**Figura 13**

Estación 3 Zona poblada



## 2.5 FASE DE CAMPO

### 2.5.1 Recolección de las muestras fúngicas

Las muestras fúngicas fueron recolectadas en el mes Agosto durante época de invierno mediante la aplicación de trampas de arroz según el método de capturas de microorganismos establecido por Mendoza & Espinoza (2017) (**Figura 8**)

*Figura 14*

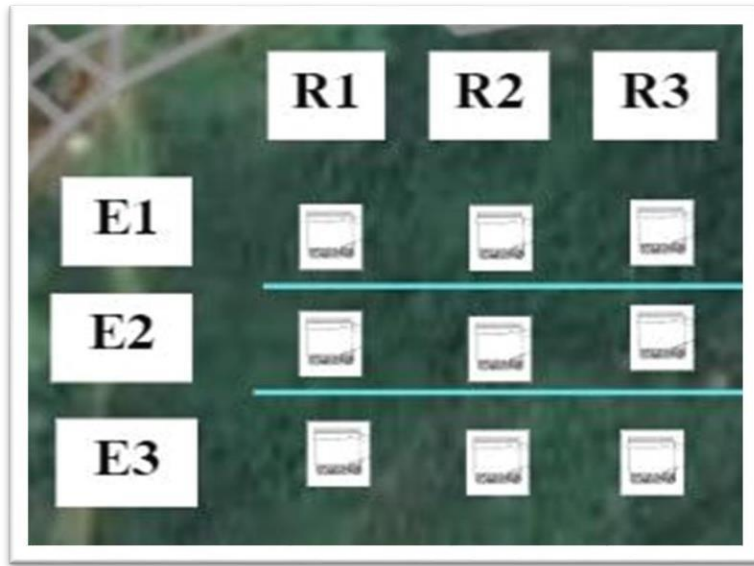
Trampas de arroz



Se emplearon 3 estaciones destinadas al aislamiento in situ de las mismas. En cada estación (E1; E2; E3) se recolectaron 3 réplicas (R1; R2; R3,) (**Figura 9**). cada trampa de arroz se las ubicó a 5 metros de distancia entre cada una, un total de 3 muestras por estación con el fin de recolectar muestra representativa en cada zona, cada una de las replicadas fueron introducidas en la rizosfera con una profundidad de 10 cm, posteriormente se taparon con tierra y un sarán entre 5 a 10 días para evitar que algún agente externo intervenga en el aislamiento de los microorganismos (**Figura 10**)

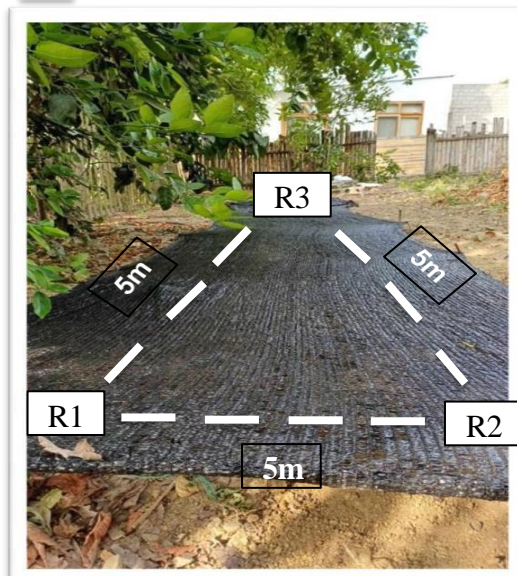
**Figura 15**

Estaciones y las replicadas para la recolección de las muestras fúngicas



**Figura 10**

Estación 1 método de aislamiento



## 2.6. FASE DE LABORATORIO

### 2.6.1 *Siembra en superficie*

Se utilizó el medio de cultivo Agar Papa Dextrosa (PDA), en un matraz erlenmeyer de 500 ml se suministró 300 ml de agua destinada y 11,7 g de PDA, se calentó con agitación frecuente y a ebullición para disolución total, adicionando cloranfenicol (400 ppm) para evitar el crecimiento bacteriano. Se esterilizó en autoclave a 121 °C, 15 psi, durante 15 min. Posteriormente, se colocó 30 mL del medio PDA en placas de Petri de 80 cm x 15 mm para un total de 10 cajas Petri (**Figura 11**).

*Figura 11*

PDA utilizado para la preparación de 10 cajas Petri esterilizadas





Para la siembra en superficie se emplearon mecheros de alcohol para generar una zona aséptica al momento de sembrar los sistemas fúngicos en la cámara de flujo laminar con ayuda de un asa micológica se extendió el inóculo por la superficie de acuerdo al protocolo de Gaddeyya y colaboradores (2012). Se realizó la siembra de 10 cajas Petri por cada estación un total de 30 cajas que fueron incubadas a 25 °C por un total de 7 días y que fueron revisadas cada 24 horas evaluando el crecimiento de colonias (**Figura 12**).

**Figura 12**

Cámara de flujo laminar, b) PDA utilizado para la preparación de 10 cajas petri esterilizadas, c) trampa de arroz para la inoculación de hongos



### 2.6.2 *Aislamiento de colonias viables*

Durante las revisiones diarias del cultivo en cajas de Petri, con la ayuda de un estereoscopio (**Figura 13**), se identificó el crecimiento de colonias aisladas y su respectiva selección. Para ello, se utilizó un bisturí previamente esterilizado con alcohol para cotar cubos de agar con las hifas más jóvenes del micelio y reinsertarlo en placas Petri con PDA y cloranfenicol (400ppm) (**Figura 14**).

**Figura 13**

Vista de las hifas a través de un estereoscopio



**Figura 14**

Hifas más jóvenes del micelio y reinsertadas en placas Petri con PDA y cloranfenicol



### **2.6.3 Purificación de hongos filamentosos**

Para garantizar la homogeneidad genética de las cepas para su identificación molecular, estas se purificaron a través de la técnica de cultivo monospórico. Para esto se realizó un lavado del micelio aéreo con 2 ml de agua estéril que debían cubrir la superficie del micelio. Se recolectó una alícuota de 10 µl de esta solución y se dispersó en una placa Petri con medio PDA y cloranfenicol (400ppm). Las placas se incubaron a 25°C durante 7 días en la oscuridad y se inspeccionaron cada 24 horas de manera continua para observar el crecimiento de las colonias. Este ensayo se realizó por triplicado con la finalidad de tener opciones de selección para el registro fotográfico y para la identificación molecular

### **2.6.4 Caracterización morfológica**

Con ayuda de las claves de Domsch y Gams (2007), se llevó a cabo la caracterización de estructuras taxonómicas para la identificación de los morfotipos aislados. Esta actividad se realizó mediante la tinción con azul de lactofenol y la observación de la muestra teñida al microscopio, con el fin de identificar las estructuras morfológicas distintivas del género al que pertenecían.

#### **2.6.4.1 Género *Aspergillus*; características macroscópicas**

Al inicio las colonias presentaron coloración blanca. Con el pasar de los días tomaron coloración verde claro. En el reverso de la caja, color crema. Se observó: La formación de estrías en las colonias, bordes difusos de color blanco, textura: Al principio de aspecto algodonoso. Con el pasar de los días tomaron un aspecto pulverulento, , tipo de micelio: No presentan micelio aéreo y característica especial: Formación de esclerocios en algunas cajas (**Figura 15**)



**Figura 15**

Cultivo del hongo *Aspergillus* spp características macroscópicas

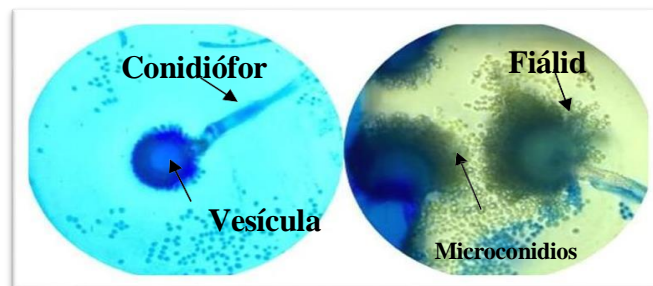


#### **2.6.4.2 Características microscópicas**

Se observaron conidióforos con cabezas y vesículas globosas coincidentes con una de las cuatro formas básicas (globosa, radiada, columnar o claviforme) mencionadas por Carrillo (2015) para las cabezas conidiales del género *Aspergillus*.(Figura 16)

**Figura 16**

*Aspergillus* spp al microscopio, objetivo; 40x



Fuente: Microbiolac (2024)

### **2.6.5 *Curvas de crecimiento***

Se seleccionaron las muestras fúngicas de mejor aspecto y parámetros establecidos en estas, con el porcentaje de crecimiento del hongo y reducción del peso de los polímeros de mejor resultado; además, se corrieron blancos en los que se incubó el PDA con polímeros sin cultivo micótico. Se consideraron los pesos iniciales de los polímeros en estudio: Nylon y funda plástica transparente.

Para el montaje de estos ensayos se partió de un cultivo monospórico, el cual se obtuvo dispersando las esporas de un trozo del cultivo aislado en una solución de Tween 80 al 0.1% obteniendo una dispersión homogénea, sometida al conteo usando la cámara de Neubauer. Se realizaron diluciones pertinentes a concentración de 1 espora/ $\mu$ L, sirviendo de base para las próximas siembras que serán sometidas a incubación por 3 días a 25°C. Los cultivos fueron seleccionados para ser replicados en medios de cultivos frescos adicionando los polímeros en estudio.

Posteriormente, se sembraron en tubos de ensayo los que se incubaron a 20°C y 150 rpm de agitación; de estos, se tomaron 3 tubos cada 7 días para determinar la masa ganada por el hongo en este tiempo y construir la curva de crecimiento (**Figura 17**).

**Figura 17**

Curva de crecimiento de hongo



#### ***2.6.6. Evaluación de la actividad degradadora ante los polímeros de baja densidad***

**El tercer objetivo**, consistió en determinar si las cepas estudiadas mostraron actividad biodegradadora en otros materiales orgánicos que constituyen residuos de “difícil degradación”. Este objetivo se realizó siguiendo el procedimiento de las pruebas preliminares realizadas, usando nylon (poliamida) y funda plásticas (poliuretano); con el fin de ampliar la información sobre la capacidad degradadora que los organismos en estudio puedan poseer sobre compuestos orgánicos.

Se evaluó la posible degradación que los hongos pudieron llevar a cabo en las matrices de los polímeros en estudio, por medio de la masa perdida por cada uno de los materiales probados. Los hongos fueron incubados por 15 semanas; 0,50 g de polietileno nylon y 0,40 g de funda plástica, se agitó a 160 rpm. Pasado este tiempo, se filtraron y secaron los materiales probados, luego estos polímeros fueron sometidas a secado hasta obtener peso constante; posteriormente se pesaron en una balanza de precisión analítica gravimétrica, modelo S 2000 ( $\pm 0,0001g$ ), con el propósito de determinar el peso perdido por la degradación de los hongos, finalmente se determinó el porcentaje de degradación de cada cepa evaluada.

### ***2.6.7 Determinación de la biodegradación de nylon y fundas de polietileno por la técnica de Espectroscopia Infrarroja (IR)***

La espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR) utiliza el hecho de que las moléculas orgánicas absorben determinadas frecuencias en el infrarrojo que son características de su estructura. Dichas absorciones son frecuencias de resonancia, es decir, la frecuencia de la radiación absorbida coincide con la frecuencia del enlace o del grupo que vibra. La técnica de FIRT denota cuantitativamente la reducción índices de carbonilo (C=O) y de las terminaciones con doble enlace (C=C) de una molécula cuando ésta sufre algún cambio. El espectro infrarrojo (IR) se analiza separando dos zonas referenciales; la primera es llamada la región de los grupos funcionales que va de 1200 a 3600  $\text{cm}^{-1}$  y la segunda denominada región de huella digital que se despliega desde 600 a 1200  $\text{cm}^{-1}$ ; esta última es una zona muy específica, donde los picos no varían para un polímero, a menos que este haya sufrido el efecto de algún agente químico, físico o biológico (Gulmine 2002)

## CAÍTULO III

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Aislamiento y caracterización de hongos obtenidos a partir de muestras de trampas de arroz

Las muestras de hongos cultivadas con fuente orgánica, fueron sembradas en 3 estaciones un total de 3 unidades por estaciones en los meses de agosto, septiembre y Octubre del 2024, hasta lograr su purificación. El total de las muestras aisladas en los medios fueron 27 utilizadas; estas se purificaron e identificaron según sus características macroscópicas como color, textura, dispersión en el medio, forma, entre otras; junto a la caracterización microscópica realizada con ayuda de tinción con azul de lactofenol. (**Tabla 2**)

*Tabla 5*

Numero de trampas de arroz empleadas en el proyecto

| <b>TRAMPAS DE ARROZ EMPLEADAS EN AGOSTO /SEPTIEMBRE2024</b> |                 |                 |              |
|---|-----------------|-----------------|--------------|
| <b>FECHA</b>  | <b>ESTACIÓN</b> | <b>CANTIDAD</b> | <b>Total</b> |
| <b>5 /08/2024</b>   | E1              | 3               | 3            |
| <b>5 /08/2024</b>   | E2              | 3               | 3            |
| <b>5 /08/2024</b>   | E3              | 3               | 3            |
| <b>15/09/2024</b>   | E1              | 3               | 3            |
| <b>15/09/2024</b>   | E2              | 3               | 3            |
| <b>15/09/2024</b>   | E3              | 3               | 3            |
| <b>25/10/2024</b>   | E1              | 3               | 3            |
| <b>25/10/2024</b>   | E2              | 3               | 3            |
| <b>25/10/2024</b>   | E3              | 3               | 3            |
|   |                 |                 | 27           |

### 3.2 Aislamiento de cepas fúngicas en placas Petri

El aislamiento de las cepas fúngicas crecidas en cajas de Petri (total 90) estuvieron determinadas según las estaciones identificadas como E1, E2 y E3, en 3 fechas diferentes: El 18 de agosto situando en E1 las colonias de coloración verde(R1), amarillas (R2) y grises (R3), estas coloraciones predominaron en la trampa. En la E2 las colonias predominantes de coloración verde(R1), amarillas (R2) y en la E3 se inocularon las colonias de coloración grises y blancas. La segunda siembra se realizó el 25 de septiembre del 2024 con un total de 90 cajas Petri inoculadas, en la E1 se inocularon las colonias de coloración verde, amarillas y grises. En la E2 se inocularon las colonias de coloración verde, amarillas y en la E3 se inocularon las colonias de coloración grises y blancas.

La tercera siembra se realizó el 6 de octubre del 2024 con un total de 90 cajas Petri inoculadas, en la E1 se inocularon las colonias de coloración verde, amarillas y grises. En la E2 se inocularon las colonias de coloración verde, amarillas y en la E3 se inocularon las colonias de coloración grises, blancas y negras, un total de 270 placas Petri utilizadas. Véase en (**Tabla 3**).

**Tabla 6**

Placas Petri inoculadas

| <b>CAJAS PETRI UTILIZADAS AGOSTO /OCTUBRE 2024</b> |                 |                            |                 |  |
|--|-----------------|----------------------------|-----------------|--|
| <b>FECHA</b>                                       | <b>ESTACIÓN</b> | <b>Coloración del mohó</b> | <b>REPLICAS</b> | <b>Petri por replica<br/>(10 unid)</b> |
| 12 /08/2024  | E1              | Verde /Amarillo/Gris       | 3               | 30                                     |
| 12 /08/2024  | E2              | Verde /Amarillo            | 3               | 30                                     |
| 12 /08/2024  | E3              | Gris/Blanco                | 3               | 30                                     |
| 25/09/2024   | E1              | Verde /Amarillo/Gris       | 3               | 30                                     |
| 25/09/2024   | E2              | Verde /Amarillo            | 3               | 30                                     |
| 25/09/2024   | E3              | Gris/Blanco                | 3               | 30                                     |
| 5 /10/2024   | E1              | Verde /Amarillo/Gris       | 3               | 30                                     |
| 5 /10/2024   | E2              | Verde /Amarillo            | 3               | 30                                     |
| 5 /10/2024   | E3              | Gris/Blanco                | 3               | 30                                     |
|  |                 |                            |                 | 270                                    |

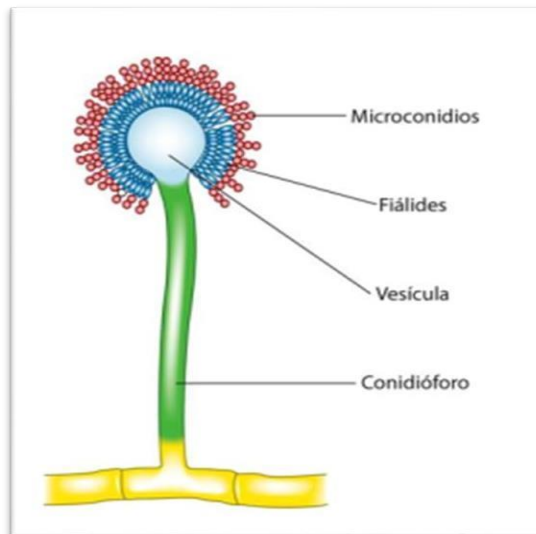


### 3.3 Caracterización morfológica

Una vez realizado el aislamiento de las muestras obtenidas de los recipientes, se realizó la caracterización morfológica de los morfotipos con ayuda de las claves taxonómicas de Domsch y Gams (2007), en las cuales, se encuentran las estructuras microscópicas características del género clasificado. (**Figura 18**).

*Figura 18*

Clave taxonómica del género *Aspergillus*



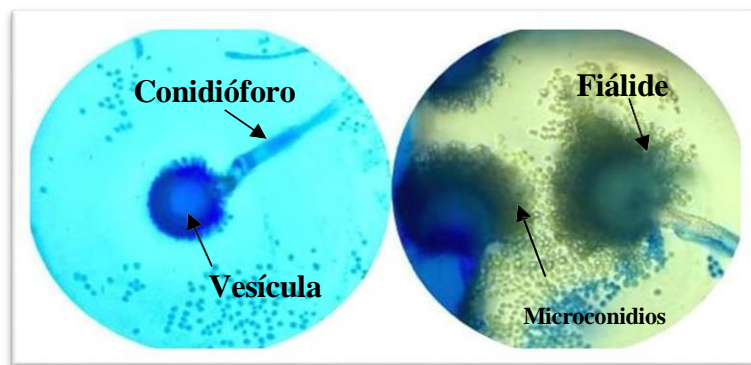
Fuente: (Bonifaz, 2012)

Las muestras fúngicas fueron analizadas en el Laboratorio de microbiología “ MICROBIOLAB” ubicados en la ciudad de QUITO, se enviaron 3 placas Petri por cada estación un total de 9 muestras para la identificación del género a estudiar mediante la tinción de azul de lactofenol con preparaciones de muestras en fresco mediante la técnica de cinta adhesiva o scotch; En la E1 , E2 Y E3 se visualizó la presencia

de una característica vesícula presente en el género *Aspergillus spp* conidióforo, fiálide y microconidios con objetivo de 40x para una mejor observación de sus características (**Figura 19**).

**Figura 19**

*Aspergillus spp* teñido con azul de lactofenol a 40x



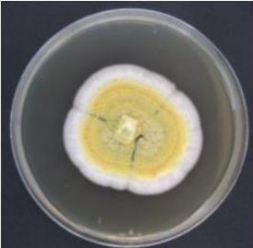

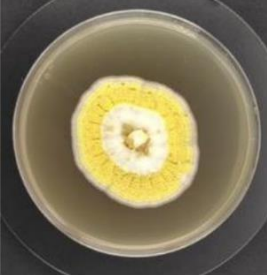
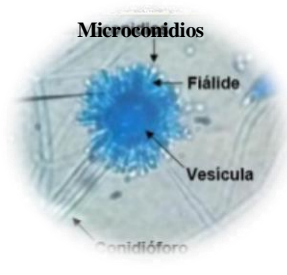
Fuente; (MICROBIOLAB, 2024)

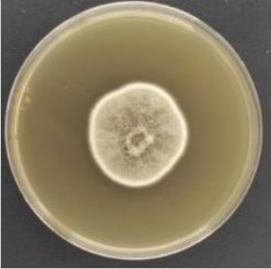
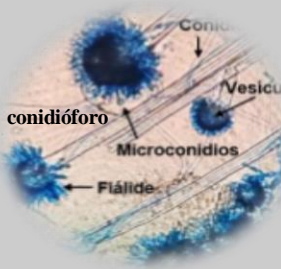

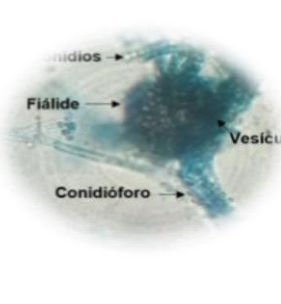

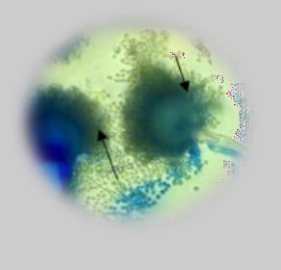
### 3.4 Especies identificadas

Para la identificación de especies, las secuencias obtenidas por el método de sanger fueron realizadas por el Laboratorio certificado “MICROBIOLAB”, las mismas que fueron comparadas con secuencias del GenBank a través de la herramienta BLASTn, se identificaron los principales hits para los amplicones de ITS y LSU (Apéndice A y Apéndice B). De estas, se seleccionó aquel resultado con mayor porcentaje de identidad y relación morfológica con las fotografías previamente realizadas (**Tabla 4**). Véase en anexo 4.

**Tabla 7**

Caracterización macroscópica y microscópica del género *Aspergillus* y sus especies identificadas.

| MACROSCÓPICA  | MICROSCÓPICA (40x)  | Código   | Porcentaje de identidad | Código de acceso  | Organismo                      |
|---|---|----------|-------------------------|---|--------------------------------|
|  |  | PLSU_B01 | 100.0%                  | <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/OL772705.1">OL772705.1</a> | <i>Aspergillus neoflavipes</i> |
|  |  | PITS_A01 | 99.1%                   | <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuclot/MH472977">MH472977</a>     | <i>Aspergillus flavipes</i>    |

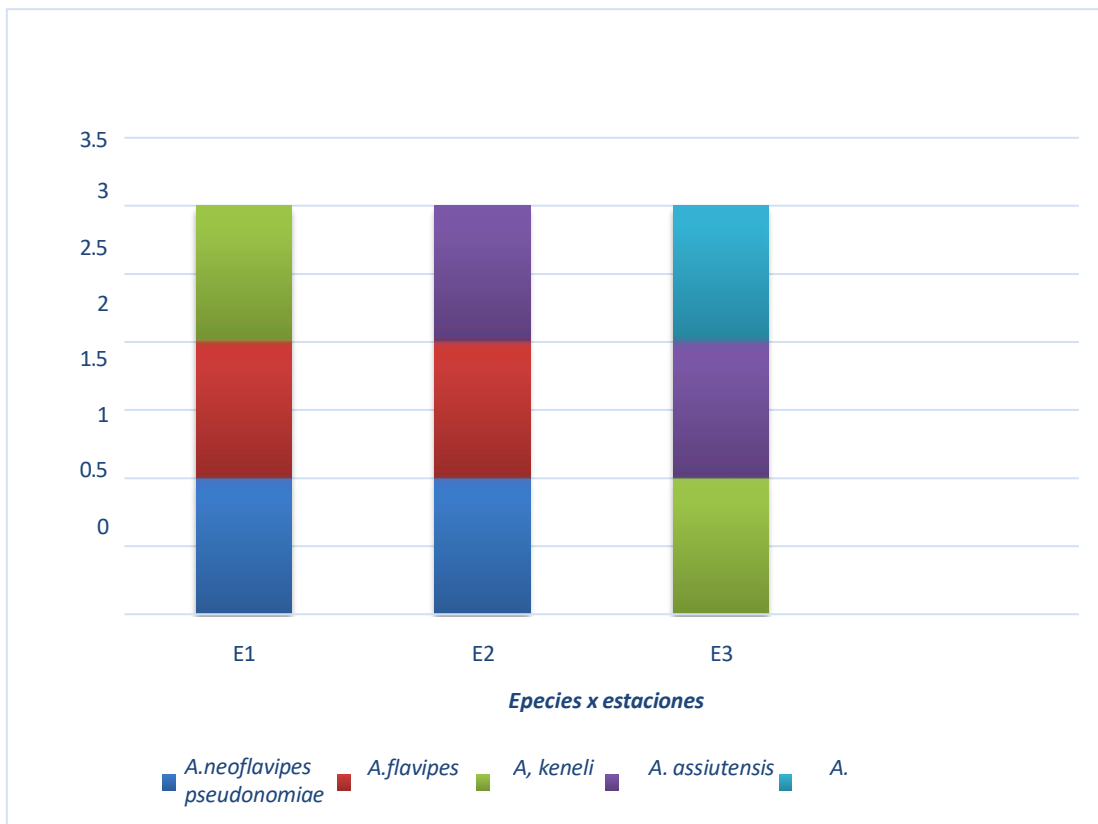
|   |   |          |        |                             |                                   |
|---|---|----------|--------|-----------------------------|-----------------------------------|
|    |    | PLSU_F01 | 100.0% | <a href="#">NG_070046.1</a> | <i>Aspergillus keveii</i>         |
|   |   | PLSU_G05 | 100.0% | <a href="#">_NG_070052</a>  | <i>Aspergillus assiutensis</i>    |
|  |  | PLSU_H02 | 99.82% | <a href="#">OL711683.1</a>  | <i>Aspergillus pseudonominiae</i> |

Las características físicas y estructurales de las de las 9 muestras enviadas fueron las siguientes; en la E1 se presentan cajas Petri con hongos de coloración verde, amarillo y blanca , en base al informe emitido por MICROBIOLAC se identificaron las siguientes especies; *Aspergillus neoflavipes* (coloración verde), *Aspergillus flavipes*

(coloración amarilla) y *Aspergillus keveii* (coloración blanca). En la E2 se presentaron cajas Petri con hongos de coloración verde, amarillo y gris, se identificaron las siguientes especies; *Aspergillus neoflavipes*, *Aspergillus flavipes* y *Aspergillus assiutensis*. En la E3 se presentaron cajas Petri con hongos de coloración gris, blanca y negro, se identificaron las siguientes especies; *Aspergillus keveii*, *Aspergillus assiutensis* y *Aspergillus pseudonomiae* (**Figura 20**)

**Figura 20**

Aspergillus y sus especies identificadas por estaciones



### 3.5 Pérdida de masa de los polímeros de baja densidad

#### 3.5.1 Polímero nylon

Se analizaron 90 muestras de polímeros, en cada placa Petri con agar PDA se ubicó 0,50 g de Nylon con una longitud de 3 cm, mediante una siembra de 3 puntos del hongo saprofito; *Aspergillus neoflavipes*, *Aspergillus flavipes*, *Aspergillus keveii*, *Aspergillus assiutensis* y *Aspergillus pseudonomiae*. Cada sistema fúngico se inoculó con su debida rotulación de las estaciones donde se encontraron (**Figura 21**).

**Figura 21**

Polietileno (nylon) en aislamiento con cepas de *Aspergillus*



En la E1-R1 se inocularon 10 placas Petri con agar PDA se ubicó 0,50 g de Nylon con una longitud de 3 cm, mediante una siembra de 3 puntos del hongo saprofito; *Aspergillus flavipes*. Mediante el aislamiento de este polímero y en estar en contacto con el sistema fungico fue perdiendo peso conforme a las semanas 1 hasta la 15 (**Tabla 5**)

**Tabla 8**

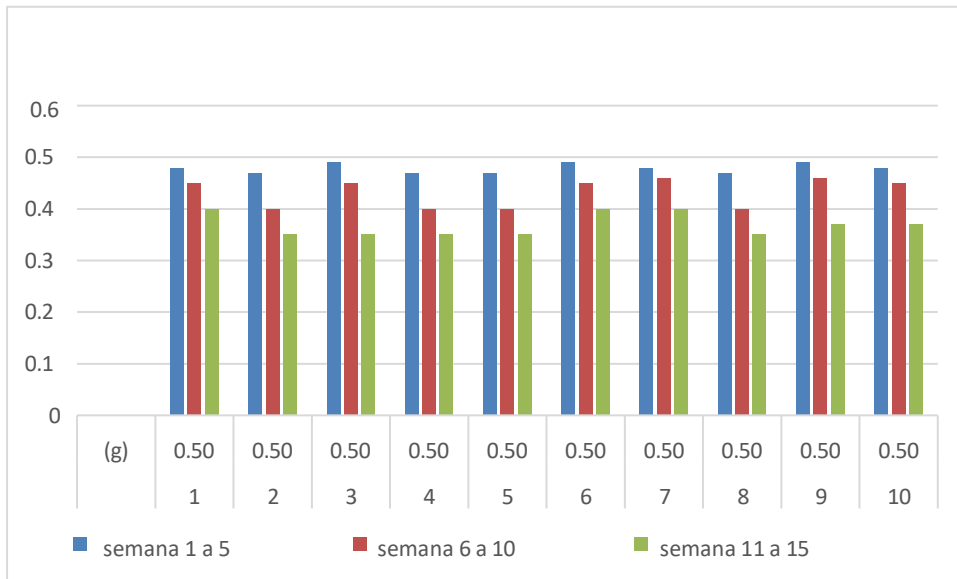
Peso del polietileno Nylon, ubicado en la E1 de la réplica 1 mediante la aplicación del hongo; *Aspergillus flavipes*

| <b>NÚMERO DE PLACA</b> | <b>Peso inicial (g)</b> | <b>Peso de la semana 1 a 5 (g)</b> | <b>Peso de la semana 6 a 10 (g)</b> | <b>Peso de semana 15 (g)</b> |
|------------------------|-------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------|
| 1                      | 0.50                    | 0,48                               | 0,45                                | 0,40                         |
| 2                      | 0.50                    | 0,47                               | 0,45                                | 0,35                         |
| 3                      | 0.50                    | 0,49                               | 0,45                                | 0,35                         |
| 4                      | 0.50                    | 0,47                               | 0,40                                | 0,35                         |
| 5                      | 0.50                    | 0,47                               | 0,40                                | 0,35                         |
| 6                      | 0.50                    | 0,49                               | 0,45                                | 0,40                         |
| 7                      | 0.50                    | 0,48                               | 0,46                                | 0,40                         |
| 8                      | 0.50                    | 0,47                               | 0,40                                | 0,35                         |
| 9                      | 0.50                    | 0,49                               | 0,46                                | 0,37                         |
| 10                     | 0.50                    | 0,48                               | 0,45                                | 0,37                         |

La figura 22 refleja los pesos de nylon durante 15 semanas, la aplicación del sistema fúngico en las primeras 5 semanas la reducción que oscila entre 0,2 a 0,3 g , en la semana 10 semanas el peso osciló entre 0,4 a 0,5 g y en la semanas 15 representó un 0,6 a 0,7g de pérdida de sus masa. Para medir el porcentaje de la pérdida de masa durante todo el ensayo se consideró la formula;  $(Pi - Pf / Pf) \times 100$  dando un resultado de degradación del 30,23% (**Figura 22**)

**Figura 16**

Peso del polítileno Nylon, ubicado en la E1 de la réplica 1 mediante la aplicación del hongo;  
*Aspergillus flavipes*





En la E1-R 2 se inocularon 10 placas Petri con agar PDA se ubicó 0,50 g de Nylon con una longitud de 3 cm, mediante una siembra de 3 puntos del hongo saprofito; *Aspergillus neoflavipes*. Mediante el aislamiento de este polímero y en estar en contacto con el sistema fúngico fue perdiendo peso conforme a las semanas 1 hasta la 15 (**Tabla 6**).

**Tabla 9**

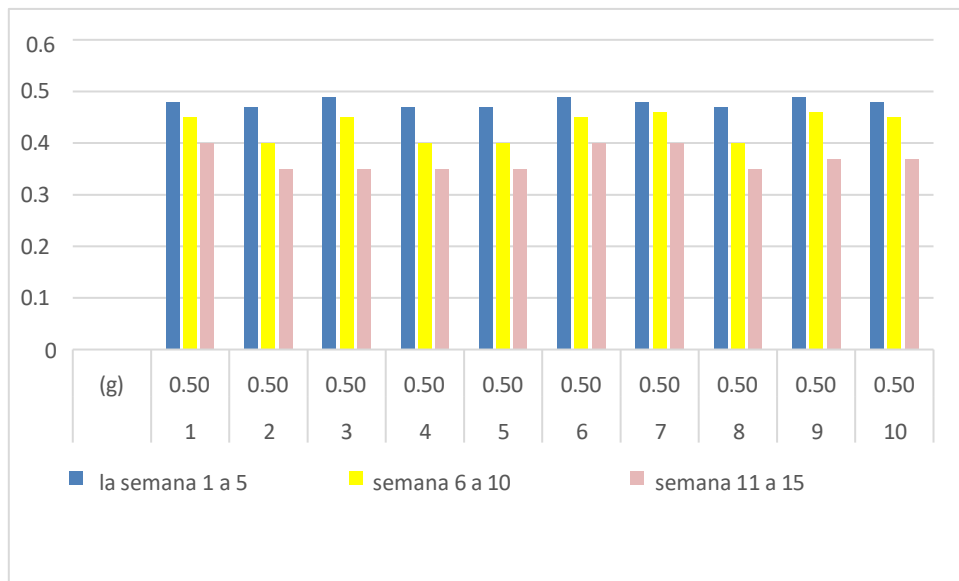
Peso del polímero Nylon, ubicado en la E1 de la réplica 2 mediante la aplicación del hongo; *Aspergillus neoflavipe*

| <b>NÚMERO DE PLACA</b> | <b>Peso inicial (g)</b> | <b>Peso de la semana 1 a 5</b> | <b>Peso de la semana 6 a 10</b> | <b>Peso de la semana 11 a 15</b> |
|------------------------|-------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| <b>1</b>               | 0.50                    | 0,47                           | 0,45                            | 0,40                             |
| <b>2</b>               | 0.50                    | 0,47                           | 0,40                            | 0,37                             |
| <b>3</b>               | 0.50                    | 0,49                           | 0,45                            | 0,35                             |
| <b>4</b>               | 0.50                    | 0,45                           | 0,40                            | 0,35                             |
| <b>5</b>               | 0.50                    | 0,45                           | 0,40                            | 0,35                             |
| <b>6</b>               | 0.50                    | 0,49                           | 0,40                            | 0,34                             |
| <b>7</b>               | 0.50                    | 0,49                           | 0,47                            | 0,38                             |
| <b>8</b>               | 0.50                    | 0,47                           | 0,40                            | 0,35                             |
| <b>9</b>               | 0.50                    | 0,49                           | 0,46                            | 0,35                             |
| <b>10</b>              | 0.50                    | 0,48                           | 0,45                            | 0,37                             |

La figura 23 refleja los pesos de nylon durante 15 semanas, la aplicación del sistema fúngico en las primeras 5 semanas la reducción que oscila entre 0,2 a 0,3 g , en las 0 semanas el peso osciló entre 4 a 5 y en la semanas 15 representó un 0,6 a 0,7g de pérdida de sus masa. Para medir el porcentaje de disminución de masa durante todo el ensayo se consideró la formula;  $(P_i - P_f / P_f) \times 100$  dando un resultado de degradación del 20,21%.

**Figura 17**

Peso del polietileno Nylon, ubicado en la E1 de la réplica 1 mediante la aplicación del hongos; *Aspergillus neoflevipe*



En la E1-R3 se inocularon 10 placas Petri con agar PDA se ubicó 0,50 g de Nylon con una longitud de 3 cm, mediante una siembra de 3 puntos del hongo saprófito; *Aspergillus keveii*. Mediante el aislamiento de este polímero en contacto con el sistema fúngico fue perdiendo peso en el transcurso de la semana del 1 hasta la 15 (Tabla 7)

**Tabla 10**

Peso del polímero Nylon, ubicado en la E1 de la réplica 3 mediante la aplicación del hongo; *Aspergillus keveii*

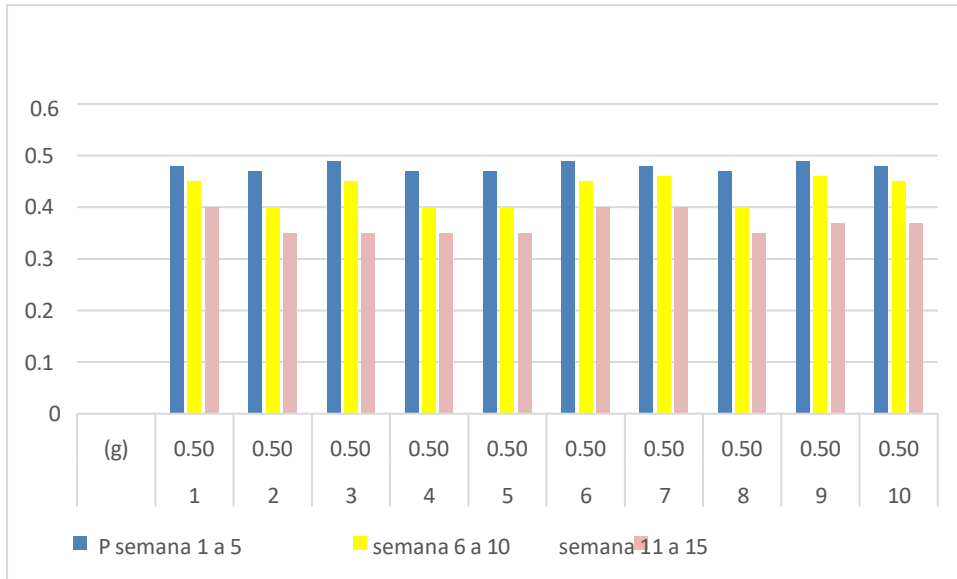
| <b>NÚMER<br/>O DE<br/>PLACA</b> | <b>Peso inicial<br/>(g)</b> | <b>Peso de la<br/>semana 1 a<br/>5</b> | <b>Peso de la<br/>semana 6 a<br/>10</b> | <b>Peso de la<br/>semana 11<br/>a 15</b> |
|---------------------------------|-----------------------------|--|---|--|
| <b>1</b>                        | 0.50                        | 0,48                                   | 0,46                                    | 0,45                                     |
| <b>2</b>                        | 0.50                        | 0,47                                   | 0,40                                    | 0,45                                     |
| <b>3</b>                        | 0.50                        | 0,49                                   | 0,45                                    | 0,46                                     |
| <b>4</b>                        | 0.50                        | 0,47                                   | 0,46                                    | 0,45                                     |
| <b>5</b>                        | 0.50                        | 0,47                                   | 0,46                                    | 0,45                                     |
| <b>6</b>                        | 0.50                        | 0,49                                   | 0,45                                    | 0,46                                     |
| <b>7</b>                        | 0.50                        | 0,48                                   | 0,46                                    | 0,46                                     |
| <b>8</b>                        | 0.50                        | 0,47                                   | 0,46                                    | 0,45                                     |
| <b>9</b>                        | 0.50                        | 0,49                                   | 0,46                                    | 0,46                                     |
| <b>10</b>                       | 0.50                        | 0,48                                   | 0,45                                    | 0,45                                     |

La figura 22 refleja los pesos de nylon durante 15 semanas, la aplicación del sistema fúngico en las primeras 5 semanas la disminución de masa osciló entre 0,2 a 0,3 g, en la semana 10 el peso disminuyó entre 0,4 a 0,5 y en la semana 15 representó una

disminución de masa entre 0,6 a 0,7g. Para medir el porcentaje de disminución de masa durante todo el ensayo se consideró la formula;  $(P_i - P_f / P_i) \times 100$  dando un resultado de degradación del 15,23%

**Figura 18**

Pesos del polímero Nylon, ubicado en la E1 de la réplica 3 mediante la aplicación del hongo; *Aspergillus keveil*



En la E2-R1 se inocularon 10 placas Petri con agar PDA se ubicó 0,50 g de Nylon con una longitud de 3 cm, mediante una siembra de 3 puntos del hongo saprofito; *Aspergillus keveii*,. Mediante el aislamiento de este polímero y en estar en contacto con el sistema fúngico fue perdiendo peso conforme a las semanas 1 hasta la 15.(Tabla 8)

**Tabla 11**

*Peso del polietileno Nylon, ubicado en la E2 de la réplica 1 mediante la aplicación del hongo; Aspergillus flavipes*

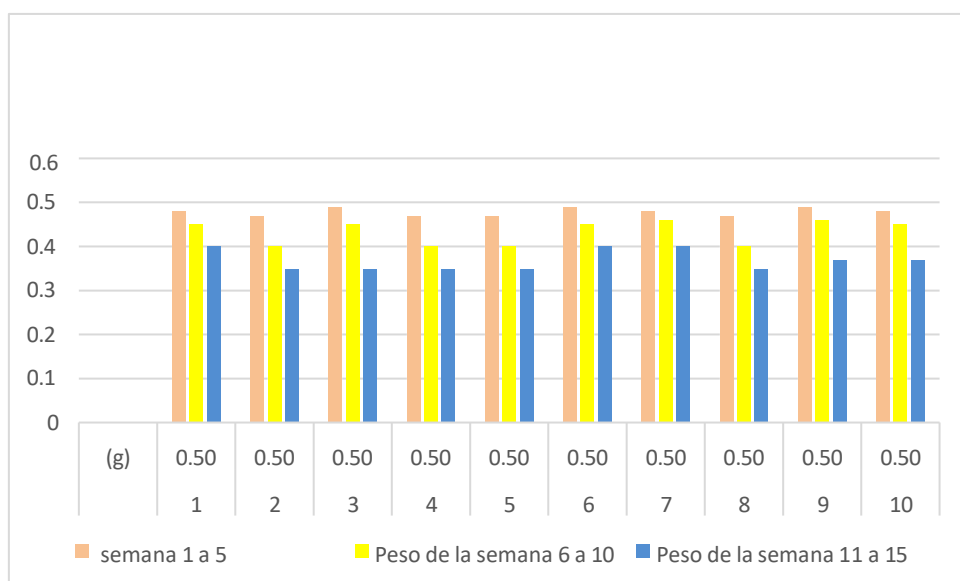
| <b>NÚMERO DE PLACA</b> | <b>Peso inicial (g)</b> | <b>Peso de la semana 1 a 5</b> | <b>Peso de la semana 6 a 10</b> | <b>Peso de la semana 11 a 15</b> |
|------------------------|-------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| <b>1</b>               | 0.50                    | 0,47                           | 0,46                            | 0,45                             |
| <b>2</b>               | 0.50                    | 0,47                           | 0,46                            | 0,44                             |
| <b>3</b>               | 0.50                    | 0,49                           | 0,45                            | 0,35                             |
| <b>4</b>               | 0.50                    | 0,47                           | 0,40                            | 0,45                             |
| <b>5</b>               | 0.50                    | 0,47                           | 0,40                            | 0,35                             |
| <b>6</b>               | 0.50                    | 0,49                           | 0,45                            | 0,44                             |
| <b>7</b>               | 0.50                    | 0,48                           | 0,46                            | 0,40                             |
| <b>8</b>               | 0.50                    | 0,47                           | 0,45                            | 0,44                             |
| <b>9</b>               | 0.50                    | 0,49                           | 0,46                            | 0,45                             |
| <b>10</b>              | 0.50                    | 0,49                           | 0,47                            | 0,46                             |

La figura 25 refleja los pesos de nylon durante 15 semanas, la aplicación del sistema fúngico en las primeras 5 semanas hubo disminución de peso que osciló entre 0,1 a 0,3 g , en la semana 10 el peso disminuido osciló entre 0,1 a 0,2 y en la semanas 15

representó una disminución de peso de 0,2 a 0,3g. Para medir el porcentaje de la pérdida de peso durante todo el aislamiento se consideró la fórmula;  $(P_i - P_f / P_f) \times 100$  dando un resultado de degradación del 10,23

**Figura 19**

Peso del polietileno nylon E2-R1 ubicado en la e1 de la réplica 1 mediante la aplicación del hongos; *Aspergillus flavipes*



### 3.5.2 Funda plástica

Se analizaron 90 muestras de polímeros de baja densidad, en cada placa Petri con agar PDA se ubicó 0,40 g de funda plástica con una longitud de 2 cm x 2cm, mediante una siembra de 3 hongos saprofita; *Aspergillus neoflavipes*, *Aspergillus flavipes* , *Aspergillus keveii*, *Aspergillus assiutensis* y *Aspergillus pseudonomiae*. Cada sistema fúngico se inoculó con su debida rotulación de las estaciones donde se encontraron (**Figura 26**).

**Figura 21**

Polietileno (funda) en aislamiento con cepas de *Aspergillus*



En la E1-R1 se inocularon 10 placas Petri con agar PDA se ubicó 0,40 g de funda plástica transparente con una longitud de 2 cm x 2cm, mediante una siembra de 3 puntos del hongo saprofita; *Aspergillus keveii*,. Mediante el aislamiento de este polimero y en estar en contacto con el sistema fúngico fue perdiendo peso conforme a las semanas 1 hasta la 15 (**Tabla 9**)



**Tabla 12**

Peso del polietileno Funda Plástica, ubicado en la E1 de la réplica 1 mediante la aplicación del hongo; *Aspergillus flavipes*

| NÚMERO DE PLACA | Peso inicial (g) | Peso de la semana 1 a 5 | Peso de la semana 6 a 10 | Peso de la semana 11 a 15 |
|-----------------|------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------------|
| 1               | 0.40             | 0,39                    | 0,37                     | 0,35g                     |
| 2               | 0.40             | 0,39                    | 0,37                     | 0,35                      |
| 3               | 0.40             | 0,39                    | 0,37                     | 0,34                      |
| 4               | 0.40             | 0,39                    | 0,37                     | 0,36                      |
| 5               | 0.40             | 0,39                    | 0,37                     | 0,35                      |
| 6               | 0.40             | 0,39                    | 0,37                     | 0,34                      |
| 7               | 0.40             | 0,39                    | 0,37                     | 0,35                      |
| 8               | 0.40             | 0,39                    | 0,37                     | 0,37                      |
| 9               | 0.40             | 0,49                    | 0,46                     | 0,37g                     |
| 10              | 0.40             | 0,48                    | 0,45                     | 0,37g                     |

En la E1-R2 se inocularon 10 placas Petri con agar PDA se ubicó 0,40 g de funda plástica transparente con una longitud de 2 cm x 2cm, mediante una siembra de 3 puntos del hongo saprófito; *Aspergillus keveii*. Mediante el aislamiento del polimero y en estar en contacto con el sistema fungico fue perdiendo peso conforme a las semanas 1 hasta la 15 (**Tabla 10**).

**Tabla 13**

Peso del polímero Funda Plástica, ubicado en la E1 de la réplica 1 mediante la aplicación del hongo; *Aspergillus neoflavipes*

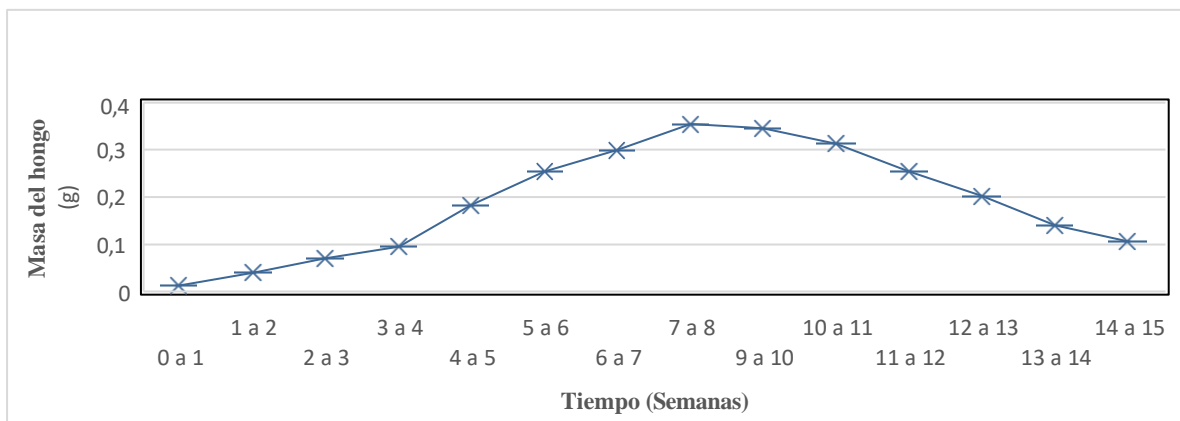
| <b>NÚMERO DE PLACA</b> | <b>Peso inicial (g)</b> | <b>Peso de la semana 1 a 5</b> | <b>Peso de la semana 6 a 10</b> | <b>Peso de la semana 11 a 15</b> |
|------------------------|-------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| <b>1</b>               | 0.40                    | 0,39                           | 0,39                            | 0,35                             |
| <b>2</b>               | 0.40                    | 0,40                           | 0,38                            | 0,36                             |
| <b>3</b>               | 0.40                    | 0,39                           | 0,38                            | 0,35                             |
| <b>4</b>               | 0.40                    | 0,40                           | 0,37                            | 0,35                             |
| <b>5</b>               | 0.40                    | 0,38                           | 0,37                            | 0,35                             |
| <b>6</b>               | 0.40                    | 0,40                           | 0,38                            | 0,37                             |
| <b>7</b>               | 0.40                    | 0,39                           | 0,39                            | 0,38                             |
| <b>8</b>               | 0.40                    | 0,38                           | 0,37                            | 0,35                             |
| <b>9</b>               | 0.40                    | 0,39                           | 0,38                            | 0,37                             |
| <b>10</b>              | 0.40                    | 0,40                           | 0,37                            | 0,37                             |

### 3.6 Curvas de crecimiento:

Como se observó en la figura 1, los mejores resultados son dos de las especies de *Aspergillus* sp., *A. neoflavipes* (PLSU\_B01) y *A. flavipes* (PITS\_A01), en las que, el mejor comportamiento en ambos aislamientos se presentó cuando estaban expuestas en las pruebas ante los polímeros de baja densidad y la disminución de sus masas; por esto, estas dos muestras se escogieron para realizar las curvas de crecimiento con el fin de conocer el comportamiento presentado por estos dos aislamientos. La primera curva realizada, perteneció al aislamiento codificado PITS\_A01 (*Aspergillus flavipes*). El comportamiento presentado por este aislamiento se muestra en la (Figura 27).

**Figura 23**

Curva de crecimiento del aislamiento de *Aspergillus flavipes*



La curva de crecimiento de este aislamiento se realizó durante un periodo de tiempo de quince semanas, en el cual, el aislamiento presentó un crecimiento moderado. Sin embargo, el análisis de varianza de un factor con nivel de significancia de 0,05

muestra que hay diferencias entre semanas ( $F > F_{\text{crítico}}$ ) confirmando las diferencias comportamentales del aislamiento dentro de la curva de crecimiento en las diferentes fases características.

Como se muestra en la figura 27, la curva parece iniciar con una fase logarítmica durante las primeras dos semanas, en las que probablemente aprovechó algunos compuestos orgánicos de cadena corta disponibles en el polímero evaluado; luego, comienza una fase de latencia comprendida desde la segunda hasta la décima semana, esto pudo ocurrir debido a que la matriz fue difícil de descomponer, hubo poco del componente usado como fuente de carbono y energía o se encontraron sustancias tóxicas que detuvieron momentáneamente su crecimiento mientras fueron en cierto descompuestas.

Entre la décima y la décima primera semana existe una fase logarítmica en la que se alcanza el mayor crecimiento mostrado para este aislamiento bajo las condiciones del experimento. Luego, entre las semanas décimo primera y décimo segunda se evidenció una disminución en el crecimiento del aislamiento, mostrando dificultad para estabilizarse. Entre la semana décimo segunda y décimo tercera, se mantuvo en una fase estacionaria; posteriormente entran a una fase de decaimiento. Las anteriores afirmaciones, se respaldan por los valores obtenidos para **P** en la prueba t para dos muestras con varianzas iguales (con un nivel de significancia de 0,05) utilizadas para comparar las masas en el período de ensayo (**Tabla11**).

**Tabla 11**

Comparación entre los valores obtenidos de masa del aislamiento PITS\_A01 (*A. flavipes*) para la curva de crecimiento mostrada en la figura 27. Valor P obtenido de la prueba t para dos muestras con varianzas iguales con un nivel de significancia de 0,05

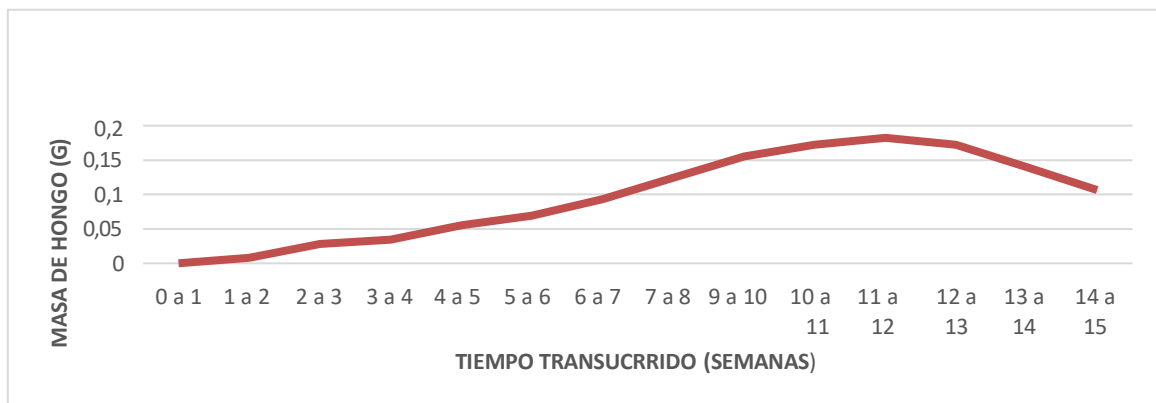
| <b>Comparación entre semanas</b> | <b>Valor P</b> |
|----------------------------------|----------------|
| <b>0 a 1</b>                     | <b>0,0125</b>  |
| <b>1 a 2</b>                     | 0,0394         |
| <b>2 a 3</b>                     | 0,0707         |
| <b>3 a 4</b>                     | 0,0953         |
| <b>4 a 5</b>                     | <b>0,1833</b>  |
| <b>5 a 6</b>                     | 0,2543         |
| <b>6 a 7</b>                     | 0,2996         |
| <b>7 a 8</b>                     | <b>0,3543</b>  |
| <b>9 a 10</b>                    | 0,3451         |
| <b>10 a 11</b>                   | 0,3123         |
| <b>11 a 12</b>                   | 0,2543         |
| <b>12 a 13</b>                   | <b>0,2022</b>  |
| <b>13 a 14</b>                   | 0,1398         |
| <b>14 a 15</b>                   | 0,1063         |

Nota: Los valores menores a P se muestran en negrilla para resaltar las semanas en las que hubo un crecimiento estadísticamente significativo.

Además de la curva de crecimiento para el aislamiento *A. flavipes*, se construyó la del aislamiento de *A. neoflavipes* la cual se muestra en la **Figura 28**:

**Figura 25**

Curva de crecimiento del aislamiento de *Aspergillus. neoflavipes*



El comportamiento presentado por el aislamiento *A. neoflavipes*, se evaluó durante quince semanas, aunque el crecimiento fue un menor que el del aislamiento *A. flavipes*, también se hizo un análisis de varianza de un factor con nivel de significancia de 0,05 con el fin de mostrar que hubo una diferencia entre las masas obtenidas del hongo en las semanas en las que se llevó a cabo el experimento ( $F > F_{\text{crítico}}$ ).

En la **figura 28** se observó que en la primera semana, se presentó un crecimiento en fase logarítmica, mostrando el posible aprovechamiento de polímero, de la primera a la tercera semana entró en una fase de latencia en la cual, se estaba adaptando al medio en el que se encontraba, de la tercera a la cuarta semana, se registró una fase de muerte en la que la población disminuyó notablemente, (0,9043 P) este comportamiento pudo deberse a la baja asimilación que presentó el aislamiento a la matriz contaminante con la que se encontraba. Sin embargo, de la semana cuarta a la sexta, se presentó de nuevo una fase de latencia en la que,

los organismos comenzaron sutilmente a aumentar su población, (0.0028 **P**) empezaron a adaptarse a otra sustancia para consumir y aprovechar el sustrato existente o a la acción de disminución de los residuos tóxicos que estuvieron presentes mientras se encontraban en la fase de latencia, de la semana sexta a la séptima ocurrió una fase logarítmica, de la semana séptima a la octava hubo un decrecimiento importante en la masa ganada por el hongo, llevando a la menor masa registrada desde el inicio de la curva de crecimiento, de la semana octava a la novena, se registró una fase logarítmica que aumentó ligeramente (0.0007 **P**) la población existente, de la semana novena a la décima se presentó nuevamente un decrecimiento de la masa presente, la que no varió hasta la semana décimo cuarta, en la que el hongo parece entrar en fase de decaimiento.

Al igual que en la figura 27, en esta curva de crecimiento se observan diauxias, en un crecimiento por pulsos que permite pensar, en el aprovechamiento realizado por la muestra de las sustancias componentes del polímero, al presentar tres fases logarítmicas, las cuales fueron empleadas en diferentes momentos según su disponibilidad para su empleo como fuente de carbono y con esto, la alteración del contaminante. Del mismo modo que en la curva mostrada, como en el caso del aislamiento *A. flavipes*, fueron soportadas por los valores obtenidos para P en la prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales (con un nivel de significancia de 0,05) la cual se usó para comparar las masas evaluadas semanalmente del hongo en estudio (**Tabla 12**).

**Tabla 12:**

Comparación entre los valores obtenidos de masa del aislamiento A spergillus neoflavipes para la curva de crecimiento mostrada en la figura 28. Valor P obtenido de la prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales con un nivel de significancia de 0,05

| <b>Comparación entre semanas</b> | <b>Valor P</b> |
|----------------------------------|----------------|
| <b>0 a 1</b>                     | <b>0,0001</b>  |
| <b>1 a 2</b>                     | 0,0084         |
| <b>2 a 3</b>                     | 0,0283         |
| <b>3 a 4</b>                     | 0,0345         |
| <b>4 a 5</b>                     | <b>0,0553</b>  |
| <b>5 a 6</b>                     | 0,0743         |
| <b>6 a 7</b>                     | 0,0935         |
| <b>7 a 8</b>                     | 0,1243         |
| <b>9 a 10</b>                    | <b>0,1551</b>  |
| <b>10 a 11</b>                   | <b>0,1723</b>  |
| <b>11 a 12</b>                   | <b>0,1823</b>  |
| <b>12 a 13</b>                   | 0,1723         |
| <b>13 a 14</b>                   | 0,1398         |
| <b>14 a 15</b>                   | <b>0,1063</b>  |

Nota: Los valores menores a P se muestran en negrilla para resaltar las semanas en las que hubo un crecimiento estadísticamente significativo.

En las dos anteriores figuras 27 y 28, se representó la desviación estándar mediante las barras de error. En las cuales, se evidenció, la mayor desviación se observó cuando el crecimiento del hongo había sido mayor, llegando a la misma



conclusión, el error instrumental y el comportamiento con diferencias significativas de las muestras. Las gráficas de error para estas dos últimas figuras, mostraban la posibilidad de encontrar los datos dentro del rango de dispersión calculado; sin embargo, se utilizó la t de student y el ANOVA con el fin de confirmar la diferencia significativa entre los valores de cada semana y apoyar el comportamiento presentado y visualizado en las figuras en el transcurso del ensayo.

El crecimiento de los aislamientos no parece significativo si se compara con las pruebas preliminares realizadas; sin embargo, debe recordarse que el cultivo empleado para las curvas de crecimiento era monospóricico, mientras que en las pruebas preliminares el bocado utilizado provenía de más de una espora; por lo que, al parecer es necesario de una mayor población para descomponer el polímero de forma efectiva

Para la elaboración de las gráficas, se realizó una toma de muestra semanal por duplicado; con el fin de mostrar la desviación existente y la confiabilidad entre el grupo de muestras obtenidas por semana. Este triplicado se expresa en las gráficas como barras de error en cada punto graficado. Tanto en las gráficas 27 como en la gráfica 28, se puede observar que el punto en el que se presentó un mayor crecimiento de la muestra, la desviación fue mayor. Se enfocó principalmente el comportamiento naturaleza propia de cada aislamiento, al error generado por el instrumento de medición (balanza analítica) y/o al error experimental, mostrando mayor dispersión entre más crecimiento se presentaba

### **3.7 Degradación de polímeros por parte de los sistemas fúngicos, *Aspergillus flavipes* y *Asépergillus neoflavipes***

La principal sustancia que compone el nylon, son las poliamidas, unidas en cadena larga y con radicales de al menos un 85% alifáticos, cicloalifáticos o aromáticos (Carrion, 2014). Las investigaciones realizadas en materia de degradación de este material, han sido realizadas tanto con bacterias como con hongos.

Tomasini & León, (2015) manifiestan que una de las técnicas empleadas con el fin de disminuir los factores de estrés en las células libres que causan la disminución del crecimiento de los hongos, es la inmovilización; la cual se puede realizar con polímeros como la poliamida (usando el material como el nylon), y de este modo, aumentar la producción de metabolitos que juegan un papel importante en la biodegradación . Los estudios realizados en la inmovilización de muestras fúngicas para comprobar una mayor producción de metabolitos que ayuden en la biodegradación, ha sido reportada por Hui, Amirul, Yahya, & Azizan (2010) inmovilizando a *A. terreus* y logrando una mayor producción de enzimas celulíticas. León, Meraz, Wrobel, & Tomasini (2011), por su parte, reportaron la inmovilización de *Rhizopus oryzae* para la degradación de pentaclorofenol.

La temática de la inmovilización tratada anteriormente, muestra la posibilidad de emplear esta técnica en consorcios de organismos con el fin de: aumentar la actividad metabólica del consorcio usado; emplear diferentes cepas para potenciar la degradación de compuestos tóxicos y usar cepas capaces de degradar el nylon para

disminuir en lo posible todos los compuestos contaminantes que puedan encontrarse en el medio dispuesto, mientras se aprovecha la mejora de la inmovilización con nylon y a su vez se degrada. Con el fin de conocer las otras sustancias que estos aislamientos

parecen ser capaces de degradar, se realizó una revisión bibliográfica encontrando que el género *Mucor* sp., puede degradar benzopireno, caso reportado por Dan, Pei-jun, Stagniti & Xiong (2006), benzoantraceno, reportado por Yongming & Chen (2018) e hidrocarburos de gasóleo, reportado por Marchut-Mikolajczyk, Kwapisz, Wieczorek, & Antczak (2015). Para el caso de *Aspergillus* sp., se conoce que otras matrices capaces de degradar son gasolina y HAP's (Kumar, 2016).

Una de las características de estos organismos, es que la alta producción de enzimas ocurre según el sustrato con el que puedan tener contacto. Algunas de las enzimas que se conoce que segregan los hongos son la b-galactosidasa la cual degrada la lactosa, la invertasa, que degrada la sacarosa, la b-glucosidasa que degrada la celobiosa y las peroxidases y lacasas que degradan parte de la lignina. La vía oxidativa llevada a cabo emplea enzimas junto con la acción del oxígeno para descomponer los compuestos; dentro del grupo de compuestos que se conoce se degradan por esta vía son los aromáticos no fenólicos, por medio de enzimas lignino y manganeso-peroxidasa y las lacasas que catalizan la oxidación de fenoles y aminas aromáticas. Referente al método de hidrólisis, se conoce acerca de la degradación de la cutina, el uso de la enzima cutinasa, las enzimas xilanasas, arabanasa y galactanasas en la disolución de la pared celular (Cepero, Restrepo, Franco, Cardenas, & Vargas, 2012).

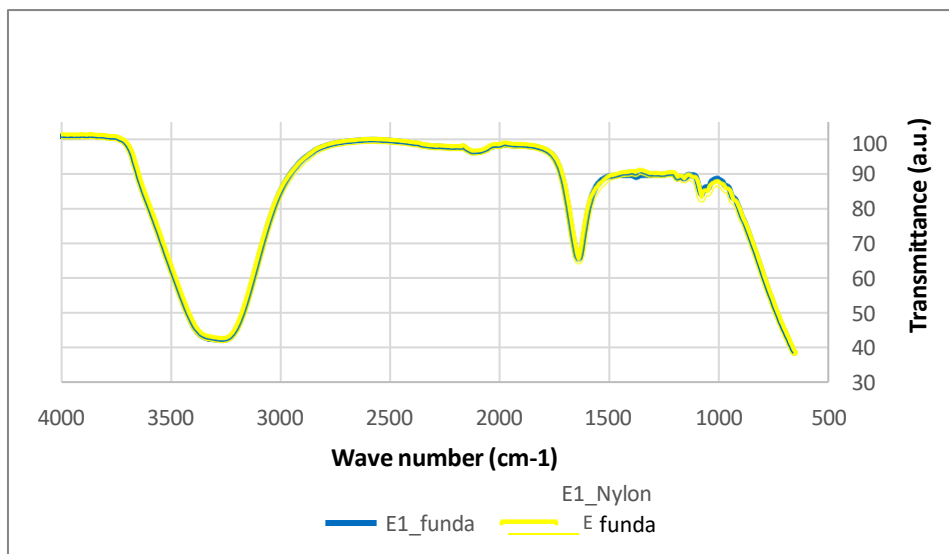
### 3.8 Espectroscopia de infrarrojo (IR)

#### 3.8.1 Semana 0 a 5

Las imágenes de FTIR permiten encontrar una diferencia entre las muestras de láminas de funda plástica de baja densidad inoculadas en la E1-R2 (*Aspergillus flavipes*) y Control (sin inoculo), comparando el espectro FTIR control con el espectro FTIR de la E1-R1 se observó la aparición una banda 3200 cm<sup>-1</sup> que corresponde al enlace O-H de los ácidos carboxílicos, una banda 1639 cm<sup>-1</sup>, que corresponde al enlace C=O del grupo de los ácidos carboxílicos, la banda 1073 cm<sup>-1</sup> que corresponde al enlace de los bromoalcanos (**figura 29**).

**Figura 27**

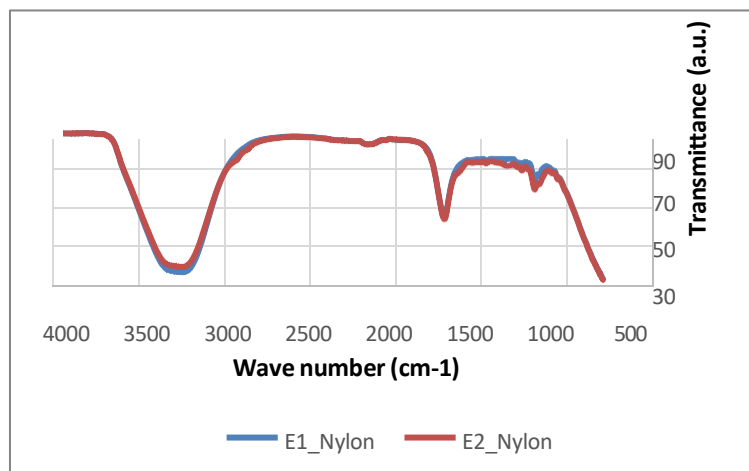
Espectroscopia del polietileno d (funda) con el aislamiento *Aspergillus noaflavipes* E1-R2



Las **figura 30** refleja el análisis de FTIR permiten encontrar una diferencia entre las muestras de nylon inoculadas con la E1-R1 (*Aspergillus. flavipes*) y Control (sin inoculo), comparando el espectro FTIR control con el espectro FTIR de la E1-R1 (*A. flavipes*) se observó la aparición una banda 3386  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace O-H de los ácidos carboxílicos, una banda 1675  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde al enlace C-O del grupo de los ácidos carboxílicos, la banda 1154  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace de los bromoalcanos.

**Figura 29**

Espectroscopia del polímero (nylon) con el aislamiento *Aspergillus. flavipes* E1

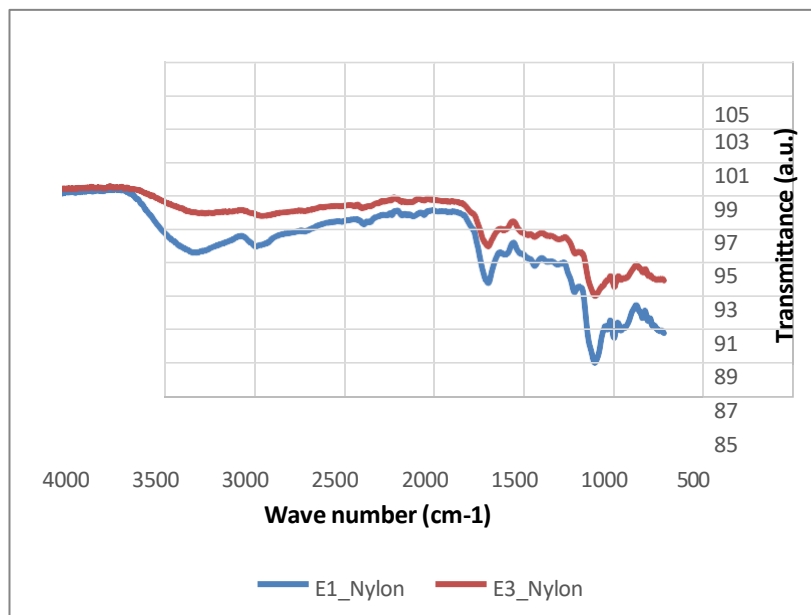


### 3.8.2 Semana 5 a 10

La figura 29 refleja el análisis de FTIR permiten encontrar una diferencia entre las muestras de nylon polímero de baja densidad inoculadas con el E1-R1 (*Aspergillus flavipes*) EI y Control (sin inoculo), comparando el espectro FTIR control con el espectro FTIR del E1- R1 se observó la aparición una banda 3170  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace O-H de los ácidos carboxílicos, una banda 1352  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde al enlace C-O del grupo de los ácidos carboxílicos, la banda 1096  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace de los bromoalcanos.

**Figura 31**

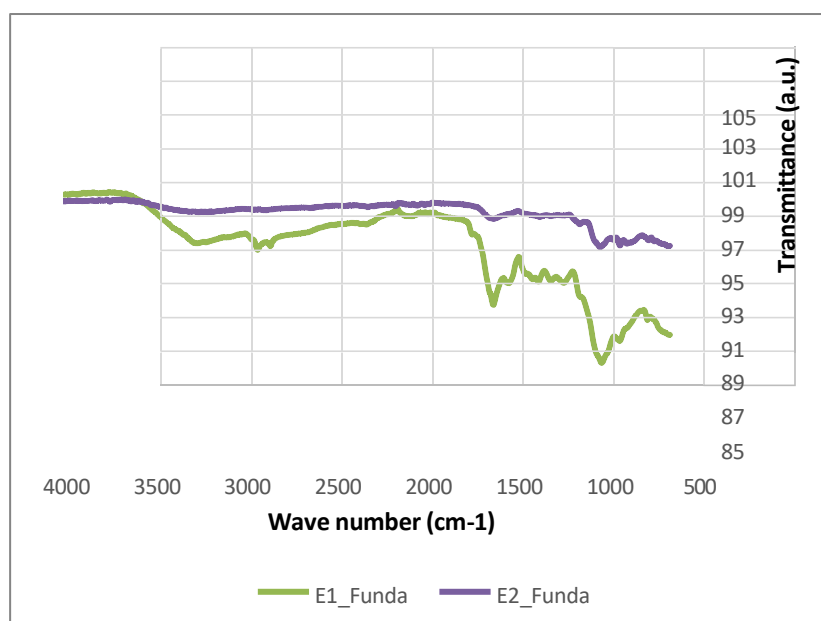
Espectroscopia del polítileno (nylon) con el aislamiento *Aspergillus flavipe* E1



La **figura 32** refleja el análisis de FTIR permiten encontrar una diferencia entre las muestras de láminas de bolsa de alta densidad inoculadas con el E2-R2 (A. neoflavipes) y Control (sin inoculo), comparando el espectro FTIR control con el espectro FTIR de la E2-R2 se observó la aparición una banda 2352  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace O-H de los ácidos carboxílicos, una banda 1369  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde al enlace C-O del grupo de los ácidos carboxílicos, la banda 453  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace de los bromoalcanos.

**Figura 33**

Espectroscopia del polietileno (funda) con el aislamiento *Aspergillus neoflavipes*



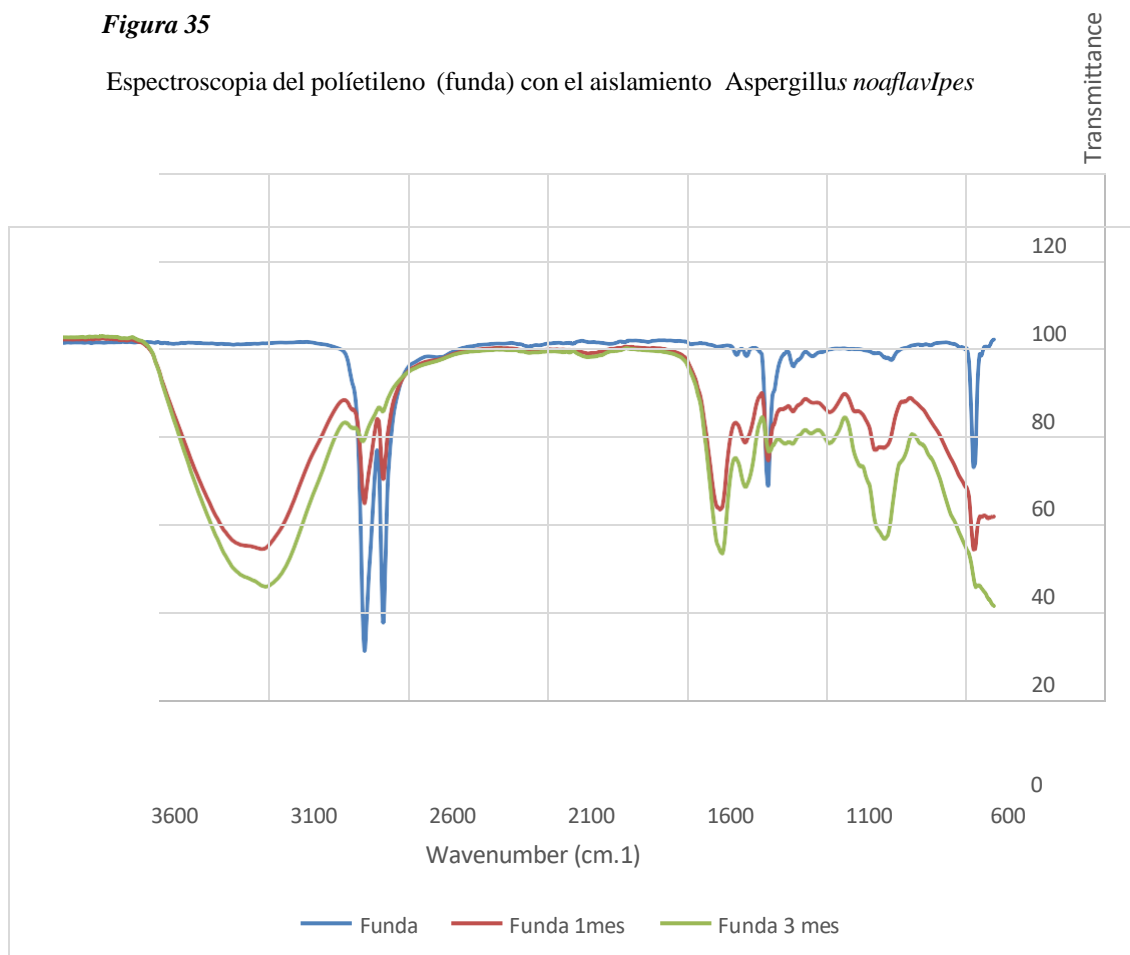


### 3.8.3 Semana 10 a 15

Las imágenes de FTIR permiten encontrar una diferencia entre las muestras de láminas de bolsa de alta densidad inoculadas con el consorcio I y Control (sin inoculo), comparando el espectro FTIR control con el espectro FTIR del consorcio I se observó la aparición una banda 3012  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace O-H de los ácidos carboxílicos, una banda 1269  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde al enlace C-O del grupo de los ácidos carboxílicos, la banda 433  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace de los bromoalcanos (**Figura 33**).

**Figura 35**

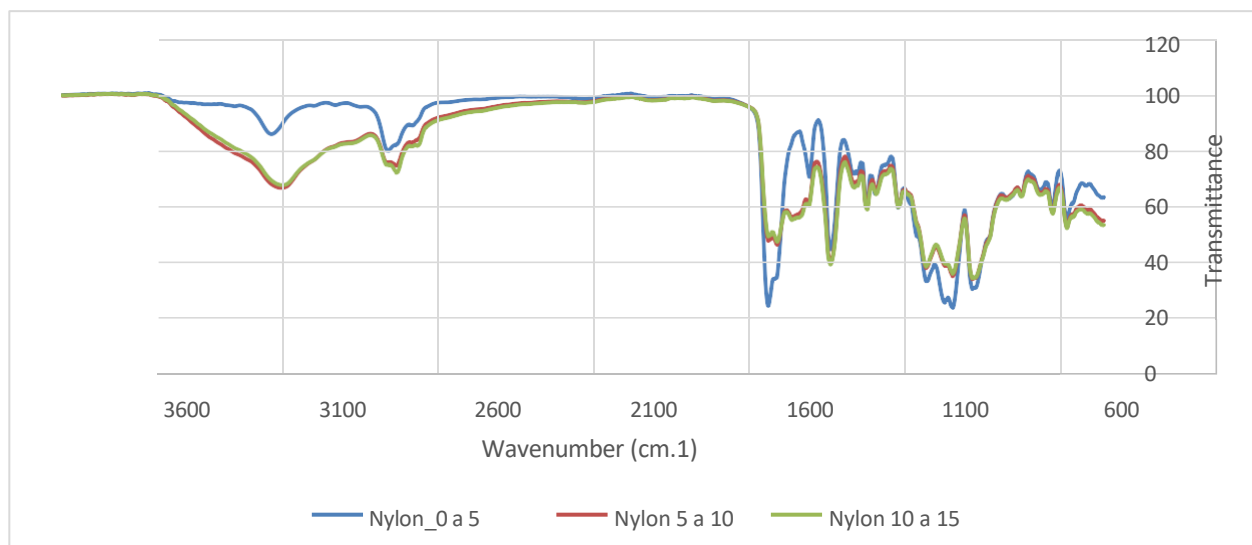
Espectroscopia del polietileno (funda) con el aislamiento *Aspergillus noaflavipes*



Las imágenes de FTIR permiten encontrar una diferencia entre las muestras de láminas de bolsa de alta densidad inoculadas con el E I y Control (sin inóculo), comparando el espectro FTIR control con el espectro FTIR del consorcio I se observó la aparición una banda 2352  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace O-H de los ácidos carboxílicos, una banda 1369  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde al enlace C-O del grupo de los ácidos carboxílicos, la banda 423  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace de los bromoalcanos (**Figura 34**).

**Figura 37**

Espectroscopia del polietileno (nylon) con el aislamiento *Aspergillus flavipes*



## 4 CAPÍTULO IV

### 2 DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.2 DISCUSIÓN

- Méndez, et al (2007) enfatizan que del botadero del Distrito de Sicuni en Lima se aisló 9 cepas de micromycetos, de los cuales el 44.4 % (4 cepas) degradaron polietileno de baja densidad, el 75% corresponden a la especie de *Aspergillus flavus* y el 25 % a *Aspergillus orizae*. Al igual que en el botadero del Distrito de Calca se aislaron 5 cepas de las cuales el 40% (2 cepas) degradaron polietileno de baja densidad, el 50 % corresponden a *Aspergillus fumigatus* y 50% a *Aspergillus orizae* .
- Referente a los hongos que se han registrado capaces de descomponer este material, Tachibana, Hashimoto, Yoshikawa, & Okawa (2010), reportaron la capacidad de *Fusarium* sp., de descomponer el nylon 4, en una prueba realizada durante dos meses cuando se cultivaron en un medio mineral. A SU VEZ, Friedrich, Zalar, Mohorcic, Klun, & Krzan (2007) reportaron por su parte a *Phanerochaete chrysosporium* y a *Bjerkandera adusta*, como degradadores de nylon 6.
- El Zapallal- Lima, demostrando que *Aspergillus flavus* fue buena degradadora de polietileno en las condiciones de ensayo. Zahra et al (2010) reportaron a *Aspergillus fumigatus* como degradadora de polietileno, Ojeda et al. (2009) y Zahra et al (2010) coinciden que el género *Aspergillus* es capaz de degradar

polietileno, en el presente trabajo, se aisló tres especies del *Aspergillus* que degradaron polietileno

- Yépez (2014) Reportó cepas fúngicas que degradan polietileno de baja densidad (PEBD), la cepa predominante fue el hongo de la familia Ascomycota del género *Aspergillus*, los cuales producen enzimas extracelulares para degradar el PEBD y utilizarlo como fuente de carbono y energía. Méndez et al (2007) reportaron que la cepa de mayor rendimiento pertenece a la especie de *Aspergillus flavus*. A temperatura de 30 °C, 6 (30%) cepas evidenciaron actividad degradadora. En los resultados del presente trabajo la cepa de *A. fumigatus* degrado un 23.15 %, siendo más eficiente que la que reportaron Abdullahi & Saidu (2013), las cepas de *A. flavus* degradaron un promedio 12.1 % de polietileno, mucho menor a lo que reporta Méndez et al. (2007), es necesario indicar que en el presente trabajo se reporta por primera vez a la especie de *A. orizae* como degradadora de polietileno con una a eficiencia de 24.13 %. Martin, (2012). encontró que los actinomicetes y los hongos filamentosos son los microorganismos con mejores rendimientos en la biodegradación del polietileno, este proceso es posible por acción de enzimas microbianas como las hidrolasas, peroxidasa, oxidasas y oxidoreductasas enzimas que se destacan en la degradación del polietileno

### 4.3 CONCLUSIONES

- Se aislaron las muestras de hongos de los recipientes de trampas de arroz y se caracterizaron 6 especies de ellos, pertenecientes al género fúngico *Aspergillus* sp debido a sus características microscópicas de las que destaca la presencia de una vesícula esférica. Se destacan las siguientes especies; los cuales son encontrados comúnmente en los suelos de bosques húmedos tropicales de la zona norte de la provincia de Santa Elena: *Aspergillus neoflavipes* (coloración verde), *Aspergillus flavipes* (coloración amarilla) , *Aspergillus keveii* (coloración blanca) , *Aspergillus assiutensis* y *Aspergillus pseudonomiae*.

- Se comprobó la actividad degradadora de los productos derivados del polietileno probados en las pruebas preliminares, dando como mejores resultados los aislamientos E2 *Aspergillus neoflavipes* para fundas plásticas y el aislamiento de la E1 *Aspergillus flaviapes* para el nylon, dos de las especies pertenecientes al género *Aspergillus* seguido del aislamiento *Aspergillus keveii*, especie perteneciente al género *Aspergillus*.

El comportamiento presentado por cada una de las cepas probadas en la dinámica expuesta en los resultados de las pruebas preliminares, fue diferente; debido probablemente a sus diferencias enzimáticas; hecho que se puede reflejar y respaldar de forma aún más notoria con las diferencias comportamentales de los tres aislamientos pertenecientes al género

Aspergillus.

- Se construyeron las curvas de crecimiento de los aislamientos E1 y E2 del género *Aspergillus* de las especies *flavipes* y *neoflavipes* ., evaluando el comportamiento de estas dos cepas cuando se encontraban expuestas a los polímeros. El resultado entre el crecimiento de estas dos especies en las pruebas preliminares y en las curvas de crecimiento, demuestra indiscutiblemente que el mejor crecimiento presentado se observó en la muestra denominada como E1 *Aspergillus flavipes* la cual se adapta con buenos resultados ante el polímero con 30,31% de degradación por parte de este sistema, corroborando así la pérdida del peso inicial y la curva de crecimiento transcurrida las 15 semanas , además las muestras analizadas del nylon presentaron desgastes significativos en sus estructuras lo que permite obtener una gran alternativa de gran utilidad de esta especie para su uso en técnicas de biorremediación.
- En la E2 *Aspergillus neoflavipes* la cual se adapta con buenos resultados ante el la funda plástica con 20,21% de degradación por parte de este sistema, corroborando así, la pérdida del peso inicial y la curva de crecimiento transcurridas las 15 semanas , las muestras analizadas no presentaron desgastes significativos en sus estructuras. No obstante, permite obtener una gran alternativa de gran utilidad de esta especie para su uso en técnicas de biorremediación.
- El análisis de espectroscopia de infrarrojo durante la semana 0 a 5 presentaron las características principales del polietileno nylon y funda sin

ninguna alteración en sus curvas de los enlace O-H de los ácidos carboxílicos y enlace de los bromoalcanos.

- . En la semana 5 a 10 presentaron curvas una 3170  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace O-H de los ácidos carboxílicos, una banda 1352  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde al enlace C-O del grupo de los ácidos carboxílicos, la banda 1096  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace de los bromoalcanos. para el nylon .Finalmente, en la semana 10 a 15 se evidenció una banda 2352  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace O-H de los ácidos carboxílicos, una banda 1369  $\text{cm}^{-1}$ , que corresponde al enlace C-O del grupo de los ácidos carboxílicos, la banda 423  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde al enlace de los bromoalcanos

#### **4.4 RECOMENDACIONES**

- Evaluar el comportamiento de las diferentes muestras fúngicas a emplear, variando factores fisicoquímicos como ph, temperatura, nutrientes, entre otros, con el fin de conocer las condiciones en que cada aislamiento se desarrolle mejor.
- La combinación de diferentes especies del mismo género del sistema fúngico con el fin de aprovechar las características que ofrece cada dominio y aumentar la eficiencia de degradación de los diferentes contaminantes.



L

## 5 CAPÍTULO V

### 5.2 BIBLIOGRAFÍA

Arias, E., & Piñeros, P. (Junio de 2008). Alislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los paramos de Guasca y Cruz Verde. Obtenido de Universidad Javeriana: <http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis226.pdf>

Blanco, J. (20 de Noviembre de 2015). Derivados del petróleo y su uso en la vida cotidiana. Obtenido de Escuela Técnica Especializada en Ingeniería, Arquitectura y Construcción: <http://www.eadic.com/derivados-del-petroleo-y-su-uso-en-lavida-cotidiana/>

Boullosa, N. (16 de Febrero de 2010). Micelios: hongos para salvar al mundo (y al ser humano). Obtenido de faircompanies: <https://faircompanies.com/articles/micelioshongos-para-salvar-al-mundo-y-al-ser-humano/>

Cañedo, V. A. (2004). Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Lima: Centro Internacional de la papa.

Capotorti, G., Digianvincenzo, P., Cesti, P., Bernardi, A., & Guglielmetti, G. (2004). Pyrene and benzo(a)pyrene metabolism by an *Aspergillus terreus* strain isolated from a polycyclic aromatic hydrocarbons polluted soil. *Biodegradation*, 79-85

Cruz, M., & Alcalá, G. (2007). La contaminación de suelos y aguas. Su prevención con nuevas sustancias naturales. España: Secretariado de publicaciones de la Universidad de Sevilla.

Dan, S., Pei-jun, L., Stagnitti, F., & Xiong, X.-z. (2006). Biodegradation of benzo(a)pyrene in soil by *Mucor* sp. and *Bacillus* sp. SB02 co-immobilized on vermiculite. *Journal of Environmental Science*, 1204-1209

Ezekoye, C., Chikere, C., & Okpokwasili, G. (2018). Fungal diversity associated with crude oil-impacted soil undergoing in-situ bioremediation. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 148-152.

Friedrich, J., Zalar, P., Mohorcic, M., Klun, U., & Krzan, A. .. (2007). Ability of fungi to degrade synthetic polymer nylon-6. *Chemosphere*, 2089-2095.

Gallardo, C. (2004). Control Químico Y Estudio De La Diseminación De En Huertos Comerciales De Babaco En Los Valles De Tumbaco Y Los Chillos. Quito, Ecuador: INIAP Universidad Central de Ecuador.

Gao, H., Zhang, J., Lai, H., & Xue, Q. (2017). Degradation of asphaltenes by two *Pseudomonas aeruginosa* strains and their effects on physicochemical properties of crude oil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 12-22.

García, M. (2005). Los hidrocarburos policíclicos aromáticos asociados a combustibles fósiles. Caracterización, análisis y remediación. Madrid.

García, R., Rios, E., Martínez, á., Ramos, F., Cruz, J., & Cuvas, M. (2011). Uso de cachaza y bagazo de caña de azúcar en la remoción de hidrocarburos en suelo contaminado. *Internacional de contaminación ambiental*, 27(1), 31-39.

Gimeno, A. (5 de Abril de 2002). Principales factores condicionantes para el desarrollo de los hongos y la producción de micotoxinas . Obtenido de Ergomix: <https://www.ergormix.com/micotoxinas/articulos/principales-factorescondicionantes-desarrollo-t26065.htm>

Hernández, E., Rubiños, J., & Alvarado, J. (2004). Restauración de suelos contaminados con hidrocarburos: conceptos básicos. Obtenido de ResearchGate GmbH: [https://www.researchgate.net/profile/Elizabeth\\_Acosta2/publication/272679969\\_Restauracion\\_de\\_suelos\\_contaminados\\_con\\_hidrocarburos\\_Conceptos\\_Basicos/links/54ed1e60cf28f3e65355938/Restauracion-de-suelos-contaminados-conhidrocarburos-Conceptos-Basicos.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Elizabeth_Acosta2/publication/272679969_Restauracion_de_suelos_contaminados_con_hidrocarburos_Conceptos_Basicos/links/54ed1e60cf28f3e65355938/Restauracion-de-suelos-contaminados-conhidrocarburos-Conceptos-Basicos.pdf)

López, G. (2003). Impacto ambiental por las actividades extractivas en bosques tropicales. Obtenido de Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura: <http://www.fao.org/docrep/ARTICLE/WFC/XII/1026-B4.HTM>

Manai, I., Miladi, B., El Mselmi, A., Smaali, I., Hassen, A., Hamdi, M., y otros. (2016). Industrial textile effluent decolourization in stirred and static batch cultures of a new fungal strain *Chaetomium globosum* IMA1 KJ472923. *Journal of environmental management*, 8-14.

Mondino, P. (2012). Métodos de aislamiento. Obtenido de Facultad de Agronomía Universidad de la República: <http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursometodosfito/05-Metodos%20de%20aislamiento.pdf>

Obafemi, Y., Taiwo, O., Omodara, O., Dahunsi, O., & Oranusi, S. (2018). Biodegradation of crude petroleum by bacterial consortia from oil-contaminated soils in Ota, Ogun State, South-Western, Nigeria. *Environmental Technology & Innovation*, 230-242.

Omil, B. (21 de Mayo de 2007). Gestión de cenizas como fertilizante y enmendante de plantaciones jóvenes de *Pinus Radiata*. Costa Rica: Universidad de Santiago de Compostela.

Parra, E. (2003). *Petróleo y gas natural: industrias, mercados y precios*. Madrid, España: Akal, S.A.

Patín, S. (2013). Environmental Impact of Crude Oil Spills. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences.

Pineda, O. (2010). La química aplicada y la elaboración del petróleo colombiano. *Universidad Nacional*(3), 375-384.

Tachibana, K., Hashimoto, K., Yoshikawa, M., & Okawa, O. (2010). Isolation and characterization of microorganisms degrading nylon 4 in the composted soil. *Polymer Degradation and Stability*, 912-917.

Timmis, K. (2010). *Handbook of hydrocarbon and lipid microbiology*. Braunschweig: Springer.

Torres, K., & Zuluaga, T. (2009). *Biorremediación de suelo contaminados por hidrocarburos*. Obtenido de Biblioteca Digital Universidad Nacional:

[http://www.bdigital.unal.edu.co/815/1/32242005\\_2009.pdf](http://www.bdigital.unal.edu.co/815/1/32242005_2009.pdf)

### 5.3 ANEXO

Anexo 1: TABLA DE TRAMPAS DE ARROZ EMPLEADAS EN AGOSTO /SEPTIEMBRE2024

| <b>TRAMPAS DE ARROZ EMPLEADAS EN AGOSTO /SEPTIEMBRE2024</b> |                 |                 |              |
|---|-----------------|-----------------|--------------|
| <b>FECHA</b>  | <b>ESTACIÓN</b> | <b>CANTIDAD</b> | <b>Total</b> |
|   |                 |                 |              |

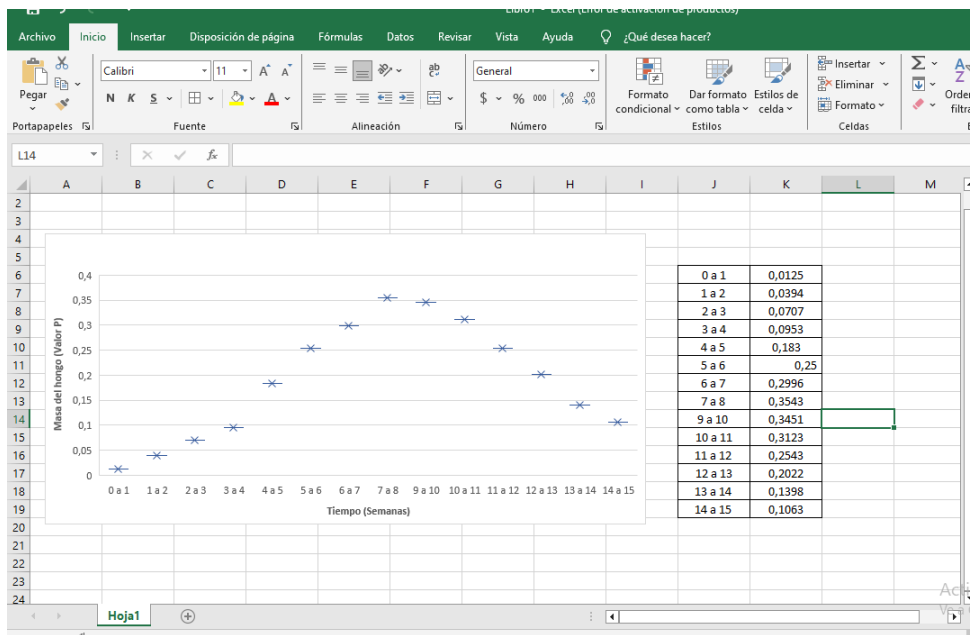
Anexo 2: TABLA PARA LA CLASIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DEL GÉNERO ASPERGILLUS

| <b>MACROSCÓPICA</b> | <b>MICROSCÓPICA (40x)</b> | <b>Código</b> | <b>Porcentaje de identidad</b> | <b>Código de acceso</b> | <b>Organismo</b> |
|---------------------|---------------------------|---------------|--------------------------------|-------------------------|------------------|
|                     |                           |               |                                |                         |                  |

Anexo 3: TABLA DEL PESO DE LOS POLIMEROS DURANTE 15 SEMANAS DE PRUEBAS

| <b>NÚMERO DE PLACA</b> | <b>Peso inicial (g)</b> | <b>Peso de la semana 1 a 5</b> | <b>Peso de la semana 6 a 10</b> | <b>Peso de la semana 11 a 15</b> |
|------------------------|-------------------------|--------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
|                        |                         |                                |                                 |                                  |

## Anexo 4: Hoja de cálculo, tabla en relación al crecimiento del hongo



# ANEXO 5 : Informe del análisis molecular de las muestras de las especie de Aspergillus



## INFORME DE RESULTADOS

Código: DA-LAB10  
 Versión: 1  
 Página 1 de 2

Informe No. 2410-394657

### INFORMACIÓN SUMINISTRADA POR EL CLIENTE

|  |                 |   |                      |
|--|-----------------|---|----------------------|
| Persona o empresa solicitante<br>Persona de contacto | Freddy Saltos   |   |                      |
| Nombre comercial / identificación                    | Trampa de arroz |   |                      |
| Fecha de elaboración                                 | No se indica    | Fecha de caducidad                      | No se indica         |
| Fecha de muestreo                                    | se indica       | Número de lote                          | indica               |
| Tipo de envase                                       | Funda plástica  | Condiciones de transporte de la muestra | Temperatura ambiente |
| Tipo de muestra                                      | Sustrato        | Lugar de origen                         | No se indica         |

### INFORMACIÓN DEL LABORATORIO

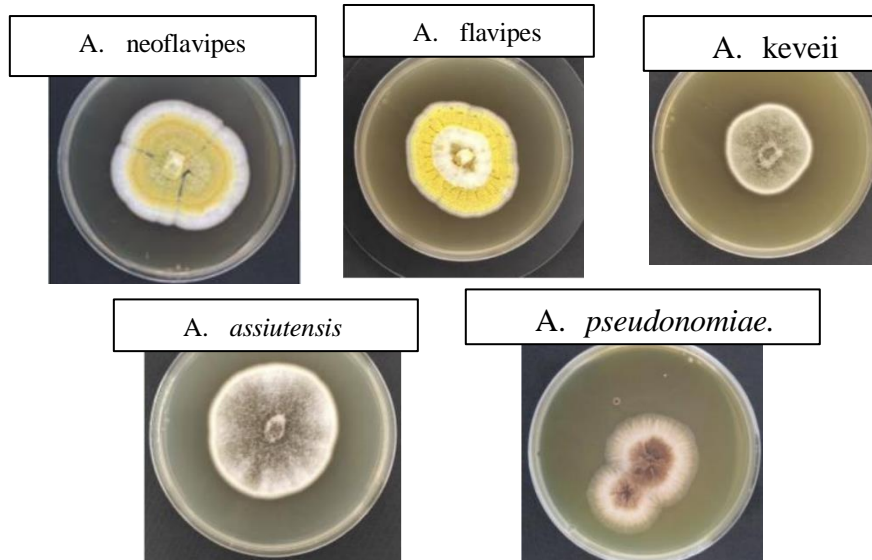
|                                |   |                          |            |
|--------------------------------|---|--------------------------|------------|
| Código de muestra              | 2410-394  |                          |            |
| Fecha de ingreso               | 27/09/2024  | Fecha inicio de análisis | 02/10/2024 |
| Fecha finalización de análisis | 17/10/2024  | Fecha emisión de informe | 4          |
| Realización de ensayos         | Laboratorio permanente – Av. Amazonas y Guayas, Ed. Torre Centre. |                          | 18/10/2024 |

### RESULTADO DE ANÁLISIS

| PARÁMETRO               | MÉTODO     | PROCEDIMIENTO ESPECÍFICO DE ENSAYO | RESULTADO  | UNIDAD            |       |
|-------------------------|------------|------------------------------------|--|-------------------|-------|
| Poblaciones micológicas | Pour plate | LABPEE-15                          | Mohos  | 5x10 <sup>5</sup> | UFC/g |
|                         |            |                                    | Levaduras  | ≤10               |       |
|                         |            | Identificación de mohos            | <i>Aspergillus neoflavipes</i> , <i>A. flavipes</i> , <i>A. keveii</i> , <i>A. assiutensis</i> , <i>A.pseudonomiae</i> | N/A               |       |

Los resultados corresponden únicamente a la muestra analizada tal y como se recibió por parte del cliente.  
 Queda totalmente prohibida la reproducción parcial de este informe sin permiso por escrito del laboratorio.

Activar Windows  
 Ve a Configuración para a







## INFORME DE RESULTADOS

Código: DA-LAB10

Versión: 1

Página 2 de 2

### SIMBOLOGÍA

|     |                                   |     |            |
|-----|-----------------------------------|-----|------------|
| UFC | unidades formadoras de colonia    | ml  | mililitro  |
| UFP | unidades formadoras de propágulos | g   | gramo      |
| NMP | número más probable               | N/A | no aplica  |
| RES | Recuento estimado estándar        | %   | porcentaje |

**MARIA ESTHER CORTEZ PAZMIÑO /**

RESPONSABLE TÉCNICO

Microbióloga

Magister en Agroecología y Agricultura Sostenible



Unidad responsable por:  
**MARIA ESTHER CORTEZ  
PAZMIÑO**

