



UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS *Bacillus* Y *Rhizopus* CON
ACTIVIDAD AMIOLÍTICA Y CELULOLÍTICA EN SUELOS DEL
MANGLAR DE PUNTA CARNERO-SANTA ELENA, ECUADOR.

NOMBRE:

RODRÍGUEZ QUIMÍS NAYELI ARIANA

DOCENTE TUTOR:

BLGA. ÀNGELA REYES LAÑEZ Mgtr.

LA LIBERTAD-ECUADOR

2026

UNIVERSIDAD ESTATAL PENÍNSULA DE SANTA ELENA

FACULTAD CIENCIAS DEL MAR

CARRERA DE BIOLOGÍA

**AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS *Bacillus* Y *Rhizopus* CON
ACTIVIDAD AMIOLÍTICA Y CELULOLÍTICA EN SUELOS DEL
MANGLAR DE PUNTA CARNERO-SANTA ELENA, ECUADOR.**
TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

PREVIO A LA OBTENCIÓN DE TÍTULO DE

BIÒLOGA

NOMBRE:

RODRIGUÈZ QUIMIS NAYELI ARIANA

DOCENTE TUTOR:

BLGA. ÀNGELA REYES LAÍNEZ

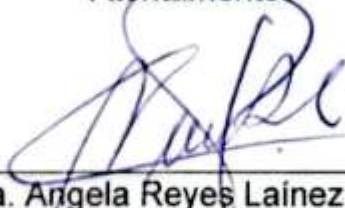
LA LIBERTAD-ECUADOR

2026

DECLARACIÓN DEL DOCENTE TUTOR

En mi calidad de Docente Tutor del Trabajo de Integración Curricular,
**“AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS *Bacillus* Y *Rhizopus* CON
ACTIVIDAD AMILOLÍTICA Y CELULOLÍTICA EN SUELOS DE
HUMEDALES DE PUNTA CARNERO-SANTA ELENA, ECUADOR”**,
elaborado por **Nayeli Ariana Rodríguez Quimis**, 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/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



Blga. Angela Reyes Lainez, Mgtr.

Docente Tutora

Facultad de Ciencias del Mar

Universidad Estatal Península de Santa Elena

DECLARACIÓN DEL DOCENTE DE ÁREA

En mi calidad de Docente Especialista, del Trabajo de Integración Curricular "AISLAMIENTO DE MICROORGANISMO BACILLUS Y RHIZOPUS CON ACTIVIDAD AMINOLITICA CELULOLITICA EN SUELOS DE HUMEDALES DEL MANGLAR PUNTA CARNERO, elaborado por Rodríguez Quimis Nayeli Ariana, estudiante de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena, previo a la obtención del título de Bióloga, 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,


Bfgo. William Santos Sánchez, M.Sc..
DOCENTE DE ÁREA
C.I. 0905260881

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios por darme la vida, guiar mis pasos y aprender de cada experiencia y de cada error a lo largo de este proceso. Le agradezco profundamente por brindarme la oportunidad de estudiar, fortalecerme en los momentos difíciles y abrir caminos y oportunidades que hicieron posible la culminación de una meta más en mi vida.

Esta tesis va dedicada a mi mamá **Montserrat Quimis Carrasco** quien, con su amor incondicional y paciencia ha sido el pilar fundamental para poder concluir mi carrera profesional. Gracias por creer siempre en mí, por impulsarme a seguir adelante y por demostrarme que, con dedicación y perseverancia, este logro era posible.

A Luis Fernando Áviles Alvarado, por acompañarme durante este proceso universitario, brindarme sus consejos y palabras de aliento, y por ayudarme en todo lo que estuvo a su alcance, convirtiéndose en parte de mi familia.

Este título universitario es el resultado del esfuerzo de mi mamá y el apoyo incondicional de mis seres queridos para así ser mi inspiración y poder culminar mi carrera universitaria

Con mucho amor y respeto

Ariana Rodríguez.

AGRADECIMIENTO

A mi familia y hermanos que me apoyaron económicamente sin ellos no hubiera sido posible esta meta universitaria

A la facultad ciencias del mar por haberme acogido en sus aulas y brindarme una formación profesional impregnada de excelencia y valores.

De manera muy especial, deseo manifestar mi reconocimiento y eterno agradecimiento a mi asesor/a de tesis, Blga. Angela Reyes Msc. Su rigor científico, su paciencia inagotable y su guía experta constituyeron el faro que orientó esta investigación desde su planteamiento inicial hasta su culminación exitosa. Gracias por compartir su valioso tiempo, por sus observaciones críticas que enriquecieron notablemente este documento y por depositar su confianza en mis capacidades, impulsándome siempre a dar lo mejor de mí.

Gracias por este proceso

TRIBUNAL DE GRADO

Trabajo de Integración Curricular presentado por **Rodríguez Quimis Nayeli Ariana** como requisito parcial para la obtención del grado de Biología de la Carrera de Biología, Facultad de Ciencias Del Mar de la Universidad Estatal Península de Santa Elena.

Trabajo de Integración Curricular. **APROBADO** EL: 07/08/26



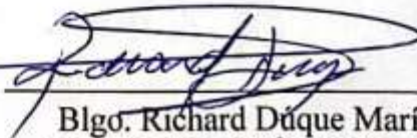
Ing. Jimmy Villón Moreno, M.Sc.
DIRECTOR DE LA CARRERA
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL



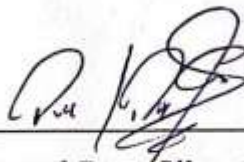
Blgo William Santos Sánchez, M.Sc.
DOCENTE DE ÁREA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Blga. Angela Reyes Láinez, M.Sc.
DOCENTE TUTORA
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Blgo. Richard Dúque Marín, Mgt.
DOCENTE GUÍA DE LA UIC II
MIEMBRO DEL TRIBUNAL



Lcdo. Pascual Roca Silvestre, Mgt.
SECRETARIO /A DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad del contenido, dato ideas y resultados en este trabajo de integración curricular, me corresponde exclusivamente y el patrimonio intelectual de la misma y a la Universidad Estatal Península de Santa Elena

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Nayeli Ariana Rodríguez Quimís', is centered on a light yellow rectangular background.

Nayeli Ariana Rodríguez Quimís

Cdl 2450691858

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	12
1. INTRODUCCIÓN	14
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
3. JUSTIFICACIÓN	19
4. OBJETIVOS	21
4.1. Objetivo general	21
4.2. Objetivos específicos	21
5. HIPÓTESIS.....	22
6. MARCO TEÓRICO	23
6.1. Generalidades y relación de los manglares y humedales.....	23
6.1.1. Ciclo del carbono en humedales.....	24
6.2. Microorganismos en suelos de humedal.....	26
6.2.1. Género <i>Bacillus</i>	27
6.2.2. Género <i>Rhizopus</i>	29
6.3. Enzimas hidrolíticas.....	30
6.3.1. Índice enzimático	30
6.3.2. Actividad amilolítica.....	31
6.3.3. Actividad celulolítica	33
6.4. Antecedentes de la investigación	35
6.5. Marco Legal	36
7. METODOLOGÍA	39
7.1. Tipo de investigación.....	39
7.2. Área de estudio	39
7.3. Fase de campo	40
7.3.1. Muestreo	40
7.4. Fase de laboratorio.....	41
7.4.1. Aislamiento	41
7.4.2. Identificación molecular mediante PCR.....	45
7.5. Análisis de datos.....	47
8. RESULTADOS.....	49

8.1.	Aislamiento y caracterización de colonias	49
8.2.	Actividad amilolítica en agar almidón	49
8.3.	Actividad celulolítica en agar carboximetilcelulosa	51
8.4.	Comparación de la actividad hidrolítica entre los aislamientos amilolíticos y celulolíticos	53
8.4.1.	<i>Relación entre el crecimiento colonial y la actividad hidrolítica.....</i>	54
8.5.	Identificación molecular de los aislados.....	56
8.5.1.	<i>Análisis de secuencias y detección de géneros fúngicos.....</i>	56
8.5.2.	<i>Identificación de cepas aisladas en agar almidón.....</i>	57
8.5.3.	<i>Identificación de cepas aisladas en agar CMC</i>	59
9.	DISCUSIÓN	62
10.	CONCLUSIONES.....	68
11.	RECOMENDACIONES	69
	BIBLIOGRAFÍA.....	70
	ANEXOS.....	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. <i>Diagrama general del ciclo del carbono en humedales</i>	26
Figura 2. <i>Especies de Bacillus cultivadas en agar sangre</i>	28
Figura 3. <i>Características morfológicas del género Rhizopus</i>	30
Figura 4. <i>Degradación enzimática del almidón por la amilasa.</i>	32
Figura 5. <i>Hidrólisis enzimática de la celulosa para la obtención de nanopartículas</i>	34
Figura 6. <i>Ubicación geográfica del área de estudio</i>	40
Figura 7. <i>Esquema del área de estudio a muestrear</i>	41
Figura 8. <i>Diluciones seriadas en base 10 y siembra por superficie en cajas Petri</i>	42
Figura 9. <i>Detección de actividad enzimática en medios CMC y AA</i>	44
Figura 10. <i>Comparación del RH de los aislamientos obtenidos en agar AA y CMC.</i>	54
Figura 11. <i>Relación entre el crecimiento colonial y la actividad hidrolítica en agar AA y CMC.</i>	55
Figura 12. <i>Clasificación taxonómica de los microorganismos encontrados en la muestra A-A</i>	58
Figura 13. <i>Abundancia relativa de los principales taxones identificados en la muestra A-A</i>	59
Figura 14. <i>Clasificación taxonómica de los microorganismos encontrados en la muestra A- CM</i>	60
Figura 15.	61
<i>Abundancia relativa de los principales taxones identificados en la muestra A-CM</i>	61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. <i>Composición del medio agar carboximetilcelulosa</i>	43
Tabla 2. <i>Composición del medio agar almidón</i>	43
Tabla 3. <i>Número de aislamientos en los medios selectivos.....</i>	49
Tabla 4. <i>Morfometría y actividad hidrolítica de los aislamientos cultivados en agar almidón.</i>	50
Tabla 5. <i>Aislamientos en agar AA con $RH \geq 3$.</i>	50
Tabla 6. <i>Morfometría y actividad hidrolítica de los aislamientos cultivados en agar CMC.....</i>	52
Tabla 7. <i>Morfometría y actividad hidrolítica de los aislamientos cultivados en agar CMC.</i>	53
Tabla 8. <i>Parámetros de calidad de la secuenciación NGS.</i>	56

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Características individuales de las colonias crecidas en agar AA.....	75
Anexo 2. Características individuales de las colonias crecidas en agar CMC....	76
Anexo 3. Comparación entre grupos mediante la prueba no paramétrica de Mann-Whitney en Rstudio	77
Anexo 4. Correlación de Spearman entre el diámetro de la colonia (DC) y el diámetro del halo de hidrólisis (DH).....	77
Anexo 5. Recolección y rotulación de muestras	78
Anexo 6. Transporte de muestras para análisis genómico.	78
Anexo 7. Preparación de agar AA y CMC.....	79
Anexo 8. Colonias crecidas en placas de agar AA	79
Anexo 9. Colonias crecidas en placas de agar CMC.	80
Anexo 10. Reporte de secuenciación NGS N:26061002.....	81
Anexo 11. One Codex Data 26061002-001-16S.....	82
Anexo 12. One Codex Data 26061002-003-16S.....	85

RESUMEN

En Ecuador, el conocimiento sobre microorganismos con actividad amilolítica y celulolítica en zonas costeras es limitado. Por ello, el objetivo de esta investigación fue aislar y evaluar microorganismos del género *Bacillus* y *Rhizopus* con potencial actividad amilolítica y celulolítica, como primer paso para su posterior identificación molecular y valoración biotecnológica. Se realizó un estudio cuantitativo y experimental a partir de muestras de suelo recolectadas en el humedal de Punta Carnero. Los microorganismos fueron aislados mediante cultivo en agar almidón (AA) y agar carboximetilcelulosa (CMC), y su actividad enzimática se determinó mediante la medición de halos de hidrólisis. Se obtuvieron 72 aislamientos, de los cuales 44 crecieron en AA y 28 en CMC. Los aislamientos cultivados en CMC presentaron una actividad hidrolítica significativamente mayor que los obtenidos en AA (Mann-Whitney; $p < 0,001$), con un radio de hidrólisis promedio de $4,19 \pm 0,78$ frente a $2,42 \pm 0,93$, respectivamente. Asimismo, la actividad celulolítica mostró una asociación positiva más fuerte con el crecimiento colonial que la actividad amilolítica. La identificación molecular confirmó que las cepas con mayor actividad enzimática pertenecieron principalmente al género *Bacillus*, destacando *Bacillus cereus*, seguido de *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*. Se concluye que los suelos del remanente de Punta Carnero constituyen una fuente promisoría de microorganismos con potencial para la producción de enzimas hidrolíticas, particularmente celulasas. Se recomienda ampliar la prospección microbiológica en diferentes sectores y estaciones del año, así como profundizar en la caracterización molecular y bioquímica de las cepas con mayor actividad enzimática.

Palabras claves: *Bacillus*, *Rhizopus*, amilolítica, celulolítica, potencial.

ABSTRACT

In Ecuador, knowledge of microorganisms with amylolytic and cellulolytic activity in coastal environments remains limited. Therefore, the aim of this study was to isolate and evaluate microorganisms belonging to the genera *Bacillus* and *Rhizopus* with potential amylolytic and cellulolytic activity as a first step toward their molecular identification and biotechnological assessment. A quantitative and experimental study was conducted using soil samples collected from the Punta Carnero wetland. Microorganisms were isolated by culturing on starch agar (AA) and carboxymethyl cellulose agar (CMC), and their enzymatic activity was determined by measuring hydrolysis halos. A total of 72 isolates were obtained, of which 44 grew on AA and 28 on CMC. Isolates cultured on CMC exhibited significantly higher hydrolytic activity than those obtained on AA (Mann–Whitney test; $p < 0.001$), with an average hydrolysis radius of 4.19 ± 0.78 compared to 2.42 ± 0.93 , respectively. Furthermore, cellulolytic activity showed a stronger positive association with colony growth than amylolytic activity. Molecular identification confirmed that the strains with the highest enzymatic activity belonged predominantly to the genus *Bacillus*, with *Bacillus cereus* being the dominant species, followed by *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis*. It is concluded that the soils of the Punta Carnero wetland constitute a promising source of microorganisms with potential for the production of hydrolytic enzymes, particularly cellulases. Further microbiological prospecting in different areas and seasons of the year is recommended, as well as more comprehensive molecular and biochemical characterization of the strains exhibiting the highest enzymatic activity.

Keywords: *Bacillus*, *Rhizopus*, amylolytic activity, cellulolytic activity, potential.

1. INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas son zonas costeras de transición que combinan influencias marinas y terrestres, caracterizadas por fluctuaciones de salinidad y oxígeno variables, acumulación de materia orgánica y dinámicas de marea. Estos ambientes presentan condiciones únicas que generan nichos ecológicos diversos y favorecen la acción de microorganismos adaptados a ambientes extremos (Camacho et al., 2021).

Los humedales actúan como reservas de carbono y materias primas orgánicas, siendo cruciales en los ciclos biogeoquímicos de carbono, nitrógeno, fósforo, entre otros (Ramírez & Rojas, 2020). La degradación de materiales vegetales (hojarasca, raíces, detritos) en estos ecosistemas depende en gran parte de la actividad de enzimas hidrolíticas como las celulasas y amilasas (Sánchez et al., 2020).

Entre las enzimas hidrolíticas, las amilasas tienen la función de romper los enlaces α -1,4 del almidón, transformándolo en moléculas como maltosa, dextrina y glucosa, lo cual tiene aplicaciones industriales tales como en la producción de jarabes, alcoholes, detergentes, industria alimenticia, y biorremediación (Sánchez et al., 2020). Mientras que las enzimas celulolítica, se caracterizan por degradar la celulosa, que forma parte de la lignocelulosa vegetal, transformándola en azúcares simples que pueden ser reutilizados por microorganismos, o usados con fines biotecnológicos, como en la generación de bioetanol (Dewiyanti et al., 2024).

Dentro de los géneros microbianos que destacan en ambientes con actividad hidrolítica se encuentran *Bacillus*, grupo bacteriano bien conocido por su producción de amilasas y celulasas, resistencia a condiciones adversas, facilidad de cultivo y secreción extracelular de enzimas (Ávila et al, 2025). Por otro lado, *Rhizopus*, un hongo filamentoso, también posee cepas con capacidad para degradar polisacáridos como almidón y celulosa, aunque muchas veces menos estudiado en humedales que *Bacillus* (Londoño et al., 2017).

El humedal de Punta Carnero, ubicado en la provincia de Santa Elena-Ecuador, representa un ecosistema costero de gran relevancia ecológica, que está sujeto a variabilidad de salinidad, entrada de materia orgánica tanto terrestre como marina, fluctuaciones de agua y condiciones de oxígeno cambiantes (Reyes, 2023). Estas características lo convierten en un sitio excelente para explorar la diversidad de microorganismos capaces de producir enzimas hidrolíticas como amilasas y celulasas, adaptadas a esas condiciones.

En ese contexto, el presente trabajo tuvo como objetivo analizar microorganismos *Bacillus* y *Rhizopus* con actividad amilolítica y celulolítica mediante el aislamiento de cepas e identificación molecular gracias a la amplificación y secuenciación del gen 16rRNA y la región ITS del ADN ribosómico, respectivamente. Por otro lado,

se aplicaron técnicas de cultivo con almidón y carboximetilcelulosa para el aislamiento de los organismos y posteriormente cuantificar su actividad enzimática mediante halos de hidrólisis.

De esta manera se logró determinar su capacidad biotecnológica en la producción de enzimas de interés industrial puesto que estudiar cepas de *Bacillus* y *Rhizopus* permitió no solo reportar localmente la presencia de estas actividades, sino también explorar su capacidad de adaptación y variabilidad funcional.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A nivel global, múltiples investigaciones demuestran que los suelos de humedales son una fuente prometedora de microorganismos productores de enzimas hidrolíticas (Sánchez et al., 2020). Sin embargo, en Ecuador existe un vacío en la literatura en cuanto al aislamiento local de microorganismos específicamente de suelos de humedales de manglar con actividad amilolítica y celulolítica, sobre todo cuando se trata de los géneros *Bacillus* y *Rhizopus*. Esta carencia limita tanto el conocimiento ecológico como el aprovechamiento biotecnológico.

En Ecuador, los humedales están sujetos a presiones antropogénicas crecientes como la expansión de acuicultura, tala para construcción o extracción de madera, urbanización costera, vertidos de aguas residuales y contaminación por metales pesados. Estas actividades alteran las propiedades edáficas lo que puede inhibir el crecimiento microbiano o modificar la diversidad y funcionalidad de comunidades microbianas esenciales para la degradación de polisacáridos (Nava & Lango, 2023).

Una consecuencia directa de la alteración de estas condiciones es la posible disminución de la actividad enzimática hidrolítica en la amilasa y celulasa, lo que ralentiza la degradación de la materia orgánica acumulada, esto puede conducir a una mayor acumulación de hojarasca y raíces muertas, desequilibrios en la liberación de nutrientes, generación de condiciones anaeróbicas más persistentes,

liberación tardía de gases como metano o dióxido de carbono y afectaciones en las funciones ecosistémicas de humedales, como almacenamiento de carbono, protección costera y soporte de biodiversidad (Buitron, 2021).

Adicionalmente, la presencia de contaminantes químicos como metales pesados, hidrocarburos y falta o exceso de nutrientes en suelos puede tener efectos tóxicos sobre los microorganismos, inhibiendo su viabilidad, su capacidad de secreción enzimática o alterando las relaciones simbióticas o competitivas dentro de la comunidad microbiana (Buitron, 2021).

En el caso de Punta Carnero-Santa Elena, estas problemáticas cobran relevancia particular dado su contexto costero: remanente de manglar con humedad variable, influencia de mareas, posibles entradas de agua salobre o salina, interacción con actividades humanas locales como turismo, pesca y urbanización costera. Sin datos precisos sobre los microorganismos con actividad amilolítica y celulolítica en este sitio, se desconoce cómo estas condiciones particulares están afectando su diversidad funcional, capacidad de degradación de polisacáridos y potencial ecológico o biotecnológico local.

3. JUSTIFICACIÓN

Al explorar comunidades microbianas funcionales en un sitio poco estudiado, se espera contribuir con conocimiento nuevo que complemente los estudios existentes sobre carbono azul. Esta investigación aportó al entendimiento de la diversidad funcional microbiana en humedales costeros, en especial relación con enzimas amilolíticas y celulolíticas, permitió ampliar modelos ecológicos sobre degradación de materia orgánica, llenando vacíos en la literatura que generalmente se centra en inventarios taxonómicos o en humedales de otros países.

El estudio permitió identificar cepas locales de *Bacillus* y *Rhizopus* con buena actividad enzimática de amilasa y celulasa, estas cepas podrían usarse como insumos biotecnológicos como producción de enzimas industriales, mejora de procesos de compostaje o degradación de residuos orgánicos locales, lo que puede reducir la necesidad de cepas importadas o adaptadas a otras condiciones (Ávila et al., 2025). También aportó con herramientas microbiológicas para la restauración ecológica de suelos degradados, acelerando la recuperación de funciones ecosistémicas como la descomposición orgánica (Buitron, 2021).

En términos económicos, el descubrimiento y posible desarrollo de cepas locales con alta actividad enzimática reduce costos asociados a la importación de enzimas industriales, disminuir insumos externos para actividades de tratamiento de

residuos o producción de bioproductos, y abrir posibilidades de emprendimientos locales basados en biotecnología (Ávila, Romero, & Juárez, 2025). Estudios en Ecuador muestran que la disminución de humedales por la acuicultura ha llevado a pérdidas de carbono valoradas económicamente.

Mejorar la comprensión de los procesos ecológicos que mantienen la salud de este lugar beneficia directamente al bienestar de esas comunidades, al preservar servicios ecosistémicos esenciales. Además, genera conciencia local sobre la importancia microbiana del suelo, incentivando la conservación y manejo sostenible.

Desde el punto de vista legal, la protección, conservación y manejo sostenible de manglares está respaldada en Ecuador por varios instrumentos normativos, el artículo 1 de la Ley Forestal y de Conservación de Áreas Naturales y Vida Silvestre reconoce los manglares como patrimonio del Estado, fuera del comercio, y su protección es parte del marco legal de conservación (MANUAL PARA INCENTIVO A CONSERVACION Y USO, 2014). Este estudio proporcionó evidencias científicas que respaldan políticas públicas, reglamentos locales y decisiones institucionales de manejo de suelo, restauración ecológica, permisos ambientales, contribuyendo a que las normas no sean solo declarativas sino aplicadas con base en datos funcionales locales.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Identificar microorganismos *Bacillus* y *Rhizopus* con actividad amilolítica y celulolítica mediante el aislamiento de cepas e identificación molecular determinando su capacidad biotecnológica en la producción de enzimas de interés industrial.

4.2. Objetivos específicos

- Aislar cepas de *Bacillus* y *Rhizopus* a partir de muestras de suelo de humedales mediante técnicas de cultivo con almidón y carboximetilcelulosa.
- Cuantificar la actividad enzimática amilolítica y celulolítica de las cepas *Bacillus* y *Rhizopus* mediante halos de hidrólisis.
- Identificar molecularmente las cepas con mayor actividad enzimática mediante amplificación y secuenciación del gen 16S rRNA.

5. HIPÓTESIS

H1: Los aislados locales de los suelos del humedal, presentan actividad amilolítica y celulolítica demostrando su capacidad biotecnológica para la producción de enzimas de interés industrial.

6. MARCO TEÓRICO

6.1. Generalidades y relación de los manglares y humedales

Los manglares son ecosistemas que se encuentran en las zonas intermareales de las costas tropicales o subtropicales. Presentan una vegetación que tiene adaptaciones fisiológicas, morfológicas, y reproductivas que les permiten adaptarse a diferentes condiciones de salinidad, inundaciones, vientos y temperaturas altas. Son uno de los ecosistemas más productivos en cuanto a la biomasa y tienen un gran impacto ambiental al ser barreras naturales contra inundaciones, tsunamis, refugio para especies, evitan la erosión, entre otros (Cordero et al., 2023).

Los humedales son extensiones de superficies cubiertas de agua, las cuales pueden ser permanentes o temporales, corrientes o estancadas, dulces o salobres, e incluso expansiones de agua de mar cuya profundidad no exceda los seis metros. A diferencia de cualquier otro ecosistema este se caracteriza por almacenar cantidades grandes de carbono, lo que ayuda a disminuir el calentamiento global. La variabilidad de los parámetros fisicoquímicos está relacionada por las condiciones hídricas determinadas por la temporalidad, es decir, depende si es temporada de lluvias o temporada secas (Abarca, 2023).

De este modo, la principal diferencia entre los manglares y humedales radica en que un humedal se le denomina a cualquier área terrestre que se encuentre cubierta o inundada de agua ya sea dulce, salada o salobre, mientras que el manglar es un tipo

especifico de humedal costero como ecosistema por lo tanto todo ecosistema manglar es un humedal, pero no todo humedal puede representar un ecosistema y denominarlo manglar (Torres et al., 2023).

6.1.1. Ciclo del carbono en humedales

Los microorganismos que se encuentran en la rizosfera se caracterizan por ser importantes en las interacciones con los residuos depositados en sedimentos, lo que pone a disposición nutrientes esenciales como el carbono, nitrógeno, fosforo, etc., mediante la transformación y descomposición de residuos de especies vegetales, que a su vez mediante exsudados de las raíces sirven de sustrato para las especies microbianas (Iriarte, 2023).

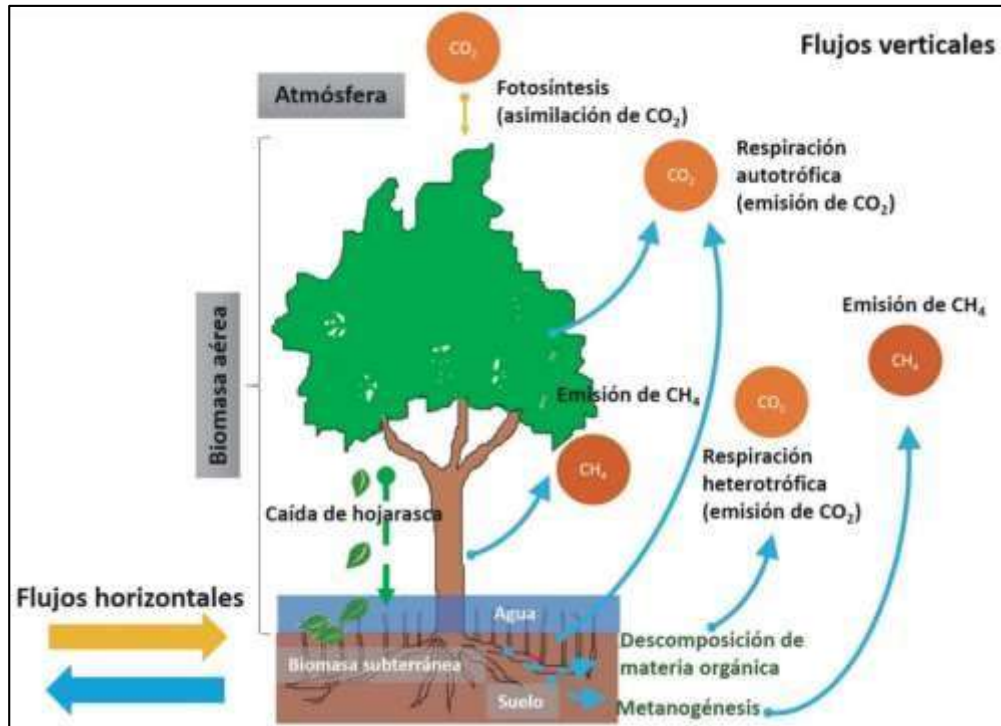
El funcionamiento de humedales se inicia con los Flujos Verticales que representa el movimiento de gases entre el ecosistema y el aire donde se realiza la asimilación o fotosíntesis. Segundo, se realiza el retorno de CO₂ a la atmosfera a través de la respiración autótrofa de la planta y la respiración heterótrofa de los microorganismos que descomponen la materia orgánica y en condiciones anaeróbicas el suelo libera metano (Benavides et al., 2024).

A continuación, los flujos horizontales o laterales que son los intercambios entre ecosistemas que ocurren a través de las mareas y el movimiento del agua, donde el carbono puede entrar o salir en forma de carbono orgánico disuelto o particulado hacia ecosistemas adyacentes como el océano abierto esto se visualiza en la figura 1 con las flechas amarillas que indican entradas y las celestes que indican salidas.

Por último, en los procesos internos y reservorios, el carbono se almacena en la estructura viva de la planta y en las raíces que representa biomasa subterránea, pero cuando cae la hojarasca es el proceso de transferencia de carbono de la biomasa aérea al suelo. Al final en el suelo y sedimento, es el reservorio más crítico donde ocurre la descomposición de la materia orgánica que queda enterrada por periodos largos o ser transformada por bacterias (Benavides et al., 2024).

Figura 1.

Diagrama general del ciclo del carbono en humedales.



Nota: Los reservorios de carbono están representados con cajas y los flujos con flechas. Las flechas color celeste corresponden a las salidas y amarillo a las entradas. Obtenido de Benavides et al., 2024.

6.2. Microorganismos en suelos de humedal.

Los microorganismos son el principal componente de la biomasa de sedimentos en humedales (Giani, et al., 2009), participan en el reciclaje biogeoquímico y flujo de elementos como el carbono, el nitrógeno, el fósforo y el azufre. Holguin et al. (2007), enfatizaron tres razones principales por las que estos organismos son considerados sostenedores:

- Las bacterias sulfato reductoras permiten la mineralización de la materia orgánica bajo condiciones anaerobias y microaerófilas.

- Las tasas de fijación biológica de nitrógeno que contribuyen con un 40 a 60% de los requerimientos de este elemento en el ecosistema.
- La presencia de bacterias de la rizósfera suministra nutrientes y compuestos bioactivos como reguladores del crecimiento.

6.2.1. Género *Bacillus*

El género *Bacillus* es un grupo de bacterias gran positivas de tamaño variable (0,5-10 um aprox.) que destacan por su crecimiento aerobio o en ocasiones anaerobio facultativo. Tienen una morfología bacilar con movilidad flagelar y su crecimiento ocurre en pH neutro, tolerando un amplio intervalo de temperaturas, aunque la mayoría de las especies son mesófilas (Tejera-Hernández et al., 2011).

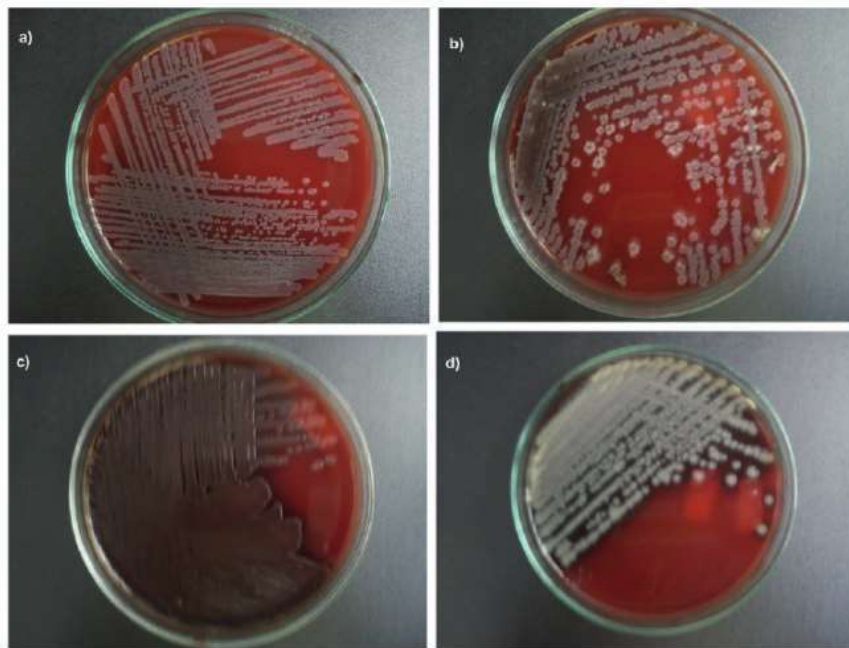
El género *Bacillus* forma parte de la familia Bacillaceae, cuyas especies más representativas son: *B. subtilis*, *B. brevis*, *B. cereus*, *B. pumilus* y *B. amyloliquefaciens*. Todas ellas constituyen una alternativa relevante como agentes de control biológico (BCAs) debido a su amplia distribución en el suelo y su capacidad de producir esporas resistentes a la desecación, el calor, la radiación UV y a solventes orgánicos (Leelasuphakul et al., 2008).

Los recuentos cultivables de especies de *Bacillus* en suelos se encuentra en el intervalo de log 3 a log 6 por gramo de peso fresco, no obstante, estudios de ARNr

en suelo contradicen la abundancia relativa de especies cultivables y no cultivables de este género bacteriano (Villarreal et al., 2018).

Figura 2.

Especies de Bacillus cultivadas en agar sangre



Nota. a). *B. licheniformis*, b). *B. subtilis*, c). *B. pumilus* y d). *B. cereus*. Tomado de “Evaluation of growth of four species of the genus *Bacillus* sp., the first step to understand their biocontrol effect on *Fusarium* sp.” por Castañeda & Consuelo (2016).

6.2.2. Género *Rhizopus*

El género *Rhizopus* pertenece a los hongos filamentosos del filo Mucoromycota, los cuales se caracterizan por su rápido crecimiento y su capacidad de colonizar sustratos ricos en materia orgánica como suelos, residuos vegetales y humedales. Petruzzello (2016) menciona que, en agar PDA, esta especie desarrolla colonias de rápido crecimiento con abundante micelio aéreo de textura algodonosa, inicialmente de color blanco a gris claro, que posteriormente adquieren una tonalidad gris oscura tras la esporulación.

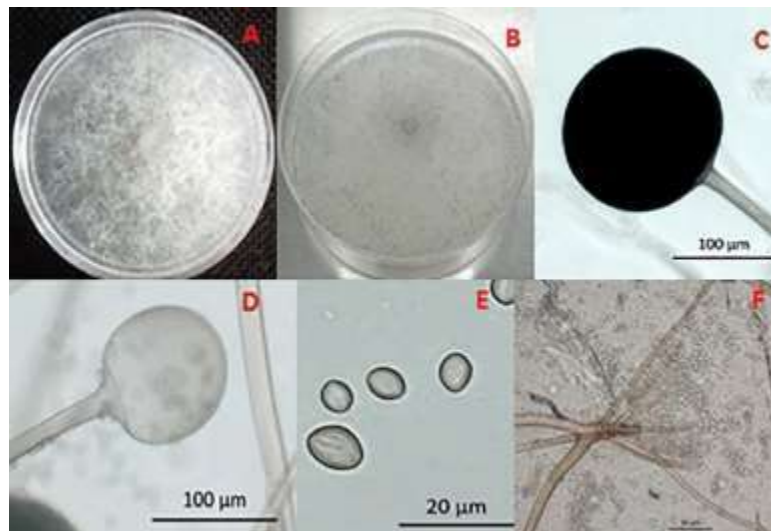
A nivel microscópico, presenta hifas anchas y cenocíticas (sin septos), conocidas como estolones, además de rizoides de los que emergen esporangióforos robustos que sostienen esporangios globosos de color marrón oscuro a negro, provistos de columela y apófisis bien definidas (Figura 3).

La mayoría de las especies de *Rhizopus* son de hábito saprófito, aunque algunas especies pueden ser parasitarias o patógenas de plantas, animales y el ser humano, de hecho, son los causantes del deterioro de los alimentos, pudrición en hojas y frutos de plantas como el tabaco, fresas y papaya. A pesar de ello, este hongo es ampliamente utilizado en la industria para la fabricación de bebidas alcohólicas y algunos alimentos fermentados, así como en remediación ambiental (Cantabrana et al., 2015). En especies como *Rhizopus oryzae* y *R. oligosporus* se aprovechan sus

α -glucoamilasas y proteasas para la fermentación de alimentos orientales (Cruz et al., 2017).

Figura 3.

Características morfológicas del género Rhizopus



Nota: A. micelio algodonoso en PDA, B. esporangios negros, C. esporangio globoso multiesporado, D. columela globosa, E. esporangiosporas estriadas y F. rizoides basal.

6.3. Enzimas hidrolíticas.

Las hidrolasas constituyen una clase de enzimas que catalizan la ruptura de enlaces químicos mediante reacciones de hidrólisis, utilizando una molécula de agua para descomponer compuestos complejos en moléculas más simples. Dentro de este grupo se encuentran las amilasas y las celulasas, enzimas encargadas de degradar polisacáridos como el almidón y la celulosa, respectivamente (Foltman, 2025).

6.3.1. Índice enzimático

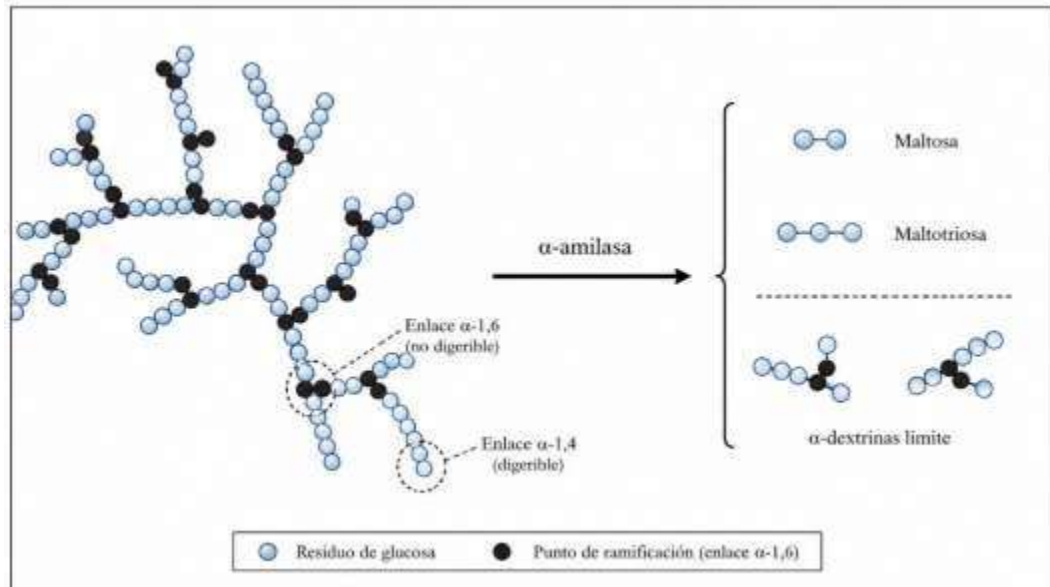
El índice enzimático es un parámetro semicuantitativo utilizado que mide la capacidad de un microorganismo para producir enzimas extracelulares sobre un sustrato específico. Este índice se determina a partir de la relación entre el diámetro del halo de hidrólisis generado por la acción enzimática y el diámetro de la colonia microbiana, permitiendo estimar de manera indirecta la eficiencia en la producción de enzimas. Un valor elevado del índice enzimático indica una mayor capacidad del microorganismo para hidrolizar el sustrato presente en el medio de cultivo y, por consiguiente, un mayor potencial biotecnológico (Claro, 2023).

1.1.1. Actividad amilolítica.

La actividad amilolítica corresponde a la capacidad que poseen ciertos microorganismos para sintetizar y secretar enzimas denominadas amilasas encargadas de catalizar la hidrólisis del almidón. El almidón es uno de los polisacáridos más abundantes en la naturaleza y está compuesto principalmente por amilosa y amilopectina, unidas mediante enlaces glucosídicos α -1,4 y α -1,6. La degradación de este polímero facilita la transformación de materia orgánica compleja en compuestos más fácilmente asimilables por otros organismos del ecosistema (Monteiro de Souza & Oliveira Magalhães, 2010).

Figura 4.

Degradación enzimática del almidón por la amilasa.



Nota: La enzima hidroliza los enlaces α -1,4 internos de la cadena de almidón liberando maltosa, maltotriosa y α - dextrinas límite. Los enlaces α -1,6 no son hidrolizados por la α - amilasa.

Aunque las enzimas amilolíticas pueden obtenerse a partir de diversas fuentes, incluyendo plantas, animales, bacterias y hongos, las de origen microbiano son las más empleadas debido a las ventajas que ofrecen. Entre ellas destacan el rápido crecimiento de los microorganismos, su amplia diversidad bioquímica, que se traduce en una gran variedad de actividades catalíticas, la disponibilidad continua al no depender de variaciones estacionales y la facilidad para su manipulación genética (Carvalho et al., 2021).

Las amilasas termoestables son consideradas unas de las enzimas de mayor interés para la industria alimentaria debido a su capacidad de conservar su actividad y estabilidad en condiciones de altas temperaturas durante diversos procesos industriales (Ardhi et al., 2020). Estas propiedades permiten acelerar las reacciones enzimáticas, mejorar la solubilidad de los sustratos y disminuir el riesgo de contaminación por microorganismos, incrementando la eficiencia de los procesos (Farooq et al., 2021). Por esta razón, los microorganismos termófilos que se desarrollan en ambientes naturalmente cálidos representan una fuente valiosa para el aislamiento de amilasas termoestables con aplicaciones biotecnológicas e industriales.

1.1.1. Actividad celulolítica

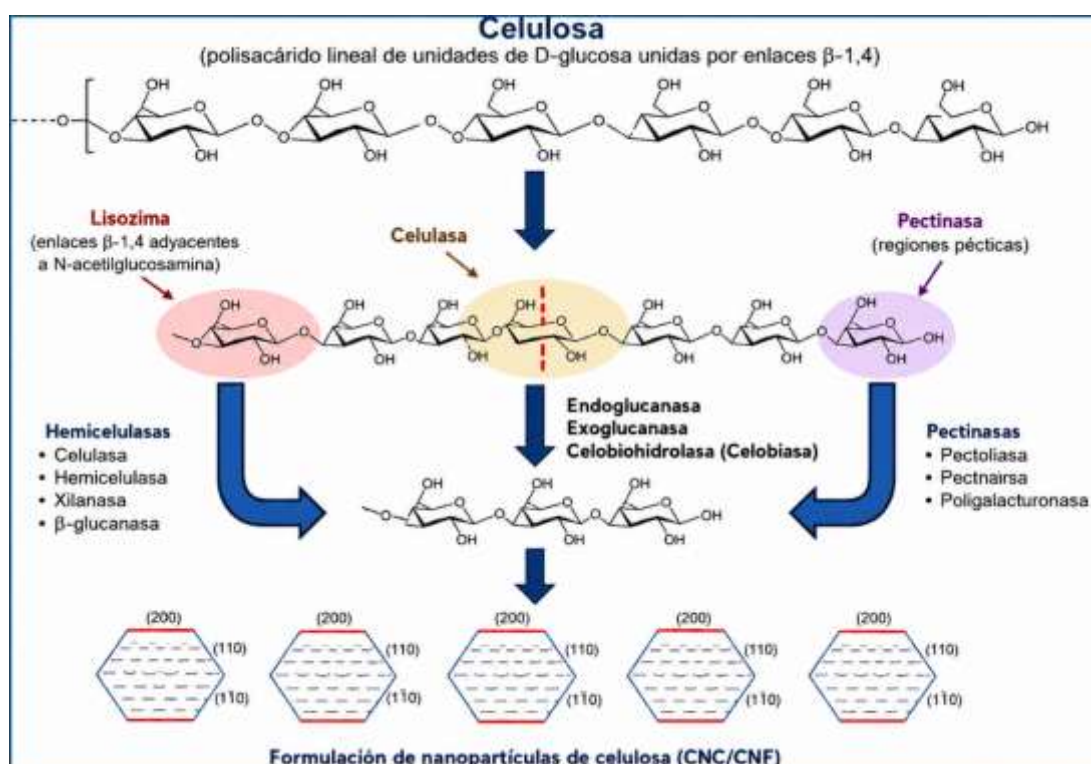
La actividad celulolítica se define como la capacidad de determinados microorganismos para degradar la celulosa mediante la producción de enzimas especializadas denominadas celulasas (Bautista et al., 2024). La celulosa es el polisacárido estructural más abundante en la biosfera y constituye el principal componente de la pared celular de las plantas, por lo cual se estima que representa una proporción significativa de la biomasa terrestre y constituye una de las mayores reservas de carbono renovable del planeta (Gaňan et al., 2014).

El sistema celulolítico está integrado principalmente por tres grupos de enzimas: las endoglucanasas que atacan regiones internas de la cadena de celulosa,

generando nuevos extremos libres; las celobiohidrolasas que actúan sobre dichos extremos liberando moléculas de celobiosa; y las β -glucosidasas que hidrolizan la celobiosa produciendo glucosa (Bhardwaj et al., 2021).

Figura 5.

Hidrólisis enzimática de la celulosa para la obtención de nanopartículas.



Nota: Se muestra la acción de enzimas como celulasas, hemicelulasas, xilanasas y pectinasas sobre la estructura de la celulosa, promoviendo la ruptura de los enlaces β -1,4-glucosídicos y la liberación de nanocrisales (CNC) y nanofibras de celulosa (CNF).

1.2. Antecedentes de la investigación

Ramírez y Coha (2003) aislaron actinomicetos termófilos con capacidad celulolítica y evaluaron su actividad enzimática, demostrando el potencial de estos microorganismos para la degradación de la celulosa. De manera similar, en suelos agrícolas cultivados con *Stevia rebaudiana*, se determinó la presencia de actividad celulolítica microbiana, confirmando que este tipo de ambientes alberga comunidades con capacidad de degradar materiales celulósicos (Agronomía Colombiana, 2008), posteriormente, Guzmán Cedeño et al. (2014) aislaron y caracterizaron hongos celulolíticos provenientes de suelos de Manabí, Ecuador.

En cuanto a las bacterias del género *Bacillus*, Maki et al. (2011) documentaron el potencial celulolítico de especies pertenecientes a este género, mientras que Chantarasiri (2015) aisló *Bacillus cereus* con actividad celulolítica a partir de sedimentos de manglar. Asimismo, Camacho et al. (2021) y Hossain et al. (2021) reportaron cepas de *Bacillus* con elevada actividad celulolítica y destacaron su importancia para el aprovechamiento de residuos vegetales.

Los ecosistemas de manglar representan ambientes particularmente favorables para el desarrollo de microorganismos degradadores de materia orgánica debido al continuo aporte de hojarasca y restos vegetales. En este contexto, Silva-Ontiveros et al. (2024) evaluaron el comportamiento estacional de bacterias heterótrofas y su

actividad celulolítica en sedimentos de *Avicennia germinans*, encontrando que la actividad microbiana se relaciona con la producción de hojarasca y con variables fisicoquímicas del agua y del sedimento.

Respecto a los microorganismos productores de amilasas, los hongos también representan una fuente importante de enzimas de interés industrial: En Ecuador, Tamayo (2021) realizó la caracterización molecular de un hongo marino aislado de la Reserva Ecológica Manglares Churute e identificó la especie *Savoryella nypae*, analizando su actividad amilolítica y constituyendo el primer reporte de esta especie para el país y para los manglares de la costa del Pacífico de América del Sur. A pesar de estos avances, las investigaciones enfocadas en el aislamiento de microorganismos con actividad amilolítica y celulolítica en humedales de manglar del litoral ecuatoriano continúan siendo limitadas, particularmente en la provincia.

1.3. Marco Legal

La investigación se sustenta en el marco jurídico ecuatoriano, el cual promueve la conservación de la biodiversidad, la protección de los ecosistemas estratégicos y el desarrollo de la investigación científica orientada al aprovechamiento sostenible de los recursos biológicos (Martínez, 2019):

1.3.1. Constitución de la República del Ecuador.

La Constitución de la República del Ecuador reconoce a la naturaleza como sujeto de derechos. En el artículo 71 establece que la naturaleza tiene derecho al respeto integral de su existencia al mantenimiento y regeneración de sus ciclos vitales, estructura, funciones y procesos evolutivos (Asamblea Constituyente, 2008).

Por su parte, el artículo 73 dispone que el Estado aplicará medidas de precaución y restricción frente a actividades que puedan ocasionar la extinción de especies, la destrucción de ecosistemas o la alteración permanente de los ciclos naturales, prohibiendo la introducción de organismos o materiales que puedan modificar el patrimonio genético nacional. Estas disposiciones respaldan la realización de investigaciones en pro al conocimiento y conservación de la biodiversidad microbiana presente en ecosistemas frágiles (Asamblea Constituyente, 2008).

1.3.2. Código orgánico del Ambiente (COA).

El Código Orgánico del Ambiente (COA) es el principal instrumento jurídico para la gestión ambiental en el Ecuador cuyo objetivo es garantizar el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado mediante la conservación, restauración y uso sostenible del patrimonio natural. Complementariamente, reconoce la importancia de la investigación científica para

incrementar el conocimiento sobre la biodiversidad y promover el aprovechamiento sostenible de los recursos biológicos, principios que sustentan esta investigación (CÓDIGO ORGÁNICO DEL AMBIENTE, 2017).

1.3.3. Objetivos de Desarrollo Sostenible

La presente investigación se relaciona principalmente con el ODS 9: Industria, innovación e infraestructura al promover el desarrollo de la biotecnología mediante la identificación de microorganismos con capacidad para producir enzimas de interés industrial. Asimismo, se vincula con el ODS 15: Vida de ecosistemas terrestres, debido al estudio de la biodiversidad microbiana en suelos de manglar, contribuyendo al conocimiento y conservación de estos ecosistemas y por último se asocia con el ODS 12: producción y consumo responsables al fomentar el uso de procesos biotecnológicos sostenibles (PNUD, 2026).

2. METODOLOGÍA

2.1. Tipo de investigación

La investigación se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo, con un diseño descriptivo y experimental. El enfoque cuantitativo permitió medir la actividad enzimática y aplicar análisis estadísticos que evaluaron las diferencias entre las cepas estudiadas. Por otro lado, el diseño descriptivo se empleó para caracterizar las bacterias aisladas en función de sus características morfológicas, su actividad enzimática y su identificación molecular.

2.2. Área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en los humedales de Punta Carnero, que se encuentra ubicado en el Cantón Salinas de la provincia de Santa Elena-Ecuador (Figura 6). Este ecosistema se caracteriza por su autenticidad y fragilidad ya que funciona como hábitats de reproducción y desove para diferentes especies de aves, posee un alto nivel de representatividad por encontrarse en una zona adyacente a un área protegida (REMACOPSE) y en él se realizan actividades como la extracción de petróleo y sal (Escandón, Elao, Escandón, & Velástegui, 2022).

Figura 6.

Ubicación geográfica del área de estudio



Nota: Ubicación geográfica en tres escalas espaciales: (1) localización de la Provincia de Santa Elena dentro del territorio ecuatoriano; (2) ubicación del sector Punta Carnero; y (3) vista satelital detallada del humedal.

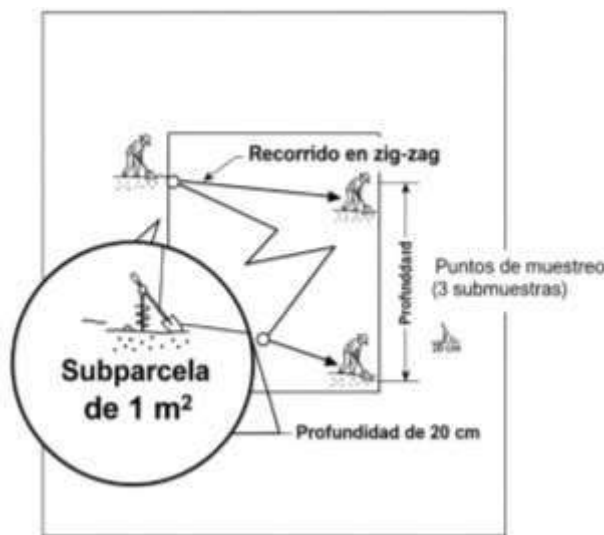
2.3. Fase de campo

2.3.1. Muestreo

Se delimitó un área representativa de 400 m² (20 x 20 m) dentro del humedal y en el interior se establecieron subparcelas de 1 m², donde se aplicó un recorrido en zigzag y se recolectaron una submuestras de suelo a una profundidad de 20 cm en vértices predeterminados (Figura 7). Las submuestras fueron homogeneizadas para conformar una muestra compuesta y almacenarlas en bolsas plásticas herméticas para su traslado hasta el laboratorio manteniéndolas en una temperatura de 4°C.

Figura 7.

Esquema del área de estudio a muestrear



Nota. Las líneas representan el recorrido en zigzag. los círculos representan los vértices para la toma de muestra.

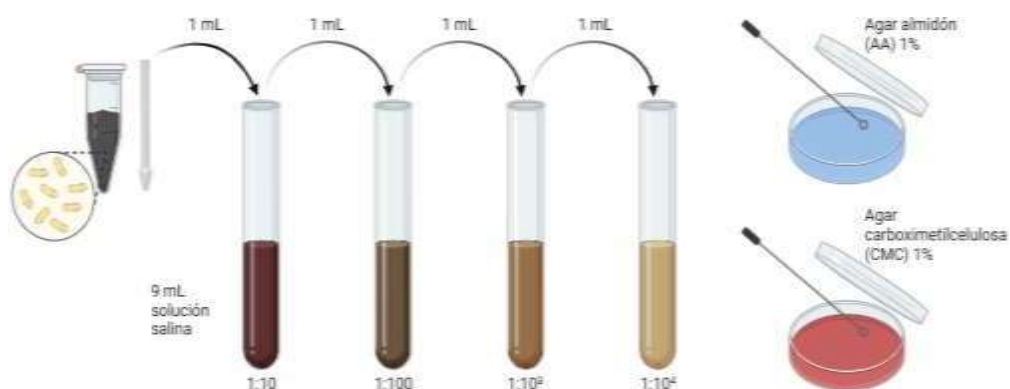
2.4. Fase de laboratorio

2.4.1. Aislamiento

Para el aislamiento de bacterias, se utilizó 1 g de la muestra, el cual se suspendió en 9 mL de solución salina estéril para preparar la dilución inicial. Posteriormente, se realizaron diluciones seriadas en base 10 hasta 10^{-4} con el fin de evitar un crecimiento excesivo de colonias en las placas y facilitar su recuento y aislamiento. (Sánchez et al., 2020; Panchana, 2025).

Figura 8.

Diluciones seriadas en base 10 y siembra por superficie en cajas Petri



Posteriormente se inoculó 100 µL de las concentraciones utilizando la técnica de siembra por superficie en placas de Petri que contenían Agar almidón (AA) al 1% para aislar microorganismos amilolíticos y agar carboximetilcelulosa (CMC) al 1% para aislar microorganismos celulolíticos y se incubaron a 30°C durante 5 días (Sánchez et al., 2020). La composición de los medios de cultivo utilizados se presenta en las tablas 1 y 2.

Tabla 1.*Composición del medio agar carboximetilcelulosa*

Ingredientes	1000 mL	300 mL
	g/L	g/L
Extracto de levadura	2,5	0,75
Peptona	2,5	0,75
Sulfato de amonio	0,5	0,15
Cloruro de calcio	0,5	0,15
Fosfato de potasio monobásico	0,1	0,03
Fosfato de potasio dibásico	0,1	0,03
Agar	15	4,5

Nota. Para la preparación de 300 mL de agar CMC se utilizó como referencial la formulación original expresada en g/L para 1000 mL de cultivo.

Tabla 2.*Composición del medio agar almidón*

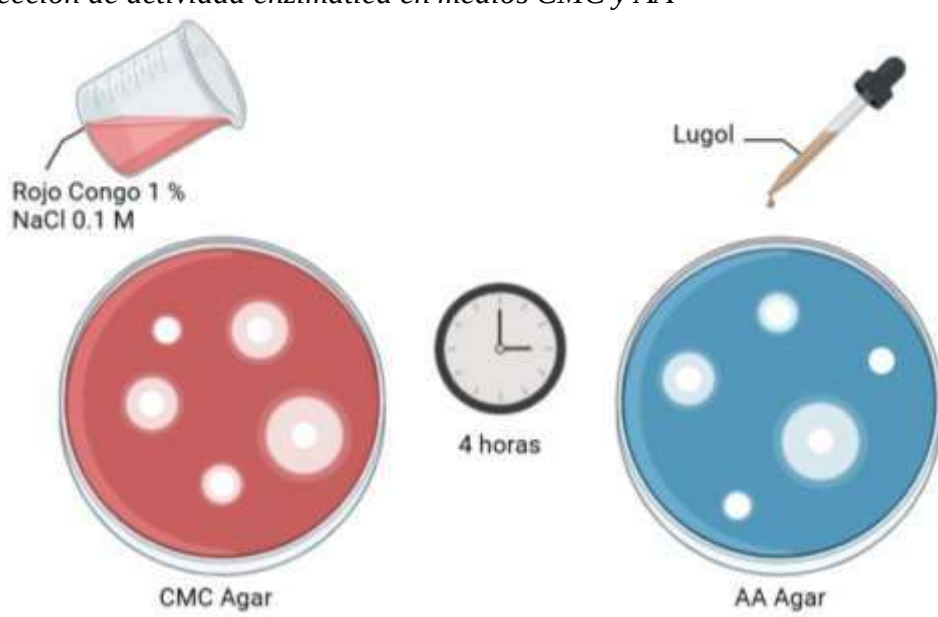
Ingredientes	1000 mL	300 mL
	g/L	g/L
Almidón	2	0,6
Peptona	5	1,5
Agar Agar	15	4,5

Nota. Para la preparación de 300 mL de agar AA se utilizó como referencial la formulación expresada en g/L para 1000 mL de cultivo.

Después de los 5 días de incubación se observaron las colonias que crecieron en agar CMC y se les adicionó rojo Congo al 1% y NaCl 0.1 M, reposando un periodo de cuatro horas para observar los halos de hidrólisis (Teather & Wood, 1982). Mientras que para el agar AA se adicionó Lugol sobre las colonias y se observó la presencia de halos de hidrólisis. Cada cepa aislada fue codificada con el tipo de actividad enzimática: C para celulolíticos y A para amilolíticos.

Figura 9.

Detección de actividad enzimática en medios CMC y AA



Se midió el diámetro del halo de aclaramiento en cada colonia. Como criterio de preselección se consideraron colonias con halos mayores a 3 mm y para ello se calculó el radio de hidrólisis:

$$\text{Radio de hidrólisis (RH)} = \frac{\text{tamaño del halo}}{\text{tamaño de la colonia}}$$

El RH muestra la relación halo/colonia y, por tanto, la eficiencia de secreción.

Por ejemplo, si halo = 10 mm y colonia = 5 mm $\rightarrow$ RH = 2.

2.4.2. **Identificación molecular mediante PCR.**

Para la identificación molecular, en las bacterias del género *Bacillus* se amplificó mediante PCR el gen 16S rRNA es específicamente las regiones V3-V4; 341F: CCTACGGGNGGCWGCAG a 805R: GACTACHVGGGTATCTAATCC.

Mientras que para la identificación de hongos del género *Rhizopus* se amplificó la región ITS86 F: GTGAATCATCGAATCTTTGAA a ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC del ADN ribosómico.

El material genético se extrajo de la muestra recibida utilizando el método basado en columnas. La calidad y la cantidad del material genético se realizó mediante los métodos de gel de electroforesis y cuantificación fluorométrica respectivamente. Con el material genético cualificado se procedió a la amplificación de la región de interés que se especifica en el reporte, la unión de adaptadores a ambos lados de este o estos fragmentos generados, mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa o PCR.

Después de cada proceso de amplificación se realizó una limpieza de los fragmentos deseados mediante el método basado en perlas. La calidad y la cantidad de las

librerías preparadas se realizó mediante los métodos de gel de electroforesis y cuantificación fluorométrica respectivamente. Una vez cualificadas las librerías se secuenciaron usando el método de secuenciación por síntesis de Illumina usando lecturas PE: 250x2. Los análisis primarios de transformación de imágenes en secuencias genéticas o llamado de variantes se realizan en el mismo instrumento bajo el software de propiedad de la misma marca, generando los archivos BCL, como producto final.

Los archivos Fastq, fueron sometidos a un proceso de calidad y filtrado para garantizar la clasificación taxonómica, por lo cual se implementó un algoritmo de alto rendimiento del clasificador Ribosomal Database Project (RDP) descrito en Wang Q. et al (2007). La base de datos utilizada para bacteria fue RefSeq RDP 16S v3, basada en un conjunto de archivos FASTA de: <https://benjjneb.github.io/dada2/training.html>. Secuencias del gen 16S rRNA con formato DADA2 para bacterias y arqueas (Versión 2). La base de datos utilizada para fungi fue UNITE Fungal ITS, basada en un conjunto de archivos FASTA de: <https://doi.org/10.15156/BIO/587475>. UNITE general FASTA release. Version 01.12.2017. UNITE Community.

2.4.2.1. Limitaciones de la prueba

La calidad de los resultados dependió de factores como: cantidad de material genético, calidad del material genético, condiciones de almacenamiento y transporte, método de extracción, tipo de muestra, presencia de contaminantes, entre otros. Los análisis bioinformáticos se apoyan en diversas bases de datos tanto públicas como privadas que se alimentan día a día, por lo que los resultados entregados se basan en la información disponible en estas fuentes a la fecha de entrega del presente reporte.

2.5. Análisis de datos

Para el análisis estadístico se usó el Software RStudio. Inicialmente, se realizó un análisis descriptivo de las variables analizadas incluyendo diámetro de la colonia, diámetro del halo de hidrólisis, y radio de hidrólisis, calculando para cada una la media, desviación estándar y valores máximos y mínimos.

Se verificó el cumplimiento de los supuestos estadísticos mediante la prueba de Shapiro- Wilk considerando un nivel de significancia $\alpha = 0,05$. Como los datos recopilados en los aislamientos en agar almidón no son normales, la comparación del RH entre ambos medios de cultivo se realizó utilizando la prueba no paramétrica de Mann- Whitney.

Por último, para relacionar el diámetro de las colonias con el halo de hidrólisis se aplicó el coeficiente de correlación de Spearman, calculándolo de forma independiente para los aislamientos obtenidos en agar almidón y agar carboximetilcelulosa. La fuerza de asociación entre las variables se interpretó de acuerdo al coeficiente de correlación considerando un nivel de significancia de 0,05.

3. RESULTADOS

3.1. Aislamiento y caracterización de colonias

A partir de las muestras de suelo recolectadas en el humedal de Punta Carnero se contabilizaron un total de 72 colonias microbianas, de las cuales, 44 crecieron en agar almidón (AA) y 28 en agar carboximetilcelulosa (CMC) (Tabla 3).

Tabla 3.

Número de aislamientos en los medios selectivos

Medio de cultivo	Nº de colonias
Agar almidón (AA)	44
Agar CMC	28
Total	72

3.2. Actividad amilolítica en agar almidón

El radio de hidrolisis en las colonias crecidas en agar almidón oscilaron entre 1 y 4, con una media de $2,42 \pm 0,93$ mm. El diámetro total de las colonias presentó un promedio de $4,65 \pm 1,66$ mm y el diámetro del halo evidenciado mediante la adición de Lugol fue de $4,42 \pm 2,22$ mm con un rango comprendido entre 1 y 9 mm (Tabla 4).

Tabla 4.

Morfometría y actividad hidrolítica de los aislamientos cultivados en agar almidón.

Variable	Media + DE (mm)	Mínimo (mm)	Máximo (mm)
DT	4,65 ± 1,66	2	8,6
DC	1,77 ± 0,62	1	3
DH	4,42 ± 2,22	1	9
RH	2,42 ± 0,93	1	4

Nota. DT: diámetro total; DC: diámetro de la colonia; DH diámetro del halo de hidrólisis; RH: radio de hidrólisis. Los datos corresponden al promedio ± la desviación estándar (DE) de los 44 aislamientos en agar AA.

De los 44 aislamientos, 18 presentaron un radio de hidrólisis ≥ 3 , donde destacaron los aislamientos AA4-1 y AA4-2 con un RH de 4 al igual que AA3-2, AA4-5 y AA5-1 con valores superiores a 3,5 (Tabla 5).

Tabla 5.

Aislamientos en agar AA con RH ≥ 3 .

Código	DT (mm)	DC (mm)	DH (mm)	AH (mm)	RH
AA1-5	4	1	3	1,5	3,00
AA1-6	4	1	3	2,5	3,00
AA3-1	5,8	2,2	7,2	3,6	3,27
AA3-2	5,2	1,8	6,8	3,4	3,78
AA4-1	6	2	8	4	4,00
AA4-2	4,5	1,5	6	3	4,00
AA4-3	5	2	6	3	3,00

AA4-4	3,8	1,5	4,6	2,3	3,07
AA4-5	7	2,5	9	4,5	3,60
AA4-6	4,8	1,8	6	3	3,33
AA4-7	5,5	2,2	6,6	3,3	3,00
AA4-8	7,5	3	9	4,5	3,00
AA5-1	4,2	1,5	5,4	2,7	3,60
AA5-2	5,4	2	6,8	3,4	3,40
AA5-3	3,2	1,2	4	2	3,33
AA5-4	4,7	1,8	5,8	2,9	3,22
AA5-5	5,6	2,2	6,8	3,4	3,09
AA5-6	2,5	1	3	1,5	3,00

Nota. Los códigos de los aislamientos son los siguientes: AA corresponde a agar almidón; el primer número identifica la placa de origen y el segundo a la colonia aislada dentro de dicha placa. Se presentan únicamente los aislamientos con valores de $RH \geq 3$, considerados con mayor potencial amilolítico.

3.3. Actividad celulolítica en agar carboximetilcelulosa

Por el contrario, el radio de hidrólisis en los aislamientos con actividad celulolítica tras la adición de rojo Congo osciló entre 1,90 y 6,00 con una media de $4,19 \pm 0,78$. El diámetro total de las colonias presentó un promedio de 7,25 mm mientras que, el diámetro promedio del halo de hidrólisis fue de 9,89 mm (Tabla 6).

Tabla 6.

Morfometría y actividad hidrolítica de los aislamientos cultivados en agar CMC.

Variable	Media + DE (mm)	Mínimo (mm)	Máximo (mm)
DT	7,25 ± 5,49	2,4	32
DC	2,33 ± 1,45	0,8	8
DH	9,89 ± 8,18	3,2	48
RH	4,19 ± 0,78	1,9	6

Nota. DT: diámetro total; DC: diámetro de la colonia; DH diámetro del halo de hidrólisis; RH: radio de hidrólisis. Los datos corresponden al promedio ± la desviación estándar (DE) de los 28 aislamientos en agar CMC.

El 51,85% de los aislamientos presentó un RH en el rango de 4,00–4,49, mientras que únicamente un aislamiento (3,7 %) presentó un RH superior a 5,50. Cabe destacar que el valor máximo correspondió al aislamiento CMC3-1 (RH = 6,00) (Tabla 7).

Tabla 7.

Morfometría y actividad hidrolítica de los aislamientos cultivados en agar CMC.

Rango de RH	Frecuencia	Porcentaje	Código de colonias
3,00- 3,49	4	14,81	CMC4-5, CMC4-6, CMC4-7, CMC5-8.
3,50- 3,99	2	7,4	CMC2-3, CMC4-3
4,00- 4,49	14	51,85	CMC1-1, CMC2-2, CMC3-2, CMC4-1, CMC4-2, CMC5-2, CMC5-3, CMC5-4, CMC5-5, CMC5-6, CMC5-7, CMC6-2, CMC6-3, CMC6-4
4,50- 4,99	2	7,4	CMC4-4, CMC5-11
5,00- 5,49	4	14,81	CMC2-1, CMC5-1, CMC5-10, CMC6-1
≥ 5,50	1	3,7	CMC3-1

Nota. Los códigos de los aislamientos son los siguientes: CMC corresponde a agar carboximetilcelulosa; el primer número identifica la placa de origen y el segundo a la colonia aislada dentro de dicha placa. La frecuencia y el porcentaje corresponde al número de aislamientos ubicados en cada rango de RH.

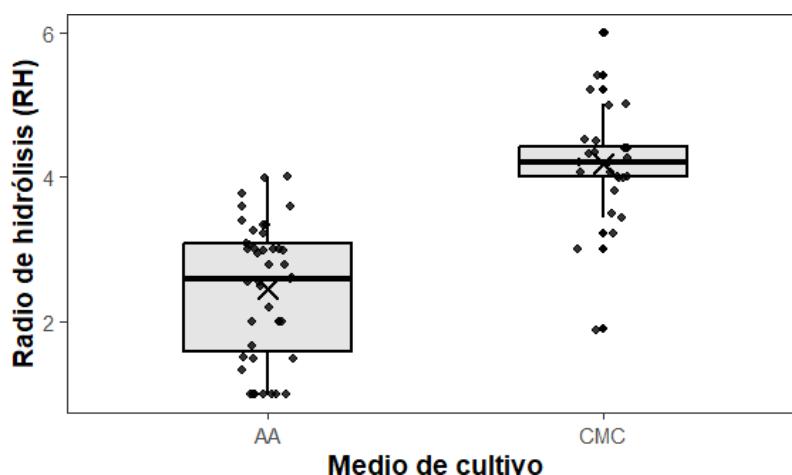
3.4. Comparación de la actividad hidrolítica entre los aislamientos amilolíticos y celulolíticos.

La prueba de normalidad de Shapiro-Wilk indicó que los datos de AA no siguieron una distribución normal ($W = 0,924$; $p = 0,007$) al contrario de los valores de CMC ($W = 0,939$; $p = 0,105$). Por tal razón, la comparación entre grupos se realizó

mediante la prueba no paramétrica de Mann-Whitney donde los resultados evidenciaron diferencias altamente significativas entre ambos medios de cultivo ($W = 71,5$; $p < 0,001$), indicando que los aislamientos obtenidos en agar carboximetilcelulosa presentaron una actividad hidrolítica significativamente superior a los aislados en agar almidón (Figura 10).

Figura 10.

Comparación del RH de los aislamientos obtenidos en agar AA y CMC.



Nota. Las cajas representan el rango intercuartílico, la línea horizontal interna corresponde a la mediana y los bigotes muestran la dispersión de los datos. Los puntos representan observaciones individuales y valores atípicos. Se observaron diferencias significativas en el RH entre ambos medios de cultivo (Mann-Whitney, $p < 0,001$).

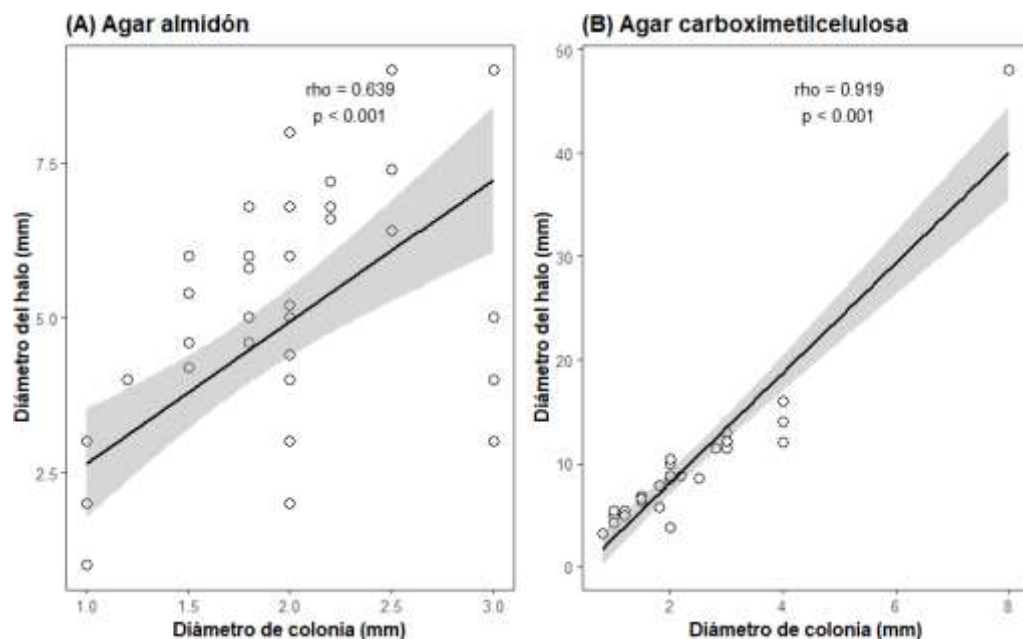
3.4.1. *Relación entre el crecimiento colonial y la actividad hidrolítica.*

El análisis de correlación de Spearman entre el diámetro de la colonia (DC) y el diámetro del halo de hidrólisis (DH) en colonias amilolíticas mostró una correlación

positiva moderadamente fuerte y significativa ($\rho = 0,639$; $p < 0,001$), es decir, las colonias de mayor tamaño tendieron a generar halos de hidrólisis más amplios. Sin embargo, los aislamientos obtenidos en agar carboximetilcelulosa (CMC) presentaron una correlación positiva aún mayor ($\rho = 0,919$; $p < 0,001$), evidenciando la estrecha asociación entre el crecimiento colonial y la capacidad de degradación de la celulosa (Figura 11).

Figura 11.

Relación entre el crecimiento colonial y la actividad hidrolítica en agar AA y



CMC.

Nota. Cada punto representa un aislamiento individual, la línea continua corresponde al ajuste lineal y la banda sombreada representa el intervalo de confianza del 95%.

3.5. Identificación molecular de los aislados

Las dos muestras analizadas (A-A y A-CM) presentaron ADN de calidad adecuada como muestra la tabla 8, obteniéndose tamaños de librería de 600 pb, un porcentaje de calidad Q30 de 81,54 % y un total de 20 425 y 23 989 lecturas para las muestras A-A y A-CM, respectivamente (Tabla 8).

Tabla 8.

Parámetros de calidad de la secuenciación NGS.

MUESTRA ID	Muestra	Muestra		Librería		Secuenciación	
		Conc. (ng/μl)	Integridad (pb) >1500 pb	Conc. (ng/μl)	Tamaño	Q30 >70%	Lecturas
260610022-001-16s	A-A	6.1	Detectado	208	600	81.54	20.425
26061002-003-16S	A-CM	7.4	Detectado	172	600		23.989

Nota. ng/μl = nanogramos por microlitro; pb = pares de bases; Q30 = porcentaje de bases con una puntuación de calidad Phred ≥ 30 , equivalente a una precisión de lectura aproximada del 99,9 %. El criterio de aceptación para la calidad de la secuenciación fue un valor de Q30 superior al 70 %.

3.5.1. Análisis de secuencias y detección de géneros fúngicos

A pesar de que el planteamiento inicial de la investigación contempló el análisis de microorganismos pertenecientes a los géneros *Bacillus* y *Rhizopus*, el análisis taxonómico de las secuencias obtenidas mediante la amplificación de la región ITS, marcador molecular ampliamente utilizado para la identificación de hongos, no

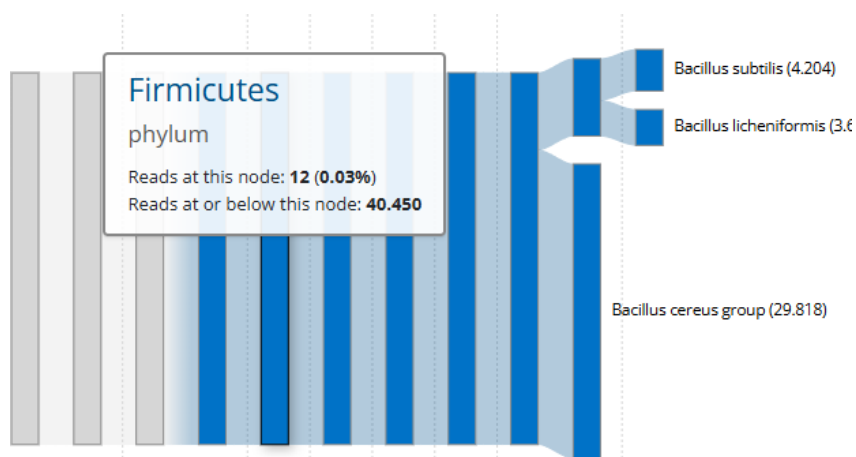
evidenció secuencias correspondientes al género *Rhizopus*. La ausencia de secuencias correspondientes a *Rhizopus* no implica necesariamente que este género esté ausente en el ecosistema de Punta Carnero, sino únicamente que no fue detectado en las muestras procesadas bajo las condiciones metodológicas empleadas, además, factores como la eficiencia del aislamiento, la abundancia relativa del microorganismo en el suelo, la competencia microbiana durante el cultivo o la selección de las colonias destinadas al análisis molecular pueden influir en su recuperación e identificación.

3.5.2. *Identificación de cepas aisladas en agar almidón.*

En la muestra A-A se clasificaron un total de 40 662 lecturas mostrando que la comunidad bacteriana estaba formada por microorganismos pertenecientes al superreino Bacteria, con un predominio del Filo Firmicutes, la clase Bacilli, el orden Bacillales, familia Bacillaceae y el género *Bacillus* (Figura 12).

Figura 12.

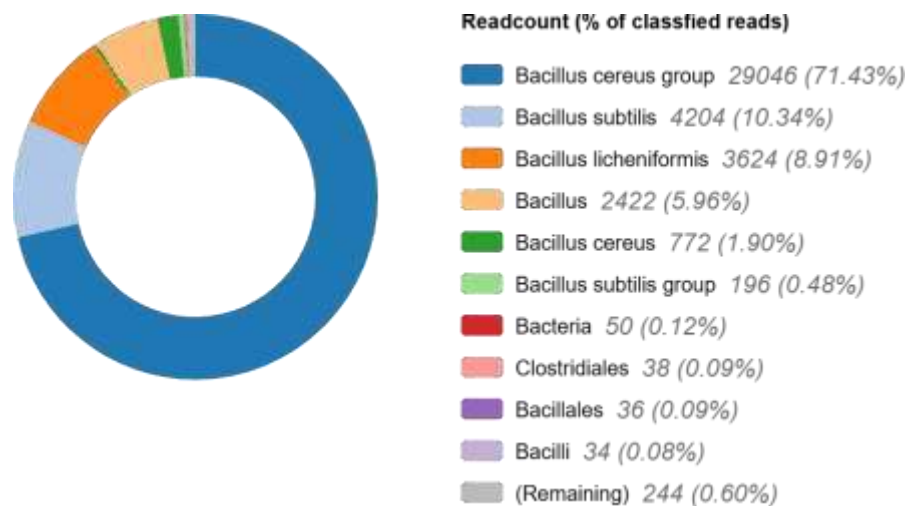
Clasificación taxonómica de los microorganismos encontrados en la muestra A-A



La especie *Bacillus cereus* fue el taxón predominante, representando el 71,43% de las lecturas clasificadas (29 046 lecturas) seguido de *B. subtilis* (10,34%) y *B. licheniformis* (8,91%). Un 5,96% de las lecturas también correspondieron al género *Bacillus*, cuyas secuencias no pudieron asignarse a una especie específica (2 422 lecturas). Además, otros taxones fueron detectados en proporciones considerablemente menores, entre ellos Bacteria (0,12 %), Clostridiales (0,09 %), Bacillales (0,09 %) y Bacilli (0,08 %), mientras que el resto de los microorganismos presentó abundancias individuales inferiores al 0,06 % (Figura 13).

Figura 13.

Abundancia relativa de los principales taxones identificados en la muestra A-A

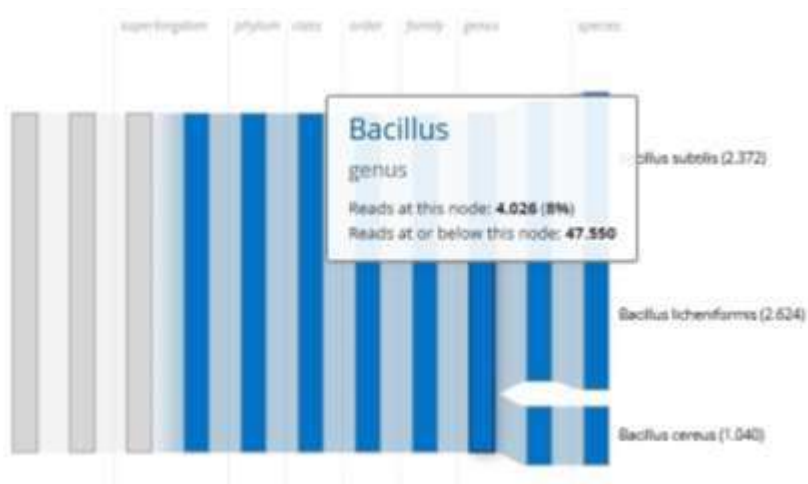


3.5.3. *Identificación de cepas aisladas en agar CMC*

Al igual que la muestra anterior, los microorganismos identificados en A- CM pertenecen en su mayoría al superreino Bacteria, con un predominio del Filo Firmicutes (Figura 14).

Figura 14.

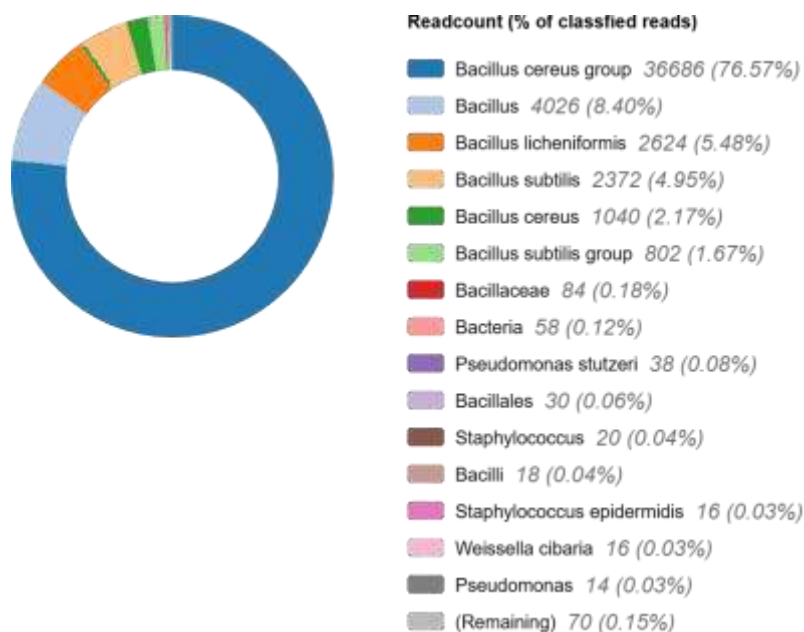
Clasificación taxonómica de los microorganismos encontrados en la muestra A-CM



A nivel de especie, el grupo *Bacillus cereus* fue el taxón predominante, representando el 76,57 % de las lecturas clasificadas, seguido por *Bacillus licheniformis* (5,48 %), *Bacillus subtilis* (4,95 %) y *Bacillus cereus* (2,17 %). Entre los taxones de menor abundancia se identificaron Bacillaceae (0,18 %), *Pseudomonas stutzeri* (0,08 %), Bacillales (0,06 %) y *Staphylococcus* (0,04 %). El resto de los microorganismos presentó abundancias individuales inferiores al 0,04 % tal como se muestra en la figura 15.

Figura 15.

Abundancia relativa de los principales taxones identificados en la muestra A-CM



En términos generales, ambas muestras presentaron una composición taxonómica similar, caracterizada por el predominio de bacterias pertenecientes al género *Bacillus* y, particularmente, por la alta representación del grupo *Bacillus cereus*. No obstante, se observaron diferencias en la distribución relativa de las especies identificadas y en la presencia de taxones minoritarios, la muestra A-A mostró una mayor representación de *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*, la muestra A-CM presentó una mayor dominancia del grupo *Bacillus cereus* y una mayor diversidad de microorganismos de baja abundancia, incluyendo representantes de los géneros *Pseudomonas* y *Staphylococcus*.

4. DISCUSIÓN

El género *Bacillus* tiene características fisiológicas que favorecen su éxito reproductivo en humedales puesto que, son formadores de esporas, aerobios facultativos, tolerantes a salinidad y capaces de soportar condiciones adversas (Quintero Hernández, 2019), esto explica que el 63% de las cepas cultivadas mostraran actividad enzimática y estuviera ligada a este género bacteriano.

Los microorganismos que se aislaron de los suelos del humedal de Punta Carnero presentaron capacidad amilolítica similar al reportado por Klinfoong et al., (2022) quienes aislaron cepas de *Bacillus paralicheniformis* con actividad amilolítica muy alta ($2,39 \pm 0,133$), valores parecidos en la presente investigación ($2,42 \pm 0,93$). De igual manera, Castro et al. (2014) encontraron que cepas aisladas de manglares brasileños se caracterizaban por obtener las tasas más altas de actividad para amilasa y endonucleasa.

Como se mencionaba con anterioridad, la principal fuente de materia orgánica en el manglar proviene de la acumulación de hojarasca, raíces, ramas y restos vegetales ricos en lignocelulosa (Alongi, 2002). Esta característica obliga a los microorganismos nativos a favorecer el desarrollo de sistemas enzimáticos capaces de degradar compuestos estructurales vegetales complejos, de hecho, Holguin et al., (2007) recalcaron que la celulosa es una de las enzimas más importantes en este proceso. En consecuencia, es esperable que los aislamientos provenientes de este

ecosistema exhiban una actividad celulolítica superior a la amilolítica, reflejado en los resultados comparativos entre el RH promedio en ambos grupos ($W = 71,5$; $p < 0,001$).

La mayor actividad observada en agar CMC también puede estar relacionada con las características bioquímicas de las enzimas involucradas, las celulasas constituyen complejos multienzimáticos formados por endoglucanasas, exoglucanasas y β -glucosidasas que actúan de manera sinérgica sobre la carboximetilcelulosa, generando extensas zonas de aclaramiento en el medio de cultivo (Lynd, Weimer, van Zyl, & Pretorius, 2002).

En contraste, las α -amilasas hidrolizan enlaces α -1,4 glucosídicos del almidón, un sustrato más fácilmente degradable y menos representativo de los recursos predominantes en los sedimentos del manglar. Por esta razón, aunque se recuperaron más colonias en agar almidón (48) que en CMC (23), los microorganismos seleccionados en CMC mostraron una eficiencia hidrolítica considerablemente superior.

Desde el punto de vista metodológico, las diferencias encontradas entre AA y CMC también pueden estar influenciadas por la difusión diferencial de las enzimas en el agar. Según Teather & Wood (1982), la técnica de detección mediante rojo Congo es altamente sensible para evidenciar actividad celulolítica, permitiendo visualizar

claramente zonas de hidrólisis alrededor de las colonias lo que a su vez puede favorecer la detección de halos relativamente amplios incluso cuando las colonias presentan tamaños reducidos. Por el contrario, la detección de amilasas mediante Lugol depende de la desaparición del complejo yodo-almidón, lo que puede generar halos menos definidos y, por tanto, índices hidrolíticos relativamente menores.

Otro aspecto relevante es que la distribución de los datos amilolíticos no presentó normalidad ($p = 0,007$), mientras que los datos celulolíticos sí mostraron una distribución más homogénea ($p = 0,105$) sugiriendo que la capacidad para degradar almidón estuvo concentrada en un grupo reducido de cepas altamente eficientes, mientras que la capacidad celulolítica fue una característica más ampliamente distribuida entre los microorganismos aislados.

A nivel de especie, el complejo *Bacillus cereus* fue el grupo predominante en ambas muestras, representando el 71,43% de las lecturas clasificadas en el aislamiento obtenido en agar almidón y el 76,57 % en el aislamiento procedente de agar carboximetilcelulosa. Este resultado concuerda con Pandey et al. (2013) quienes recuperaron *B. cereus* a partir de sedimentos del manglar de Bhitarkanika (India), identificándolo como uno de los aislados con mayor capacidad celulolítica.

De la misma manera, una revisión sobre microorganismos marinos derivados del género *Bacillus* recopiló 525 cepas descritas entre 2020 y 2025, identificando al

grupo *Bacillus cereus* como el grupo más frecuente, con 197 aislamientos (38,4 %), seguido por *B. subtilis* con 97 aislamientos (18,5 %) y *B. licheniformis* con 27 aislamientos (Bambridge et al., 2026). Estos datos demuestran que las especies encontradas en el presente estudio corresponden precisamente a las bacterias más comúnmente recuperadas en ambientes marinos y costeros, destacando además por su capacidad para producir carbohidrasas, proteasas, lipasas y otros metabolitos de interés biotecnológico.

El complejo *B. cereus* posee una notable plasticidad metabólica que le permite adaptarse a variaciones de salinidad, humedad y disponibilidad de nutrientes, condiciones propias de los ecosistemas costeros. Producen enzimas como lacasas, lipasas, proteasas y diversas oxidasas, contribuyendo a la degradación de contaminantes como plásticos, productos petrolíferos, metales pesados e insecticidas. (Azizoglu et al., 2024).

Es importante destacar que la identificación mediante el gen 16S rRNA permite asignar las secuencias al complejo *Bacillus cereus*, pero no diferenciar con precisión todas las especies que lo integran debido a la elevada similitud genética existente entre *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. anthracis* y otras especies estrechamente relacionadas. Esta limitación ha sido ampliamente documentada y explica por qué las bases de datos taxonómicas clasifican numerosas secuencias

dentro del denominado "*Bacillus cereus group*" en lugar de asignarlas a una única especie.

La mayor representación de *B. subtilis* en el medio con almidón puede atribuirse a su reconocida capacidad para producir α -amilasas extracelulares, enzimas responsables de la hidrólisis de enlaces α -1,4 glucosídicos del almidón. Además, *B. subtilis* posee una notable capacidad para secretar otras hidrolasas, como celulasas, xilanasas y proteasas, lo que le permite colonizar ambientes ricos en residuos vegetales y participar activamente en la mineralización de la materia orgánica (Adenike et al., 2024).

Aunque la abundancia de *B. licheniformis* fue inferior a la del grupo *Bacillus cereus*, esta especie es reconocida como uno de los microorganismos con mayor relevancia industrial debido a su capacidad para producir α -amilasas, celulasas, proteasas y otras enzimas termoestables ampliamente utilizadas en las industrias alimentaria, textil, papelera y de detergentes (Hehe et al., 2023).

La secuenciación también permitió detectar otros taxones bacterianos presentes en bajas abundancias relativas, entre ellos representantes de los filos Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes y, en menor proporción, algunos microorganismos pertenecientes al filo Firmicutes diferentes al género *Bacillus*. Por ejemplo, en la muestra A-CM se identificaron especies como *Pseudomonas fluorescens*,

Acinetobacter baumannii, *Enterobacter cancerogenus*, *Faecalibacterium prausnitzii* y *Klebsiella pneumoniae*, mientras que en A-A se detectaron principalmente *Pseudomonas stutzeri*, *Staphylococcus epidermidis* y *Weissella cibaria*. Sin embargo, todas estas especies representaron porcentajes inferiores al 0,2 % de las lecturas clasificadas, por lo que su contribución dentro de la comunidad microbiana cultivable fue considerablemente menor que la observada para las especies del género *Bacillus*.

Luego de lo analizado, se rechaza la hipótesis nula y acepta la hipótesis alternativa de la investigación, ya que los aislados locales provenientes de los suelos del humedal de Punta Carnero presentaron actividad amilolítica y celulolítica, confirmando su potencial biotecnológico como productores de enzimas de interés industrial.

5. CONCLUSIONES

Se logró con éxito el aislamiento de microorganismos con capacidad de crecer en medios selectivos con almidón y carboximetilcelulosa, lo que confirma que los suelos del humedal del manglar Punta Carnero son hogar de una comunidad microbiana con gran potencial para la degradación de polisacáridos. Este estudio se convirtió en el primer registro local sobre aislamiento y caracterización de cepas convirtiéndose en el primer registro local en este ecosistema.

El análisis de la actividad enzimática reflejó que existen aislamientos con diferentes capacidades hidrolíticas donde el potencial para la degradación de celulosa fue mayor que el del almidón. Este comportamiento reafirma la adaptación de los microorganismos a lugares caracterizados por la abundancia de residuos vegetales ricos en compuestos lignocelulósicos.

La identificación molecular mediante la amplificación y secuenciación del gen 16S rRNA permitió determinar que las cepas con mayor actividad hidrolítica correspondieron principalmente al género *Bacillus*, destacándose el predominio del grupo *Bacillus cereus*, seguido de *Bacillus subtilis* y *Bacillus licheniformis*. En contraste, no se identificaron cepas pertenecientes al género *Rhizopus* entre los aislados analizados, por lo que el objetivo de identificar microorganismos de este género no pudo cumplirse bajo las condiciones de muestreo, aislamiento y metodología empleadas.

6. RECOMENDACIONES

La prospección microbiológica hacia diferentes sectores del manglar Punta Carnero y otras épocas del año para así analizar la influencia de la variabilidad espacial y estacional sobre la diversidad de microorganismos con actividad amilolítica y celulolítica permitirá obtener un mayor número de aislamientos con potencial biotecnológico.

Es imperativo realizar estudios posteriores orientados a la caracterización bioquímica y optimización de la producción enzimática de las cepas con mayor actividad hidrolítica, incluyendo la determinación de la actividad específica, estabilidad frente a diferentes condiciones de pH y temperatura.

La tecnología NGS tiene la dificultad de detectar de manera óptima regiones altamente repetitivas como variaciones en número de copias, deleciones o inserciones (>5pb), repeticiones cortas en tándem (STR) y otras variantes complejas. Por lo que se requiere pruebas adicionales para la detección de estas regiones. Por ello, futuros estudios podrían incorporar medios de cultivo más selectivos para hongos y ampliar el número de aislamientos sometidos a identificación molecular con el fin de caracterizar de manera más completa la diversidad fúngica presente en este ecosistema.

BIBLIOGRAFÍA

- Abarca, J. (2023). Humedales para el futuro. *41*(1).
doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292023000100003>
- Akinsemolu, A. A., Onyeaka, H., Odion, S., & Adebajo, I. (2024). Exploring *Bacillus subtilis*: Ecology, biotechnological applications, and future prospects. *Journal of Basic Microbiology*, *64*(6), 2300614.
- Alongi, D. (2002). Present state and future of the world's mangrove forests. *Environmental Conservation*, *29*(3), 331-349. Obtenido de <https://www.cambridge.org/core/journals/environmental-conservation/article/abs/present-state-and-future-of-the-worlds-mangrove-forests/0E3D6B0DF6EE2E9DBD48582964AD492A>
- Aryal, S. (2025). Normas McFarland: Principio, Preparación, Usos, Limitaciones. Obtenido de <https://microbenotes.com/mcfarland-standards/>
- Ávila, F., Romero, Y., & Juárez, J. (2025). Desde la agricultura hasta probióticos: aplicaciones Biotecnológicas de *Bacillus* spp. Obtenido de <https://www.biotmagazine.com/articulos/desde-la-agricultura-hasta-probi%C3%B3ticos%3A-aplicaciones-biotecnol%C3%B3gicas-de-bacillus-spp>.
- Bautista Cruz, A., Aquino Bolaños, T., Hernández Canseco, J., & Quiñones Aguilar, E. (2024). Cellulolytic Aerobic Bacteria Isolated from Agricultural and Forest Soils: An Overview. *Biology*, *13*(2). Obtenido de <https://doi.org/10.3390/biology13020102>
- Behera, B., Sethi, B., Mishra, R., Dutta, S., & Thatoi, H. (2016). Microbial cellulases – Diversity & biotechnology with reference to mangrove environment: A review. *15*(1).
doi:<https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2016.12.001>
- Benavides, J., Alvarado, S., & Pineda, M. (2024). Revisión cuantitativa (1990-2022) del ciclo del carbono y los flujos de CO₂ y CH₄ de manglares. *30*.
doi:https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S1405-04712024000400201&script=sci_arttext
- Bhardwaj, N., Kumar, B., Agrawal, K., & Verma, P. (2021). Current perspective on production and applications of microbial cellulases: a review. En *Bioresources and Bioprocessing* (Vol. 8).
doi:<https://doi.org/10.1186/s40643-021-00447-6>
- Buitron, K. (2021). Actividad de hidrolasas en la descomposición de materia orgánica y su relación con carbono y nitrógeno orgánico en zonas conservadas e intervenidas de la Reserva Ecológica “Los Ilinizas”.

- Camacho , A., Herrera, J., Caamal, J., & Teutli, C. (2021). Influencia de la salinidad en el almacén y flujos de carbono en manglares de franja de una zona cárstica. 27, 27. Obtenido de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-04712021000400103
- Castro, R. A., Quecine, M. C., Lacava, P., Batista, B. D., Luvizotto, D., Marcon, J., . . . Azevedo, J. (2014). Isolation and enzyme bioprospection of endophytic bacteria associated with plants of Brazilian mangrove ecosystem. *Europe PMC*. Obtenido de <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-382>
- Cordero, A., Acosta, L., Pineda, J., & Torres, D. (2023). Estructura, composición y contenido de carbono de manglares en los Humedales Níspero y San Buenaventura-Colorado, Golfo de Nicoya, Costa Rica. 20(46). doi:<http://dx.doi.org/10.18845/rfmk.v20i46.6606>
- Cruz Lachica, I., Marquez Zequera, I., García Estrada, R., & Carrillo Fasio, J. (2017). Identificación de hongos mucorales causantes de la pudrición blanda en frutos de papaya (*Carica papaya L.*) en México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(3). doi:10.18781/R.MEX.FIT.1611-3
- Dewiyanti, I., Darmawi, D., Muchlisin, Z., & Helmi, T. (2024). Analyzing cellulolytic bacteria diversity in mangrove ecosystem soil using 16 svedberg ribosomal ribonucleic acid gene. 10(1), 51-68. Obtenido de https://www.gjesm.net/article_705424_5fd70960a2052e99f2df248566b9bbac.pdf
- Escandón Panchana, J., Elao Vallejo, R., Escandón Panchana , P., & Velástegui Montoya, A. (2022). Spatial Planning of the Coastal Marine Socioecological System—Case Study: Punta Carnero, Ecuador. *resources*, 11(74). doi:10.3390/resources11080074
- Gañan, P., Zuluaga, R., Castro, C., Restrepo, A., Velásquez, J., Osorio, M., . . . Molina, C. (2014). Celulosa: un polímero de siempre con mucho futuro. *Revista Colombiana de Materiales*, 338-346. doi:<https://doi.org/10.17533/udea.rcm.328779>
- Giani, L., Holguin , Y., Strangmann, G., Vegas Vilarrúbia , T., Baritto , F., Lopez , P., . . . Gómez , M. (2009). Potential microbial diversity in mangrove ecosystems: a review. *Indian Journal of Marine Sciences*, 38, 249-256. Obtenido de <https://www.semanticscholar.org/paper/Potential-microbial-diversity-in-mangrove-a-review.-Giani-Holguin/47fe3379f0ffdfb0a3ac378834d5ab3d41b033bb>

- He, H., Yu, Q., Ding, Z., Zhang, L., Shi, G., & Li, Y. (2023). Biotechnological and food synthetic biology potential of platform strain: *Bacillus licheniformis*. *Synthetic and Systems Biotechnology*, 8(2), 281-291.
- Holguin , G., Flores, A., Eberhard, A., Winans, S., Dávila-Lule, A., Villicaña C, G., . . . Ruiz , M. (2007). Microbiología de manglar y técnicas moleculares para su estudio. *Potencial biotecnológico de microorganismos en ecosistemas*, 94-103.
- Holguin, G., Vazquez, P., & Bashan, Y. (2001). The role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of mangrove ecosystems: an overview. *Biology and Fertility of Soils*, 265-278.
- Iriarte, M. (2023). Microplásticos y microorganismos: una revisión sobre su interacción en ecosistemas de manglar. Obtenido de <https://repositorio.uniandes.edu.co/server/api/core/bitstreams/1bc5e86a-a39f-4c78-920e-d520286537a5/content>
- Klinfoong, R., Thummakasorn, C., Ungwiwatkul, S., & Boontanom, S. (2022). Diversity and activity of amylase-producing bacteria isolated from mangrove soil in Thailand. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 23(10), 5519-5531. doi:10.13057/biodiv/d231064
- Kumar, S., Sharma, N., & Tandon, D. (2015). Cellulase and Xylanase Production by a Novel Strain of *Rhizopus oryzae* W2 (JX129361.1) Isolated from Compost Utilizing Agro Forest Residues under Solid State Fermentation. *Microbiology Research Laboratory*, 4(1). Obtenido de https://www.scitechnol.com/cellulase-and-xylanase-production-by-a-novel-strain-of-rhizopus-oryzae-w2-jx1293611-isolated-from-compost-utilizing-agro-forest-residues-under-solid-state-fermentation-VWrg.php?article_id=3171
- Leelasuphakul, W., Hemmanee, P., & Chuenchitt, S. (2008). Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 48(1), 113-121. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0925521407003043>
- Londoño, L., Ramírez , C., Ruiz, H., & Ascacio, J. (2017). *Rhizopus oryzae*: un antiguo recurso microbiano con importancia en la industria alimentaria moderna. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.06.012>

- Lynd, L., Weimer, P., van Zyl, W., & Pretorius, I. (2002). Microbial Cellulose Utilization: Fundamentals and Biotechnology. *Microbiol Mol Biol Rev.* Obtenido de <https://doi.org/10.1128/mmbr.66.3.506-577.2002>
- MANUAL PARA INCENTIVO A CONSERVACION Y USO. (2014). Obtenido de https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-10/Documento_Manual%20%20Incentivo%20Conservaci%C3%B3n%20Manglar.pdf
- Monteiro de Souza, P., & Oliveira Magalhães, P. (2010). Application of microbial α -amylase in industry – A review. *Brazilian Journal of Microbiology*. doi: 10.1590/S1517-83822010000400004
- Nava, J., & Lango, F. (2023). Remoción de Contaminantes en los Humedales. 41. Obtenido de <https://www.redalyc.org/journal/573/57375131046/html/>
- Panchana, N. (2025). *Repositorio UPSE*. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/server/api/core/bitstreams/8ebc3ae8-947d-4de0-b169-9a91e98c7e72/content>
- Pandey, S., Singh, S., Yadav, A. N., Nain, L., & Saxena, A. K. (2013). Phylogenetic diversity and characterization of novel and efficient cellulase producing bacterial isolates from various extreme environments. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 77(7), 1474-1480.
- PNUD. (2026). Los ODS en acción. Obtenido de <https://www.undp.org/es/sustainable-development-goals>
- Quintero Hernández, E. (2019). *Bacilos grampositivos formadores de esporas: Bacillus y Clostridium*. Obtenido de https://www.academia.edu/39184431/Bacilos_grampositivos_formadores_de_esporas_Bacillus_y_Clostridium
- Ramirez, D., & Rojas, N. (2020). INFLUENCIA DE LA COMUNIDAD BACTERIANA EN LOS CICLOS BIOGEOQUÍMICOS DEL CARBONO Y EL NITRÓGENO EN EL ECOSISTEMA DE MANGLAR. 152. Obtenido de http://178.32.55.102/bitstream/handle/unicolmayor/257/Monograf%EDa_%20Ram%EDrez%20Lozada%20Gabriela_%20Rojas%20Villamil%20Nicol%E1s.pdf?sequence=15
- Reyes, E. (2023). DISTRIBUCIÓN Y DIVERSIDAD DE LAS CLASES GASTROPODA Y BIVALVIA, EN ZONA DE MANGLAR DE PUNTA CARNERO – SANTA ELENA- ECUADOR. 85. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/server/api/core/bitstreams/0236da02-4cbc-4f90-a106-3200dd1c64f1/content>
- Sánchez, E., Heredia, J., Buitrago, S., & Medina, J. (2020). Aislamiento e identificación de microorganismos potencialmente amilolíticos y celulolíticos de suelos de humedales de Bogotá. 22, 36-44. Obtenido de

http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0123-34752020000100036&script=sci_arttext

- Teather, R., & Wood, P. (1982). Use of Congo red-polysaccharide interactions in enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from the bovine rumen. *Applied and Environmental Microbiology* logo. Obtenido de <https://doi.org/10.1128/aem.43.4.777-780.1982>
- Tejera-Hernández, B., Rojas-Badía, M., & Heydrich-Pérez, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de. *Revista CENIC. Ciencias Biológicas*, 131-138. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181222321004.pdf>
- Torres, J., Sanchez , Z., & Choix, F. (2023). Variación fisico-química en agua y sedimento del manglar en tres lagunas costeras del Golfo de California. 9(3). doi:<https://doi.org/10.18242/anpscripta.2023.09.09.03.0005>
- Uthra, S., Priyadharshini, S., Ramachandiran, S., & Sangeshwari, T. (2021). Isolation and Characterization of β -Galactosidase from Mangrove Soil derived Bacteria. *International Journal for Modern Trends in Science and Technolog*, 78-87. doi:10.46501/IJMTST0706014
- Wang, Q., Garrity, G. M., Tiedje, J. M., & Cole, J. R. (2007). Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and environmental microbiology*, 73(16), 5261-5267.

ANEXOS

Anexo 1. *Características individuales de las colonias crecidas en agar AA*

Nº	DT (mm)	DC (mm)	DH (mm)	AH (mm)	RH
1	8	3	5	2,5	1,67
2	7	2	5	2,5	2,50
3	6	2	4	2	2,00
4	5	2	3	1,5	1,50
5	4	1	3	1,5	3,00
6	4	1	3	2,5	3,00
7	4	1	2	1	2,00
8	3	1	2	1	2,00
9	3	1	2	1	2,00
10	2	1	1	0,5	1,00
11	2	1	1	0,5	1,00
12	2	1	1	0,5	1,00
13	2	1	1	0,5	1,00
14	2	1	1	0,5	1,00
15	4	2	2	1	1,00
16	5	2	3	1,5	1,50
17	6	3	3	1,5	1,00
18	7	3	4	2	1,33
19	5	2	3	1,5	1,50
20	5,8	2,2	7,2	3,6	3,27
21	5,2	1,8	6,8	3,4	3,78
22	6	2	8	4	4,00
23	4,5	1,5	6	3	4,00
24	5	2	6	3	3,00
25	3,8	1,5	4,6	2,3	3,07
26	7	2,5	9	4,5	3,60
27	4,8	1,8	6	3	3,33
28	5,5	2,2	6,6	3,3	3,00
29	7,5	3	9	4,5	3,00
30	4,3	1,8	5	2,5	2,78
31	4,6	2	5,2	2,6	2,60
32	5,7	2,5	6,4	3,2	2,56
33	4,2	2	4,4	2,2	2,20
34	4,2	1,5	5,4	2,7	3,60
35	5,4	2	6,8	3,4	3,40
36	3,2	1,2	4	2	3,33

37	4,7	1,8	5,8	2,9	3,22
38	5,6	2,2	6,8	3,4	3,09
39	2,5	1	3	1,5	3,00
40	6,2	2,5	7,4	3,7	2,96
41	3,6	1,5	4,2	2,1	2,80
42	8,6	2	5,2	2,6	2,60
43	4,1	1,8	4,6	2,3	2,56
44	1,66	0,62	2,22	1,10	0,93

Anexo 2. *Características individuales de las colonias crecidas en agar CMC*

Nº	DT (mm)	DC (mm)	DH (mm)	AH (mm)	RH
CMC1-1	9	3	12	6	4
CMC2-1	7	2	10	5	5,00
CMC2-2	9,5	3	13	6,5	4,33
CMC2-3	11	4	14	7	3,50
CMC3-1	32	8	48	24	6
CMC3-2	12	4	16	8	4
CMC4-1	4,8	1,5	6,6	3,3	4,40
CMC4-2	6,2	2	8,4	4,2	4,20
CMC4-3	8,7	3	11,4	5,7	3,80
CMC4-4	3,4	1,2	5,4	2,7	4,50
CMC4-5	6,8	2,5	8,6	4,3	3,44
CMC4-6	4,7	1,8	5,8	2,9	3,22
CMC4-7	10	4	12	6	3,00
CMC5-1	3,5	1	5	2,5	5,00
CMC5-2	8,2	2,8	11,4	5,7	4,07
CMC5-3	6,4	2	8,8	4,4	4,40
CMC5-4	5,7	1,8	7,8	3,9	4,33
CMC5-5	4,7	1,5	6,4	3,2	4,27
CMC5-6	3,7	1,2	5	2,5	4,17
CMC5-7	9,1	3	12,2	6,1	4,07
CMC5-8	6,6	2,2	8,8	4,4	4,00
CMC5-9	2,9	2	3,8	1,9	1,90
CMC5-10	4,2	1	5,4	2,7	5,40
CMC5-11	5,4	1,5	6,8	3,4	4,53
CMC6-1	7,2	2	10,4	5,2	5,2
CMC6-2	4,8	1,5	6,6	3,3	4,4
CMC6-3	3,1	1	4,2	2,1	4,2
CMC6-4	2,4	0,8	3,2	1,6	4

Anexo 3. Comparación entre grupos mediante la prueba no paramétrica de Mann-Whitney en Rstudio

```
R - R450 - [1]
--R
--R Signif. codes:
--R 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
--R
--R Aviso:
--R In levenetest.default(y = y, group = group, ...) : group coerced to factor.
--R
--R >
--R > #=====
--R > # COMPARACIÓN ENTRE AA Y CMC
--R > #=====
--R >
--R > # Prueba t de Student
--R > t.test(RH ~ AGAR, data = datos)
--R
--R Welch Two Sample t-test
--R
--R data: RH by AGAR
--R t = -8.4659, df = 64.531, p-value =
--R 4.588e-12
--R alternative hypothesis: true difference in means between group AA and group CMC is not equal to 0
--R 95 percent confidence interval:
--R -2.139474 -1.322636
--R sample estimates:
--R mean in group AA mean in group CMC
--R 2.439302 4.190357
--R
--R >
--R > # Prueba no paramétrica Mann-whitney
--R > wilcox.test(RH ~ AGAR, data = datos)
--R
--R Wilcoxon rank sum test with continuity
--R correction
--R
--R data: RH by AGAR
--R W = 71.5, p-value = 4.242e-10
--R alternative hypothesis: true location shift is not equal to 0
```

Anexo 4. Correlación de Spearman entre el diámetro de la colonia (DC) y el diámetro del halo de hidrólisis (DH).

```
>
> cor.test(AA_DC, AA_DH, method = "spearman")
--R
--R Spearman's rank correlation rho
--R
--R data: AA_DC and AA_DH
--R S = 4785.8, p-value = 4.061e-06
--R alternative hypothesis: true rho is not equal to 0
--R sample estimates:
--R rho
--R 0.6386423
--R
--R Aviso:
--R In cor.test.default(AA_DC, AA_DH, method = "spearman") :
--R Cannot compute exact p-value with ties
--R
--R >
--R > cor.test(CMC_DC, CMC_DH, method = "spearman")
--R
--R Spearman's rank correlation rho
--R
--R data: CMC_DC and CMC_DH
--R S = 293.2, p-value = 5.014e-12
--R alternative hypothesis: true rho is not equal to 0
--R sample estimates:
--R rho
--R 0.9192116
--R
--R Aviso:
--R In cor.test.default(CMC_DC, CMC_DH, method = "spearman") :
--R Cannot compute exact p-value with ties
--R
--R >
--R > #=====
--R > # GRÁFICOS
--R > #=====
```

Anexo 5. *Recolección y rotulación de muestras*



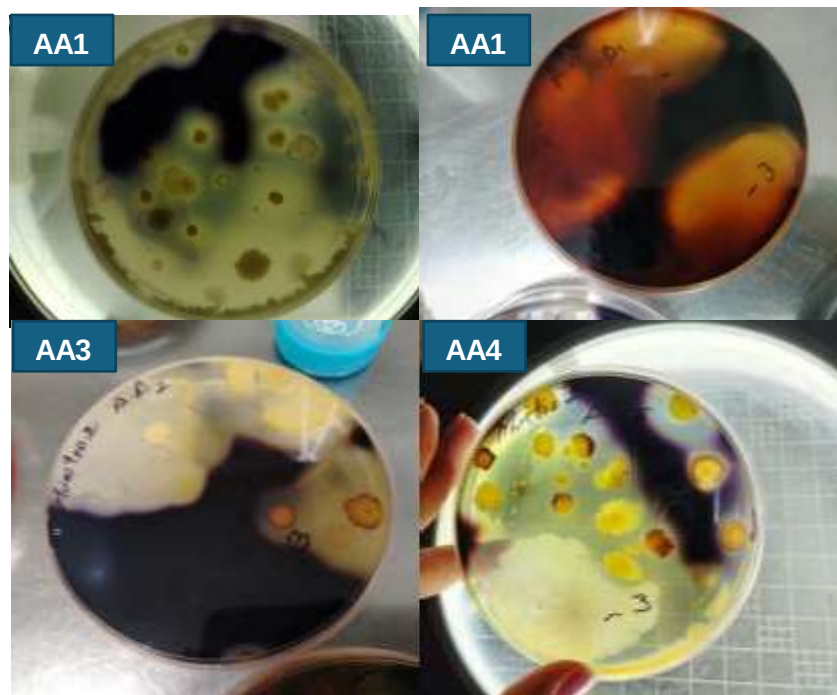
Anexo 6. *Transporte de muestras para análisis genómico.*



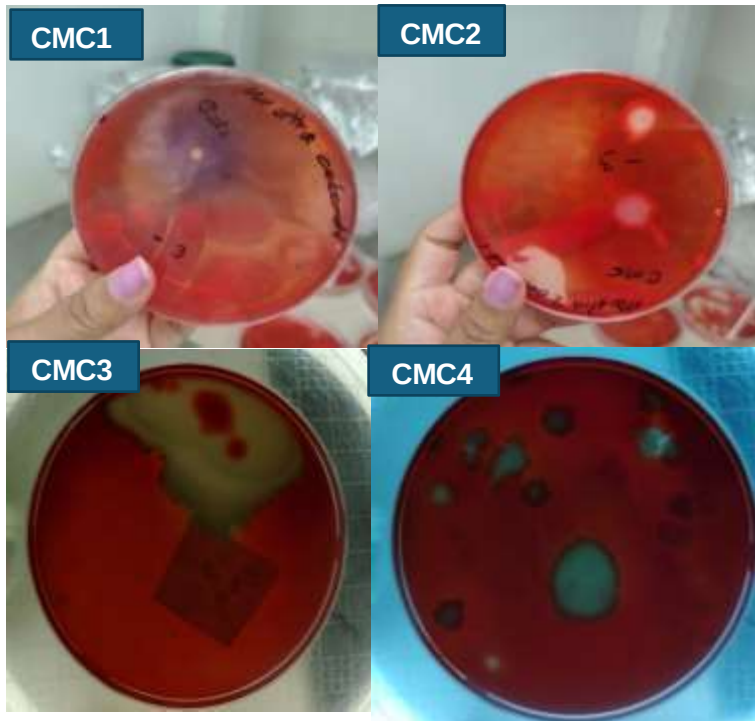
Anexo 7. *Preparación de agar AA y CMC.*



Anexo 8. *Colonias crecidas en placas de agar AA*



Anexo 9. *Colonias crecidas en placas de agar CMC.*



Anexo 10. Reporte de secuenciación NGS N:26061002.

Orden: 26061002
Fecha: 10/07/2026
Página: 1 de 1



REPORTE DE SECUENCIACIÓN NGS N: 26061002

1. INFORMACIÓN DE CLIENTE:

Cliente: NAYELI RODRIGUEZ Ciudad: SANTA ELENA
Institución: UPSE Muestras: 04
Teléfono: +593958655906 Recepción: 10/06/2026
Correo: arianarodriguez2204@gmail.com

2. ANALISIS REALIZADO:

El análisis de la secuenciación genética incluye: Amplificación del gen 16s del ARN ribosomal regiones V3-V4; 341F: CCTACGGGNGGCWGCAG a 805R: GACTACHVGGGTATCTAATCC. Amplificación del gen ITS2 regiones ITS86F: GTGAATCATCGAATCTTGAA a ITS4: TCCTCCGCTTATTGATATGC

3. RESULTADOS:

MUESTRA ID	NOMBRE	MUESTRA		LIBRERÍA		SECUENCIACIÓN	
		Conc. (ng/μL)	Integridad (pb) > 1500 pb	Conc. (ng/μL)	Tamaño	Q30 > 70%	Lecturas
26061002-001-16S	A-A	6.1	DETECTADO	208	600		20 425
26061002-003-16S	A-C/1	7.4	DETECTADO	172	600	81.54	23 989

4. INTERPRETACIÓN:

Realizado por:

Luis Urresta
Ingeniero en Biotecnología
BIOSEQUENCE S.A.S

Validado por:

Paola Astudillo
Bioquímica Farmacéutica
BIOSEQUENCE S.A.S

Anexo 11. One Codex Data 26061002-001-16S.

Organism Name	Rank	Tax ID	% of Classified Reads	% of All Reads	# of Reads	# of Reads (w/ Children)
<i>Bacillus cereus</i>	species	8666				
group	group	1	71,43	71,1	29046	29818
<i>Bacillus subtilis</i>	species	1423	10,34	10,29	4204	4204
<i>Bacillus licheniformis</i>	species	1402	8,91	8,87	3624	3624
<i>Bacillus</i>	genus	1386	5,96	5,93	2422	40264
<i>Bacillus cereus</i>	species	1396	1,9	1,89	772	772
<i>Bacillus subtilis</i>	species	6536				
group	group	85	0,48	0,48	196	8024
<i>Bacteria</i>	superkingdom	2	0,12	0,12	50	40662
		1868				
<i>Clostridiales</i>	order	02	0,09	0,09	38	58
<i>Bacillales</i>	order	1385	0,09	0,09	36	40342
		9106				
<i>Bacilli</i>	class	1	0,08	0,08	34	40380
		1868				
<i>Bacillaceae</i>	family	17	0,06	0,06	26	40290
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	species	294	0,05	0,05	20	20
<i>Proteobacteria</i>	phylum	1224	0,04	0,04	18	112
		5508				
<i>Brevibacillus</i>	genus	0	0,04	0,04	16	16
<i>Bacteroides</i>	genus	816	0,03	0,03	14	14
<i>Acinetobacter</i>	genus	469	0,03	0,03	12	26
<i>Firmicutes</i>	phylum	1239	0,03	0,03	12	40450
<i>Pseudomonas</i>	genus	286	0,02	0,02	8	34
<i>Acinetobacter baumannii</i>	species	470	0,02	0,02	8	8
<i>Enterobacteriaceae</i>	family	543	0,02	0,02	8	20
<i>Bifidobacterium</i>	genus	1678	0,02	0,02	8	8
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	species	6921				
		8	0,02	0,02	8	8
		8500				
<i>Micrococcales</i>	order	6	0,02	0,02	8	8

		2011				
<i>Actinobacteria</i>	phylum	74	0,02	0,02	8	24
<i>Terrabacteria</i>		1783				
group	no rank	272	0,02	0,02	8	40486
<i>Pseudomonas</i>						
<i>fragi</i>	species	296	0,01	0,01	6	6
<i>Faecalibacterium</i>						
<i>prausnitzii</i>	species	853	0,01	0,01	6	6
<i>Alphaproteobacter</i>		2821				
<i>ia</i>	class	1	0,01	0,01	6	10
		5410				
<i>Ruminococcaceae</i>	family	00	0,01	0,01	6	12
<i>Acinetobacter</i>						
<i>calcoaceticus/bau</i>	species	9097				
<i>mannii complex</i>	group	68	0,01	0,01	6	14
<i>Klebsiella</i>						
<i>pneumoniae</i>	species	573	0,01	0,01	4	4
<i>Clostridium</i>	genus	1485	0,01	0,01	4	4
<i>Clostridioides</i>						
<i>difficile</i>	species	1496	0,01	0,01	4	4
<i>Enterococcus</i>		3773				
<i>casseliflavus</i>	species	4	0,01	0,01	4	4
		4032				
<i>Stenotrophomonas</i>	genus	3	0,01	0,01	4	4
<i>Gliocladium</i>		6630				
<i>cibotii</i>	species	9	0,01	0,01	4	4
		1188				
<i>Brucellaceae</i>	family	82	0,01	0,01	4	4
<i>Synechococcus sp.</i>		5854				
<i>KORDI-78</i>	species	37	0,01	0,01	4	4
<i>Rhizobiales</i>	order	356	0	0	0	4
<i>Moraxellaceae</i>	family	468	0	0	0	26
<i>Enterobacter</i>	genus	547	0	0	0	8
<i>Klebsiella</i>	genus	570	0	0	0	4
<i>Bacteroidaceae</i>	family	815	0	0	0	14
<i>Bacteroidetes</i>	phylum	976	0	0	0	14
<i>Cyanobacteria</i>	phylum	1117	0	0	0	4
<i>Synechococcus</i>	genus	1129	0	0	0	4
<i>Gammaproteobact</i>						
<i>eria</i>	class	1236	0	0	0	84
<i>Enterococcus</i>	genus	1350	0	0	0	4
<i>Actinobacteria</i>	class	1760	0	0	0	16
	superki					
<i>Eukaryota</i>	ngdom	2759	0	0	0	4
	kingdo					
<i>Fungi</i>	m	4751	0	0	0	4
<i>Ascomycota</i>	phylum	4890	0	0	0	4
<i>Hypocreales</i>	order	5125	0	0	0	4

		3195				
<i>Bifidobacteriaceae</i>	family	3	0	0	0	8
		3197				
<i>Clostridiaceae</i>	family	9	0	0	0	4
<i>Xanthomonadaceae</i>		3203				
	family	3	0	0	0	4
		3315				
<i>Opisthokonta</i>	no rank	4	0	0	0	4
		6288				
<i>Gliocladium</i>	genus	7	0	0	0	4
<i>Bacteroidetes/Chlorobi group</i>	no rank	6833				
		6	0	0	0	14
		7227				
<i>Pseudomonadales</i>	order	4	0	0	0	60
		8185				
<i>Enterococcaceae</i>	family	2	0	0	0	4
		8500				
<i>Bifidobacteriales</i>	order	4	0	0	0	8
		9134				
<i>Enterobacterales</i>	order	7	0	0	0	20
		1356				
<i>Xanthomonadales</i>	order	14	0	0	0	4
<i>Pseudomonadaceae</i>		1356				
	family	21	0	0	0	34
<i>Pseudomonas chlororaphis group</i>	species	1368				
	group	42	0	0	0	6
<i>Pseudomonas fluorescens group</i>	species	1368				
	group	43	0	0	0	20
	subphylum	1475				
<i>Pezizomycotina</i>	um	38	0	0	0	4
		1475				
<i>Sordariomycetes</i>	class	50	0	0	0	4
<i>Hypocreales</i>		1624				
<i>incertae sedis</i>	no rank	54	0	0	0	4
		1715				
<i>Bacteroidales</i>	order	49	0	0	0	14
		1868				
<i>Clostridia</i>	class	01	0	0	0	58
<i>Peptostreptococcaeae</i>	family	1868				
		04	0	0	0	4
		1868				
<i>Paenibacillaceae</i>	family	22	0	0	0	16
		1868				
<i>Lactobacillales</i>	order	26	0	0	0	4
		2006				
<i>Bacteroidia</i>	class	43	0	0	0	14
		2168				
<i>Faecalibacterium</i>	genus	51	0	0	0	6

<i>Hypocreomycetidae</i>		2225				
<i>e</i>	subclass	43	0	0	0	4
<i>Enterobacter</i>	species	3542				
<i>cloacae complex</i>	group	76	0	0	0	8
	subking	4518				
<i>Dikarya</i>	dom	64	0	0	0	4
		7159				
<i>sordariomyceta</i>	no rank	89	0	0	0	4
		7165				
<i>saccharomyceta</i>	no rank	45	0	0	0	4
		7165				
<i>leotiomyceta</i>	no rank	46	0	0	0	4
		1783				
<i>FCB group</i>	no rank	270	0	0	0	14
<i>Cyanobacteria/Melainabacteria</i>		1798				
<i>group</i>	no rank	711	0	0	0	4
		1870				
<i>Clostridioides</i>	genus	884	0	0	0	4
		1890				
<i>Synechococcales</i>	order	424	0	0	0	4
		1890				
<i>Synechococcaceae</i>	family	426	0	0	0	4

Anexo 12. One Codex Data 26061002-003-16S.

Organism Name	Rank	Tax ID	% of Classified Reads	% of All Reads	# of Reads	# of Reads (w/ Children)
<i>Bacillus cereus</i>	species	8666				
<i>group</i>	group	1	76,57	76,46	36686	37726
<i>Bacillus</i>	genus	1386	8,4	8,39	4026	47550
<i>Bacillus</i>						
<i>licheniformis</i>	species	1402	5,48	5,47	2624	2624
<i>Bacillus subtilis</i>	species	1423	4,95	4,94	2372	2372
<i>Bacillus cereus</i>	species	1396	2,17	2,17	1040	1040
<i>Bacillus subtilis</i>	species	6536				
<i>group</i>	group	85	1,67	1,67	802	5798
		1868				
<i>Bacillaceae</i>	family	17	0,18	0,18	84	47646
	superking					
<i>Bacteria</i>	dom	2	0,12	0,12	58	47914
<i>Pseudomonas</i>						
<i>stutzeri</i>	species	316	0,08	0,08	38	38
<i>Bacillales</i>	order	1385	0,06	0,06	30	47720

<i>Staphylococcus</i>	genus	1279	0,04	0,04	20	36
		9106				
<i>Bacilli</i>	class	1	0,04	0,04	18	47760
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	species	1282	0,03	0,03	16	16
		1375				
<i>Weissella cibaria</i>	species	91	0,03	0,03	16	16
<i>Pseudomonas</i>	genus	286	0,03	0,03	14	64
<i>Gammaproteobacteria</i>	class	1236	0,03	0,03	14	78
<i>Paucisalibacillus globulus</i>	species	3510	0,02	0,02	8	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	species	95	0,01	0,01	6	6
		287	0,01	0,01	6	6
<i>Enterococcus</i>	genus	1350	0,01	0,01	6	6
<i>Hydrogenophaga laconesensis</i>	species	1805	0,01	0,01	6	6
<i>Pseudomonas mendocina</i>	species	971	0,01	0,01	4	4
		300	0,01	0,01	4	4
<i>Alphaproteobacteria</i>	class	2821	0,01	0,01	4	4
<i>Anoxybacillus flavithermus</i>	species	1	0,01	0,01	4	4
		3393	0,01	0,01	4	4
<i>Aneurinibacillus migulanus</i>	species	4	0,01	0,01	4	4
		4750	0,01	0,01	4	4
<i>Planococcus rifietoensis</i>	species	0	0,01	0,01	4	4
		2009	0,01	0,01	4	4
<i>Ruminococcus champanellensis</i>	species	91	0,01	0,01	4	4
		1161	0,01	0,01	4	4
		942	0,01	0,01	4	4
		1655	0,01	0,01	4	4
<i>Luna-1 subcluster</i>	no rank	489	0,01	0,01	4	4
<i>Pseudomonas aeruginosa group</i>	species	1368				
	group	41	0	0	2	12
<i>Proteobacteria</i>	phylum	1224	0	0	0	88
<i>Firmicutes</i>	phylum	1239	0	0	0	47764
<i>Ruminococcus</i>	genus	1263	0	0	0	4
<i>Planococcus</i>	genus	1372	0	0	0	4
<i>Actinobacteria</i>	class	1760	0	0	0	4
<i>Betaproteobacteria</i>	class	2821	0	0	0	6
		6	0	0	0	6
		4625	0	0	0	16
<i>Weissella</i>	genus	5	0	0	0	16
		4742	0	0	0	6
<i>Hydrogenophaga</i>	genus	0	0	0	0	6
		5507	0	0	0	4
<i>Aneurinibacillus</i>	genus	9	0	0	0	4
		7227	0	0	0	64
<i>Pseudomonadales</i>	order	4	0	0	0	64

		8084				
<i>Burkholderiales</i>	order	0	0	0	0	6
		8086				
<i>Comamonadaceae</i>	family	4	0	0	0	6
		8185				
<i>Leuconostocaceae</i>	family	0	0	0	0	16
		8185				
<i>Enterococcaceae</i>	family	2	0	0	0	6
		8500				
<i>Micrococcales</i>	order	6	0	0	0	4
<i>Microbacteriaceae</i>		8502				
<i>e</i>	family	3	0	0	0	4
<i>Aneurinibacillus</i>		8515				
<i>group</i>	no rank	1	0	0	0	4
<i>Staphylococcaceae</i>		9096				
<i>e</i>	family	4	0	0	0	36
<i>Pseudomonadaceae</i>		1356				
<i>e</i>	family	21	0	0	0	64
<i>Pseudomonas</i>	species	1368				
<i>stutzeri group</i>	group	46	0	0	0	38
		1502				
<i>Anoxybacillus</i>	genus	47	0	0	0	4
		1868				
<i>Clostridia</i>	class	01	0	0	0	4
		1868				
<i>Clostridiales</i>	order	02	0	0	0	4
		1868				
<i>Planococcaceae</i>	family	18	0	0	0	4
		1868				
<i>Paenibacillaceae</i>	family	22	0	0	0	4
		1868				
<i>Lactobacillales</i>	order	26	0	0	0	22
		2011				
<i>Actinobacteria</i>	phylum	74	0	0	0	4
		3510				
<i>Paucisalibacillus</i>	genus	94	0	0	0	8
		5410				
<i>Ruminococcaceae</i>	family	00	0	0	0	4
<i>Pseudomonas</i>	species	5788				
<i>stutzeri subgroup</i>	subgroup	33	0	0	0	38
		1655				
<i>Luna cluster</i>	no rank	488	0	0	0	4
<i>Terrabacteria</i>		1783				
<i>group</i>	no rank	272	0	0	0	47768

2026 0410-06364

Salinas, 5 de agosto del 2026

Señor
Alcalde del GAD Municipal de Salinas
ING. DENNIS CÓRDOBA SECAIRA
Presente. -

Asunto: Solicitud de permiso para ingreso de los remanentes de Punta Carnero, para toma de muestras con fines académicos.

De mi consideración:

Yo, **RODRIGUEZ QUIMIS NAYELI ARIANA**, con C.I. **2450691858**, estudiante de la carrera de **BIOLOGÍA** en la Facultad de Ciencias del Mar de la **Universidad Estatal Península de Santa Elena (UPSE)**, me dirijo a usted de manera respetuosa para solicitar la **autorización de ingreso a los remanentes ubicado en la vía Punta Carnero**, jurisdicción del cantón Salinas.

El motivo de mi solicitud es solicitar el permiso del ingreso al afluente para realizar la **recolección de muestras de suelo** en dicho remanente, como parte del desarrollo de mi **trabajo de titulación**, titulado: **"AISLAMIENTO DE MICROORGANISMOS *Bacillus* Y *Rhizopus* CON ACTIVIDAD AMILOLÍTICA Y CELULOLÍTICA EN SUELOS DE HUMEDALES DE PUNTA CARNERO-SANTA ELENA"**, cuyo objetivo es evaluar las condiciones ambientales del ecosistema en mención.

Las actividades de muestreo se realizarán de manera puntual, respetando todas las normativas ambientales y de bioseguridad vigentes. Agradezco de antemano su atención y quedo atento a una respuesta favorable que permita continuar con este importante trabajo académico que contribuirá al conocimiento y gestión de nuestros recursos naturales locales.

Sin otro particular, me despido agradeciendo su atención.

Atentamente,



Rodríguez Quimis Nayeli Ariana
Estudiante de UPSE
Teléfono: 0968893073
Correo: nayeli.rodriguezquimis@upse.edu.ec



Blga. Ángela Reyes Láinez, MGT.
Docente Tutor (UPSE)

GAD MUNICIPAL DE SALINAS
SECRETARIA GENERAL
RECIBO DE ENTREGA

FECHA 05 JUN 2026 HORA 10:00

RECIBIDO POR: [Firma]

Adjunto:

- Copia de cédula de ciudadanía
- Certificado de matrícula (estudiante activo)
- Ubicación y punto de la muestra del afluente en vía Punta Carnero
- Resumen del proyecto de tesis



GAD Municipal de
Salinas

Salinas 15 de junio de 2026.

Señorita

Nayeli Ariana Rodriguez Quimis.

ESTUDIANTE DE LA UPSE.

De mi consideración:

En referencia a oficio ingresado con fecha 5 de junio del presente año, con ruta 2026-vario-06364, en el mismo solicita permiso para ingreso a los remanentes de Punta Carnero para monitoreo en el sistema biótico, con fines académicos, para el desarrollo de trabajo de titulación **AISLAMIENTO DE MICROORGANISMO Bacillus y Rhizopus CON ACTIVIDAD AMIOLÍTICA Y CELULOLÍTICA EN SUELOS DE HUMEDALES PUNTA CARNERO-SANTA ELENA** se informa lo siguiente.

De acuerdo a la normativa del Plan de Uso de Suelo (PUGS), del cantón Salinas dentro de las zonas de protección y conservación se determina las actividades que se pueden realizar y la compatibilidad de las mismas, por lo que una de las actividades permitidas es monitoreo de las áreas para estudio científico de la Academia.

En base a los antecedentes y de la normativa municipal, la Dirección de Gestión Ambiental **CERTIFICA** el uso de espacio para unicamente monitoreo y análisis en el trabajo de titulación de la estudiante de la UPSE de la Facultad de Ciencias del Mar, carrera Biología, Nayeli Ariana Rodriguez Quimis, con el condicionamiento de no extracción del sistema biótico.

Una vez realizado y finalizado su trabajo deberá compartir el mismo con el Gad Municipal, para retroalimentación de nuestro Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial.

Particular que se comunica para fines consiguientes.

Atentamente

Ing. Ana Layana Varas. MS.c

DIRECTORA DE GESTIÓN AMBIENTAL

Cc. Archivo.



