Pontificia Universidad Católica del Ecuador

Sede Ibarra

ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES

INFORME FINAL DEL PROYECTO

TEMA:

Uso de microorganismos nativos para el proceso de biodegradación de desechos orgánicos provenientes de la producción de animales de la granja PUCE-I

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

INGENIERO AMBIENTAL

LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN: GESTIÓN SOSTENIBLE Y APROVECHAMIENTO DE LOS RECURSOS NATURALES

SUBLINEA: CONSERVACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD

AUTOR: CRISTIAN IVÁN PADILLA REYES

ASESOR: MSc SANTIAGO XAVIER MAFLA ANDRADE

Ibarra, 09 de julio de 2024

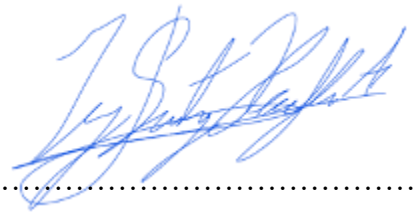
Ibarra, 09 de julio de 2024

Msc. Santiago Xavier Mafla Andrade

ASESOR

CERTIFICA:

Haber revisado el presente informe final de investigación, el mismo que se ajusta a las normas vigente en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales (ECAA), de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCESI); en consecuencia, autorizo su presentación para los fines legales pertinentes.



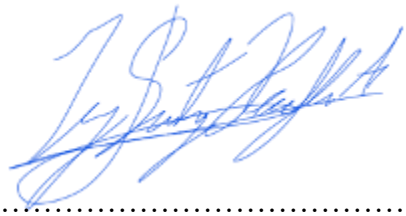
(f)……

Santiago Xavier Mafla Andrade

C.C.: 1002658399

PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El jurado examinador, aprueba el presente informe de investigación en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCESI):



(f)……

MSC. SANTIAGO XAVIER MAFLA ANDRADE

C.C.: 1002658399



(f)……

PhD. DIEGO MANUEL LEÓN TAPIA

C.C.: 1711668895



(f)……

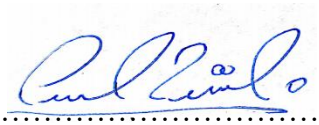
PhD. EDMUNDO RENÉ RECALDE POSSO

C.C.: 1001774494

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo CRISTIAN IVÁN PADILLA REYES, declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 165 de Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, que manifiesta textualmente: “Se reconoce facultad de los autores y demás titulares de derecho de disponer de sus derechos o autorizar de sus obras o prestaciones, a título gratuito u oneroso, según las condiciones que determinen. Esta facultad podrá ejercerse mediante licencias libres, abiertas y otros modelos alternativos de licenciamiento o la renuncia”.

Ibarra, 09 de julio de 2024

f): 

CRISTIAN IVÁN PADILLA REYES

C.C.: 1003733514

AUTORÍA

Yo, CRISTIAN IVÁN PADILLA REYES, portador de la cédula de ciudadanía N°1003733514, declaro que la presente investigación es de total responsabilidad del autor, y eximo expresamente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra de posibles reclamos o accione legales.



f): …….

CRISTIAN IVÁN PADILLA REYES

C.C.: 1003733514

DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, CRISTIAN IVÁN PADILLA REYES, con C.C.: 1003733514, autor del trabajo de grado intitulado: USO DE MICROORGANISMOS NATIVOS PARA EL PROCESO DE BIODEGRADACIÓN DE DESECHOS ORGÁNICOS PROVENIENTES DE LA PRODUCCIÓN DE ANIMALES DE LA GRANJA PUCE-I previo a la obtención del título profesional de Ingeniero Ambiental, en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontifica Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCESI el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Ibarra, 09 de julio de 2024



f): …….

CRISTIAN IVÁN PADILLA REYES

C.C.: 1003733514

DECLARACIÓN DE COMPORTAMIENTO ÉTICO EN LA ELABORACIÓN, DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE TRABAJO DE TITULACIÓN

Por medio de la presente declaro conocer y aplicar en la elaboración, desarrollo y evaluación de Proyecto de Titulación: USO DE MICROORGANISMOS NATIVOS PARA EL PROCESO DE BIODEGRADACIÓN DE DESECHOS ORGÁNICOS PROVENIENTES DE LA PRODUCCIÓN DE ANIMALES DE LA GRANJA PUCE-I, lo propuesto en el Código de Ética de la investigación y el aprendizaje de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, aprobado por el Consejo Superior de la PUCE con fecha 13 de febrero de 2023

Para constancia firma:



f): ……

CRISTIAN IVÁN PADILLA REYES

C.C: 1003733514

INGENIERÍA AMBIENTAL

Ibarra, 14 de febrero 2023

DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios por ser mi fuente inagotable de sabiduría, fuerza y esperanza. Por iluminar mi camino en los momentos más oscuros y devolverme la fe cuando más la necesitaba, por ser mi guía espiritual, permitiéndome encontrar en tu palabra la motivación para no rendirme y perseverar a pesar de las dificultades.

A mis padres Marcelo Padilla y Carmen Reyes por ser el faro que guía mi camino, por su amor incondicional, su paciencia, sus sabios consejos y su incansable apoyo. Ustedes son el principal motor que me impulsa a superarme cada día. Este logro es tan mío como suyo, ustedes creyeron en mí y me brindaron la oportunidad de perseguir mis sueños.

A mis abuelitos, Bertila, Marco y Alfredo Aquellos que me vieron crecer y supieron inculcarme valores invaluables con su ejemplo. A los que ya no están físicamente, pero viven en mi corazón, su legado perdura. Sé que desde el cielo jamás me abandonaron y estuvieron presentes en cada paso que di. Y a mi abuelita Judith que aún tengo la dicha de tener a mi lado, brindándome su cariño incondicional.

A mis queridas tías Violeta y Cecilia ustedes han sido un pilar fundamental en mi formación académica y en la culminación de esta tesis. Su apoyo incondicional, sus palabras de aliento y sus muestras de cariño han sido el combustible que me ha impulsado a seguir adelante, sin su generosidad este logro no habría sido posible.

A mis compañeros y amigos Fernanda, Joselyn, Esteban, Karla, Por su amistad sincera, por estar ahí en las buenas y en las malas, por creer en mí y brindarme su apoyo incondicional. Ustedes son una bendición en mi vida.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, deseo expresar mi más sincero agradecimiento al Mgs. Santiago Mafla, por su invaluable guía, su paciencia, su apoyo y retroalimentación durante todo el proceso de investigación y redacción. Sus conocimientos, experiencia y dedicación fueron fundamentales para el desarrollo de este trabajo sin ellas no hubiese podido llegar a lo que tanta anhelaba. Las enseñanzas que me ha impartido no solo han beneficiado este trabajo, sino que las llevaré grabadas en mi memoria como un valioso legado que marcarán mi futuro desempeño profesional.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador quien me abrió sus puertas para permitirme formar parte de la noble Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales, en sus aulas no sólo adquirí los conocimientos técnicos que conforman los cimientos de mi profesión como Ingeniero Ambiental, sino que también tuve la gran oportunidad de formar mi carácter y enriquecer mi espíritu a nivel personal. Esta Universidad se convirtió en mi segundo hogar, donde pude crecer como profesional y como ser humano, preparado para afrontar los desafíos del mundo con determinación, ética y un profundo sentido de responsabilidad ambiental.

A mis padres por ser mi guía, mi ejemplo a seguir y mi mayor motivación. Gracias por todos sus sacrificios, por su entrega incondicional y por inculcar en mí el valor de la perseverancia. Sus palabras de aliento en los momentos difíciles fueron el combustible que me impulsó a seguir adelante. Nunca podré pagarles todo lo que has hecho por mí.

El camino recorrido no ha sido sencillo, está lleno de obstáculos y desafíos que parecían insalvables. A ustedes, docentes amigos y familiares, les expreso mi eterno agradecimiento por su entrega incansable, por compartir generosamente sus valiosos conocimientos y por guiar mis pasos con sabiduría y paciencia.

INDICE

DEDICATORIA i

AGRADECIMIENTO ii

RESUMEN 1

CAPÍTULO I 3

INTRODUCCIÓN 3

CAPÍTULO II 5

OBJETIVOS 5

2.1. 5

2.2. 5

2.3. 5

CAPÍTULO III 6

ESTADO DEL ARTE 6

3.1. 6

3.1.1. 7

3.1.2. 8

3.2. 9

3.2.1. 10

3.2.2. 12

3.2.3. 12

3.2.4. 14

3.2.5. 14

3.3. 15

CAPÍTULO IV 18

MATERIALES Y MÉTODOS 18

4.1. 18

4.1.1. 18

4.1.2. 19

4.1.3. 19

4.2. 20

4.2.1. 20

4.2.2. 24

4.2.3. 26

4.2.4. 27

4.2.5. 27

4.2.6. 32

4.2.7. 33

CAPÍTULO V 36

RESULTADOS Y DISCUSIÓN 36

5.1. 36

5.2. 39

5.2.1. 39

5.2.2. 42

5.2.3. 44

5.2.4. 46

5.2.5. 49

CAPÍTULO VI 54

CONCLUSIONES 54

CAPÍTULO VII 55

RECOMENDACIONES 55

CAPÍTULO VIII 56

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 56

ANEXOS 62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Descripción de microorganismos descomponedores de materia orgánica 11

Tabla 2. Aplicaciones de los microorganismos descomponedores 13

Tabla 3. Esquema del análisis de varianza para la evaluación de los microorganismos en la degradación de materia orgánica 35

Tabla 4 Resultado obtenido de la caracterización microbiana 36

Tabla 5. Análisis estadístico: humedad 40

Tabla 6. Adeva: humedad 40

Tabla 7. Análisis estadístico: cenizas 42

Tabla 8. Adeva: cenizas 43

Tabla 9. Análisis estadístico: carbono orgánico 45

Tabla 10. Adeva: carbono orgánico 45

Tabla 11. Análisis estadístico: materia orgánica 47

Tabla 12 Adeva: materia orgánica 47

Tabla 13 Límite permisible de nitrato 50

Tabla 14 Análisis estadístico de nitratos 51

Tabla 15. Adeva: Nitratos 51

Tabla 16. Prueba Tukey Nitratos 52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de capturadores 21

Figura 2. Entierro de capturadores 22

Figura 3. Captura de microorganismos 22

Figura 4. Solución madre obtenida 23

Figura 5. Disoluciones seriadas 24

Figura 6. Observación de colonias 25

Figura 7. Aplicación de dosis 32

Figura 8. Visualización de banda aproximadamente 1500 pb, secuencia 16s 37

Figura 9. Porcentaje de humedad (%) 41

Figura 10. Porcentaje de cenizas (%) 43

Figura 11. Porcentaje de carbono orgánico (%) 46

Figura 12. Cantidad de materia orgánica 48

Figura 13. Cantidad de nitratos mg/L 49

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 1. Preparación de capturadores 62

ANEXO 2. Siembra de capturadores 62

ANEXO 3. Cosecha de capturadores 63

ANEXO 4. Preparación de solución madre 63

ANEXO 5. Preparación de agar y diluciones 64

ANEXO 6. Observación de colonias microbianas 64

ANEXO 7. Tinción de GRAM 65

ANEXO 8. Aislamiento de microorganismos 65

ANEXO 9. Secado y esterilización de lodo residual 66

ANEXO 10. Preparación de dosis (UFC) 66

ANEXO 11. Medición de nitratos 67

ANEXO 12. Medición de materia orgánica 67

ANEXO 13. Cálculo para obtener de materia orgánica 68

ANEXO 14. Base de datos obtenidos al final de la investigación 69

ANEXO 15. Resultado Rstudio: nitrato 70

ANEXO 16. Resultado Rstudio: materia orgánica 71

ANEXO 17. Resultado Rstudio: carbono orgánico 71

ANEXO 18. Resultado Rstudio: cenizas 72

ANEXO 19. Resultado Rstudio: humedad 72

ANEXO 20. Resultado informe de laboratorio (caracterización) 73

RESUMEN

El estudio se centró en la caracterización de microorganismos presentes en el suelo de la granja PUCE-I y el tratamiento de residuos orgánicos generados en actividades ganaderas, con un enfoque específico en los residuos de origen animal. Se identificaron las principales fuentes de estos residuos, como excrementos, orina, lodos y se evaluaron las técnicas para su manejo y tratamiento sostenible. La investigación aplicó microorganismos para el tratamiento de lodos. Para ello, se recolectaron y analizaron muestras de lodos antes y después del tratamiento microbiano. Los análisis fisicoquímicos realizados incluyeron la medición de parámetros como el contenido de carbono total, materia orgánica y nitratos. Estos análisis fueron complementados con la cateterización para identificar y caracterizar los microorganismos presentes en las muestras. En los resultados obtenidos en la caracterización microbiológica revelaron la presencia destaca de *Metaclostridioides mangenotii*, identificado a través de secuenciación de ADN. La aplicación de estos microorganismos en el tratamiento de lodos resultó en una mejora significativa en la calidad de los lodos tratados, evidenciada por la reducción de contaminantes como los nitratos y reducción de materia orgánica. Finalmente, el estudio demostró que la utilización de microorganismos nativos es una estrategia efectiva para el tratamiento de residuos orgánicos, mejorando la calidad de los lodos y contribuyendo a una gestión ambiental más sostenible en las actividades agrícolas y ganaderas.

Palabras clave: microorganismos, tratamiento de lodos, residuo orgánico, secuenciación, materia orgánica.

ABSTRACT

The study focused on the characterization of microorganisms present in the soil of the PUCE-I farm and the treatment of organic waste generated in livestock activities, with a specific focus on animal-origin waste. The main sources of these wastes, such as excrement, urine, and sludge, were identified, and techniques for their sustainable management and treatment were evaluated. The research applied microorganisms for sludge treatment. For this purpose, sludge samples were collected and analyzed before and after microbial treatment. The physicochemical analyses performed included the measurement of parameters such as total carbon content, organic matter, and nitrates. These analyses were complemented with catheterization to identify and characterize the microorganisms present in the samples. The results obtained in the microbiological characterization revealed the prominent presence of *Metaclostridioides mangenotii*, identified through DNA sequencing. The application of these microorganisms in sludge treatment resulted in a significant improvement in the quality of the treated sludge, evidenced by the reduction of contaminants such as nitrates and organic matter. Finally, the study demonstrated that the use of native microorganisms is an effective strategy for the treatment of organic waste, improving the quality of the sludge and contributing to more sustainable environmental management in agricultural and livestock activities.

Keywords: microorganisms, sludge treatment, organic waste, sequencing, organic matter.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

En una granja, los desechos orgánicos se generan a partir de diversas fuentes, como los restos de comida que no consumen los animales, las excreciones, las hojas, las flores y otros materiales de origen vegetal. En el caso específico de los cerdos, estos residuos consisten principalmente en heces, orina y lodos. De manera similar, los residuos de la actividad ganadera en general incluyen restos de comida, heces y orina, entre otros (Rodríguez, 2022).

Los desechos o residuos de origen animal constituyen sustancias orgánicas que proceden de la crianza de animales, como o excrementos, orina, pelo, plumas, sangre, pieles, entre otros (Food and Agriculture Organization of the United Nations [FAO], 1997). El estiércol constituye uno de los principales desechos generados en las granjas y representa potenciales fuentes significativas de contaminación. Esto se debe a que puede contaminar ríos, ecosistemas terrestres y aguas subterráneas destinadas al consumo humano, ya que, de forma natural, el nitrógeno presente en el estiércol se transforma en nitrato, comprometiendo la calidad del agua potable y ocasionando problemas de salud en las personas. Además, el fósforo contenido en el estiércol puede provocar un crecimiento excesivo de algas en lagos y ríos, hasta el punto de hacer estos cuerpos de agua inhabitables para los peces y otras formas de vida acuática. Por ejemplo, concentraciones de fósforo superiores a 0.1 mg/L en aguas superficiales pueden causar un crecimiento excesivo de algas y eutrofización. Niveles de fósforo por encima de 0.05 mg/L en lagos y embalses pueden provocar la proliferación de floraciones de algas tóxicas y la pérdida de biodiversidad acuática. (Maciej et al., 2023).

En la Granja Experimental PUCE-I, la mayoría de los derechos provienen de la cría de vacas, cerdos y gallinas, esto resulta en una cantidad significativa de lodo residual aproximadamente 125 kg/día que daña negativamente el medio ambiente. En dicho contexto la presencia de los residuos orgánicos posee impactos negativos en el entorno, como por ejemplo emisiones de metano principal gas de efecto invernadero desencadenando así la alteración de la calidad del aire, contaminación de agua de riego por lixiviación, olores en las zonas habitadas cercanas y afecciones a la salud humana (Rigoberto et al., 2019).

Por ello es importante plantear estrategias para el aprovechamiento máximo de los residuos orgánicos que se generan diariamente en la Granja PUCE-I, de tal modo dentro del campo de la Ingeniería Ambiental, existe un gran interés acerca del uso de microorganismos que intervienen en el proceso de biorremediación, pues han demostrado ser organismos benéficos que al entrar en contacto con la materia orgánica sirven como soporte para controlar, prevenir y mitigar los impactos negativos generados por dicha materia (Ramírez et al., 2017).

En tal sentido, el presente estudio de investigación mostró a detalle la eficiencia que tiene cada microorganismo, demostrando los beneficios y ventajas que posee el integrar microorganismos en el proceso de biodegradación de la materia orgánica principalmente en el campo agrícola y ganadero, en cada una de sus etapas, además de demostrar los beneficios de dicha estrategia dentro de la rama de la ingeniería ambiental.

CAPÍTULO II

OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Determinar la eficiencia del uso de microorganismos procedentes de los suelos de la granja, como organismos de biodegradación de los desechos orgánicos que se generan en la granja PUCE-I principalmente por el ganado.

2.2. Objetivos específicos

Aislar microorganismos nativos capturados en el reservorio de la granja PUCE-I, mediante preparación de sustratos específicos.

Evaluar la variación de los parámetros fisicoquímicos como microbiológicos del lodo residual provenientes de la granja PUCE-I.

2.3. Hipótesis

Ho: El empleo de microorganismos degradadores de materia orgánica no ayudan ni aceleran el proceso de biodegradación de los residuos orgánicos producidos en la Granja PUCE-I.

Ha: El empleo de microorganismos degradadores de materia orgánica ayudan y aceleran el proceso de biodegradación de los residuos orgánicos producidos en la Granja PUCE-I.

CAPÍTULO III

ESTADO DEL ARTE

3.1. Los residuos orgánicos pecuarios

En general, la legislación ecuatoriana tiene en cuenta a los residuos en el Decreto N° 3.516, en donde nos estipula que: se desecha cualquier objeto, sustancia, material, producto o elemento que se forme en estado sólido, líquido, semisólido o gaseoso, ubicado en un recipiente o en depósitos, en donde es desechado, rechazado o entregado por su generador porque sus propiedades impiden que pueda ser reutilizado en la actividad que lo generó, o porque así lo exige la legislación aplicable (Ministerio del Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial [MAVDT], 2005).

Los residuos se pueden clasificar, por ejemplo, a aquellos que son de tipo orgánico (Residuos Sólidos Orgánicos [RSO]), se los definen como sólidos generados de forma natural durante el ciclo vital, como consecuencia de las funciones fisiológicas y/o de manutención; o a su vez son producto de la explotación de los recursos bióticos, que tienen su origen tanto animal como vegetal (Chávez & Rodríguez, 2016).

Steinfeld et al. (2009) establece que en la era moderna las operaciones ganaderas están causando diversos impactos perjudiciales en el medio ambiente, así como en los trabajadores y la fauna de estas instalaciones. Estos efectos negativos se deben principalmente al manejo inadecuado de los desechos orgánicos generados en los corrales de ganado. Entre los principales problemas podemos destacar:

Contaminación del Aire

La descomposición del estiércol libera gases nocivos como el metano y el amoníaco, que contribuyen al calentamiento global y afectan la calidad del aire de las zonas circundantes (Arellano, 2021).

Contaminación del Agua

Los lixiviados y escorrentías provenientes de los corrales pueden contaminar las fuentes de agua superficiales y subterráneas con nutrientes, patógenos y otros contaminantes, poniendo en riesgo la salud humana y los ecosistemas acuáticos (Alfonso, 2021).

Contaminación del Suelo

La acumulación masiva de desechos orgánicos presentes en el suelo cambia su composición química y biológica, reduciendo la fertilidad y la capacidad de sustentar la vida vegetal (Steinfeld et al., 2009).

Aumento del Efecto Invernadero

Los gases de efecto invernadero, como el metano y el óxido nitroso, se liberan cuando los desechos se descomponen y contribuyen significativamente al calentamiento global y al cambio climático (Sánchez & Hernández, 2021).

Generación de Lluvia Ácida

Algunos compuestos liberados por los desechos animales, como el amoníaco y el sulfuro de hidrógeno, pueden reaccionar en la atmósfera para formar ácidos que caen en forma de lluvia ácida y dañan los ecosistemas terrestres y acuáticos (Steinfeld et al., 2009).

3.1.1. Proceso de descomposición de la materia orgánica

La descomposición de la materia orgánica es un proceso que puede ser afectado por cambios causados por actividades humanas en los diversos tipos de suelo. Estas alteraciones pueden tener un impacto negativo en los servicios ambientales, ya que los ecosistemas podrían perder la diversidad que caracteriza a cada uno de ellos (Gelvez, 2008).

La temperatura es un factor clave del entorno que influye en la velocidad de descomposición de los residuos orgánicos. Cualquier cambio en la temperatura podría afectar la composición de las especies y el tiempo durante el cual dominan, teniendo un impacto directo en cómo se produce la descomposición (Caballero, 2011).

Berg & McClaugherty (2003), afirman que el proceso de descomposición implica procesos físicos (fragmentación), químicos (oxidación) y biológicos (consumo y digestión) que transforman la materia orgánica en formas progresivamente más duraderas.

La materia orgánica sometida a degradación microbiana procede de diferentes fuentes, siendo las predominantes los restos vegetales, los restos y las excreciones animales. Además, las células microbianas muertas sirven como fuente de carbono para las siguientes generaciones de la sociedad microbiana. La química de la materia orgánica es precisamente compleja y las investigaciones de las transformaciones y los organismos que las provocan son drásticamente interesantes, sin embargo, no están exentas de inconvenientes que provienen principalmente de la heterogeneidad de los sustratos naturales (Caballero, 2011).

3.1.2. Contaminación por residuos orgánicos

La contaminación por residuos orgánicos en una granja porcina es un importante problema medioambiental que puede influir en las aguas superficiales y subterráneas, el suelo y el viento. Los residuos producidos, como excrementos, orina, alimentos no consumidos y otros desechos orgánicos, contienen nutrientes como nitrógeno, fósforo, metales pesados, microorganismos, gases y olores que pueden ser contaminantes. Para hacer frente a esta contaminación, es crucial llevar a cabo una gestión adecuada de los residuos, que integre técnicas como el procedimiento anaeróbico y el compostaje para reducir el efecto medioambiental (Zúñiga & Buelina, 2015).

Los residuos orgánicos tienen un impacto significativo en el medio ambiente debido a que contaminan recursos como aire, suelo y agua (subterránea y superficial). A manera detallada, los cuerpos de agua sufren un grave problema de contaminación, principalmente por los microorganismos patógenos humanos, el suelo, debido a que estos contienen metales pesados al asentarse y formar lixiviaciones, por otro lado, el porcentaje de metano y monóxido de carbono que emiten crean un desequilibrio en el aire que altera el carácter natural del ambiente (Erickson, 2009).

Además, la prevención, segregación, reutilización y almacenamiento conveniente de los residuos son principios clave en su funcionamiento. La ventilación, el uso de biodigestores y la dilución por el viento son tácticas eficaces para controlar la contaminación eólica causada por estos

residuos. Es importante concienciar sobre el valor de una correcta gestión de los residuos en las explotaciones porcinas y avícolas, así como invertir en infraestructuras y tecnologías adecuadas para su procedimiento (Zúñiga & Buelina, 2015).

3.2. Microorganismos descomponedores y sus tipos

La materia presente en la naturaleza experimenta transformaciones mediante procesos biológicos. Si bien todos los organismos vivos contribuyen al mantenimiento de la vida, los microorganismos desempeñan un rol fundamental en los cambios geoquímicos y en la fertilidad del suelo. Estos seres microscópicos tienen la capacidad de transformar enormes cantidades de materia orgánica y son los únicos capaces de llevar a cabo ciertas transformaciones esenciales. Estas modificaciones tienen lugar en diversos ecosistemas de la biosfera, como el suelo, los ambientes acuáticos y la atmósfera (Pascual & Venegas, 2001).

En el suelo, los microorganismos heterótrofos constituyen el grupo principal y son los descomponedores más importantes, formando la base de las cadenas alimentarias detritívoras. En consecuencia, la diversidad, actividad, abundancia y distribución de una parte importante de la población microbiana edáfica estará regulada por la tasa de suministro de material energético en forma de materia orgánica. Por otro lado, las algas, bacterias y cianobacterias quimioautótrofas actúan como productoras primarias de materia orgánica en los agroecosistemas, fijando carbono a través de la fotosíntesis, lo que les confiere un carácter autótrofo (Labrador, 2012).

Un grupo destacado de microorganismos que intervienen en la descomposición de residuos vegetales, animales, polímeros complejos e hidrocarburos, así como en el mantenimiento de la estructura y porosidad del suelo, son los actinomycetes. Estas bacterias grampositivas aerobias se caracterizan por formar micelios ramificados. Su presencia y diversidad en un suelo determinado dependerá de la disponibilidad de nutrientes y oxígeno (Pascual & Venegas, 2001).

Según Labrador (2012), el conjunto de microorganismos aerobios que juegan un papel clave en la degradación de la materia orgánica del suelo, desde compuestos simples hasta polímeros complejos, son los hongos. Algunas especies fúngicas actúan como depredadoras de protozoos y nematodos, regulando sus poblaciones en el suelo, mientras que otras ejercen un efecto

micoparásito, atacando a otras especies de hongos. Entre algunos tipos de microorganismos descomponedores podemos encontrar los siguientes:

- **Bacterias fototróficas:** Dicho tipo de bacterias representan un grupo de organismos autosuficientes e independientes que posibilita la síntesis de la materia orgánica y reducción de gases nocivos mediante el uso de luz natural. Existen dos variedades *Rhodopseudomonas plastrus*, y *Rhodobacter spaeroides*, las cuales poseen la capacidad de fijar el nitrógeno y dióxido de carbono en moléculas orgánicas (Rendón, 2019).

- **Bacterias Ácido-Lácticas (*Lactobacillus spp*.):** Las mismas tienen la característica de producir ácido láctico a partir de azúcares y demás carbohidratos. Dicho ácido es un potente esterilizador dentro ya que, combate microorganismos perjudiciales como el *Fusarium spp.* acelera la descomposición de la materia orgánica y facilita la solubilización de la cal (Ramírez & Vélez, 2016).

- **Levaduras** *(Saccharomycetes spp.):* En este grupo, se puede encontrar la bacteria *Saccharomyces cerevisiae y Candida utilis*, quienes tienen la función principal de degradar proteínas complejas y carbohidratos (Parapouli et al., 2020).

Cada uno de estos grupos de microorganismos descomponedores posee adaptaciones y enzimas específicas que les permiten atacar y degradar diferentes tipos de sustratos orgánicos, convirtiéndolos en nutrientes y moléculas más simples que pueden ser reutilizadas por otros organismos en el ecosistema.

3.2.1. Taxonomía de microorganismos descomponedores

Como todos los seres vivos, los microorganismos han sido agrupados en un sistema de clasificación taxonómica que nos permite identificarlos de forma sencilla y concisa al momento de estudiarlos o utilizarlos en algún proceso. El sistema taxonómico va más allá de un simple agrupamiento, estableciendo categorías jerárquicas detalladas que permiten trazar la historia biológica comparativa de un organismo respecto a otros. Estas categorías incluyen reino, subreino, filo o tipo, subfilo, clase, subclase, orden, suborden, grupo, familia, subfamilia, género y especie. Los taxónomos ubican a todas las especies dentro de estas categorías basándose en características fenotípicas comunes compartidas por los individuos de cada grupo. De esta manera, la taxonomía

logra organizar y clasificar la vasta diversidad de formas de vida de una manera estructurada y lógica (Rigail & Arias, 2009).

Es necesario señalar que los microorganismos son agrupados mediante una clasificación taxonómica la cual permite su identificación y posterior estudio. Este agrupamiento se basa en un sistema de nomenclatura que designa un nombre al organismo tomando en consideración el género y la especie a la que pertenece (Feijoo & Mesa, 2016).

Tabla 1

Descripción de microorganismos descomponedores de materia orgánica

N°	Nombre Científico	Descripción
1	*Clostridium sp.*	Varias especies son parásitas, mientras que otras son saprofitas. Ciertas cepas tienen la función de formar esporas esféricas u ovales, situadas en el centro del bacilo o en un extremo subterminal. Estas esporas son resistentes al calor. Varias especies son móviles debido a la existencia de flagelos peritricos, pero carecen de la capacidad de convertir sulfatos en sulfitos. Su metabolismo es estrictamente anaerobio y carecen de citocromos. Obtienen energía mediante la fosforilación de sustrato y son quimiorganótrofos y fermentativos. No generan catalasa. Su aumento óptimo se produce a temperaturas entre 30 y 37 °C y a un pH entre 7,0 y 7,4. Simplemente se inactivan en condiciones de pH ácido o vital. Para su desarrollo, sintetizan diferentes enzimas utilizando como sustratos hidratos de carbono, proteínas y aminoácidos, que les proporcionan fuentes de energía, carbono y nitrógeno (Trivedi et al., 2007).
2	*Saccharomyces sp.*	Estos microorganismos son hongos unicelulares con morfologías variadas, pudiendo ser redondos, esféricos, en forma de limón, piriformes, cilíndricos, triangulares o incluso alargados formando estructuras similares a un micelio verdadero o falso. Su tamaño oscila entre 1 y 10 micrómetros de ancho por 2 a 3 micrómetros de longitud. En su estructura celular, de tipo eucariota, pero sin sistema fotosintético, se pueden distinguir componentes como la pared celular, el citoplasma, vacuolas y grasas. A nivel mundial, este microorganismo es ampliamente reconocido como una excelente fuente de proteínas, vitaminas

		del complejo B, minerales esenciales y fibra dietética. Numerosos estudios han investigado su uso y el de algunos de sus derivados en la alimentación humana, dadas sus propiedades nutricionales (Caballero & Sgarbieri, 2000)
3	*Penicillium sp.*	Se trata de un conjunto de microorganismos que se caracterizan por su capacidad para generar una amplia gama de compuestos catalogados como metabolitos secundarios. En determinados casos, su producción de estos metabolitos puede llegar a ser un 73% superior en comparación con otros microorganismos (Cafêu et al., 2005)

Nota. Adaptado de " Identificación de Microorganismos Descomponedores de la Materia Orgánica" (p.14), por (Vásquez et al., 2020) Universidad Nacional de San Martín Tarapoto, Perú.

3.2.2. Importancia de los microorganismos descomponedores

Los microorganismos autóctonos, como los inoculantes microbianos, contribuyen al restablecimiento del equilibrio microbiológico del suelo, mejorando sus características físicas y químicas, aumentando la producción de cultivos y protegiéndolos. Además, promueven la conservación de recursos naturales y fomentan una agricultura sostenible que prioriza la producción de alimentos más saludables. Esto implica reducir el uso de productos químicos típicos de la agricultura intensiva a gran escala (Cariello, 2007).

Por otro lado, los microorganismos son de vital importancia para la degradación de restos de animales y vegetales, pues los transforman en sustancias que sirven como fuente de energía para otras especies.

3.2.3. Aplicaciones

Desde el momento en que las personas tomaron conciencia de su capacidad para capturar, controlar y emplear ciertos conjuntos de microorganismos, se han encontrado con ventajas en diversos ámbitos. Esto se debe a la habilidad innata de estos microorganismos para descomponer y separar sustancias. Como resultado, han surgido varios dominios clave donde la humanidad ha recurrido a la acción de los microorganismos para lograr resultados positivos en:

Tabla 2

Aplicaciones de los microorganismos descomponedores

MEDIO	DESCRIPCIÓN
Alimentación	Numerosos microorganismos desempeñan un papel crucial al contribuir a la creación de nuevos alimentos deliciosos para consumo humano. Entre ellos se incluyen las levaduras, que fermentan la masa para producir pan y pasteles, así como las bacterias ácido-lácticas, que fermentan la leche convirtiéndola en yogur, entre otros ejemplos.
Medicina	Ciertos medicamentos antibióticos se derivan de las secreciones de microorganismos que inhiben la propagación de otras cepas de bacterias o hongos. Un ejemplo notable es la penicilina, extraída de una secreción del hongo *Penicillium,* que tiene la capacidad de frenar el crecimiento de otros hongos o microorganismos que cohabitan en el mismo entorno.
Agricultura	En este campo, la actividad microbiana ha sido esencial para garantizar una producción de alimentos sostenible y en armonía con el medio ambiente, ya sea a través de su simbiosis con ciertas clases de plantas (como *Bradyrhizobium y Micorrizas*), su capacidad para controlar insectos (como *Trichoderma y Bacillus thuringiensis*), o su función crucial en la descomposición de la materia orgánica dentro del suelo
Medio ambiente	Hoy en día, se emplean bacterias con capacidad para descomponer aceites con el fin de contener los grandes vertidos de petróleo, que son frecuentes en la era actual, y así prevenir la devastación de ecosistemas en diversas partes del mundo. Además, estas bacterias se utilizan como agentes descomponedores de la materia orgánica presente en los residuos urbanos o industriales, lo que reduce los niveles de contaminación. Al mismo tiempo, se obtienen fertilizantes naturales que se incorporan en la producción de alimentos.

Nota. Adaptado de "Estudio de microorganismos como agentes aceleradores de descomposición de los desechos originados en la ESPOL" (p.14), por Rigail & Arias, 2009, Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil, Ecuador.

3.2.4. Microorganismos eficientes

Feijoo & Mesa (2016), mencionan que los microorganismos eficientes son una mezcla de diversos microorganismos benéficos, que no han sido modificados genéticamente y coexisten en ecosistemas naturales.

Zakaria et al. (2010), mencionan que los microorganismos eficientes al entrar en contacto con la materia orgánica secretan sustancias útiles, por ejemplo, la presencia de bacterias fotosintéticas permite la neutralización de malos olores y minimizar la nocividad para la población humana.

Asimismo, los comúnmente llamados lactobacilos (bacterias ácido-lácticas), generan sustancias que aceleran la descomposición de la materia orgánica, además controlan cierto tipo de patógenos que atacan a diversas plantas.

Finalmente, las levaduras ayudan a producir ciertas sustancias que actúan como hormonas naturales y promueven el desarrollo y crecimiento de las plantas.

Estos poseen una infinidad de aplicaciones, que permiten dar soluciones a problemáticas existentes relacionadas a recursos agrícolas, contaminación, alimentación e incluso salud. En el ámbito de residuos sólidos como se menciona en la presente investigación son utilizados para transformarlos en compost, contrarrestar la producción de malos olores, evitar la proliferación de insectos (Rigail & Arias, 2009).

3.2.5. Procesos de biodegradación con microorganismos

Es importante mencionar que actualmente se han llevado a cabo diversas investigaciones encaminadas a evitar la putrefacción de la materia orgánica, para lo cual se aplica microorganismos benéficos obtenidos de especies vegetales e inmovilizados en un material inerte, lo que permite la fermentación como tal del residuo a ser tratado, evitando así, la generación de gases, posteriormente son transformados en un material estable denominado compost, que permite la generación de productos finales adecuados tales como fertilizantes, sustratos para el cultivo de hongos y biogás (Sarkar et al., 2016).

En el proceso de biodegradación, la aireación es fundamental en las áreas donde se lleva a cabo el compostaje. Durante las primeras semanas, la temperatura aumenta debido a la energía liberada por los microorganismos. Cuando hay oxígeno disponible y temperaturas elevadas, la materia orgánica se descompone más rápidamente (Ruíz, 2020).

Las proteínas, al degradarse, liberan amoníaco y nitratos, mientras que las grasas y carbohidratos forman dióxido de carbono y agua. Este proceso consta de varias fases:

- **Fase termófila:** A partir del día 100 y con el aumento de temperatura, la población dominante se compone de actinomicetos, bacterias y hongos. Los microorganismos mesófilos son eliminados, mientras que predominan los microorganismos termófilos esporulados. Esta fase de alta temperatura destruye semillas de malezas y patógenos de animales y plantas, acelerando el proceso de degradación (Frioni, 2005).

- **Fase mesófila**: En esta etapa predominan bacterias y hongos que producen enzimas y ácidos que atacan la materia orgánica, generando calor y favoreciendo el desarrollo de organismos (Ruíz, 2020).

- **Etapa de maduración:** En esta última fase, ocurre una degradación lenta de la materia orgánica hasta que el volumen se reduce aproximadamente al 50%. El material retorna a una nueva fase mesófila, pero con otra población microbiana y composición química, ya que los nutrientes han sido consumidos. Reaparecen hongos y bacterias provenientes del medio, y la composta se estabiliza a temperatura ambiente, donde se encuentran protozoarios, nematodos, hormigas, lombrices e insectos (Frioni, 2005).

3.3. Estudios previos

Cajahuanca (2016), realizó una investigación cuyo tema fue: “Optimización del manejo de residuos orgánicos por medio de la utilización de microorganismos eficientes (*Saccharomyces cerevisiae, Aspergillus spp., Lactobacillus spp*.)” cuyo objetivo se encontraba centrado en la mejora de los residuos orgánicos a través del uso de población microbiana, para ello se realizó una caracterización antes y después de la inoculación de estos.

Rosero (2013), en su artículo científico sobre la “Descomposición microbiológica de desechos orgánicos originados en la Universidad Central del Ecuador” demostró la eficacia de la

fermentación de la materia prima previamente clasificada gracias a la acción de los microorganismos después de un determinado lapso de tiempo. En cuanto a la metodología aplicada, el autor llevó a cabo la elaboración de camas para la cuantificación de parámetros tales como: pH, Temperatura, Humedad, Relación C/N, fósforo y potasio.

Celso et al., (2013), en su investigación acerca de la "Descomposición de la materia orgánica con microorganismos benéficos" describen el comportamiento de organismos unicelulares previamente estimulados con campos magnéticos, para analizar su eficiencia en materia de degradación de residuos sólidos orgánicos, monitoreando constantemente la temperatura, pH, carbono y nitrógeno. Concluyendo que la aplicación de campos magnéticos permite la acción efectiva de microorganismos benéficos en los procesos de descomposición de residuos sólidos orgánicos urbanos.

Cajahuanca (2016), realizó una investigación cuyo tema fue: "Optimización del manejo de residuos orgánicos por medio de la utilización de microorganismos eficientes (*Saccharomyces cerevisiae, Aspergillus spp., Lactobacillus spp*.)" cuyo objetivo se encontraba centrado en la mejora de los residuos orgánicos a través del uso de población microbiana, para ello se realizó una caracterización antes y después de la inoculación de estos.

Rosero (2013), en su artículo científico sobre la "Descomposición microbiológica de desechos orgánicos originados en la Universidad Central del Ecuador" demostró la eficacia de la fermentación de la materia prima previamente clasificada gracias a la acción de los microorganismos después de un determinado lapso de tiempo. En cuanto a la metodología aplicada, el autor llevó a cabo la elaboración de camas para la cuantificación de parámetros tales como: pH, Temperatura, Humedad, Relación C/N, fósforo y potasio.

Celso et al. (2013), en su investigación acerca de la "Descomposición de la materia orgánica con microorganismos benéficos" describen el comportamiento de organismos unicelulares previamente estimulados con campos magnéticos, para analizar su eficiencia en materia de degradación de residuos sólidos orgánicos, monitoreando constantemente la temperatura, pH, carbono y nitrógeno. Concluyendo que la aplicación de campos magnéticos permite la acción efectiva de microorganismos benéficos en los procesos de descomposición de residuos sólidos orgánicos urbanos.

CAPÍTULO IV

MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales, reactivos y equipos

Los recursos materiales y equipos utilizados a lo largo de esta investigación experimental fueron cuidadosamente seleccionados y dispuestos para garantizar la calidad y confiabilidad de los resultados obtenidos. A continuación, se detallan los principales elementos empleados tanto en la fase de campo como en la fase de laboratorio:

4.1.1. Materiales

- Tarrinas desechables de 1litro
- Pedazos de tela nylon.
- Algodón
- Papel kraft
- Mechero de alcohol
- Tubos de ensayo
- Gradilla tubos de ensayo
- Caja petri
- Porta objetos
- Asa de siembra
- Micropipeta de 1000 μL
- Puntas para micropipeta
- Matraz de 50m y 100ml
- Crisoles de 50g

- Arroz cocinado
- Melaza
- Harina de pescado

4.1.2. Reactivos

- Agar Rojo Congo (BIO WORLD)
- Lb Broth (LAB 169)
- Cristal Azul Violeta
- Lugol
- Alcohol al 96%
- Safranina
- Reactivo en polvo para nitrato 10 ml pk/100 (HACH)

4.1.3. Equipos

- Balanza analítica (Mettler Toledo ME240, capacidad de máxima de 220g)
- Incubadora (MEMMERT)
- Autoclave (ICAN CLAVE, clase n y b 922-ste-b23d)
- Incubadora con agitación (N- BIOTEL, serie NB- 205L)
- Estufa (Fisher Scentificg)
- Espectrofotómetro (HACH DR 3900)
- Espectrofotómetro (GENEYS 20)
- Campana de flujo laminar (N-BIOTEK)

4.2. Métodos

La metodología empleada en este estudio es de carácter experimental, puesto que se llevó a cabo dentro del laboratorio, donde en primer lugar se estableció una fase de campo destinada a la captura de microorganismos, los cuales fueron recolectados siguiendo un protocolo debido.

Las muestras de microorganismos se obtuvieron mediante capturadores previamente cosechados en la Granja Experimental ECAA, ubicada en la Provincia de Imbabura, específicamente en la ciudad de Ibarra, con coordenadas UTM 17N 821809 38943, ubicación geográfica: latitud N 00°21’50”, longitud W 78°15’40”, Altitud 2220 m.s.n.m.

En lo que respecta a la fase de laboratorio, esta se llevó a cabo en los laboratorios pertenecientes a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Ibarra (PUCE-I) específicamente en los de Microbiología y Biotecnología. En este entorno controlado, se realizaron los análisis correspondientes con rigurosidad y precisión, utilizando equipos y técnicas especializadas. Este enfoque permitió obtener resultados confiables y reproducibles, sentando las bases para un análisis exhaustivo de los microorganismos capturados.

4.2.1. Captura de microorganismos

El sitio adecuado se seleccionó mediante una inspección de campo tomando en cuenta que no se encuentre intervenido por plantaciones, construcciones u actividad agrícola cercana. En este lugar (Figura 1) se colocaron 15 capturadores. La elección del lugar se realizó con el fin de capturar la mayor diversidad posible de microorganismos nativos presentes en el entorno; siguiendo el protocolo utilizado por el INIAP (2011), quienes los detallan de la siguiente manera:

4.2.1.1. Preparación de capturadores.

El proceso se inició con la cocción del arroz sin agregar sal ni aceite. Una vez que el arroz estuvo listo, se tomaron porciones de 4 onzas (aproximadamente 113 gramos) y se colocaron cuidadosamente en 15 recipientes esterilizados. Posteriormente, se añadieron 2 cucharadas de melaza a cada recipiente y 2 de harina de pescado, ingredientes claves que aportan nutrientes esenciales para el presente estudio (Peral, 2018).

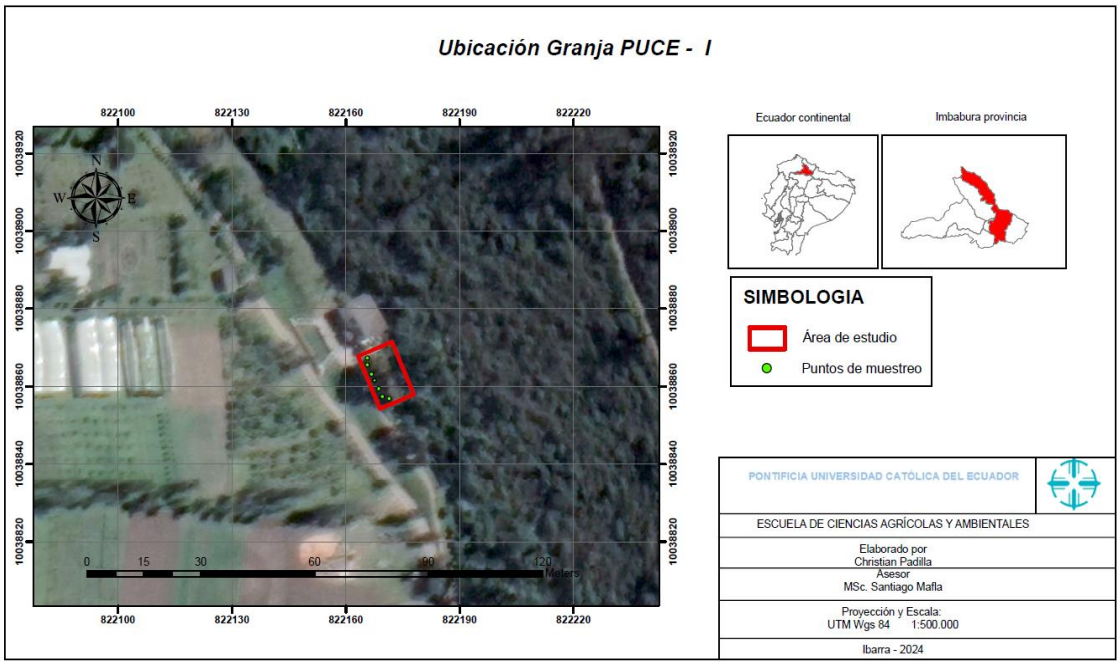
Una vez que todos los componentes fueron debidamente mezclados en cada recipiente, se procedió a sellar las tarrinas con una tela de nylon ajustándola firmemente con una liga para evitar la entrada de contaminantes externos.

4.2.1.2. Colocación de los capturadores

El lugar para la colocación de los capturadores fue en un lugar no intervenido dentro de la granja experimental PUCE-I como se puede observar en la siguiente figura:

Figura 1

Ubicación de capturadores



En los puntos de muestreo se colocó los capturadores dejando un borde de aproximadamente 10 centímetros de profundidad y con una separación de aproximadamente 2 metros entre cada uno, asimismo se los cubrió con una capa de materia orgánica, asegurando así un entorno adecuado para el desarrollo microbiano (Figura 2). Con el fin de facilitar su posterior recuperación, se colocaron identificadores visibles en la parte superior de cada capturador enterrado. Estos permitirán localizar fácilmente los puntos de muestreo durante la fase de cosecha (Peral, 2018).

Figura 2

Entierro de capturadores



4.2.1.3. Cosecha de microorganismos.

Después de transcurrir un período de 20 días para la recolección de 15 muestras, se llevó a cabo la cosecha de los capturadores, donde con cuidado se procedió a desenterrar los capturadores, evitando dañar la tela de nylon ubicada en la parte superior. Esto con la finalidad de que la tela se rasgara y permitiera la entrada de residuos externos, comprometiendo así la integridad de las muestras recolectadas (Peral, 2018).

Figura 3

Captura de microorganismos



4.2.1.4. Obtención de solución madre.

Tras la cosecha exitosa de todos los capturadores, se dio inicio al proceso de obtención de la solución de microorganismos eficientes, siguiendo las directrices establecidas por el (Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias [INIAP] 2011).

En primer lugar, se transfirieron cuidadosamente los microorganismos capturados a un recipiente de tamaño adecuado, con el objetivo de contar con una muestra general representativa.

Una vez reunidos los microorganismos en el recipiente, se añadieron 3 litros de agua limpia y previamente hervida, garantizando así la eliminación de cualquier contaminante potencial. Y a su vez se incorporaron 2 litros de melaza. Para asegurar una mezcla homogénea se procedió a batir la solución durante un período de 10 minutos. Después de la mezcla, se realizó un proceso de filtrado para eliminar cualquier partícula gruesa o residuo sólido presente en la solución. Este paso dio como resultado la obtención de la solución madre de microorganismos eficientes (EMAs), un concentrado con una gran diversidad de microorganismos benéficos (INIAP, 2011).

Figura 4

Solución madre obtenida



4.2.2. Aislamiento de microorganismos nativos

De acuerdo con el método implementado por Rubio (2016), el aislamiento de microorganismos a partir de la solución madre se llevó a cabo siguiendo el procedimiento descrito a continuación:

4.2.2.1. Preparación de agar.

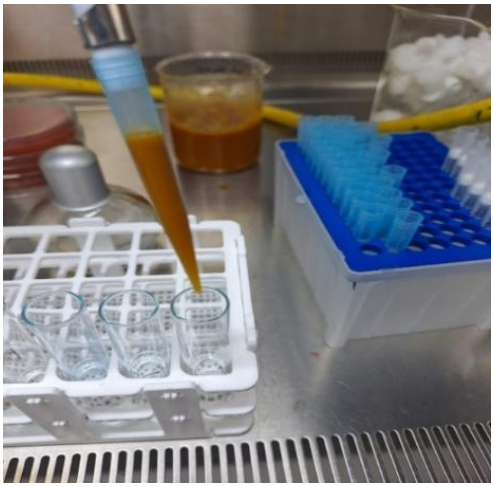
Para preparar el agar Rojo Congo *(medio de cultivo que permite la detección de microorganismos nitrificantes)*, se pesaron 12,73 gramos del medio deshidratado y se disolvieron en 400ml agua destilada. Una vez preparada la mezcla, se esterilizó en la autoclave a 121 °C durante 50 minutos aproximadamente. Posteriormente, una vez que el agar esterilizado se enfrió, se colocó 20 ml de este medio en cada una de las 20 cajas petri previamente esterilizadas (Castelán & Hack, 2022).

4.2.2.2. Disoluciones seriadas.

En primer lugar, se tomó 1000 µL (1 ml) de la solución madre y se transfirió a un tubo de ensayo que contenía 9 ml de agua destilada esterilizada (Figura 5). Esta primera dilución se conoce como la dilución 10^{-1}, ya que la muestra original se diluye 10 veces. A continuación, se mezcló cuidadosamente el contenido del tubo mediante una agitación suave para asegurar una distribución homogénea de los microorganismos (Méndez, 2018).

Figura 5

Disoluciones seriadas

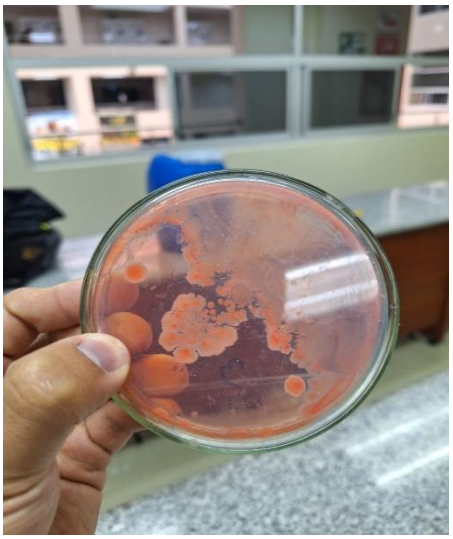


Posteriormente, se transfirió 1 ml de la dilución 10^{-1} a un segundo tubo de ensayo que contenía 9 ml de agua destilada estéril, obteniendo así la dilución 10^{-2}. Este proceso se repitió sucesivamente hasta llegar a la dilución deseada, en este caso, 10^{-9}. Después de preparar las diluciones seriadas, se procedió a la siembra de los microorganismos en el medio de cultivo sólido Agar Rojo Congo, comenzando desde la dilución 10^{-1} hasta la dilución 10^{-9} (Arana et al., 2018).

Una vez sembradas todas las diluciones, las cajas petri se sellaron cuidadosamente para evitar la deshidratación del medio y la entrada de contaminantes; posteriormente, se incubaron a una temperatura de 37 °C durante un periodo de 40 horas (Figura 6). Después del período de incubación, se observó la presencia de colonias bacterianas viables al detectar un cambio de color en el medio de cultivo (Méndez, 2018).

Figura 6

Observación de colonias



4.2.2.3. Tinción Gram.

Se utilizó un asa para tomar una muestra de los microorganismos previamente cultivados y se transfirió al portaobjetos; asimismo se sometió al calor de un mechero de alcohol para secar la muestra. A continuación, se aplicó una gota de cristal violeta durante 30 segundos y se procedió a eliminar el exceso de tinte con agua destilada. Seguidamente, se aplicó lugol durante un minuto y se repitió el proceso de limpieza. Después, se decoloró la muestra utilizando alcohol al 96%

durante 30 segundos, enjuagando luego con agua destilada y finalmente se aplicó safranina durante un minuto (Sanz, 2011).

Para llevar a cabo el proceso de tinción Gram, se prepararon un total de 16 muestras, utilizando asas de siembra previamente esterilizadas, tomando pequeñas porciones de las colonias de microorganismos presentes en las cajas de cultivo. Una vez recolectadas las 16 muestras, se procedió con el protocolo establecido para la tinción Gram donde a través de la observación de las muestras bajo el microscopio se realizó una evaluación detallada de las características morfológicas y estructurales de los microorganismos presentes siendo posible identificar y diferenciar una diversidad de formas bacterianas, incluyendo cocos (células esféricas), bacilos (células cilíndricas) y espirilos (células helicoidales). Además, se pudo apreciar la presencia de diferentes colores, desde los tonos púrpuras característicos de las bacterias Gram positivas hasta los tonos rojizos o rosados de las bacterias Gram negativas (Jiménez & Vélez, 2012).

4.2.3. Caracterización

La extracción de ADN genómico se realizó a partir de aproximadamente 100 mg de biomasa fresca, utilizando el método convencional de fenol-cloroformo. La integridad y calidad del ADN se evaluaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% y espectrofotometría de micro volúmenes (NanoDrop™), respectivamente. Se consideraron óptimas las muestras con una relación A260/A280 entre 1.8 y 2.0, y A260/A230 entre 2.0 y 2.2 (Sambrook & Russell, 2006).

El ADN extraído se diluyó hasta una concentración de 20 ng/µL para su amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Se utilizaron los primers universales 27F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') y 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') para amplificar la región casi completa del gen 16S RNA. Las condiciones de PCR fueron: desnaturalización inicial a 95°C por 5 min, seguido de 30 ciclos de 95°C por 30 s, 55°C por 30 s, y 72°C por 1.5 min, con una extensión final a 72°C por 10 min (Frank & Reich, 2008).

Los productos de PCR se visualizaron en gel de agarosa al 1.5% y se purificaron utilizando el kit comercial QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN), siguiendo las instrucciones del fabricante.

La secuenciación se realizó por el método de Sanger en un secuenciador automático ABI PRISM® 3500. La secuencia resultante se comparó con

la base de datos de nucleótidos GenBank del NCBI utilizando la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) para su identificación taxonómica. Se consideraron significativos los alineamientos con una identidad $\geq 97\%$ y un $E-value < 10^{-5}$ (Janda & Abbott, 2007).

4.2.4. Recolección y esterilización de lodo

El lodo al que se le aplicará las dosis de microorganismos aislados se recolectó del biodigestor ubicado en la granja experimental de la PUCE-I, el cual lleva consigo la materia orgánica residual procedente del ganado.

La muestra recolectada se colocó en matraces, los cuales fueron sellados con algodón para evitar fugas y envueltos en papel aluminio con pequeños orificios para permitir la salida de gases y evitar su acumulación. Posteriormente, estas muestras se introdujeron en la autoclave, donde fueron sometidas a una temperatura de 121°C durante un tiempo aproximado de 50 minutos (Delgado, 2020).

Después de haber completado el proceso de autoclavado, se implementó una etapa adicional de esterilización mediante calor en seco para asegurar la máxima eliminación de cualquier microorganismo presente en las muestras de lodo. Esta técnica complementaria se llevó a cabo introduciendo cuidadosamente los matraces en una estufa de esterilización, donde fueron expuestos a una temperatura de 150 °C durante un período prolongado de 2 horas. Este procedimiento se repitió en tres ocasiones consecutivas para garantizar su completa esterilización y evitar cualquier riesgo de contaminación (Torres, 2019).

4.2.5. Aplicación de dosis

1. 4.2.5.1. Espectrofotómetro.

Para llevar a cabo el conteo de microorganismos mediante espectrofotometría, se recolectaron tres muestras representativas del cultivo en estudio. El espectrofotómetro se configuró para realizar las mediciones a una longitud de onda específica de 450 nm, la cual fue seleccionada debido a que la

longitud de onda de 450 nm se encuentra dentro del rango visible del espectro electromagnético. Muchos microorganismos, especialmente las bacterias, presentan una mayor absorbancia en esta región del espectro debido a la presencia de pigmentos y compuestos celulares.

Tras realizar las diluciones apropiadas de las muestras, se procedió a medir las absorbancias correspondientes. Los valores obtenidos fueron los siguientes: 1.481, 1.301 y 1.235 unidades de absorbancia

Esta relación entre la absorbancia y la concentración celular se basa en la ley de Beer-Lambert en donde Díaz et al. (2014), establecen que: La absorbancia es directamente proporcional a la concentración de la sustancia absorbente (en este caso, las células microbianas) y la longitud del camino óptico. De esta forma, se logró convertir las lecturas de absorbancia en estimaciones precisas de la concentración celular presente en cada una de las muestras analizadas.

Las dosis calculadas se muestran a continuación:

- **Muestra 1:** Se realizó el cálculo correspondiente en donde se obtuvo un valor de absorbancia de 1.481 Damian et al. (2023), establece que una absorbancia de 1 corresponde a una concentración de 10^9 UFC/mL (Unidades Formadoras de Colonias por mililitro).

$$1 - - - - - - - 10^9$$

$$X - - - - - - 1{,}481$$

$$X = 1{,}481 \times 10^9$$

$$X = 1481{,}000000$$

$$X = 1{,}4 \times 10^9$$

- **Muestra 2:** Se realizó el cálculo correspondiente en donde se obtuvo un valor de absorbancia de 1.301 Damian et al. (2023), establece que una absorbancia de 1 corresponde a una concentración de 10^9 UFC/mL (Unidades Formadoras de Colonias por mililitro).

$$1 - - - - - - - 10^9$$

$$X - - - - - - 1{,}301$$

$$X = 1{,}301 \times 10^9$$

$$X = 1301{,}000000$$

$$X = 1{,}3 \times 10^9$$

- **Muestra 3:** Se realizó el cálculo correspondiente en donde se obtuvo un valor de absorbancia de 1.235 Damian et al. (2023), establece que una absorbancia de 1 corresponde a una concentración de 10^9 UFC/mL (Unidades Formadoras de Colonias por mililitro).

$$1 - - - - - - - 10^9$$

$$X - - - - - - 1{,}235$$

$$X = 1{,}235 \times 10^9$$

$$X = 1235{,}000000$$

$$X = 1{,}2 \times 10^9$$

El análisis reveló que la concentración promedio del cultivo original era de 1×10^9 UFC/mL (Unidades Formadoras de Colonias por mililitro). Este valor representa una estimación confiable de la densidad celular, obtenida a través de un método indirecto que aprovecha la relación entre la turbidez de la muestra y la cantidad de microorganismos presentes en la misma.

4.2.5.2. Diluciones.

Una vez que se obtuvo la dosis estándar de microorganismos, se procedió a realizar las diluciones seriadas para alcanzar las concentraciones objetivo de 1 x 10^6 UFC/mL y 1 x 10^4 UFC/mL (Pérez, 2017). Las cuáles serán aplicadas en los respectivos tratamientos experimentales. Este proceso se llevó a cabo basándose en el principio fundamental de la ley de conservación de la masa, empleando la fórmula $C_1V_1 = C_2V_2$, ampliamente utilizada en microbiología para cálculos de dilución.

Esta ecuación es una aplicación de la ley de conservación de la masa y se usa para determinar cómo diluir una solución concentrada a una solución más diluida. En el contexto de microbiología, se usa principalmente para preparar diluciones seriadas de cultivos bacterianos (Arana & Oruño, 2012).

Donde:

- **C_1 =** Concentración inicial (por ejemplo, UFC/ml - Unidades Formadoras de Colonias por mililitro)
- **V_1 =** Volumen inicial
- **C_2 =** Concentración final deseada (UFC/ml)
- **V_2 =** Volumen final

Cálculo dosis 1 x 10 ^{6} UFC/ml

$$C1V1 = C2V2$$

Despejando Fórmula:

$$V1 = \frac{C2V2}{C1}$$

Reemplazando valores:

$$V1 = \frac{1{,}4\ x\ 10^6\ UFC/ml\ x\ 50\ ml}{1{,}4\ x\ 10^9\ UFC/ml}$$

$$V1 = \frac{50\ ml}{1{,}4\ x\ 10^{9-6}\ UFC/ml}$$

$$V1 = \frac{50\ ml}{1{,}4\ x\ 10^2\ UFC/ml}$$

$$V1 = 0{,}05\ ml$$

Cálculo dosis 1 x 10 ^{4} UFC/ml

$$V1 = \frac{1{,}4\ x\ 10^{4}\ UFC/ml\ x\ 50\ ml}{1{,}4\ x\ 10^{9}\ UFC/ml}$$

$$V1 = \frac{50\ ml}{1{,}4\ x\ 10^{9-4}\ UFC/ml}$$

$$V1 = \frac{50\ ml}{1{,}4\ x\ 10^{5}\ UFC/ml}$$

$$V1 = 0{,}000357\ ml$$

Una vez que se calcularon las diluciones precisas para obtener concentraciones de 1,4 × 10 ^{6} UFC/mL y 1,4 × 10 ^{4} UFC/mL, utilizando la fórmula $C_1V_1 = C_2V_2$, se determinaron los volúmenes exactos (V_1) necesarios de cada suspensión microbiana. El siguiente paso fue la colocación de los valores calculados con agua esterilizada en 50ml del caldo de cultivo.

4.2.5.3. Aplicación.

Una vez que se determinaron las dosis adecuadas de microorganismos a utilizar, se procedió a preparar los tratamientos experimentales. Para ello, se emplearon muestras de 100 gramos de lodo, a las cuales se les adicionó 50 ml de caldo de cultivo LB BROTH conteniendo las concentraciones microbianas previamente establecidas (Figura 3). Este procedimiento se realizó 3 veces por cada uno de los tres tratamientos, con el fin de obtener réplicas y garantizar la confiabilidad de los resultados.

Figura 7

Aplicación de dosis



El primer tratamiento se preparó utilizando una concentración estándar de 1,4 x 10^9 unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml), la cual se considera como la dosis de referencia para este estudio. En el segundo tratamiento, se empleó una concentración reducida de 1,4 x 10^6 UFC/ml, mientras que en el tercer tratamiento se utilizó una concentración aún menor de 1,4 x 10^4 UFC/ml.

Esta variación en las concentraciones de microorganismos aplicadas a las muestras de lodo permitirá evaluar y comparar el impacto de diferentes niveles de inoculación microbiana sobre el proceso de biodegradación de materia orgánica.

4.2.6. *Análisis de parámetros fisicoquímicos*

En el presente estudio, se llevaron a cabo mediciones en laboratorio tanto antes como después de la aplicación de las dosis de microorganismos, con el propósito de evaluar y comparar la eficacia de dichos microorganismos en la biodegradación de materia orgánica en los lodos provenientes de la granja experimental ECAA. Los resultados obtenidos de estas mediciones proporcionaron información sobre el impacto de los microorganismos en el tratamiento de los lodos, permitiendo así una evaluación detallada de su eficiencia y efectividad en el proceso.

4.2.6.1. Materia orgánica.

Para la determinación de dicho parámetro se siguió la técnica de calcinación propuesta por Izquierdo & Arévalo (2021), donde se pesa 10 gramos depositados en capsulas de porcelana previamente taradas, posteriormente se realiza el secado durante 24 horas a una temperatura de 105 ºC, dicho procedimiento retirará la humedad en las muestras.

Transcurrido el lapso de 24 horas las muestras se enfrían en un desecador de vidrio y se obtiene su peso mediante una balanza analítica. Posteriormente, se introducen en la estufa para calcinación a una temperatura de 360 ºC por 2 horas, nuevamente una vez enfriada la muestra se mide su peso. La materia orgánica contenida será la diferencia de los pesos iniciales y finales, según se presenta en la siguiente ecuación:

$$\% \, MOS = \frac{peso \; a \; 105 \; ℃ - peso \; a \; 360℃}{peso \; a \; 105 \; ℃} \times 100$$

4.2.6.2. Nitratos.

Se utiliza el método Nº 8039 HACH el cual se basa en los siguientes pasos:

- Ingrese el número de programa almacenado para nitrato de alta concentración (NO_3-N), configurando una longitud de onda de 450 nm.
- Posteriormente se llena la celda con 10 ml de muestra y se procede a leer como BLANCO
- En otra celda con 10 ml de muestra se agrega el reactivo (NitraVer 3), seguidamente agitar durante 1 minuto para mezclar el reactivo.
- Dejar en reposo durante 5 minutos para que cambie a color ámbar y finalmente se procede a leer como MUESTRA.

4.2.7. *Diseño experimental*

Para esta investigación se aplicó un diseño experimental Completamente al Azar (DCA) tomando como referencia las siguientes variables:

4.2.7.1. Variables independientes.

- Dilución del microorganismo *Metaclostridioides mangenotii* a una concentración de:1,4 x 10^{-9} UFC/ml
- Dilución del microorganismo *Metaclostridioides mangenotii* a una concentración de: 1,4 x 10^{-6} UFC/ml
- Dilución del microorganismo *Metaclostridioides mangenotii* a una concentración de: 1,4 x 10^{-4} UFC/ml

4.2.7.2.Variables dependientes.

- Concentración de materia orgánica

La concentración de materia orgánica se obtuvo cuando las muestras de lodo fueron recolectadas luego 15 días de aplicar las dosis de microorganismos, se pesó 10 gramos de cada muestra seca en crisoles previamente tarados, secó las muestras durante 24 horas a 105°C para eliminar la humedad, enfrió los crisoles en un desecador, obtuvo el peso inicial de las muestras secas utilizando una balanza analítica, calcinó las muestras a 360°C por 2 horas en una estufa, y finalmente, luego del enfriamiento, midió el peso final de las muestras calcinadas para obtener los resultados en porcentaje (Izquierdo & Arévalo, 2021)

- Concentración de nitratos

Para la obtención de nitratos (NO_3-N) de cada muestra se configuro una longitud de onda de 450 nm en el espectrofotómetro para su lectura. Posteriormente, llena una celda con 10 ml de muestra y procede a leer como BLANCO. En otra celda, también con 10 ml de muestra, agrega el reactivo (NitraVer 3) y agita durante 1 minuto para mezclar. Luego, deja en reposo durante 5 minutos para que la muestra cambie a color ámbar y finalmente procede a leer como MUESTRA. Este procedimiento se realiza en cada tratamiento para la obtención de datos en mg/L (Caseres & Pinto, 2005).

4.2.7.3. Análisis estadístico.

El análisis de los resultados del diseño experimental se lo realiza con el software R Studio, en donde inicialmente se parte de un análisis de varianza ANOVA que resulta útil cuando se tienen muestras aleatorias que se someten a diversos análisis replicados, donde en caso de detectarse diferencias significativas se utilizará la prueba Tukey al 5%

N.º de Tratamientos: 4 detallados de la siguiente manera:

T_1 = Testigo (lodo residual obtenido de la granja PUCE-I)

T_2 = Dilución del microorganismo *Metaclostridioides mangenotii* a una concentración de: 1,4 x 10^{-9} UFC/ml

T_3 = Dilución del microorganismo *Metaclostridioides mangenotii* a una concentración de: 1,4 x 10^{-6} UFC/ml

T_4 = Dilución del microorganismo *Metaclostridioides mangenotii* a una concentración de:1,4 x 10^{-4} UFC/ml.

N.º de repeticiones: 3 por cada tratamiento

N.º de Unidades Experimentales: $n°\ de\ tratamientos\ \times\ n°\ de\ repeticiones = 4\ \times 3 =$ 12 $muestras\ de\ lodo\ residual\ obtenido\ de\ la\ granja\ experimental\ ECAA$

Tabla 3

Esquema del análisis de varianza para la evaluación de los microorganismos en la degradación de materia orgánica

Fuentes de variación (FV)	Grados de libertad (GL)
Total	11
Tratamientos	3
Error Experimental	8

CAPÍTULO V

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Caracterización microbiana

Se realizó la identificación a nivel de especie de un aislado bacteriano mediante la técnica de secuenciación de la región 16S y comparación en la base de datos del GenBank del NCBI. El aislado bacteriano fue identificado como *Metaclostridioides mangenotii* con un 97.83% de identidad.

Tabla 4

Resultado obtenido de la caracterización microbiana

Código IDgen	Muestra	Calidad	Longitud	Organismo	Fragmento	% de identidad	Nº Accesión
B716	NA	46.6	554	*Metaclostridioides mangenotii*	16S	97.83	NR_104729.1

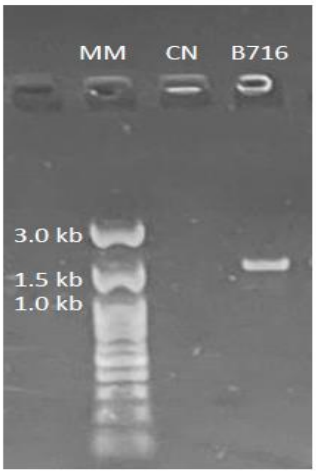
Nota. Adaptado de "Informe de resultados por Garrido, 2024", ID gen Laboratorio Molecular, Quito, Ecuador.

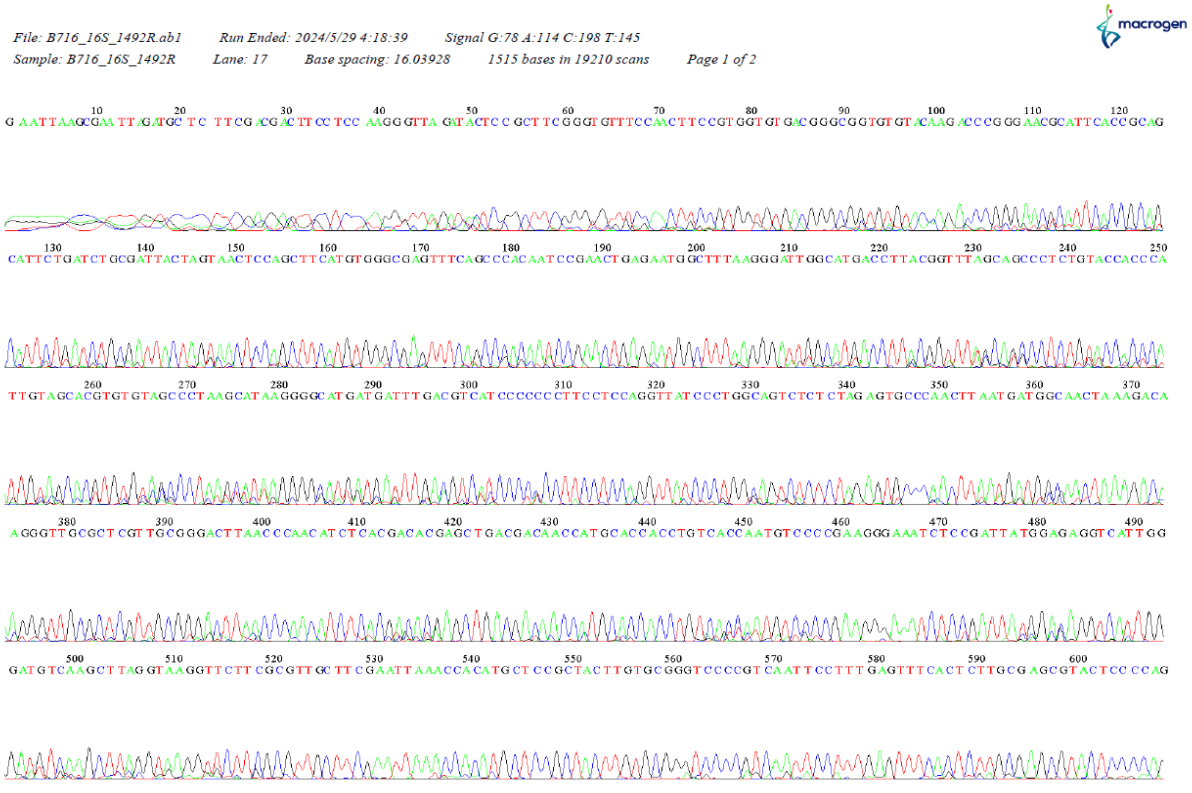
El estudio incluyó la extracción de ADN, secuenciación Sanger, ensamblaje de secuencias y búsqueda en base de datos. Se utilizó un cultivo bacteriano líquido como muestra y se amplificó el ADN mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con primers universales 16S: 27F/1492R. Posteriormente, se purificó el producto de PCR y se realizó la secuenciación Sanger. La comparación de la secuencia ensamblada con la base de datos de GenBank permitió la identificación taxonómica del aislado

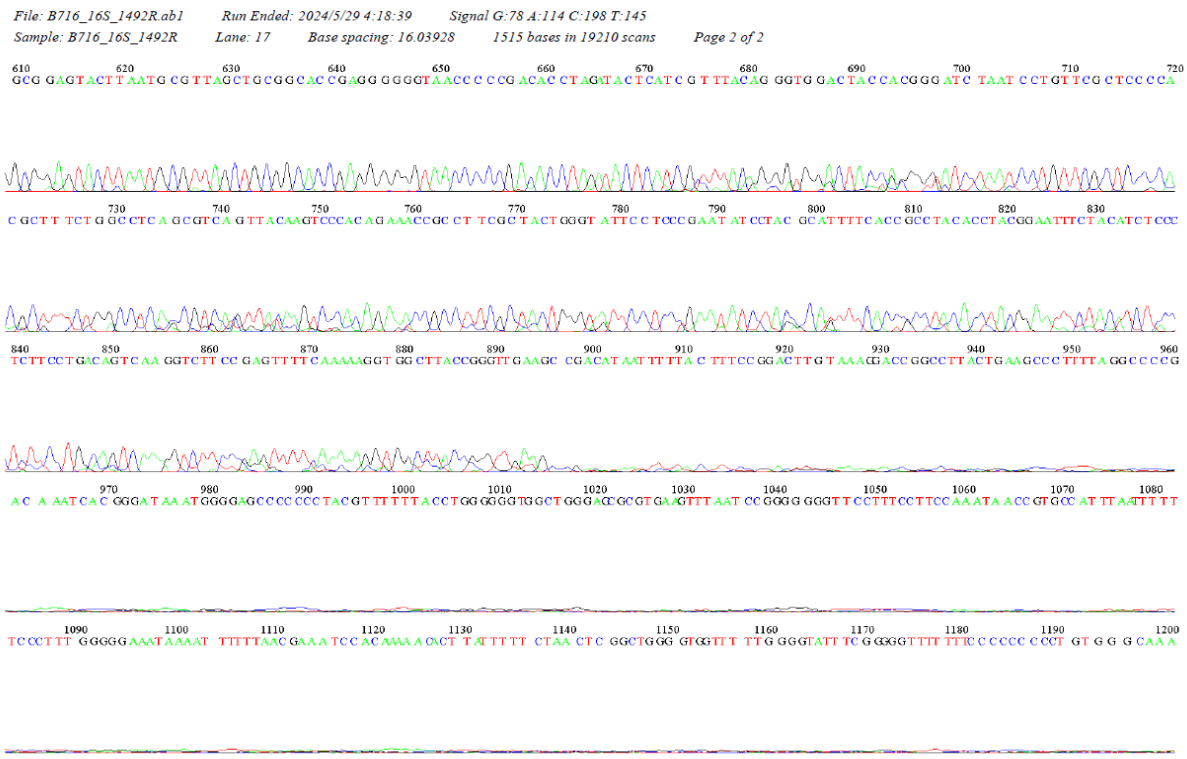
La extracción de ADN genómico resultó exitosa, obteniéndose material de alta calidad y cantidad suficiente para el proceso de amplificación. La integridad del ADN se confirmó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%, donde se observó una banda nítida y sin degradación (Figura 7). La calidad se evaluó por espectrofotometría, obteniendo una relación A260/A280 de 1.92 y A260/A230 de 2.15, indicando ausencia de contaminantes proteicos y orgánicos, respectivamente.

Figura 8

Visualización de banda aproximadamente 1500 pb, secuencia 16s







Los valores de señal para G, A, C y T en un archivo de secuenciación como éste indican la intensidad de la señal de fluorescencia para cada uno de los cuatro nucleótidos (Guanina, Adenina, Citosina y Timina) durante el proceso de secuenciación. Estos valores de señal se utilizan para determinar la secuencia de nucleótidos específica de la muestra de ADN que se ha secuenciado.

Es crucial destacar que, hasta hace poco, este organismo era conocido como *Clostridium Mangenotii*. Sin embargo, Li et al. (2023), realizaron un estudio filogenómico exhaustivo del género *Clostridium* sensu stricto, revelando que C. *Mangenotii*, junto con otras especies, formaba un caldo distinto. Este hallazgo llevó a la propuesta y aceptación de un nuevo género, *Metaclostridioides*, reflejando mejor sus relaciones evolutivas

M. Mangenotii es un degradador primario de materia orgánica compleja en el suelo. A diferencia de muchos clostridios, que se especializan en fermentar azúcares simples, *M. Mangenotii* posee un amplio repertorio de enzimas hidrolíticas:

- Celulasas (CelA, CelB): β-1,4 y β-1,3 glucanasas
- Hemicelulasas: Xilanasas (XynA) y mananasas (ManB)

- Pectinasas: Poligalacturonasas y pectina liasas

A nivel de ecología del suelo, el resultado obtenido del estudio de (Boilard & Dubé, 2020). Refiere a *M. Mangenotii* como un "organismo pivote". A diferencia de los conceptos tradicionales que ven a los clostridios como meros fermentadores, *M. mangenotii* es un ingeniero ecosistémico multifuncional:

- **Iniciador de Descomposición:** Sus enzimas despolimerizan la lignocelulosa, iniciando cascadas de degradación
- **Alimentador Trófico:** Sus productos (acetato, H_2) sustentan a metanógenos y acetógenos.
- **Fertilizante Vivo:** Su fijación de N_2 enriquece suelos pobres, acelerando la sucesión.
- **Modulador de pH:** El butirato tamponiza suelos ácidos, favoreciendo la diversidad.
- **Arquitecto del Suelo:** Sus exopolisacáridos estabilizan agregados, mejorando la estructura.

Sin embargo, a pesar de este impresionante potencial, no existen estudios publicados que evalúen directamente la aplicación de *M. mangenotii* en la degradación de materia orgánica a escala de campo o piloto.

5.2. Análisis de parámetros fisicoquímicos

Luego de realizar el protocolo establecido por (Izquierdo & Arévalo, 2021). Que se menciona en la metodología se obtuvo los siguientes resultados:

5.2.1. Contenido de humedad (%)

5.2.1.1. Prueba de normalidad (Shapiro- Wilk) y homogeneidad (Bartlett).

Al aplicar las fórmulas respectivas en el programa estadístico R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General se obtuvieron los resultados que se presentan a continuación:

Tabla 5

Análisis estadístico: humedad

	Prueba de Normalidad (Shapiro)	**Prueba de Homogeneidad (Bartlett)**
P- Value Obtenido	0.37	0.47

Nota. Resultados de p-value obtenidos en el programa R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General (Anexo 19).

La prueba de Shapiro-Wilk, demostró normalidad en los datos, pues se obtuvo un p-value de 0.375 mayor al 0.05 de significancia, al igual que existe homogeneidad pues el p- value obtenido es de 0,47 mayor al 5%.

5.2.1.2. Análisis de varianza (ADEVA).

Tabla 6

Adeva: humedad

FV	**GL**	**SC**	**CM**	**P-value**
Total	11	2,428.64	220.78	
Tratamientos	3	741.48	247.16	0.37
Error E.	8	1687.15	210.89	

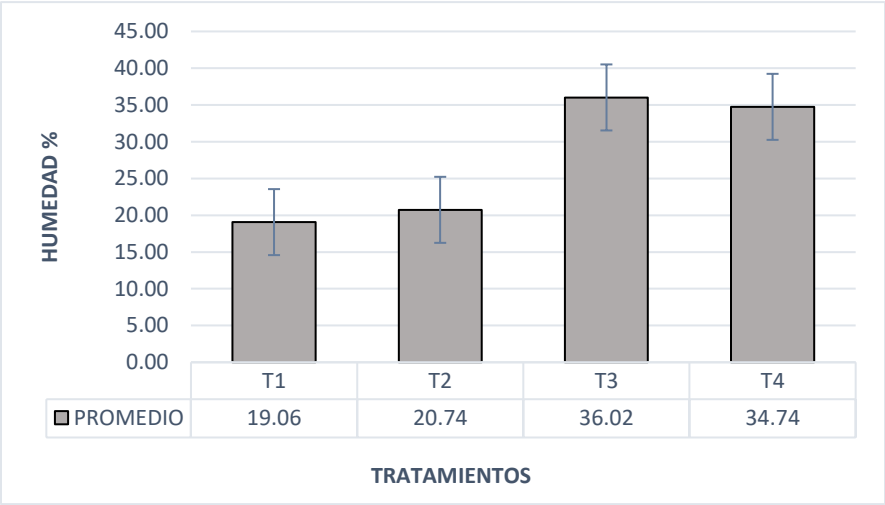
Nota. Resultados de p-value obtenidos en el programa R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General (Anexo 19).

La prueba de varianza dio como resultado un valor de 0.37 mayor a 0.05 lo cual demuestra que los tratamientos estadísticamente no presentan diferencias significativas. Por lo cual no es necesario realizar una prueba comparativa en tratamientos TUKEY para la verificación del mejor tratamiento; sin embargo, se puede deducir que el tratamiento N° 3 (T_3) fue el que aumentó en

mayor porcentaje la cantidad de humedad dentro del periodo de 15 días comprendido en la presente investigación (Figura 9).

Figura 9

Porcentaje de humedad (%)



Al comparar el valor de 19,06 obtenido del testigo (T_1) con 20,74 valor obtenido en la dilución 1,4 x 10^{-9} UFC/ml (T_2) existe una diferencia del 8,82%; con 36,02 valor obtenido en la dilución 1,4 x 10-^{6} UFC/ml (T_3) una diferencia del 88,97% y con 34,74 valor obtenido en la dilución 1,4 x 10^{-4} UFC/ml (T_4) una diferencia del 78,85% respectivamente (Figura 9).

Según Martines & Lira (2010), establecen que un alto contenido de humedad puede tener implicaciones significativas en la estabilidad y preservación de las muestras, ya que el exceso de agua puede promover el crecimiento de microorganismos, la degradación de compuestos orgánicos y la lixiviación de nutrientes. Además, un elevado nivel de humedad puede interferir en los procesos posteriores de análisis y tratamiento, dificultando la obtención de resultados precisos y confiables

Por otro lado, un bajo contenido de humedad, como el observado en la muestra testigo (T1), también puede presentar desafíos. Las muestras demasiado secas pueden ser más susceptibles a la degradación oxidativa y a la pérdida de compuestos volátiles, lo que podría afectar su integridad y representatividad.

5.2.2. Contenido de cenizas (%)

5.2.2.1. Prueba de normalidad (Shapiro- Wilk) y homogeneidad (Bartlett).

Al aplicar las fórmulas respectivas en el programa estadístico R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General se obtuvieron los resultados que se presentan a continuación:

Tabla 7

Análisis estadístico: cenizas

	Prueba de Normalidad (Shapiro)	**Prueba de Homogeneidad (Bartlett)**
P- Value Obtenido	0.77	0.76

Nota. Resultados de p-value obtenidos en el programa R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General (Anexo 18).

Se realizó una prueba de Shapiro-Wilk, la cual demostró normalidad de los datos, pues se obtuvo un p-value de 0.77 mayor al 0.05 de significancia, de igual forma existe homogeneidad de los datos al tener un p-value de 0,76 mayor al 5% de significancia.

5.2.2.2. Análisis de varianza (ADEVA).

TABLA 8

Adeva: cenizas

FV	**GL**	**SC**	**CM**	**P-value**

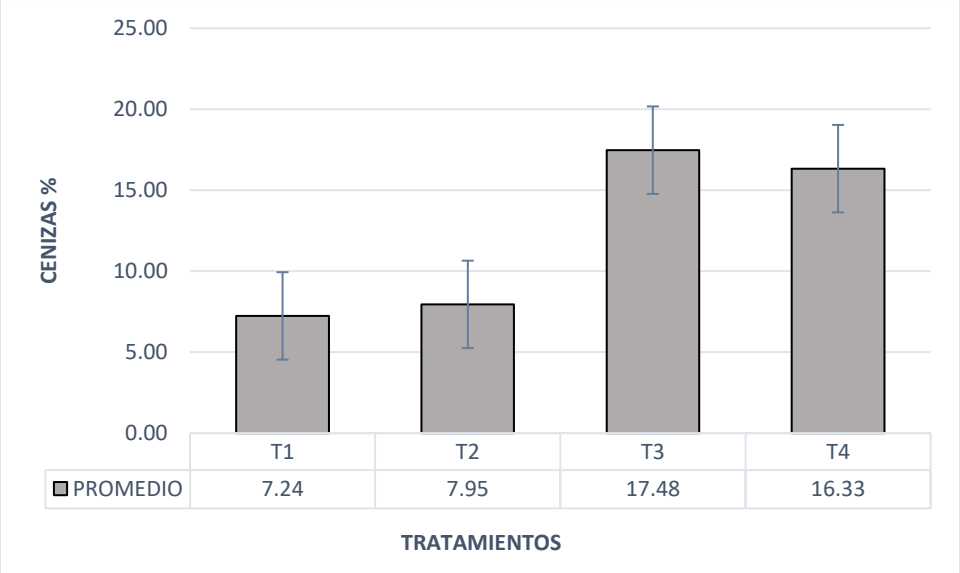
Total	11	2,381.36	216.48	
Tratamientos	3	321.56	107.18	0.74
Error E.	8	2,059.80	257.47	

Nota. Resultados de p-value obtenidos en el programa R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General (Anexo 19).

La prueba de varianza dio como resultado un valor de 0.74 mayor a 0.05 lo cual demuestra que los tratamientos estadísticamente no presentan diferencias significativas. Por lo cual no es necesario realizar una prueba comparativa en tratamientos TUKEY para la verificación del mejor tratamiento, sin embargo, se puede deducir que el tratamiento N°4 (T4) fue el que aumentó en mayor porcentaje la cantidad de cenizas dentro del periodo de 15 días comprendido en la presente investigación (Figura 10).

Figura 10

Porcentaje de cenizas (%)



Al comparar el valor de 7,24 obtenido del testigo (T_1) con 7,95 valor obtenido en la dilución 1,4 x 10^{-9} UFC/ml (T_2) existe una diferencia del 9,80%; con 17,48 valor obtenido en la dilución 1,4 x 10-^{6} UFC/ml (T_3) una diferencia del 141,23% y con 16,33 valor obtenido en la dilución 1,4 x 10^{-4} UFC/ml (T_4) una diferencia del 125,48% respectivamente (Figura 10).

Un mayor contenido de cenizas podría indicar una mayor concentración de minerales y elementos inorgánicos en las muestras. Esto puede ser beneficioso en ciertos contextos, como en la producción de fertilizantes o enmiendas para suelos deficientes en nutrientes esenciales. Sin embargo, también existe la posibilidad de que las cenizas contengan elementos contaminantes o tóxicos, lo cual podría limitar su uso o requerir tratamientos adicionales (Sierra & Rojas, 2002).

Por otro lado, un bajo contenido de cenizas sugiere una menor presencia de componentes inorgánicos y, en consecuencia, una mayor proporción de materia orgánica en las muestras. Esta característica podría ser deseable en aplicaciones relacionadas con la producción de biocombustibles, la generación de energía a partir de biomasa o en procesos de compostaje y generación de abonos orgánicos.

Es importante destacar que la variación observada en el contenido de cenizas podría estar influenciada por diversos factores, como el tipo de suelo, las prácticas agrícolas, la presencia de contaminantes ambientales o los tratamientos aplicados a las muestras.

5.2.3. Contenido de carbono orgánico (%)

5.2.3.1. Prueba de normalidad (Shapiro- Wilk) y homogeneidad (Bartlett).

Al aplicar las fórmulas respectivas en el programa estadístico R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General se obtuvieron los resultados que se presentan a continuación:

Tabla 9

Análisis estadístico: carbono orgánico

	Prueba de Normalidad (Shapiro)	**Prueba de Homogeneidad (Bartlett)**

P- Value Obtenido	0.77	0,76

Nota. Resultados de p-value obtenidos en el programa R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General (Anexo 17).

El p-value obtenido tanto en la prueba de normalidad (0,77) como en la prueba de homogeneidad (0,76) fue mayor al 0.05 de significancia, lo cual demuestra que los tratamientos presentan normalidad y homogeneidad respectivamente.

5.2.3.2. Análisis de varianza (ADEVA).

Tabla 10

Adeva: carbono orgánico

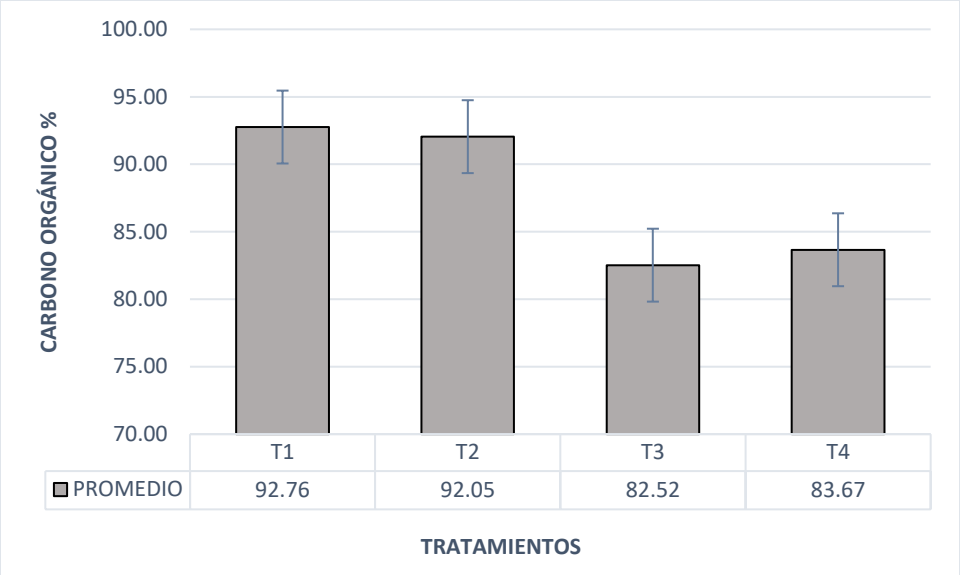
FV	GL	SC	CM	P-value
Total	11	2,381.36	216.48	
Tratamientos	3	321.56	107.18	0.74
Error E.	8	2,059.80	257.47	

Nota. Resultados de p-value obtenidos en el programa R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General (Anexo 19).

Al obtener un P-value de 0.74 mayor al 0.05 de significancia no existen diferencias estadísticamente significativas; lo cual no justifica la aplicación de una prueba de Tukey para determinar el tratamiento más efectivo, sin embargo, los resultados obtenidos permiten inferir que el tratamiento número n°3 (T_3) destacó por lograr la menor reducción porcentual de carbono orgánico durante el período de estudio de 15 días (Figura 11).

Figura 11

Porcentaje de carbono orgánico (%)



Al comparar el valor de 92,76 obtenido del testigo (T_1) con 92,05 valor obtenido en la dilución 1,4 x 10^{-9} UFC/ml (T_2) existe una diferencia del 0,77%; con 82,52 valor obtenido en la dilución 1,4 x 10-^{6} UFC/ml (T_3) una diferencia del 11,03% y con 83,67 valor obtenido en la dilución 1,4 x 10^{-4} UFC/ml (T_4) una diferencia del 9,79% respectivamente (Figura 11).

Un alto contenido de carbono orgánico, como el observado en la muestra testigo, puede ser un indicador de una mayor presencia de materia orgánica y, por lo tanto, puede influir en propiedades clave como la fertilidad del suelo, la capacidad de retención de agua y la actividad microbiana. Esto podría ser beneficioso en aplicaciones agrícolas, forestales o en procesos de compostaje y generación de enmiendas orgánicas (Martínez et al., 2008).

Por otro lado, un menor contenido de carbono orgánico, como en el caso del tratamiento N° 3, podría sugerir una menor proporción de materia orgánica o la presencia de compuestos inorgánicos en mayor cantidad. Esta característica podría ser relevante en aplicaciones relacionadas con la remediación de suelos contaminados, el tratamiento de residuos industriales o en procesos de mineralización y recuperación de nutrientes.

5.2.4. Contenido de materia orgánica

5.2.4.1. Prueba de normalidad (Shapiro- Wilk) y homogeneidad (Bartlett).

Al aplicar las fórmulas respectivas en el programa estadístico R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General se obtuvieron los resultados que se presentan a continuación:

Tabla 11

Análisis estadístico: materia orgánica

	Prueba de Normalidad (Shapiro)	Prueba de Homogeneidad (Bartlett)
P- Value Obtenido	0.78	0,77

Nota. Resultados de p-value obtenidos en el programa R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General (Anexo 16).

En primer lugar, se realizó una prueba de Shapiro-Wilk, la cual demostró normalidad de los datos, pues se obtuvo un p-value de 0.78 mayor al 0.05 de significancia, de igual forma el p-value de 0,77 identifica normalidad en los datos.

5.2.4.2. Análisis de varianza (ADEVA).

Tabla 12

Adeva: materia orgánica

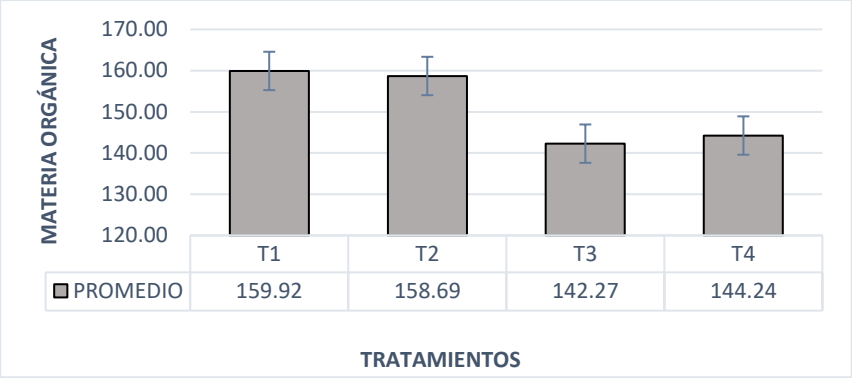
FV	GL	SC	CM	P-value
Total	11	7,077.88	643.44	
Tratamientos	3	955.96	318.07	0.74
Error E.	8	6,121.91	765.23	

Nota. Resultados de p-value obtenidos en el programa R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General (Anexo 19).

La prueba de varianza dio como resultado un valor de 0.74 mayor a 0.05 lo cual demuestra que los tratamientos estadísticamente no presentan diferencias significativas. Por lo cual no es necesario realizar una prueba comparativa entre tratamientos TUKEY para la verificación del mejor tratamiento. Sin embargo, se puede deducir que el tratamiento N° 3 fue el que disminuyó en mayor porcentaje la cantidad de materia orgánica dentro del periodo de 15 días comprendido en la presente investigación (Figura 12).

Figura 12

Cantidad de materia orgánica



Sin embargo, al comparar el valor de 159.92 obtenido del testigo (T_1) con 158.69 valor obtenido en la dilución 1,4 x 10^{-9} UFC/ml (T_2) existe una diferencia del 0.77%; con 142.27 valor obtenido en la dilución 1,4 x 10-^{6} UFC/ml (T_3) una diferencia del 11.04% y con 144.24 valor obtenido en la dilución 1,4 x 10^{-4} UFC/ml (T_4) una diferencia del 9.8% respectivamente. Es importante destacar que la variabilidad observada puede estar influenciada por diversos factores, como el tipo de material de partida, las condiciones ambientales, los tratamientos aplicados o la presencia de contaminantes (Figura 12).

Es indispensable mencionar que un alto contenido de materia orgánica, como el observado en la muestra testigo, puede tener implicaciones beneficiosas en la fertilidad del suelo, al proporcionar una fuente de nutrientes esenciales para el crecimiento de las plantas, aumentar la capacidad de retención de agua y fomentar la actividad microbiana (Izquierdo & Arévalo, 2021).

No obstante, un menor contenido de materia orgánica, como en el caso del tratamiento N° 3, podría indicar una menor disponibilidad de nutrientes y una menor capacidad de retención de agua en el suelo, característica deseable en ciertas aplicaciones, como el tratamiento de aguas residuales o la remediación de suelos contaminados, donde una alta carga orgánica puede ser perjudicial.

Los hallazgos de (Torres, 2018), sobre la estabilización de lodos de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas mediante digestión anaerobia revelan diferencias significativas en la reducción de materia orgánica entre los tratamientos aplicados. El testigo mostró un alto contenido de materia orgánica (95.8%), indicando un lodo sin tratar. En contraste, los tratamientos B, C y D

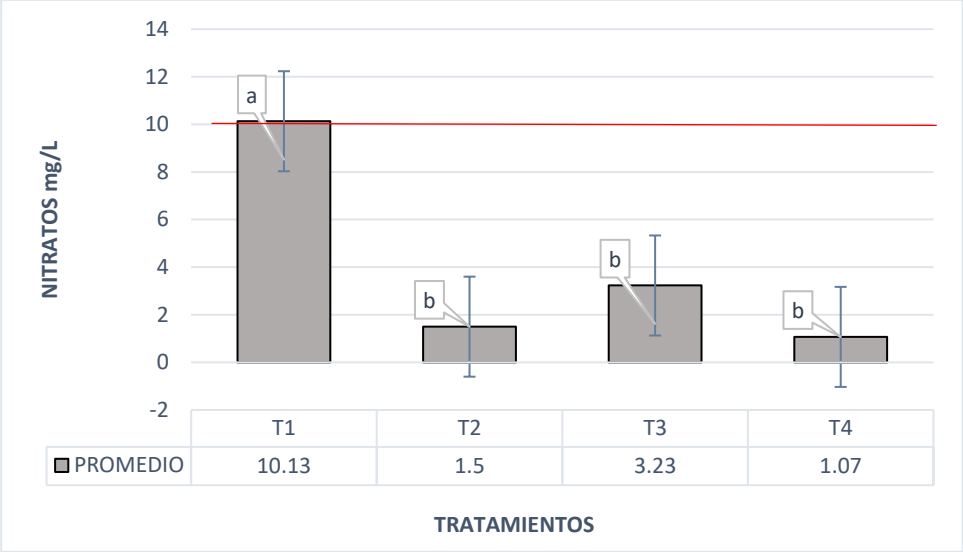
lograron reducciones notables, con valores de 83.75%, 25.50% y 70.50% respectivamente. Estos resultados sugieren que la digestión anaerobia es efectiva para estabilizar lodos, siendo el tratamiento C el más eficiente al lograr la mayor reducción de materia orgánica.

5.2.5. Contenido de nitratos (mg/l)

La medición de nitratos presentes mostró los valores que se presentan en la (Figura 13), donde según Barrios & Pérez (2018), las diferencias visibles pueden estar influenciadas por factores externos como la topografía, las condiciones climáticas (temperatura y precipitación) y las propiedades físicas del suelo, las cuales pueden influir en la química del suelo y a su vez en los niveles de nitrato.

Figura 13

Cantidad de nitratos mg/L



Se observó una correlación entre las dosis de microorganismos aplicadas y la magnitud de la reducción de nitratos, lo que respalda la hipótesis de que los microorganismos empleados contribuyen activamente a la disminución de los niveles de nitratos en los lodos. Estos resultados proporcionan evidencia sobre la efectividad del tratamiento microbiano en la reducción de nitratos en lodos residuales, cumpliendo con los estándares ambientales establecidos por la legislación ecuatoriana (Tabla 10).

Los resultados concuerdan con los hallazgos de (Sharma & Choudhary, 2017), quienes investigaron el efecto de la aplicación de lodo residual en los niveles de nitrato del suelo y observaron que la adición de lodo residual redujo significativamente los niveles de nitrato en comparación con los suelos sin enmiendas. Esta reducción se atribuyó a la inmovilización de nitratos por parte de los microorganismos presentes en el lodo residual y a la capacidad de adsorción de los componentes orgánicos del lodo.

Tabla 13

Límite permisible de nitrato

Compuesto	Unidad	Limite
Nitratos + Nitritos	mg/L	10

Nota. Adaptado de "Texto unificado de legislación secundaria de medio ambiente" [TULSMA], 2002, Guayaquil, Ecuador

Al relacionar los niveles de nitratos obtenidos en los diferentes tratamientos con el límite permisible establecido por el (TULSMA, 2002). estos se mantienen por debajo de los 10 mg/l permitidos a excepción del testigo que sobrepasa por 0.13 mg/l.

5.2.5.1. Prueba de normalidad (Shapiro- Wilk) y homogeneidad (Bartlett).

Al aplicar las fórmulas respectivas en el programa estadístico R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General se obtuvieron los resultados que se presentan a continuación:

Tabla 14

Análisis estadístico de nitratos

	Prueba de Normalidad (Shapiro)	Prueba de Homogeneidad (Bartlett)

P- Value Obtenido	0.16	0,76

Nota. Resultados de p-value obtenidos en el programa R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General (Anexo 15).

Al obtener un p-value de 0.16 es decir mayor a 0.05 (significancia) se presenta una distribución normal de los datos obtenidos, al igual que existe homogeneidad en los datos al tener un p-value de 0,76 mayor al 5% de significancia.

5.2.5.2. Análisis de varianza (ADEVA).

Tabla 15

Adeva: Nitratos

FV	GL	SC	CM	P-value
Total	11	165.47	15.05	
Tratamientos	3	169.17	53.05	0.00000509
Error E.	8	6.3	0.78	

Nota. Resultados de p-value obtenidos en el programa R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General (Anexo 19).

La prueba de varianza determinó un p-value destacablemente inferior al 5% por lo que existen diferencias altamente significativas. Donde el T_2 registró un promedio de 1,50 mg/l, lo que representa una reducción de aproximadamente el 85% en comparación con el testigo (T_1); el tratamiento T_3 con una dosis promedio de 3,23 mg/l de nitrato evidenció una disminución del 68% en relación con el nivel de referencia; y por último el T_4 mostró el promedio más bajo de nitrato 1,07 mg/L con una reducción del 89,38% (Figura 13).

5.2.5.3. Prueba comparativa Tukey: Nitratos

A continuación, se muestran los resultados obtenidos en la prueba de Tukey:

Tabla 16

Prueba Tukey: Nitratos

Tratamientos	Resultado	Std	Repeticiones	Se	Min.	Max.	Q_{25}	Q_{50}	Q_{75}	Grupos
T1	10.13	1.62	3	0.51	9.0	12.0	9.20	9.4	10.70	a
T2	1.50	0.62	3	0.51	0.8	2.0	1.25	1.7	1.85	b
T3	3.23	0.20	3	0.51	3.0	3.4	3.15	3.3	3.35	b
T4	1.06	0.25	3	0.51	0.8	1.3	1.1	1.1	1.20	b

Nota. Resultados de p-value obtenidos en el programa R Studio versión 1.4.1717 Licencia Pública General (Anexo 15).

En dicho contexto, el testigo se reconoce como el "mejor tratamiento" en comparación a los demás por su denominación con la letra A, sin embargo, es indispensable destacar que la presente investigación pretendía disminuir la cantidad de nitratos presentes en el lodo residual, por tanto, a pesar de que estadísticamente entre diluciones aplicadas no existen diferencias al estar denominadas con la letra B, aquella que redujo en mayor porcentaje (89.4%) fue el tratamiento N° 4.

Camargo & Alonso (2006), enfatizan la importancia de mitigar la contaminación por nitratos en suelos agrícolas, ya que los altos niveles de este compuesto pueden causar problemas ambientales como la eutrofización de cuerpos de agua y la contaminación de aguas subterráneas. La utilización de enmiendas orgánicas, como el lodo residual, puede contribuir a reducir los niveles de nitrato y, por lo tanto, disminuir el impacto ambiental.

Los resultados obtenidos demuestran que la adición de lodo residual al suelo tiene un papel importante en la disminución de los niveles de nitrato. Esta reducción puede atribuirse a varios factores, como la inmovilización de nitratos por parte de los microorganismos presentes en el lodo residual, o la capacidad de adsorción de nitratos por parte de los componentes orgánicos e inorgánicos del lodo. Además, se evidencia una relación entre la dosis de lodo residual aplicada y la magnitud de la reducción de nitrato, siendo el tratamiento D_3, con la dosis más alta, el que presentó la mayor disminución de los niveles de este compuesto.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

- El proceso de caracterización microbiológica reveló la presencia de *Metaclostridioides mangenotii*, un microorganismo cuya aplicación en el lodo residual demostró una notable eficacia en la reducción de materia orgánica y nitratos; lo cual ofrecen una solución prometedora y sostenible para la gestión de residuos y mejora de la calidad ambiental en lodos residuales.
- Los parámetros fisicoquímicos del lodo residual de la granja PUCE-I experimentaron variaciones positivas tras la inoculación de microorganismos, indicando una notable mejora en la calidad del suelo. El tratamiento N°3 (T_3) con un valor de 142,27 de materia orgánica demostró ser el más efectivo con una reducción del 11,04% en comparación con el valor obtenido de 159,92 en el testigo (T_1), sugiriendo así una mayor eficiencia en la degradación de compuestos orgánicos.
- En cuanto a los nitratos, el tratamiento n°4 (T_4) resultó ser más efectivo pues mostró una disminución del 89,38% en comparación al testigo (T_1) que tenía un valor de 10,13 mg/L, lo que indica una mejora en el ciclo del nitrógeno y potencialmente una mayor disponibilidad de nutrientes para las plantas y menor riesgo de lixiviación.

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar un seguimiento a largo plazo de la eficiencia de los microorganismos nativos en la biodegradación de desechos orgánicos para evaluar su sostenibilidad y efectividad a lo largo del tiempo.
- Se recomienda investigar la aplicación específica de *Metaclostridioides mangenotii* en la descomposición de materia orgánica, evaluando su eficacia en diferentes tipos de residuos y condiciones ambientales. Es importante determinar las concentraciones óptimas del microorganismo, así como las condiciones ideales de temperatura, pH y humedad que maximicen su actividad degradadora. Además, se sugiere estudiar su potencial sinergia con otros microorganismos para desarrollar consorcios microbianos más eficientes en la biodegradación de residuos orgánicos complejos.
- Se recomienda ampliar el análisis de parámetros adicionales, como fósforo y potasio etc.., con el fin de evaluar de manera más comprehensiva la eficiencia del microorganismo en estudio. Esta expansión de mediciones permitirá obtener una visión más completa de su capacidad biodegradadora y su impacto en el ciclo de nutrientes.

CAPÍTULO VIII

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alfonso, G. (2021). Gestión De Residuos Pecuarios En Un Sistema Intensivo De Producción De Carne. *FCA*, 1–36.

Arana, I., Orruño, M., & Barcina, I. (2018). Disoluciones y Concentraciones. *Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología*, 1–11.

Arellano, V. (2021). *Análisis Ambiental De Las Fuentes Generadoras De Pollinaza, Porquinaza y Bovinaza Objeto De Control Y Seguimiento Ambiental Por Parte De La Corporación Autónoma Regional Del Atlántico -Cra-*.

Barrios, M., & Pérez, D. (2018). Efecto de la aplicación continua de estiércol bovino sobre el crecimiento y producción de maíz y características químicas del suelo. *Universidad Central de Venezuela*, 1–8.

Berg, B., & McClaugherty, C. (2003). *Plant Litter*. Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-05349-2

Caballero, C., & Sgarbieri, V. (2000). *Nutritional and toxicological evaluation of a yeast (Saccharomyces cerevisiae) biomass and a yeast protein concentrate* (Vol. 80, pp. 341–351). Science of Food and Agriculture.

Caballero, P. (2011). *Descomposición de la materia orgánica, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria*. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria.

Cafêu, M. C., Silva, G. H., Teles, H. L., Bolzani, V. D. S., Araújo, Â. R., Young, M. C. M., & Pfenning, L. H. (2005). Substâncias antifúngicas de Xylaria sp., um fungo endofítico isolado de Palicourea marcgravii (Rubiaceae). *Química Nova*, *28*(6), 991–995. https://doi.org/10.1590/S0100-40422005000600011

Cajahuanca, S. (2016). *Optimización Del Manejo De Residuos Orgánicos Por Medio De La Utilización De Microorganismos Eficientes (Saccharomyces Cerevisiae, Aspergillus Sp., Lactobacillus Sp.) En El Proceso De Compostaje En La Central Hidroeléctrica Chaglla*.

Camargo, J., & Alonso, Á. (2006). Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International*, *32*(6), 831–849. https://doi.org/10.1016/j.envint.2006.05.002

Cariello, M. (2007). Nutrientes del suelo. *Columbus*.

Caseres, M., & Pinto, A. (2005). *Analizador Electrónico de Nitratos*. Escuela Politécnica Nacional.

Castelán, M., & Hack, C. (2022). Metodologías microbiológicas de indicadores ambientales de suelo. *Editorial de La Universidad Nacional Del Nordeste EUDENE*, 2–22.

Celso, G., Echeverría, M., & Castro, R. (2013). *"Descomposición de materia orgánica con microorganismos benéficos magnetizados*. 9–16.

Chávez, Á., & Rodríguez, A. (2016). Aprovechamiento de residuos orgánicos agrícolas y forestales en Iberoamérica. *Academia y Virtualidad*, *9*(2), 90–107. https://doi.org/10.18359/ravi.2004

Damian, J. F., Villanueva, E. F., Salmerón, B. G., Ramos, G. G., & Sotomayor, N. A. V. (2023). Determinación de la capacidad antioxidante en galletas enriquecidas con extracto y harina jengibre (Zingiber officinale). *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades*, *4*(1), 228–238. https://doi.org/10.56712/latam.v4i1.240

Delgado, Karen. (2020). *Propuesta de tratamiento para los lodos generados en la PTAR Tereré de la ciudad Tena mediante la caracterización fisicoquímica y microbiológica de los mismos*. Universidad Estatal Amazónica.

Epstein, E. (2011). Basic concepts of composting. In: Industrial composting. *Taylor and Francis Group*, 15–24.

Erickson, L. (2009). *Bioreactors. In: Encyclopedia of Microbiology: Vol. Third Edition.* (Academic Press, pp. 206–211).

FAO. (1997). Tratamiento y utilización de residuos de origen animal, pesquero y alimenticio en la alimentación animal. *Estudio FAO Producción y Sanidad Animal*, 1–265.

Feijoo, L., & Mesa, R. (2016). Microorganismos eficientes y su beneficio para la agricultura y el medio ambiente. *Revista Científica Agroecosistemas*, 1–15.

Frioni, L. (2005). *Microbiología. Básica, ambiental y agrícola*.

Gelvez, M. (2008). *Efectos del suelo sobre la descomposición de hojarasca y grupos funcionales microbianos*. Pontificia Universidad Javeriana.

Higa, T. (2002). *Una revolución para salvar la tierra: una forma de resolver los problemas de nuestro mundo a través de los Microorganismos Efectivos (EM)*. https://books.google.com/books/about/Una_Revoluci%C3%B3n_para_salvar_la_tierra.html?id=xmjdPQAACAAJ

INIAP. (2011). Manual Agrícola de los Principios de Cultivos del Ecuador. *Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias*, 1–18.

Izquierdo, J., & Arévalo, J. (2021). Determinación del carbono orgánico por el método químico y por calcinación. *Ingeniería y Región*, *26*, 20–28. https://doi.org/10.25054/22161325.2527

Jiménez, G., & Vélez, A. (2012). Tinción de Gram de tejido, alcances y limitaciones. In *Medicina & Laboratorio* (Vol. 18, pp. 555–569).

Li, C.-J., Zhang, Z., Zhan, P.-C., Lv, A.-P., Li, P.-P., Liu, L., Li, W.-J., Yang, L.-L., & Zhi, X.-Y. (2023). Comparative genomic analysis and proposal of Clostridium yunnanense sp. nov., Clostridium rhizosphaerae sp. nov., and Clostridium paridis sp. nov., three novel Clostridium sensu stricto endophytes with diverse capabilities of acetic acid and ethanol production. *Anaerobe*, *79*, 102686. https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2022.102686

Maciej, S., Becker, F. G., Cleary, M., Team, R. M., Holtermann, H., The, D., Agenda, N., Science, P., Sk, S. K., Hinnebusch, R., Hinnebusch A, R., Rabinovich, I., Olmert, Y., Uld, D. Q. G. L. Q., Ri, W. K. H. U., Lq, V., Frxqwu, W. K. H., Zklfk, E., Edvhg, L. V, … ح ,فاطمی. (2023). Aprovechamiento de los residuos generados en las granjas lecheras de Boyacá para producción de biogás como combustible para consumo y generación de energía. *Uniwersytet Śląski*, *7*(1), 343–354. https://doi.org/10.2/JQUERY.MIN.JS

Martines, E., & Lira, L. (2010). Análisis y Aplicación de las Expresiones del Contenido de Humedad de Sólidos. Centro Nacional de Metrología, 1–6.

MAVDT. (2005). Resolución 041 del 26 de enero de 2007. Por medio de la cual se adopta el Plan de Manejo del Parque Nacional Natural El Cocuy. *Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial*, 1–9.

Méndez, J. (2018). Diluciones Seriadas. *SCRIBD*, 1–9.

Naranjo, P., & Cherres, N. (2013). *Aplicación de microorganismos para acelerar la transformación de desechos orgánicos en compost.*

Parapouli, M., Vasileiadis, A., Afendra, A.-S., & Hatziloukas, E. (2020). Saccharomyces cerevisiae and its industrial applications. *AIMS Microbiology*, *6*(1), 1–31. https://doi.org/10.3934/microbiol.2020001

Parapouli, M., Vasileiadis, A., Afendra, A.-S., & Hatziloukas, E. (2020). Saccharomyces cerevisiae and its industrial applications. *AIMS Microbiology*, *6*(1), 1–31. https://doi.org/10.3934/microbiol.2020001

Pascual, R., & Venegas, Y. (2001). Ecología microbiana y microbiología. *Universidad Autónoma Metropolitana*, 1–14.

Peral, I. (2018). Microbiología del Suelo. *Universidad Politécnica de Cartagena*, 1–18.

Pérez, M. (2017). *Efecto De La Relación Carbono/Nitrógeno En El Tiempo De Descomposición Del Abono De Cuy (Cavia Porcellus), Enriquecido."*. Universidad Técnica de Ambato.

Pinos, J. (2012). *Impactos y regulaciones ambientales del estiércol generado por los sistemas ganaderos de algunos países de América* (p. 362). Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Ramírez, C., & Vélez, J. (2016). Aislamiento, Caracterización y Selección de Bacterias Lácticas Autóctonas de Leche y Queso Fresco Artesanal de Cabra. *Información Tecnológica*, *27*(6), 115–128. https://doi.org/10.4067/S0718-07642016000600012

Ramírez, M., Peñuela, L., & Del Rocío, M. (2017). Los residuos orgánicos como alternativa para la alimentación en porcinos Organic waste as an alternative feeds for pigs Artículo De

Revisión: Ciencias Animales Y Lechería Revista De Ciencias Agrícolas. *Cienc. Agr. Julio-diciembre*, 107–124. https://doi.org/10.22267/rcia.173402.76

Rendón, V. (2019). *Proceso de reproducción de bacterias fototróficas mediante bio fermentación.* Universidad Técnica de Babahoyo.

Rigail, C., & Arias, D. (2009). *Estudio de 2 grupos de microorganismos como agentes aceleradores de descomposición de los desechos sólidos orgánicos originados en los comedores de ESPOL*. 1–4. http://www.dspace.espol.edu.ec/handle/123456789/1261

Rigoberto, M., Batista, G., Rafael, A., Castro, S., Maldonado, A. V., & Maldonado, &. (2019). *Manejo Y Gestión Ambiental Cita sugerida (APA, sexta edición)*. https://orcid.org/0000-0003-2403-0135

Rosero, D. (2013). *Descomposición microbiológica de desechos orgánicos vegetales originados en la Universidad Central del Ecuador*. Universidad Central del Ecuador.

Ruíz, Y. (2020). *Degradación de residuos orgánicos domésticos a través de un consorcio bacteriano para la formación de una composta.* Universidad Autónoma de Puebla.

Sarkar, S., Pal, S., & Chanda, S. (2016). Optimization of a Vegetable Waste Composting Process with a Significant Thermophilic Phase. *Procedia Environmental Sciences*, *35*, 435–440. https://doi.org/10.1016/j.proenv.2016.07.026

Sharma, M. S., & Choudhary, P. R. (2017). Effect of Fenugreek Seeds Powder (rigonella foenum-graecum on Experimental Induced Hyperlipidemia in Rabbits. *Journal of Dietary Supplements*, *14*(1), 1–8. https://doi.org/10.3109/19390211.2016.1168905

Steinfeld, H., Gerber, P., Wassenaar, T., Castel, V., & Rosales, M. (2009). *La larga sombra del ganado, problemas ambientales y opciones*.

Torres, J. (2018). *Estabilización de lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas residuales domésticas mediante digestión anaerobia*. Universidad de las Américas.

Torres, J. (2019). *Eficacia Del Ciclo De Esterilización En Autoclaves Centros De Salud*. Universidad Nacional De Chimborazo.

Trivedi, P., Pandey, S., & Bhadauria, S. (2007). *Text Book Of Microbiology*.

TULSMA. (2002). *Texto Unificado de la Legislación Secundaria de Medio Ambiente. 2*, 1–54.

Vásquez, G., Torres, J., Quesquén, C., & Alvarado, J. (2020). Identificación de Microorganismos Descomponedores de la Materia Orgánica en el Centro Académico de Investigación y Ecoturismo Biodiversidad de la UNSM – T. *Alicia*, 14.

Zakaria, Z., Gairola, S., & Shariff, N. (2010). *Effective Microorganisms (EM) Technology for Water Quality Restoration and Potential for Sustainable Water Resources and Management. International Congress on Environmental Modelling and Software Modelling for Environment's Sake, Fifth Biennial Meeting*.

Zúñiga, M., & Buelina, G. (2015). Treatment options for wastewater of three swine farms. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, *2*(2), 87–90. https://doi.org/10.5154/R.INAGBI.2010.10.015

ANEXOS

ANEXO 1

Preparación de capturadores



ANEXO 2

Siembra de capturadores



ANEXO 3

Cosecha de capturadores



ANEXO 4

Preparación de solución madre



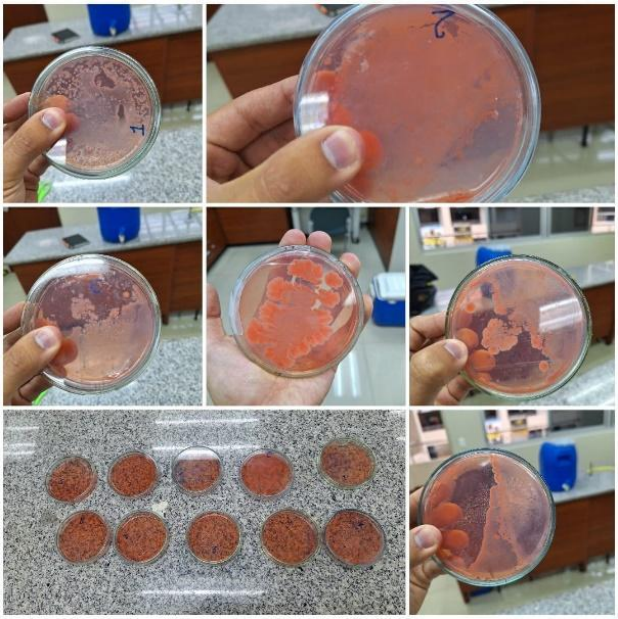
ANEXO 5

Preparación de agar y diluciones



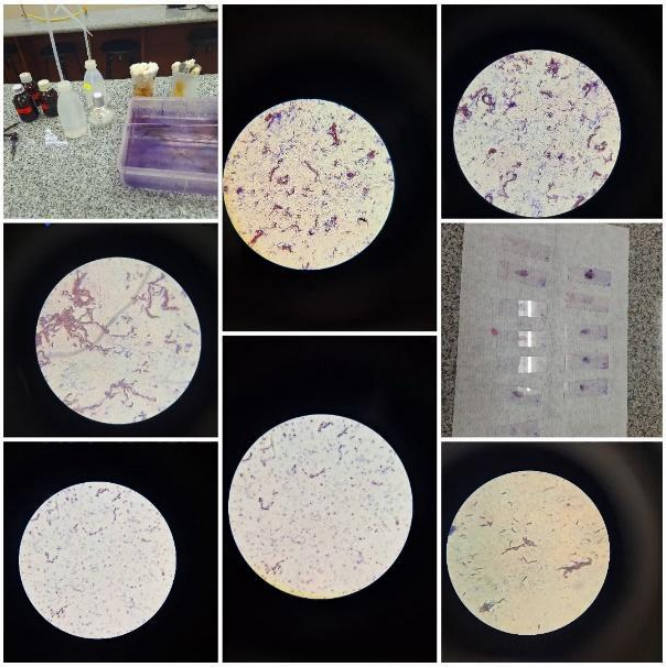
ANEXO 6

Observación de colonias microbianas



ANEXO 7

Tinción de GRAM



ANEXO 8

Aislamiento de microorganismos



ANEXO 9

Secado y esterilización de lodo residual



ANEXO 10

Preparación de dosis (UFC)



ANEXO 11

Medición de nitratos



ANEXO 12

Medición de materia orgánica



ANEXO 13

Cálculo para obtener de materia orgánica

MUESTRA	CRISOL	MUESTRA	CRISOL + MUESTRA	SEQUEDAD A 110C	PESO ACTUAL DE LA MUESTRA	HUMEDAD %	PESO CENIZAS 550 C	CENIZAS %	CARBON ORGANICO %	CARBON ORGANICO (g)	MATERIA ORGANICA	MATERIA ORGANICA %
T1	38,09	9,78	47,87	40,26	7,61	22,19	38,63	7,10	92,90	7,07	160,17	**100**
T1	37,32	10,05	47,37	40,82	6,55	34,83	38,82	22,90	77,10	5,05	132,92	**100**
T1	39,63	10,54	50,17	39,75	10,42	1,14	39,37	-2,50	102,50	10,68	176,70	**100**
MEDIA	**38,35**	**10,12**	**48,47**	**40,28**	**8,19**	**19,06**	**38,94**	**7,24**	**92,76**	**7,60**	**159,92**	**100**
T2	35,23	10,23	45,46	36,41	9,05	11,53	35,09	-1,55	101,55	9,19	175,07	**100**
T2	33,69	10,13	43,82	37,51	6,31	37,71	34,79	17,43	82,57	5,21	142,35	**100**
T2	34,18	9,78	43,96	35,43	8,53	12,78	35,12	11,02	88,98	7,59	153,40	**100**
MEDIA	**34,37**	**10,05**	**44,41**	**36,45**	**7,96**	**20,74**	**35,00**	**7,95**	**92,05**	**7,33**	**158,69**	**100**
T3	37,25	10,45	47,70	41,16	6,54	37,42	38,59	20,49	79,51	5,20	137,08	**100**
T3	35,38	9,63	45,01	39,23	5,78	39,98	37,65	39,27	60,73	3,51	104,69	**100**
T3	37,25	10,15	47,40	40,38	7,02	30,84	37,02	-3,28	103,28	7,25	178,05	**100**
MEDIA	**36,63**	**10,08**	**46,70**	**40,26**	**6,45**	**36,02**	**37,75**	**17,48**	**82,52**	**5,32**	**142,27**	**100**
T4	39,98	9,68	49,66	42,51	7,15	26,14	41,53	21,68	78,32	5,60	135,03	**100**
T4	39,21	9,45	48,66	44,48	4,18	55,77	40,75	36,84	63,16	2,64	108,88	**100**
T4	40,52	10,89	51,41	43,15	8,26	24,15	40,63	1,33	98,67	8,15	170,10	**100**
MEDIA	**39,90**	**10,01**	**49,91**	**43,38**	**6,53**	**34,74**	**40,97**	**16,33**	**83,67**	**5,46**	**144,24**	**100**

ANEXO 14

Base de datos obtenidos al final de la investigación

HUMEDAD %

Tratamientos	Repeticiones			Promedio	Desviación	C.V %
	1	2	3			
T1	22.19	34.83	1.14	19.06	13.89	72.88
T2	11.53	37.71	12.78	20.74	12.06	58.14
T3	37.42	39.98	30.84	36.02	3.85	10.69
T4	26.14	55.77	24.15	34.74	14.46	41.62

CENIZAS %

Tratamientos	Repeticiones			Promedio	Desviación	C.V %
	1	2	3			
T1	7.10	22.90	-2.50	7.24	10.47	144.59
T2	-1.55	17.43	11.02	7.95	7.88	99.12
T3	20.49	39.27	-3.28	17.48	17.41	99.62
T4	21.68	36.84	1.33	16.33	14.55	89.06

CARBONO ORGÁNICO %

Tratamientos	Repeticiones			Promedio	Desviación	C.V %
	1	2	3			
T1	92.90	77.10	102.50	92.76	40.51	43.68
T2	101.55	82.57	88.98	92.05	6.28	6.83
T3	79.51	60.73	103.28	82.52	11.88	14.40
T4	78.32	63.16	98.67	83.67	10.17	12.16

MATERIA ORGÁNICA

Tratamientos	Repeticiones			Promedio	Desviación	C.V %
	1	2	3			
T1	160.17	132.92	176.70	159.92	18.05	11.29
T2	175.07	142.35	153.40	158.69	13.59	8.56
T3	137.08	104.69	178.05	142.27	30.02	21.10
T4	135.03	108.88	170.10	144.24	25.08	17.39

NITRATOS

Tratamientos	Repeticiones			Promedio	Desviación	C.V %
	1	2	3			
T1	12.00	9.00	9.40	10.13	1.330	13.13
T2	1.70	2.00	0.80	1.5	0.510	33.99
T3	3.40	3.30	3.00	3.23	0.170	5.26
T4	1.30	0.80	1.10	1.07	0.205	19.20

ANEXO SEQ ANEXO * ARABIC 15

Resultado Rstudio: nitrato

```
Console  Terminal  Jobs
R 4.1.0 · ~/
> nitrato<-read.table("clipboard",header=T)
> nitrato
   TRATAMIENTO RESULTADO
1           T1      12.0
2           T2       1.7
3           T3       3.4
4           T4       1.3
5           T1       9.0
6           T2       2.0
7           T3       3.3
8           T4       0.8
9           T1       9.4
10          T2       0.8
11          T3       3.0
12          T4       1.1
> tratamiento<-factor(nitrato$TRATAMIENTO)
> modelo<-lm(nitrato$RESULTADO~tratamiento)
> anova<-aov(modelo)
> summary(anova)
            Df Sum Sq Mean Sq F value   Pr(>F)
tratamiento  3  159.2   53.06   67.38 5.09e-06 ***
Residuals    8    6.3    0.79
---
Signif. codes:  0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘ ’ 1
> residuos<-anova$resid
> residuos
          1           2           3           4           5           6
 1.86666667  0.20000000  0.16666667  0.23333333 -1.13333333  0.50000000
          7           8           9          10          11          12
 0.06666667 -0.26666667 -0.73333333 -0.70000000 -0.23333333  0.03333333
> shapiro.test(residuos)

        Shapiro-Wilk normality test

data:  residuos
W = 0.90176, p-value = 0.1671
```

```
> bartlett.test(nitrato$RESULTADO,nitrato$TRATAMIENTO)

        Bartlett test of homogeneity of variances

data:  nitrato$RESULTADO and nitrato$TRATAMIENTO
Bartlett's K-squared = 8.1242, df = 3, p-value = 0.04351

> tukey<-HSD.test(anova,"tratamiento")
> tukey
$statistics
  MSerror Df     Mean       CV      MSD
   0.7875  8 3.983333 22.27812 2.320324

$parameters
   test      name.t ntr StudentizedRange alpha
  Tukey tratamiento   4          4.52881  0.05

$means
   nitrato$RESULTADO       std r        se Min  Max  Q25 Q50   Q75
T1         10.133333 1.6289056 3 0.5123475 9.0 12.0 9.20 9.4 10.70
T2          1.500000 0.6244998 3 0.5123475 0.8  2.0 1.25 1.7  1.85
T3          3.233333 0.2081666 3 0.5123475 3.0  3.4 3.15 3.3  3.35
T4          1.066667 0.2516611 3 0.5123475 0.8  1.3 0.95 1.1  1.20

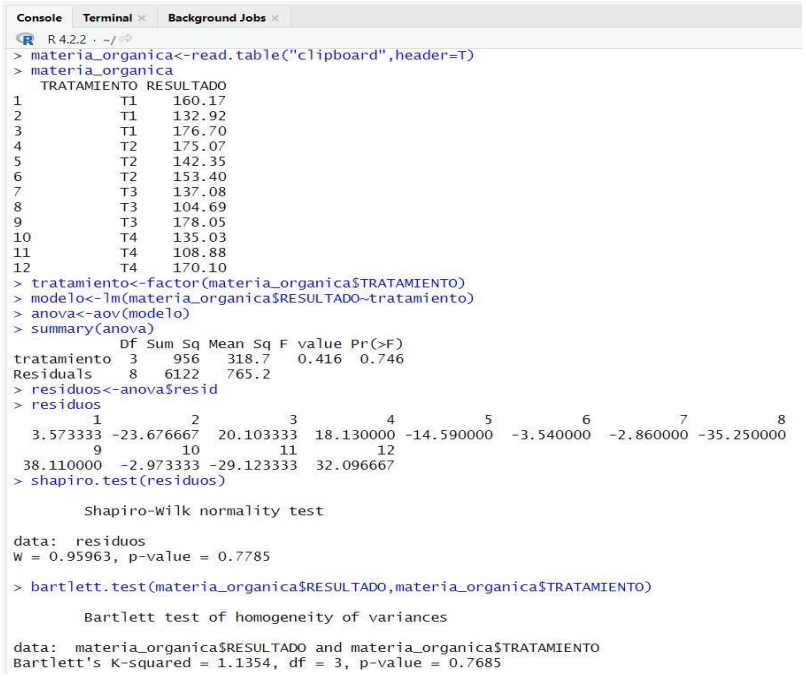
$comparison
NULL

$groups
   nitrato$RESULTADO groups
T1         10.133333      a
T3          3.233333      b
T2          1.500000      b
T4          1.066667      b

attr(,"class")
[1] "group"
```

ANEXO 16

Resultado Rstudio: materia orgánica



```
Console  Terminal  Background Jobs
R 4.2.2 · ~/
> materia_organica<-read.table("clipboard",header=T)
> materia_organica
   TRATAMIENTO RESULTADO
1           T1    160.17
2           T1    132.92
3           T1    176.70
4           T2    175.07
5           T2    142.35
6           T2    153.40
7           T3    137.08
8           T3    104.69
9           T3    178.05
10          T4    135.03
11          T4    108.88
12          T4    170.10
> tratamiento<-factor(materia_organica$TRATAMIENTO)
> modelo<-lm(materia_organica$RESULTADO~tratamiento)
> anova<-aov(modelo)
> summary(anova)
            Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
tratamiento  3    956   318.7   0.416  0.746
Residuals    8   6122   765.2
> residuos<-anova$resid
> residuos
        1         2         3         4         5         6         7         8
  3.573333 -23.676667  20.103333  18.130000 -14.590000  -3.540000  -2.860000 -35.250000
        9        10        11        12
 38.110000  -2.973333 -29.123333  32.096667
> shapiro.test(residuos)

        Shapiro-Wilk normality test

data:  residuos
W = 0.95963, p-value = 0.7785

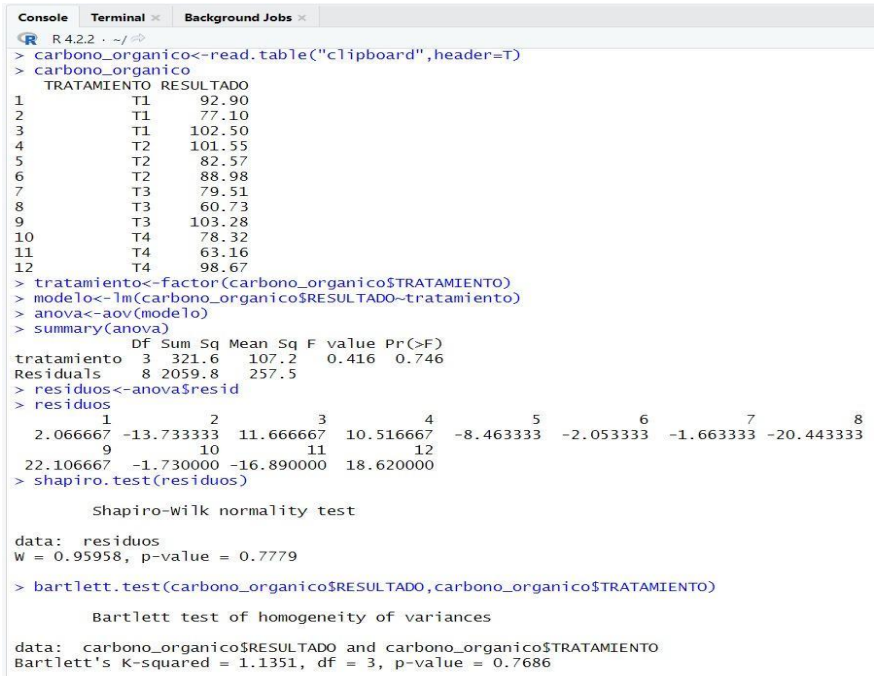
> bartlett.test(materia_organica$RESULTADO,materia_organica$TRATAMIENTO)

        Bartlett test of homogeneity of variances

data:  materia_organica$RESULTADO and materia_organica$TRATAMIENTO
Bartlett's K-squared = 1.1354, df = 3, p-value = 0.7685
```

ANEXO 17

Resultado Rstudio: carbono orgánico



```
Console  Terminal  Background Jobs
R 4.2.2 · ~/
> carbono_organico<-read.table("clipboard",header=T)
> carbono_organico
   TRATAMIENTO RESULTADO
1           T1     92.90
2           T1     77.10
3           T1    102.50
4           T2    101.55
5           T2     82.57
6           T2     88.98
7           T3     79.51
8           T3     60.73
9           T3    103.28
10          T4     78.32
11          T4     63.16
12          T4     98.67
> tratamiento<-factor(carbono_organico$TRATAMIENTO)
> modelo<-lm(carbono_organico$RESULTADO~tratamiento)
> anova<-aov(modelo)
> summary(anova)
            Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
tratamiento  3  321.6   107.2   0.416  0.746
Residuals    8 2059.8   257.5
> residuos<-anova$resid
> residuos
        1         2         3         4         5         6         7         8
  2.066667 -13.733333  11.666667  10.516667  -8.463333  -2.053333  -1.663333 -20.443333
        9        10        11        12
 22.106667  -1.730000 -16.890000  18.620000
> shapiro.test(residuos)

        Shapiro-Wilk normality test

data:  residuos
W = 0.95958, p-value = 0.7779

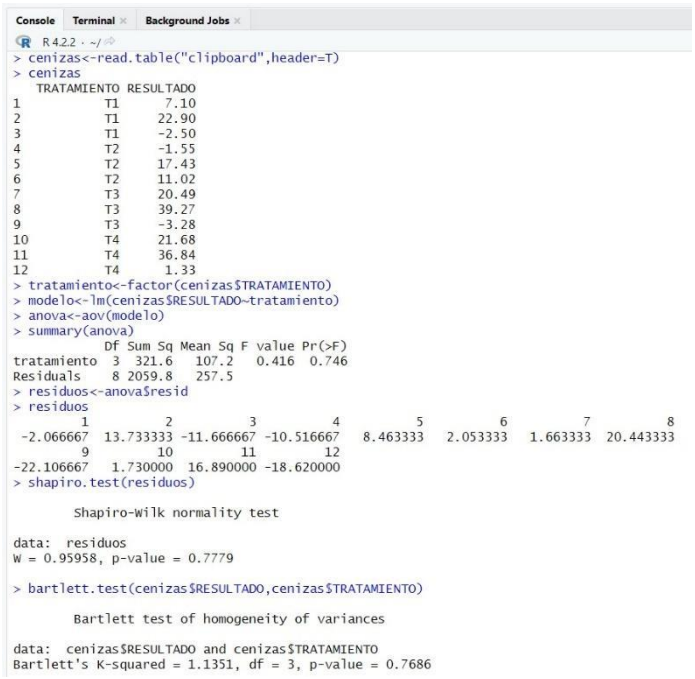
> bartlett.test(carbono_organico$RESULTADO,carbono_organico$TRATAMIENTO)

        Bartlett test of homogeneity of variances

data:  carbono_organico$RESULTADO and carbono_organico$TRATAMIENTO
Bartlett's K-squared = 1.1351, df = 3, p-value = 0.7686
```

ANEXO 18

Resultado Rstudio: cenizas



```
Console  Terminal  Background Jobs
R 4.2.2 · ~/
> cenizas<-read.table("clipboard",header=T)
> cenizas
   TRATAMIENTO RESULTADO
1           T1      7.10
2           T1     22.90
3           T1     -2.50
4           T2     -1.55
5           T2     17.43
6           T2     11.02
7           T3     20.49
8           T3     39.27
9           T3     -3.28
10          T4     21.68
11          T4     36.84
12          T4      1.33
> tratamiento<-factor(cenizas$TRATAMIENTO)
> modelo<-lm(cenizas$RESULTADO~tratamiento)
> anova<-aov(modelo)
> summary(anova)
            Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
tratamiento  3  321.6   107.2   0.416  0.746
Residuals    8 2059.8   257.5
> residuos<-anova$resid
> residuos
         1          2          3          4          5          6          7          8
 -2.066667  13.733333 -11.666667 -10.516667   8.463333   2.053333   1.663333  20.443333
         9         10         11         12
-22.106667   1.730000  16.890000 -18.620000
> shapiro.test(residuos)

        Shapiro-Wilk normality test

data:  residuos
W = 0.95958, p-value = 0.7779

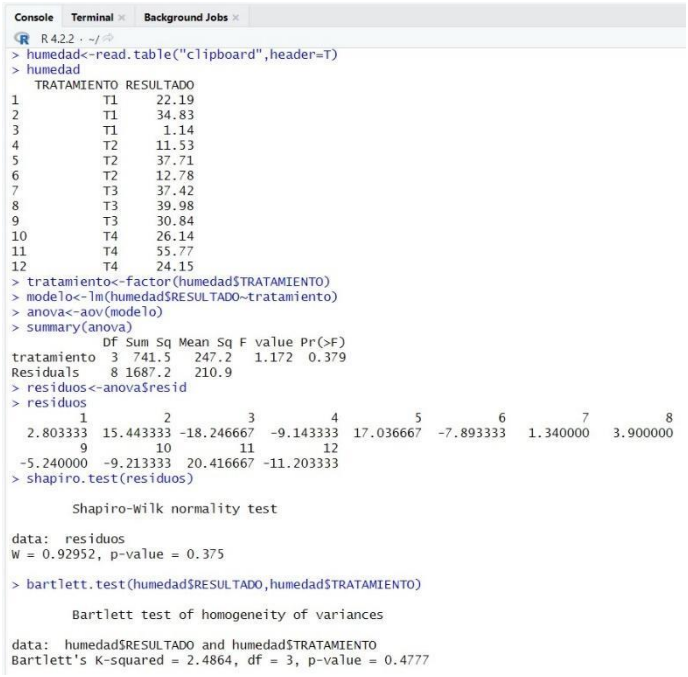
> bartlett.test(cenizas$RESULTADO,cenizas$TRATAMIENTO)

        Bartlett test of homogeneity of variances

data:  cenizas$RESULTADO and cenizas$TRATAMIENTO
Bartlett's K-squared = 1.1351, df = 3, p-value = 0.7686
```

ANEXO 19

Resultado Rstudio: humedad



```
Console  Terminal  Background Jobs
R 4.2.2 · ~/
> humedad<-read.table("clipboard",header=T)
> humedad
   TRATAMIENTO RESULTADO
1           T1     22.19
2           T1     34.83
3           T1      1.14
4           T2     11.53
5           T2     37.71
6           T2     12.78
7           T3     37.42
8           T3     39.98
9           T3     30.84
10          T4     26.14
11          T4     55.77
12          T4     24.15
> tratamiento<-factor(humedad$TRATAMIENTO)
> modelo<-lm(humedad$RESULTADO~tratamiento)
> anova<-aov(modelo)
> summary(anova)
            Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
tratamiento  3  741.5   247.2   1.172  0.379
Residuals    8 1687.2   210.9
> residuos<-anova$resid
> residuos
         1          2          3          4          5          6          7          8
  2.803333  15.443333 -18.246667  -9.143333  17.036667  -7.893333   1.340000   3.900000
         9         10         11         12
 -5.240000  -9.213333  20.416667 -11.203333
> shapiro.test(residuos)

        Shapiro-Wilk normality test

data:  residuos
W = 0.92952, p-value = 0.375

> bartlett.test(humedad$RESULTADO,humedad$TRATAMIENTO)

        Bartlett test of homogeneity of variances

data:  humedad$RESULTADO and humedad$TRATAMIENTO
Bartlett's K-squared = 2.4864, df = 3, p-value = 0.4777
```

ANEXO 20

Resultado informe de laboratorio (caracterización)

Av. De los Granados E14-285 y Eloy Alfaro
Teléfono: 0998982450
e-mail: idgen.ecuador@gmail.com
R.U.C. 1713443479001

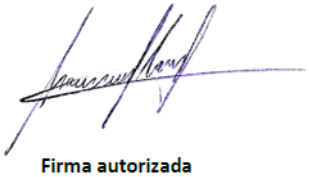
Informe de Resultados

Nombre del Proyecto: Identificación molecular de bacterias – Cristian Padilla
Informe No.: A-567
Técnico Responsable: Sofía Garrido
Fecha: 04/06/2024

Resultados

Código IDgen	Muestra	Calidad	Longitud	Organismo	Fragmento	% de identidad	NºAccesión
B716	NA	46.6	554	*Metaclostridioides mangenotii*	16S	97.83	NR_104729.1

Nota: Las secuencias de baja calidad pueden ser resultado de productos de PCR obtenidos a partir de cultivos mixtos.



Firma autorizada

Francisco Javier Flores Flor, PhD.

Propietario IDgen

Av. De los Granados E14-285 y Eloy Alfaro
Teléfono: 0998982450
e-mail: idgen.ecuador@gmail.com
R.U.C. 1713443479001

Detalle de Resultados

Nombre del Proyecto: Identificación molecular de bacterias – Cristian Padilla
Informe No.: A-567
Técnico Responsable: Sofía Garrido
Fecha: 04/06/2024

Estudio: Identificación molecular de aislados bacterianos (extracción de ADN, secuenciación Sanger, ensamblaje de secuencias y búsqueda en base de datos).

Detalles técnicos:

Muestras usadas: Cultivo bacteriano líquido.

Método de determinación: Identificación molecular por secuenciación Sanger

Procedimiento:

- La extracción de ADN se realizó por métodos convencionales, utilizando aproximadamente 100 mg de muestra de biomasa.
- Se evaluó la integridad y calidad del ADN mediante espectrofotometría de microvolúmenes y visualización en gel de agarosa.
- Se diluyó el ADN hasta una concentración de aproximadamente 20ng/uL para su amplificación mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) utilizando los primers universales 16S: 27F/1492R[1].
- El producto de PCR fue purificado previo a la secuenciación por el método SANGER.
- Las secuencias obtenidas fueron limpiadas y ensambladas usando programas bioinformáticos.
- Se comparó la secuencia ensamblada de la muestra con la base de datos de nucleótidos de GenBank del NCBI para su identificación taxonómica.

Resultados:

Se obtuvo material genómico de alta calidad y suficiente cantidad para el proceso de amplificación, visualizando así una banda definida de aproximadamente 1500 pb correspondientes al marcador 16S (Figura 1). A partir de las lecturas resultantes de la secuenciación SANGER se obtuvo la secuencia ensamblada que permitió determinar la identidad del aislado al compararla con la base de datos del GenBank del NCBI.