



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA INGENIERÍA BIOQUÍMICA



"COMPARACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD DE HONGOS PSICRÓFILOS Y
PSICRÓTROFOS PRESENTES EN ECOSISTEMAS GLACIARES DE LA
ANTÁRTIDA Y EL CHIMBORAZO."

Trabajo de Investigación (Graduación), Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente (TEMI) presentado como requisito previo a la obtención del título de Ingeniera Bioquímica otorgado por la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Autor: Jenny Fernanda Correa Navas

Tutor: Dr. Carlos Rodríguez; Ph.D

Ambato - Ecuador

2013

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del trabajo de investigación sobre el tema: **“COMPARACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD DE HONGOS PSICRÓFILOS Y PSICRÓTROFOS PRESENTES EN ECOSISTEMAS GLACIARES DE LA ANTÁRTIDA Y EL CHIMBORAZO.”**, de la estudiante Correa Navas Jenny Fernanda alumna de la Carrera de Ingeniería Bioquímica, considero que dicho informe investigativo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador designado.

Ambato, Marzo 2013

EL TUTOR

.....
Dr. Carlos Rodríguez Ph.D

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el trabajo de investigación: “COMPARACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD DE HONGOS PSICRÓFILOS Y PSICRÓTROFOS PRESENTES EN ECOSISTEMAS GLACIARES DE LA ANTÁRTIDA Y EL CHIMBORAZO”, como también los contenidos, ideas, análisis, conclusiones y propuesta son de exclusiva responsabilidad de mi persona, como autor de este trabajo de grado.

Ambato, Marzo 2013

EL AUTOR

.....
Jenny Fernanda Correa Navas

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación, sobre el tema: **"COMPARACIÓN DE LA BIODIVERSIDAD DE HONGOS PSICRÓFILOS Y PSICRÓTROFOS PRESENTES EN ECOSISTEMAS GLACIARES DE LA ANTÁRTIDA Y EL CHIMBORAZO."** De la estudiante: Jenny Fernanda Correa Navas.

Ambato, Marzo 2013

Para constancia firman:

Dedicatoria

A DIOS, quien ha sido suficientemente generoso conmigo y me ha permitido salir adelante.

A mis padres, Jaime y Marcia, por brindarme una excelente educación, por guiarme siempre por el camino de la honestidad y sencillez. Gracias por su amor incondicional.

A mi hermana Lissette y demás familiares que han estado pendientes en la culminación de este trabajo

Agradecimiento

A la Universidad Técnica de Ambato, que me dio la oportunidad de adquirir nuevos conocimientos, a las autoridades, docentes y personal que conforma esta prestigiosa Institución, de manera especial al Doctor Carlos Rodríguez, quien me supo impartir sus sabios conocimientos, los mismos que me han servido para la realización de este trabajo de investigación, a mis padres, familiares y amigos que me han apoyado incondicionalmente en mi carrera profesional

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

PAGINAS PRELIMINARES.

Tema	i
Aprobación del tutor.....	ii
Autoría del trabajo de grado	iii
Aprobación del tribunal de grado.....	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento.....	vi

TEXTO

Resumen	1
---------------	---

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Tema de Investigación.....	2
1.2. Planteamiento del problema.	2
1.2.1. Contextualización.	2
1.2.2. Análisis Crítico.	5
1.2.2.1. Diagrama Causa – Efecto.....	5
1.2.3. Prognosis.....	6
1.2.4. Formulación del problema.	6
1.2.5 Preguntas directrices	6
1.3. Justificación.	6
1.4. Objetivos.....	7
1.4.1 General.....	7
1.4.2 Específicos.	7

CAPITULO II
MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes Investigativos.	9
2.1.1 Generalidades de los ecosistemas Antárticos, clima y suelo.....	9
2.1.2 El ecosistema glaciar del Chimborazo, clima, vegetación y suelos.	10
2.1.3 Microorganismos que habitan a bajas temperaturas.	11
2.1.3.1 Clasificación de los microorganismos según la temperatura.	12
2.1.3.1.1 Microorganismos psicrófilos.....	12
2.1.3.1.2 Microorganismos psicrótrofos.	13
2.1.3.1.3 Ecología de los microorganismos psicrófilos y psicrótrofos.	14
2.1.4 Aislamiento de microorganismos psicrófilos y psicrótrofos.	15
2.1.5 Generalidades de los Hongos.....	18
2.1.5.1 Morfología y estructura de los hongos.....	19
2.1.6 Diversidad de los hongos en ambientes fríos.	19
2.1.7 Taxonomía Numérica.	20
2.1.7.1 Elementos principales de la taxonomía numérica.....	21
2.2. Fundamentación Filosófica.	22
2.3. Fundamentación Legal.	22
2.4. Categorías fundamentales.....	24
2.5 Hipótesis.....	24
2.5.1. Hipótesis nula	24
2.5.2. Hipótesis alternante.	24
2.6. Señalamiento de variables de las hipótesis.....	25

CAPITULO III
METODOLOGÍA

3.1. Enfoque	26
3.2. Modalidad básica de la investigación.....	26
3.3. Nivel o tipo de investigación	26
3.4. Población y muestra	26
3.5. Operacionalización de variables.....	26
3.6. Recolección de Información.....	28
3.6.1. Caracterización físico – química de las muestras medioambientales.....	28
3.6.1.1. Determinación del pH y conductividad de las muestras.....	28
3.6.1.2. Determinación del porcentaje de humedad	28
3.6.1.3. Determinación del porcentaje materia orgánica.....	28
3.6.2. Aislamiento selectivo de hongos psicrófilos y psicrótrofos.....	29
3.6.2.1 Determinación de la población y diversidad de hongos.....	29
3.6.2.2 Aislamiento, purificación y almacenamiento de hongos psicrófilos y psicrótrofos..	30
3.6.3. Caracterización macroscópica de los cultivos.....	30
3.6.4. Caracterización microscópica de los cultivos.....	31
3.6.5 Pruebas fisiológicas de crecimiento.....	33
3.6.5.1. Rango de crecimiento en función de la temperatura.....	34
3.6.5.2. Rango de crecimiento en función del pH.....	34
3.6.5.3. Rango de crecimiento en función de la salinidad.....	35
3.7. Procesamiento y análisis	36
3.7.1. Diseño Experimental.....	36
3.7.2. Formación de grupos de color.....	38
3.7.3. Taxonomía numérica de datos fenotípicos.....	39

CAPITULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Análisis de los Resultados.....	48
4.1.1. Caracterización Físico – Química de las muestras de suelo.	48
4.1.2. Aislamiento selectivo de hongos psicrófilos y psicrótrofos.....	48
4.1.2.1. Determinación de la población y diversidad de hongos.	48
4.1.3. Aislamiento, purificación y almacenamiento de hongos psicrófilos y psicrótrofos....	50
4.1.4. Caracterización macroscópica y formación de grupos de color de hongos aislados de muestras de suelo de la Antártida y el Chimborazo.....	51
4.1.5. Caracterización microscópica de hongos aislados de muestras de suelo de la Antártida y el Chimborazo.	52
4.1.6. Pruebas fisiológicas de crecimiento.....	53
4.1.6.1. Rango de crecimiento en función de la temperatura.....	53
4.1.6.2. Rango de crecimiento en función del pH.	53
4.1.6.3. Rango de crecimiento en función de la salinidad.....	53
4.1.7. Taxonomía numérica de datos fenotípicos.	53
4.2. Interpretación de datos	54
4.2.1. Población y diversidad de hongos	54
4.2.2. Caracterización fenotípica	55
4.2.2.1. Rango de crecimiento en función de la temperatura	55
4.2.2.2. Rango de crecimiento en función del pH.....	56
4.2.2.3. Rango de crecimiento en función de la concentración de sal.....	56
4.2.3. Taxonomía numérica de datos fenotípicos.	56
4.2.4. Discusión general del trabajo.....	57
4.3. Verificación de la hipótesis.	59

4.3.1. Hipótesis Nula (H_0).....	59
4.3.2. Hipótesis Alternante (H_1).	59

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones.....	60
5.2. Recomendaciones.....	60

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1 Datos informativos.....	62
6.1.1 Título.....	62
6.1.2 Instituciones ejecutoras	62
6.1.3 Beneficiarios	62
6.1.4 Ubicación.....	62
6.1.5 Tiempo estimado para la ejecución	62
6.1.6 Equipos técnico responsable.....	62
6.2 Antecedentes de la propuesta.....	62
6.3 Justificación.....	63
6.4 Objetivos.....	64
6.4.1 General.....	64
6.4.2 Específicos	64
6.5 Análisis de factibilidad	64
6.6 Fundamentación.....	64
6.7 Metodología – Modelo Operativo.....	65

6.7.1. Caracterización físico – química de las muestras medioambientales.....	65
6.7.1.1. Determinación del pH y conductividad de las muestras.....	65
6.7.1.2. Determinación del porcentaje de humedad	65
6.7.1.1. Determinación del porcentaje materia orgánica.....	65
6.7.2. Aislamiento selectivo de hongos psicrófilos y psicrótrofos.....	66
6.7.2.1. Determinación de la población y diversidad de hongos.....	66
6.7.2.2. Aislamiento, purificación y almacenamiento de hongos psicrófilos y psicrótrofos.....	67
6.7.3. Caracterización macroscópica de los cultivos.	67
6.7.4. Caracterización microscópica de los cultivos.....	68
6.7.5 Pruebas fisiológicas de crecimiento.....	68
6.7.5.1. Rango de crecimiento en función de la temperatura.....	68
6.7.5.2. Rango de crecimiento en función del pH.	68
6.7.5.3. Rango de crecimiento en función de la salinidad.....	68
6.8 Administración	69
6.9 Previsión de la evaluación	70

MATERIAL DE REFERENCIA

BIBLIOGRAFÍA.....	71
ANEXO	75

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Operacionalización de variables	27
Tabla 2. Descripción morfológica de colonias de hongos de acuerdo al micelio, gotículas, pigmento difusible, halo, y reverso de la colonia	32
Tabla N3.- Características microscópicas de hongos	33
Tabla 4. Clasificación de los cultivos según el rango de crecimiento en función de la temperatura de incubación.	34
Tabla 5. Clasificación de los cultivos según el rango de crecimiento en función del pH del medio.	35
Tabla 6. Clasificación de los cultivos según el rango de crecimiento en función de la concentración de NaCl del medio de cultivo.	36
Tabla 7. Tratamientos en estudio	37
Tabla 8. Esquema del análisis de varianza	38
Tabla 9. Codificación de la información para las pruebas de taxonomía numérica de datos fenotípicos para hongos	39

INDICE DE ANEXOS

ANEXO A

DATOS EXPERIMENTALES

Tabla A1. Características fisicoquímicas de las muestras medioambientales de la Antártida y del Chimborazo.....	75
Tabla A2. Número de colonias obtenidas de los platos del aislamiento selectivo.	76
Tabla A3. Número de ufc/g suelo seco.....	77
Tabla A4. Codificación de hongos aislados de muestras medioambientales de la Antártida y del Chimborazo	78
Tabla A5. Grupos de color formados por hongos aislados de muestras medioambientales de la Antártida y del Chimborazo de 4 y 26°C.....	82
Tabla A6. Características Macroscópicas de hongos aislados de las muestras medioambientales de la Antártida y del Chimborazo.....	87
Tabla A7. Características macroscópicas de hongos aislados de la rizósfera de la Antártida y del Chimborazo.	92
Tabla A8. Características macroscópicas de hongos aislados de la rizósfera de la Antártida y del Chimborazo.	97
Tabla A9. Características macroscópicas de hongos aislados de la rizósfera de la Antártida y del Chimborazo.	102
Tabla A10. Características microscópicas de hongos aislados de la rizósfera de la Antártida y del Chimborazo.	107
Tabla A11. Características microscópicas de hongos aislados de la rizósfera de la Antártida y del Chimborazo.	112
Tabla A12. Número de hongos que presentaron crecimiento de acuerdo a diferentes valores de temperatura.....	117
Tabla A13. Clasificación de hongos de acuerdo al rango de crecimiento en función de la temperatura de acuerdo a la temperatura de aislamiento.	121

Tabla A14. Número de hongos que presentaron crecimiento de acuerdo a diferentes valores de pH.	122
Tabla A15. Clasificación de hongos de acuerdo al rango de crecimiento en función del pH del medio de cultivo de acuerdo al origen de la muestra.	126
Tabla A16. Número de hongos que presentaron crecimiento de acuerdo a diferentes valores de CINA.	126
Tabla A17. Clasificación de hongos de acuerdo al rango de crecimiento en función de la concentración de NaCl del medio de cultivo de acuerdo al origen de la muestra.	131
Tabla A18. Grupos especie formados luego del análisis de la taxonomía numérica de datos fenotípicos de hongos aislados de las muestras medioambientales de la Antártida y el Chimborazo.	131
Tabla A19. Grupos especie formados luego del análisis de la taxonomía numérica de datos fenotípicos de hongos aislados de las muestras medioambientales de la Antártida.	133
Tabla A20. Grupos especie formados luego del análisis de la taxonomía numérica de datos fenotípicos de hongos aislados de las muestras medioambientales del Chimborazo.	134

ANEXO B

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Tabla B1. Análisis de varianza para el número de ufc de hongos por gramo de suelo seco (ufc/g).	136
Tabla B2. Separación de medias para el número de hongos por gramo de suelo seco para el tratamiento A.	137
Tabla B3. Separación de medias para el número de hongos por gramo de suelo seco para el tratamiento C.	137
Tabla B4. Separación de medias para el número de hongos por gramo de suelo seco para la interacción AC.	137

Tabla B5. Separación de medias para el número de hongos por gramo de suelo seco para el tratamiento B	138
Tabla B6. Separación de medias para el número de hongos por gramo de suelo seco para la interacción AB.....	138
Tabla B7. Separación de medias para el número de hongos por gramo de suelo seco para la interacción BC	139
Tabla B8. Separación de medias para el número de hongos por gramo de suelo seco para la interacción ABC	139
Tabla B9. Matriz de datos.....	140

ANEXO C

GRÁFICOS

Figura C1. Número de ufc/g de suelo seco para los tratamientos en estudio.....	142
Figura C2. Número de hongos aislados para cada muestra medioambiental, tipo de agar, y temperatura.	143
Figura C3. Número de hongos aislados en cada medio de cultivo y temperatura a partir de la muestra de suelo de La Antártida.	144
Figura C4. Número de hongos aislados en cada medio de cultivo y temperatura a partir de la muestra de arena de La Antártida.....	144
Figura C5. Número de hongos aislados en cada medio de cultivo y temperatura a partir de la muestra de suelo del Chimborazo.	145
Figura C6. Características macroscópicas de las colonias de hongos: Relieve.	145
Figura C7. Características macroscópicas de las colonias de hongos: Borde.....	146
Figura C8. Características macroscópicas de las colonias de hongos: Textura	146
Figura C9. Características macroscópicas de las colonias de hongos: Brillo	147
Figura C10. Características macroscópicas de las colonias de hongos: Gotículas	147

Figura C11. Características macroscópicas de las colonias de hongos: Pigmento difusible	148
Figura C12. Características macroscópicas de las colonias de hongos: Halo.....	148
Figura C13. Características microscópicas de las colonias de hongos: Tipo de micelio	149
Figura C14. Características microscópicas de las colonias de hongos: Esporulación....	149
Figura C15. Características microscópicas de las colonias de hongos: Tipo de espora	150
Figura C16. Características microscópicas de las colonias de hongos: Coloración de la espora.....	150
Figura C17. Características microscópicas de las colonias de hongos: Coloración del conidióforo	151
Figura C18. Características microscópicas de las colonias de hongos: Forma de la espora.....	151
Figura C19. Pruebas fisiológicas de crecimiento de colonias de hongos: Temperatura.	152
Figura C20. Pruebas fisiológicas de crecimiento de colonias de hongos: pH.....	152
Figura C21. Pruebas fisiológicas de crecimiento de colonias de hongos: Salinidad.....	153
Figura C22. Dendrograma basado en la similaridad calculada con el coeficiente de simple coincidencia, de 89 hongos aislados de muestras medioambientales de la Antártida y del Chimborazo.	153
Figura C23. Dendrograma basado en la similaridad calculada con el coeficiente de simple coincidencia, de hongos aislados de muestras medioambientales de la Antártida.	154
Figura C24. Dendrograma basado en la similaridad calculada con el coeficiente de simple coincidencia, de hongos aislados de muestras medioambientales del Chimborazo.	155

ANEXO D

MEDIOS DE CULTIVO Y SOLUCIONES

MEDIOS DE CULTIVO.....	158
Agar PDA.....	158
Agar extracto de malta.....	158
SOLUCIONES BÚFER.....	158
Búfer de Fosfato di Básico de Sodio y Ácido Cítrico.....	158
Búfer de Hidróxido de Sodio y Ácido Bórico.....	159

ANEXO E

TABLA DE COLORES

Tabla de colores utilizada en la caracterización macroscópica.....	161
--	-----

ANEXO F

FOTOGRAFÍAS

Aislamiento selectivo de la muestra de las muestras.....	163
Cultivos puros de las muestras aisladas.....	164
Pruebas fisiológicas de crecimiento a distinto pH.....	165
Pruebas fisiológicas de crecimiento a distintas concentraciones de sal.....	167
Pruebas fisiológicas de crecimiento a distinta temperatura.....	168
Pruebas microscópicas.....	169

RESUMEN

A partir de muestras de ecosistemas glaciares de la Antártida y el Chimborazo se aislaron 89 hongos en cultivo puro. 51 hongos se aislaron del suelo de la Antártida, 9 se aislaron de la arena de la Antártida y 29 se aislaron a partir del suelo del Chimborazo. Los factores de estudio utilizados fueron el origen de la muestra, el medio de cultivo y la temperatura de aislamiento. De los hongos aislados, 56 son clasificados como psicrótrofos, 23 como mesófilos y 10 como psicrófilos. 139 datos fenotípicos fueron utilizados para calcular la similitud de los hongos aislados, usando el coeficiente de simple coincidencia (S_{SM}). El dendrograma basado en los resultados de similitud, dividió a los 89 hongos en 30 grupos-especie, algunos de los cuales tenían miembros tanto de la Antártida como del Chimborazo y otros parecen ser endémicos para cada lugar. La comparación de los grupos especie mostró 13 endémicos presentes en la Antártida y 7 para el Chimborazo. Lo que indica que existe gran diversidad de hongos que pueden resistir las condiciones extremas de estos ecosistemas. Es probable que muchos de estos grupos-especie encontrados lleven al descubrimiento de nuevas especies de hongos, los cuales pueden ser de gran utilidad en biotecnología.

SUMMARY

From samples of Antarctic and Chimborazo glaciers ecosystems, 89 fungi were isolated in pure culture. 51 fungi were isolated from Antarctica soil. 9 were isolated from Antarctica sand and 29 were isolated from Chimborazo soil. The study factors used were the sample origin, the culture medium and the temperature of isolation. From isolated fungi, 56 are classified as psychrotrophic, 23 as mesophilic and 10 as psychrophilic. 139 phenotypic data were used to calculate the isolated fungi similarity, using Simple Matching Coefficient (S_{SM}). The dendrogram based on the results of similarity, divided the 89 fungi in 30 species-groups, some of whom were members of both Antarctic and Chimborazo, and others seem to be endemic to each place. The comparison of the species-groups showed 13 endemic species from Antarctica and 7 from Chimborazo. This show the great diversity of fungi that can withstand the extreme conditions of these ecosystems. It is likely that many of these species-groups found in this investigation would lead to the discovery of new species of fungus, which can be useful in biotechnology.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Tema de Investigación.

Comparación de la Biodiversidad de Hongos Psicrófilos y Psicrótrofos Presentes en Ecosistemas Glaciares de la Antártida y el Chimborazo.

1.2. Planteamiento del problema.

Escasa información sobre la diversidad microbiana en ecosistemas glaciares y su incidencia en la comparación de la biodiversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos presentes en la Antártida y el Chimborazo.

1.2.1. Contextualización.

Macro

Los glaciares son enormes ríos de hielo, que se forman en lo alto de las montañas. Están constituidos por las capas de nieve que se acumulan durante muchos años y se convierten en grueso hielo azul. Los glaciares, en ocasiones son tan pesados que comienzan a descender lentamente por las laderas. Para que ocurra una acumulación de hielo glacial, se requiere simplemente que la cantidad de nieve caída, exceda a la fundida y evaporada y se mantenga con una cierta permanencia. Cuando estas acumulaciones ocurren estacionalmente, dan lugar a la formación de capas de hielo de diferentes grosores según la intensidad de la precipitación (Kalman, 2000; Córdova, 2002)

Separada por grandes distancias del resto de la civilización, cubierta por un manto de hielos eternos y con un clima extremadamente severo que la hace el lugar más inhóspito de la Tierra, la Antártida, constituye una singularidad geográfica única en su género. Al

igual que ésta, los hielos del Chimborazo también son una masa de perenne y aunque sus dimensiones y formas sean distintas, estos dos ecosistemas glaciares son de gran importancia, donde la ciencia ocupa un lugar de privilegio, asemejándose a un inmenso laboratorio científico (Campora, 1997).

Meso

Entre hielos perpetuos, suelos y en las frías aguas que rodean estos inhóspitos ecosistemas, se encuentran las condiciones del hábitat, en las que florece una biodiversidad microbiana asombrosa en cantidad y variedad. Los seres vivos que allí se desarrollan, adaptaron sus células y modificaron sus mecanismos de alimentación y biosíntesis para resistir estas inclemencias climáticas representadas por fríos extremos que incluso pueden llegar a -30 y -65 °C en la zona de la meseta antártica central, y vientos muy fuertes registrándose ráfagas de hasta más de 140 Km/h. Entre la biodiversidad microbiana detectada, destaca una gran variedad de arqueas, cianobacterias, bacterias fotosintéticas, cuya química es muy parecida a la de las algas verdes, hongos y actinomicetes (Goff, 1999; Izaguirre y Mataloni, 2000).

Microorganismos adaptados al frío logran sus éxitos fisiológicos y ecológicos en ambientes fríos como consecuencia de características únicas en sus proteínas, las membranas y sus respuestas genéticas a los cambios térmicos, es así que los microorganismos psicrófilos y psicrótrofos, presentan principalmente una modificación sustancial de los ácidos grasos de la membrana para mantener la fluidez de la misma. También se ha puesto de manifiesto que la membrana de los psicrófilos presenta un mayor contenido de ácidos grasos no saturados, lo que facilita el estado semifluido de la membrana a bajas temperaturas. Los lípidos de algunas bacterias psicrófilas contienen ácidos grasos poliinsaturados de cadena larga con muchos dobles enlaces (Deming, 2002; Castillo, et al., 2005).

Micro

Entre toda esta biodiversidad de los ecosistemas glaciares, se pueden encontrar hongos psicrófilos y psicrótrofos que sobreviven en aguas congeladas, en grandes áreas de hielo glaciar, en lagunas heladas, y principalmente en suelos descubiertos. La variación de temperatura, pH y salinidad del medio ambiente en el que se encuentran estos

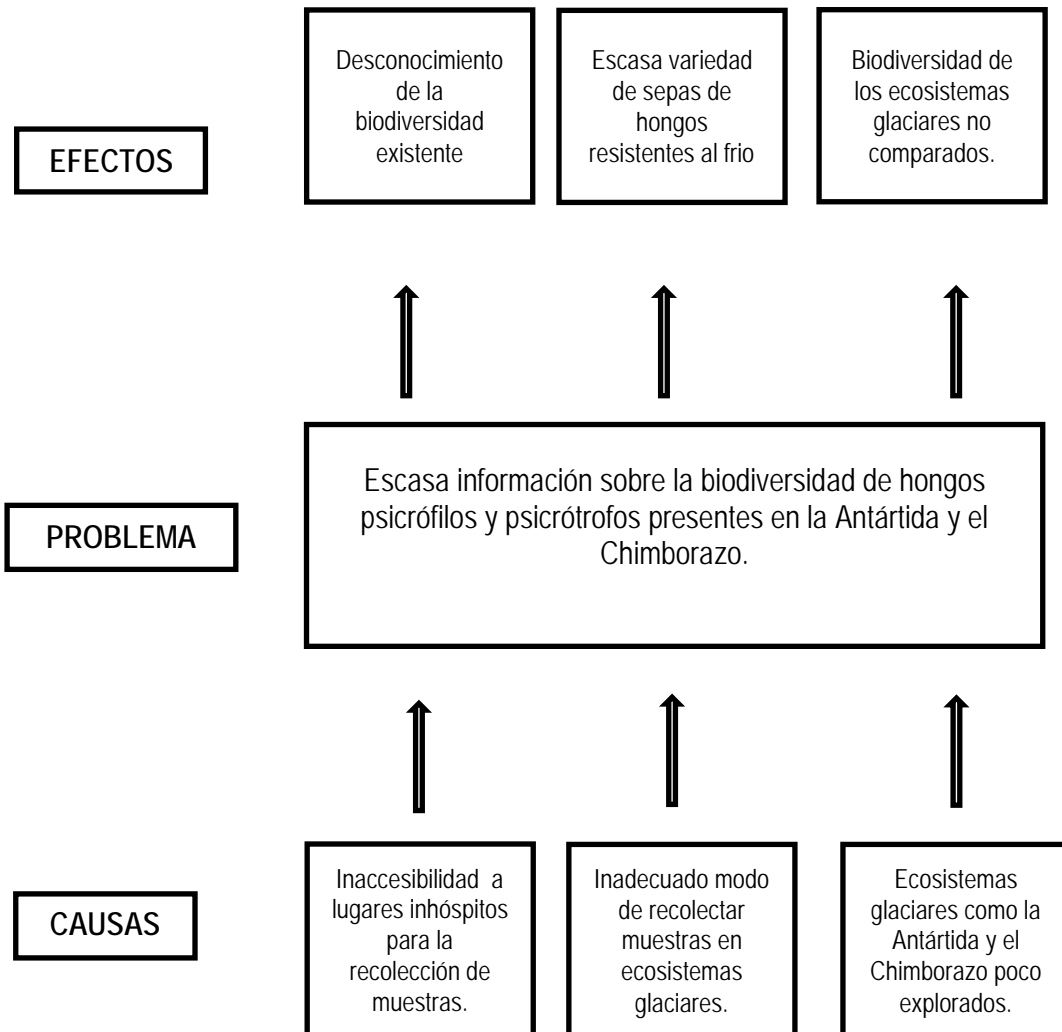
microorganismos, son de decisiva importancia para su crecimiento. Los psicrófilos que se localizan en regiones permanentemente frías como es el caso de los glaciares, mueren si se los expone a temperatura ambiente normal. Mientras que los psicrótrofos presentan una distribución más amplia puesto que pueden vivir a 0°C, pero su temperatura óptima está situada entre 20-40 °C (Castillo *et al.*, 2005).

Estos dos grupos de hongos incluyen una amplia variedad de géneros microbianos. En estos fríos hábitats, estos microbios realizan todos los procesos que hacen del ambiente cotidiano, un lugar más apto, que marque el paso de la materia orgánica, los elementos biológicos esenciales sean reciclados y cuando les llega la luz del sol los fotosintetizadores psicrótrofos elaboren nueva materia orgánica a partir de dióxido de carbono (Margesin *et al.*, 2007; Postgate, 2009).

Al realizarse un estudio en el área que comprende el sector de la península Punta Fort William (Isla Greenwich, Antártida), los microhongos psicrófilos predominaron entre las muestras de suelo analizadas, pero a su vez se encontró que *Geomyces*, el género más frecuente y con mayor porcentaje de ocurrencia, que fue psicrótrofo (Ordóñez, *et al.*, 2008).

1.2.2. Análisis Crítico.

1.2.2.1. Diagrama Causa – Efecto.



1.2.3. Prognosis.

Si la tesis propuesta no se realizara, se desconocería la diversidad existente de microorganismos que sobreviven a ecosistemas glaciares presentes en la Antártida y el Chimborazo y no se podría comparar la biodiversidad de hongos entre estos ecosistemas similares. Por tanto, si no se hallaran y se aislaran microorganismos que adaptaron su máquina bioquímica para sobrevivir en estos ecosistemas inhóspitos, con temperaturas bajísimas, incluso bajo cero, no se tendría la base para encontrar posibles compuestos con actividad biológica que combatan patógenos.

1.2.4. Formulación del problema.

¿Cómo la escasa información sobre la diversidad microbiana en ecosistemas glaciares incide en la comparación de la biodiversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos presentes en la Antártida y el Chimborazo?

1.2.5 Preguntas directrices

- ¿Cómo se determina la población y diversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos presentes en ecosistemas glaciares de la Antártida y del Chimborazo?
- ¿Cómo se aíslan hongos psicrótrofos y psicrófilos en cultivo puro para su caracterización macroscópica, microscópica y fisiológica?
- ¿Cómo determinar las respuestas de los hongos aislados a pruebas fisiológicas que incluyan temperatura, pH y salinidad?
- ¿Cómo se identifica la diversidad biológica de hongos psicrófilos y psicrótrofos mediante taxonomía numérica de datos fenotípicos?

1.3. Justificación.

Por sus condiciones únicas de aislamiento y frío, principalmente, los ecosistemas glaciares probablemente poseen un potencial científico y biotecnológico enorme e inexplorado. En años recientes se ha despertado un inusitado interés en descubrir la biodiversidad microbiana que se desarrolla en este clima extremadamente severo. Estas investigaciones se han centrado principalmente en el estudio de bacterias puesto que se

las puede encontrar en un mayor número y son más fáciles de cultivar, mientras que para los hongos este estudio ha sido limitado.

La diversidad de hongos al ser un campo poco explorado puede abrir puertas en estudios de investigación que incrementaría el conocimiento acerca de la distribución y especies de hongos. Identificar si estos tienen características endémicas o no y permitiría conservar el material genético para sus estudios posteriores. Ejemplo, búsqueda de metabolitos secundarios o compuestos bioactivos provenientes de microorganismos útiles para biotecnología. Los microorganismos resistentes al frío contienen lípidos que quizás sean útiles como vehículo para encontrar antibióticos que principalmente se utilicen para la fabricación de medicamentos. En la actualidad los patógenos están adquiriendo inmunidad frente a los antibióticos ya existentes, por el uso indiscriminado de los mismos, por tanto, es necesario el descubrimiento de nuevos biocompuestos que sean capaces de combatirlos.

El presente trabajo de investigación pretende determinar la diversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos en ecosistemas glaciares de la Antártida y el Chimborazo. Al determinar la biodiversidad de hongos existentes en ecosistemas glaciares, se comprenderá un poco más acerca de la capacidad de adaptación de este grupo de microorganismos, se podrá entender de mejor manera su capacidad metabólica para producir compuestos bioactivos, y su relación con los diferentes hábitats que han colonizado.

1.4. Objetivos.

1.4.1 General.

Comparar la diversidad biológica de hongos psicrótrofos y psicrófilos presentes en ecosistemas glaciares de la Antártida y el Chimborazo.

1.4.2 Específicos.

- Determinar la población y diversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos presentes en ecosistemas glaciares de la Antártida y del Chimborazo.

- Aislar hongos psicrótrofos y psicrófilos en cultivo puro para su caracterización macroscópica, microscópica y fisiológica.
- Determinar las respuestas de los hongos aislados a pruebas fisiológicas que incluyan temperatura, pH y salinidad.
- Identificar la diversidad biológica de hongos psicrófilos y psicrótrofos mediante taxonomía numérica de datos fenotípicos.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes Investigativos.

2.1.1 Generalidades de los ecosistemas Antárticos, clima y suelo.

La Antártida constituye un ámbito geográfico de características peculiares, sin rival en los otros cinco continentes. La enorme masa de hielo y nieve que oculta casi por completo sus rasgos de relieve no encuentra similitud en ninguna otra parte del planeta. Sus glaciares son la acumulación de hielo de mayor desarrollo sobre la tierra, en ellos llegan a formar enormes extensiones que flotan sobre el mar bloqueando los accesos marítimos. Ese hielo puede originarse en el mar, las aguas antárticas se congelan cada invierno, formando una inmensa ola de hielo alrededor del continente cuya superficie llega así a duplicar el área cubierta (Sánchez, 2008).

En la Antártida existen los glaciares más grandes del mundo, y presenta diferencias climáticas contrastantes, la costa oeste tiene una temperatura estival más elevada, mientras que la costa este es más fría, los suelos permanecen congelados todo el año, con una capa activa en verano que fluctúa en los 60 cm de profundidad, que produce diferencias taxonómicas importantes (Godagnone, 2002; Mattera, 2003).

El comportamiento climático del continente antártico se caracteriza por tres aspectos claramente definidos: bajas temperaturas permanentes, escasas precipitaciones pluviométricas y fuertes e incesantes vientos, por ejemplo, en el continente se han registrado vientos de hasta 333 km/h para las zonas de las bases argentinas (Godagnone, 2002; Izaguirre y Mataloni, 2000).

En lo que respecta a su clima, la Antártida es el continente más frío y más seco del planeta. La mayor parte de su superficie es un desierto frío, en la zona de la meseta antártica central las temperaturas medias anuales varían entre -30 y 65°C. Las zonas

Antárticas con influencia marítima exhiben un clima mucho más benigno, variando sus temperaturas medias anuales entre -10 y -20 °C (Izaguirre y Mataloni, 2000).

El interior de la Antártida tiene día perpetuo durante el verano del hemisferio sur y oscuridad durante el invierno. En las zonas costeras, más al norte, hay largos periodos de insolación durante el verano, pero durante gran parte del resto del año se suceden los amaneceres y anocheceres. La precipitación anual, 180 mm o menos según las zonas, es principalmente nieve, sin embargo debido a las persistentes altas velocidades del viento, la penetración real del agua en el suelo es inferior (Godagnone, 2002).

El suelo está formado por cinco componentes principales: materia mineral, agua, aire, materia orgánica y organismos vivos. La cantidad de estos constituyentes no es la misma en todos los suelos sino que varía según la localidad. La cantidad de materia orgánica y mineral, que forma parte de la porción inanimada, es relativamente fija en un determinado lugar; sin embargo, la proporción de aire y agua varía (Valencia y Cabriales, 2001).

Los estudios realizados sugieren que la formación de suelos y desgaste químico en los ecosistemas terrestres de las regiones costeras del continente antártico son de mayor magnitud que el esperado. La existencia de suelos dentro de una compleja forma de paisaje, con características pedológicas diferentes, muestran suelos que no presentan desarrollo o tienen un perfil genético incipiente, otros de débil desarrollo con formación in situ que permite observar lixiviación pero no indican iluviación y aquellos que presentan procesos de iluviación de arcilla que mostrarían que durante los supuestos espacios interglaciares, expresado por diferentes autores, el clima fue considerablemente más benigno que permitió estos procesos (paleosuelos) (Godagnone, 2002).

2.1.2 El ecosistema glaciar del Chimborazo, clima, vegetación y suelos.

El Chimborazo está ubicado en el centro del Ecuador en la provincia del mismo nombre, al sur del Cotopaxi, es el segundo volcán más alto del mundo y el más grande del Ecuador con 6310 metros de altitud, su elevación sobre el nivel del mar, es 2.547 metros menor que el Everest.; su base se expande aproximadamente 20 km y posee nieves perpetuas. La cima del Chimborazo está sólo un grado al sur del ecuador (Villas, *et al.*, 2003; Bryson, 2003).

De los 3500 a los 4500 metros de altura el clima es frío, la temperatura oscila entre los 0 y 10 °C. La vegetación es escasa y formada por pajonales y pastos naturales que sirven de alimento para venados, llamas y ovejas. Las plantas de los páramos del Chimborazo presentan una serie de adaptaciones que les permiten sobrevivir en un ambiente bastante hostil. Muchas tienen pelos que guardan el calor y hojas duras que evitan que se pierda agua por evapotranspiración, en general son especímenes achaparrados para protegerse del frío y el viento. La vegetación que sobresale está conformada principalmente por especies del tipo herbáceo con la presencia esporádica de pequeños arbustos como *Stipa*, *Calamagrostis* y *Festuca* en asociaciones con el romerillo, mortiño, orejuela, sachachocho, chuquiragua y valeriana. En las partes erosionadas donde aflora la cangahua, la vegetación dominante es un matorral de tipo xerofítico (Botero, 1990).

Los suelos de las faldas del Chimborazo son de origen volcánico, están formados de rocas volcánicas, sedimentos de material volcánico, morrenas, rocas y tobas volcánicas pliocénicas y más antiguas. Estos suelos son una de sus características más sobresalientes, especialmente por la significación que han adquirido en los últimos tiempos como los mantenedores primarios del servicio ambiental máspreciado: la captación y distribución de agua hacia las tierras bajas. Además, este suelo al contener hasta un 50% de materia orgánica, es un sumidero de carbono y así contribuye, de manera pasiva pero importante, a paliar los efectos del calentamiento global por causa de la acumulación atmosférica de gases como el dióxido de carbono (Mena y Hofstede, 2006).

2.1.3 Microorganismos que habitan a bajas temperaturas.

Los microorganismos son organismos generalmente de tamaño microscópico, pero fundamentalmente interesan aquellos que permiten obtener información importante a través del estudio de cultivos puros. Los microorganismos son clave para el funcionamiento de los sistemas biológicos y el mantenimiento de la vida sobre el planeta, pues participan en procesos metabólicos, ecológicos y biotecnológicos de los cuales dependemos para sobrevivir. Ellos son los principales responsables de la descomposición de la materia orgánica y del reciclaje de los nutrientes (carbono, nitrógeno, fósforo, azufre, etc.) (Páres y Juárez, 2002; Montaña, *et al.*, 2010).

Los entornos extremos no están totalmente deshabitados pues presenta un ambiente especial para la vida microbiana, esta sin duda proporciona el más selectivo medio ambiente para la adaptación al frío. La supervivencia en estas condiciones requiere de un conjunto complejo de adaptaciones fisiológicas y metabólicas que sugiere que quizá haya formas similares de vida en formas extraterrestres cubiertos por hielo (Deming, 2002; Odum y Barrett, 2005).

2.1.3.1 Clasificación de los microorganismos según la temperatura.

Los valores de temperatura máxima, mínima y óptima son específicas para cada organismo y pueden variar según las circunstancias. A estas temperaturas se les conoce como cardinales, siendo característico que la temperatura óptima esté más cerca de la máxima que de la mínima. Se sabe hasta ahora, el intervalo de temperaturas en el que pueden vivir los organismos abarca desde un poco por debajo de los 0°C hasta unos 105°C. Los microorganismos según la temperatura se clasifican en: psicrófilos, mesófilos e hipertermófilos, estos se caracterizan porque los psicrófilos, tienen una temperatura de crecimiento que oscila de poco menos de 0°C hasta 15°C; la temperatura de crecimiento de los mesófilos, varía entre 10 y 55 °C y la temperatura de crecimiento de los hipertermófilos está por encima de 80°C. El máximo crecimiento de cultivos puros se ha determinado entre 110 y 113°C (Castillo, *et al.*, 2005; Tortora, *et al.*, 2007).

El límite de temperatura en el que se puede encontrar organismos no se conoce todavía, aunque se cree que por encima de los 150°C ninguna forma de vida podría evitar la ruptura de los enlaces químicos que forman el ADN y otras moléculas esenciales (Castillo, *et al.*, 2005).

2.1.3.1.1 Microorganismos psicrófilos.

Los microorganismos psicrófilos también son conocidos como criófilos, prefieren activamente las temperaturas bajas, y crecen en medios fríos casi tan rápido como los microorganismos ordinarios lo hacen en medios cálidos. De ahí se suele inferir que poseen tipos especiales de enzimas que realmente funcionan más de prisa a temperaturas bajas que los correspondientes a los microorganismos normales, pero estas enzimas son más fácilmente destruidas por el calor, lo que puede explicar por qué estos psicrófilos mueren si la temperatura sube por encima de 20°. Estos microorganismos

tienen membranas celulares de una composición de grasa especial, de manera que son relativamente fluidas a temperaturas cercanas al punto de congelación, pero estas se vuelven demasiado fluidas, y empiezan a fundirse, a temperatura que la mayoría de microorganismos prefieren (Postgate, 2009; Barreiro y Sandoval, 20006).

Entre los hongos psicrófilos podemos encontrar *Ishikariensis Typhula* que puede encontrarse como un enmohecimiento gris en los cereales de invierno, *Gliocladium*, el cual tiene una superficie verde al igual que *Trichoderma*, mientras que *Trichothecium* tiene una superficie verde, amarillo o anaranjado, *Penicillium*, cuyos matices suelen ser de color verde, azul verdoso, rosa blanco u otro color y su superficie suele ser aterciopelada o polvorienta debido a la presencia de conidios entre otros (Forbes, *et al.*, 2009).

2.1.3.1.2 Microorganismos psicrótrofos.

Los psicrótrofos pertenecen al grupo de los mesófilos, pero pueden crecer incluso a temperaturas de 6 o 7 °C, por tanto, se les puede considerar como psicrófilos facultativos. La temperatura óptima para su crecimiento es entre 20 y 42 °C. Esto es importante desde el punto de vista aplicado porque cuando se encuentran contaminando alimentos, son capaces de crecer en condiciones de refrigeración (4 - 8°C) y de producir infecciones en los consumidores del alimento (30 - 35 °C). Estos microorganismos alteran la composición de su membrana para aclimatarse a ambientes más fríos, y para hacerlo precisan tiempo, pues deben enfriarse lentamente. Toleran el frío pero se desarrollan mejor en el calor (Postgate, 2009; Ellner, 2000).

El proceso de la temporada de recubrimiento de las comunidades microbianas marinas en hielo marino, la exposición a condiciones severas de invierno y la liberación de nuevo en verano se postula a las semillas de psicrófilos en los océanos del mundo anualmente. Cuando continúa la actividad durante el invierno se aseguraría un proceso de selección positiva para la adaptación al frío en lugar de sólo una destructiva para los microorganismos que no toleran estas bajas temperaturas (Deming, 2002).

Entre los ejemplos de hongos que se los pueden clasificar como psicrótrofos encontramos *Aspergillus*, el cual puede ser verde, amarillo, naranja, rosa, gris oscuro o negro, *Cladosporium*, de color verde, gris oscuro, negro, ocre, castaño, *Geotrichum*, el cual

puede tener tonalidades blancas o crema y *Penicillium*, cuyos matices suelen ser de color verde, azul verdoso (Forbes, *et al.*, 2009).

2.1.3.1.3 Ecología de los microorganismos psicrófilos y psicrótrofos.

Los microorganismos psicrófilos y psicrótrofos habitan en distintos lugares, por ejemplo, el fondo del mar, en donde viven en base del sedimento que cae desde arriba: materia orgánica que se hunde procedente del plancton superficial, de los excrementos de los peces, partículas arrastradas desde tierra por el viento y las aves y, cada vez más, la basura que la gente vierte desde los barcos. Los psicrófilos habitan también la nieve o el hielo, es por esto que muchos esquiadores encuentran "nieve rosa", una proliferación de algas psicrófilas que en ocasiones aparece sobre la nieve; al principio es verde pero el sol decolora la clorofila y se vuelve rosa. Los psicrófilos y psicrótrofos habitan otros hogares: suelos de la tundra cerca de la región del permafrost en la Antártida, estánques árticos, lagos alpinos profundos, y en fin otros ecosistemas glaciares y fríos. Existen unos pocos lugares como los estánques salobres de la Antártida, donde el agua permanece fluida incluso por debajo de los -5°C , por que la sal disuelta impide la congelación, pero el crecimiento y la actividad microbiana sigue funcionando: el límite inferior de temperatura para tal actividad parece ser de unos -12°C . Y más cerca de casa, la humanidad ha proporcionado a estos microorganismos un nuevo hábitat: los frigoríficos domésticos funcionan generalmente entre los 4° y los 6°C , y en ellos se pueden encontrar estos microorganismos en carnes, leche y sus productos derivados como el queso, vegetales y fruta almacenada bajo refrigeración (Postgate, 2009; Castillo, *et al.*, 2005).

Los microorganismos adaptados al frío tienen características únicas en sus proteínas, las membranas y sus respuestas genéticas a los cambios térmicos. En las proteínas de los microorganismos psicrófilos existe menor cantidad interacciones iónicas y enlaces de hidrógeno, menos grupos hidrofóbicos y estas ganan flexibilidad estructural para lograr sus funciones catalíticas. En la membrana se presentan principalmente una modificación sustancial de los ácidos grasos para mantener la fluidez de la misma. También se ha puesto de manifiesto que la membrana de los psicrófilos presenta un mayor contenido de ácidos grasos no saturados, lo que facilita el estado semifluido de la membrana a bajas temperaturas (Deming, 2002; Castillo, *et al.*, 2005).

Al estar expuestos a temperaturas tan bajas estos microorganismos tienen que combinar una serie de estrategias que les permitan sobrevivir el invierno en los ecosistemas glaciares y es probable que los mecanismos fisiológicos les confieran características de alta supervivencia como: capacidad para deshidratar, producir anticongelantes, alta actividad sobre-enfriamiento, alta tolerancia al frío, viven en hábitats con la cubierta de nieve, sobrevive a la anoxia (ser encerrado en hielo) (Robinson, 2001).

La capacidad de búsqueda de componentes celulares y sus características, especialmente proteínas no catalíticas y pigmentos para sobre vivir al frío, salinidad y golpes de presión, parece especialmente prometedor. Los psicrófilos producen enzimas que funcionan de manera óptima en frío y que con frecuencia se desnaturalizan o inactivan incluso a temperaturas muy moderadas. Las bases moleculares que le permiten tolerar estas condiciones no se conocen muy bien, pero se saben que las enzimas activas en frío poseen mayor cantidad de hélice- α y menor cantidad de hoja- β que las inactivas en el frío. Las enzimas de los psicrófilos presentan mayor cantidad de aminoácidos polares y menos hidrófobos que las enzimas presentes en los mesófilos y termófilos (Castillo, *et al.*, 2005; Deming, 2002).

2.1.4 Aislamiento de microorganismos psicrófilos y psicrótrofos.

Los trabajos más recientes sobre psicrófilos y psicrótrofos, en cuanto a aislamiento, caracterización, e incluso a nivel molecular se destacan, junto con los avances paralelos realizados en los hábitats naturales fríos a nivel de microorganismos. Estas investigaciones y avances se centran principalmente en los ambientes muy fríos, por lo general bajo cero, los ambientes acuáticos, incluyendo el fondo del mar (-1°C a 4°C), el Ártico y los hábitats marinos de la Antártida (agua de mar y sedimentos cerca de -1°C y el hielo marino, donde los fluidos internos permanezcan en estado líquido a -35°C en invierno), el hielo glacial, lagos (hasta -5°C). Las regiones polares de la Tierra, están experimentando un cambio relativamente rápido del medio ambiente en una perspectiva global, de manera que los habitantes dependientes en el medio ambiente congelado de hielo del mar parecen en peligro de extinción en este siglo (Deming, 2002).

El aislamiento de microorganismos a partir de muestras naturales se realiza, en la mayoría de los casos, mediante la producción de colonias aisladas en cultivos sólidos. El crecimiento explosivo de los microorganismos permite producir un gran número de ellos a

partir de una única célula inicial de forma que, tras un periodo de incubación en las condiciones ambientales adecuadas, se produce una colonia observable a simple vista y formada por individuos iguales (un clon) (Madigan, *et al.*,2004).

Obviamente, un requisito primordial para el aislamiento de psicrófilos y psicrótrofos es que todo el equipo de muestreo, tales como: palas, bolsas de plástico, botellas, hachas para hielo y descorazonadores pequeños, etc., utilizados para la recopilación y transferencia, debe mantenerse frío. Una buena planificación es esencial para asegurar que todos los equipos y reactivos necesarios sean ensamblados y esterilizados en cada caso. También es una buena idea ensayar protocolos de muestreo con el fin de minimizar el número de transferencias, lo que ayuda a reducir las posibilidades de contaminación (Russell, 2006).

Psicrótrofos aislados tienden a ser más tolerante al abuso térmico (calentamiento) que los psicrófilos, pero ambos son sensibles al calentamiento a temperaturas moderadas, lo que daña la membrana celular, causando la pérdida de nutrientes esenciales y otros componentes. Mantener las muestras congeladas durante el transporte al laboratorio pueden plantear un problema, pero una vez en él se debe disponer de equipos y materiales para el tratamiento de las muestras (Russell, 2006).

Las técnicas de muestreo de suelos congelados (permafrost) o agua (hielo) son esencialmente los mismos. Las muestras pequeñas se pueden obtener con martillos esterilizados o picos, pero el riesgo de la contaminación es menor si se toman muestras de mayor tamaño. Una serie de protocolos han sido desarrollados para la recogida y manipulación de suelos permafrost y los núcleos de hielo, estas implican técnicas para afeitar la superficie y esterilizar con detergentes u otros biocidas, seguido de la eliminación de las capas exteriores antes de toma de muestras (Russell, 2006).

La metodología para el muestreo de suelos sin congelar no es esencialmente diferente a la de los suelos templados. Un particular problema con suelos de la Antártida es que pueden ser muy ronc y heterogéneo, y puede que no sea posible tomar muestras grandes, debido a restricciones de transporte, así como por razones de protección del medio ambiente y para cumplir con la Antártida (Russell, 2006).

El cultivo de microorganismos consiste en proporcionarles las condiciones físicas, químicas y nutritivas adecuadas para que puedan multiplicarse de forma controlada. En

general, podemos distinguir cultivos líquidos y sólidos en función de las características del medio en función de la disponibilidad de nutrientes en el medio (Páres y Juárez, 2002).

Como regla general, es mejor utilizar una serie de medios diferentes cuando se hacen aislamientos primarios y siempre se debe incluir algunos medios diluidos, que se podrán complementar con bajas concentraciones de extracto de levadura (0.01- 0,001%) para garantizar que la vitamina y el cofactor cumplan los requisitos para los organismos exigentes. No hay medios que son específicos para los diferentes grupos de microorganismos psicrófilos (Russell, 2006).

En cuanto a la temperatura de incubación, es mejor que las placas y cultivos líquidos de aislamientos primarios de bacterias, estén por debajo de 5°C. Para las levaduras, hongos y algas, temperaturas tan bajas como 10°C son probablemente suficientes. Las placas deben ser incubadas durante al menos 2 semanas, mientras más tiempo se incuben las placas es la mejor, porque, aunque la mayoría de microorganismos psicrófilos forma colonias visibles dentro de 1 mes a 5°C, algunos microorganismos crecen más lentamente. También está la cuestión de la competencia entre los psicrófilos y psicrótrofos y puede ser necesario incubar las placas a temperaturas tan bajas como -10°C con el fin de seleccionar un grupo de microorganismos y estos tendrán un crecimiento más lento, que puede tardar hasta un año para formar colonias visibles. Por supuesto, a largo plazo, las incubaciones y la desecación de los medios sólidos, han de prevenirse mediante el uso de ambientes húmedos (Russell, 2006).

Muchos microorganismos psicrófilos pueden mantenerse en medios sólidos por un máximo de un año de 0 a 4 °C, con subcultivos cada pocos meses, teniendo cuidado de evitar la congelación o el secado del medio. Para el almacenamiento a largo plazo, es necesario el uso de criopreservantes. No existen métodos específicos para psicrófilos por tanto, los crioprotectores habituales (por ejemplo, 20% de glicerol o dimetilsulfóxido 20%) son adecuados. Las suspensiones de células microbianas deben ser congelado a -20 ° C y luego almacenados a -80°C en varias pequeñas alícuotas (Russell, 2006).

En nuestro país se ha realizado un estudio en el área que comprende el sector de la península Punta Fort William (Isla Greenwich, Antártida), donde se encuentra la Estación Científica Pedro Vicente Maldonado. El muestreo se lo realizó durante el verano antártico del 2008. Los microhongos presentes en el suelo (0,1 a 0,3 g) fueron aislados por el

método de Warcup (para microorganismos de crecimiento rápido, por el método de diluciones seriadas), en medio sólido de patata-dextrosa agar (PDA) con cloranfenicol (100 ug/ml). Luego de 7 a 12 días de incubación a 4°C, se procedió a aislar las cepas, a 4°C y 25°C para discriminar entre psicrófilos y psicrótrofos, respectivamente. Las cepas se preservaron en tubos de ensayo con PDA y cloranfenicol (100 ug/ml) a 4 °C, para futuras investigaciones. La identificación a nivel de género de los diferentes microhongos aislados se basó en observaciones de sus características microscópicas y macroscópicas, ayudados de manuales y artículos publicados con claves taxonómicas. En esta investigación los microhongos psicrófilos predominaron entre las muestras de suelo analizadas, pero a su vez se encontró que *Geomyces*, (hongo de color blanco, de aspecto polvoriento) el género más frecuente y con mayor porcentaje de ocurrencia, que fue psicrótrofo. Esta presencia de microhongos psicrófilos y psicrótrofos es común dentro del ambiente antártico (Ordóñez, *et al.*, 2008).

2.1.5 Generalidades de los Hongos.

Los hongos no pertenecen al reino animal ni vegetal. Junto con las algas y los protozoos se incluyen en el grupo Protista. (García, *et al.*, 1994).

Son microorganismos eucariotas que se distinguen de otros eucariotas por la presencia de una rígida pared celular formada por quitina y glucano, con una membrana celular en la que el ergosterol sustituye al colesterol como principal componente esteroideo. Los hongos llevan una vida heterotrófica como saprofitos (microorganismos que subsisten en materia muerta o en descomposición), simbioses (microorganismos que viven conjuntamente y obtienen ventaja de su asociación), comensales (microorganismos que se desarrollan en estrecha relación, en la que uno de los participantes obtiene beneficios mientras que el otro ni se beneficia ni resulta perjudicado) o parásitos (microorganismos que se establecen sobre el interior de un anfitrión del que obtienen beneficios sin corresponder con ninguna ventaja, en el caso de los patógenos, la relación es perjudicial para el anfitrión) (Murray, *et al.*, 2007).

2.1.5.1 Morfología y estructura de los hongos

Los hongos son organismos unicelulares o pluricelulares, varían desde la simple célula levaduriforme, redonda ovoide o elongada, también llamada blastospora o blastoconidio, hasta una morfología micelial compuesta por hifas o filamentos, originados por alargamiento apical de las blastosporas, que se agrupan formando un micelio o talo, ramificado o no. (García, *et al.*, 1994; Murray, *et al.*, 2007).

El micelio de los hongos puede ser vegetativo (sumergido) o fértil (aéreo). Los hongos al crecer en un medio de cultivo presentan distinto relieve, es decir pueden crecer al nivel del medio, sobre el nivel del medio, y bajo el nivel del medio. Cuando la colonia ya presenta un crecimiento notorio, se puede identificar en la misma distintas formas de borde, este puede ser, aserrado, lobulado, irregular o filamentosos, y su textura se presenta como algodonosa, cuando el micelio aéreo forma una maraña poco compacta, o polvosa, cuando el micelio aéreo da origen a estructuras compactas. El micelio en ocasiones puede ser brillante, presentar gotículas y halo. (García, 2004; Velasteguí, 2012)

En la parte microscópica, las hifas pueden ser tabicadas, es decir células adheridas unas a otras conservando el tabique interno, o no tabicadas o cenocíticas. Las hifas de la mayoría de hongos miden 5 y 10 μm de diámetro y su longitud no es fija. Estas varían según la disponibilidad de nutrientes y del tipo de hongo. La mayoría de las hifas son hialinas o sin color, pero vistas en conjunto, se observan blancas y con ligeros tonos de color, sin embargo hay algunas hifas que presentan pigmentos. Las esporas pueden ser unicelulares o pluricelulares, de distintas formas, y pueden ser coloradas o hialinas (García, *et al.*, 1994; Velasteguí, 2012)

2.1.6 Diversidad de los hongos en ambientes fríos.

En el suelo se ha encontrado gran cantidad de hongos degradadores de materia orgánica como *Aspergillus*, *Gliocladium*, *Trichoderma*, *Trichothecium*, pero también se encuentran hongos patógenos como: *Verticillium*, *Botrytis*, *Alternaria*, *Fusarium*, entre otros; en los ambientes fríos se encuentra menor diversidad de hongos. En la Antártida se pueden encontrar hongos, tanto microscópicos como macroscópicos. Algunos microhongos terrestres fueron aislados de seis muestras de suelo de Punta Fort William, Isla Greenwich, recolectadas durante el verano antártico del 2008. Los aislados fueron

clasificados en psicrófilos o psicrótrofos de acuerdo a su crecimiento en 4°C o 25°C, respectivamente, se catalogaron en 6 géneros: *Geomyces*, *Antarctomyces*, *Thelebolus*, *Mucor*, *Mrakia* y *Cladosporium*. De los géneros identificados, sólo *Geomyces* y *Cladosporium* mostraron crecimiento a 25°C. Los géneros *Geomyces* y *Antarctomyces* fueron los taxones más frecuentes, Para los géneros *Antarctomyces*, *Thelebolus*, *Mucor* y *Mrakia* solo se reportó crecimiento a 4°C. (Izaguirre y Mataloni, 2000; Ordóñez, et al., 2008).

2.1.7 Taxonomía Numérica.

La taxonomía numérica no es un sistema clasificatorio, puesto que no está vinculado a la nueva idea biológica, es un método diferente de organización de los datos disponibles que permite otras aproximaciones a la clasificación de los seres vivos. La taxonomía numérica fue concebida fundamentalmente para generar hipótesis más que para probarlas. Es un mecanismo que facilita la exploración de los fenómenos y no tanto su explotación (González, 1998; Rodríguez, 2003).

La taxonomía numérica tiene sus fundamentos en una corriente filosófica denominada Feneticismo que consiste en los siguientes principios: Las clasificaciones deben llevarse a cabo utilizando un gran número de rasgos. Todos los rasgos tienen el mismo peso taxonómico e importancia en la formación de grupos. La similitud total entre los individuos es la suma de las similitudes de cada uno de los rasgos empleados en la clasificación. Los grupos a formar se reconocen por una correlación de rasgos diferentes (Rodríguez, 2003).

Este método intenta agrupar basándose en la cuantificación de las semejanzas y las diferencias entre los organismos. Se asume que si a cada carácter fenotípico se le da un valor explícito, debe ser posible expresar numéricamente las diferencias taxonómicas entre los organismos, en función del número de caracteres que comparten dentro del total de caracteres estudiados. La significancia de la relación numérica determinada de esta forma resulta grandemente afectada por el número de caracteres que se estudia; estos caracteres deben ser tan variados y numerosos como fuera posible, si se quiere obtener una muestra significativa del fenotipo (Stanier, et al., 1992).

2.1.7.1 Elementos principales de la taxonomía numérica.

La taxonomía numérica reúne un conjunto de técnicas que permiten establecer relaciones de similitud entre objetos. Este tipo de análisis permite agrupar individuos de acuerdo a la similitud relativa hallada en la composición de las unidades o unidades taxonómicas operacionales OTU's. La similitud se estima según la distribución de los rasgos entre todos los individuos considerados y se expresa numéricamente como un coeficiente. El cálculo de la similitud entre dos organismos puede realizarse de dos formas ligeramente distintas. El coeficiente de semejanza, S_j , no tiene en cuenta aquellos caracteres que son negativos para ambos organismos y se basa únicamente en las condiciones positivas; el coeficiente de coincidencia, S_s , incluye en el cálculo tanto las condiciones positivas, como las negativas (Rodríguez, 2003; Stanier, *et al.*, 1992).

Para la determinación de los coeficientes de semejanza y de coincidencia de dos cepas bacterianas, caracterizadas con respecto a un número elevado de caracteres diferentes se utilizan las siguientes fórmulas (Stanier, *et al.*, 1992).

$$\text{Coeficiente de semejanza } (S_j) = \frac{a}{a + b + c}$$

$$\text{Coeficiente de coincidencia } (S_s) = \frac{a + b}{a + b + c}$$

Número de caracteres positivos en ambas cepas: a

Número de caracteres positivos en la cepa 1 y negativos en la cepa 2: b

Número de caracteres negativos en la cepa 1 y positivos en la cepa 2: c

Número de caracteres negativos en ambas: d

Los datos pueden transformarse en un dendrograma o árbol taxonómico como base para la determinación de la ordenación taxonómica en términos de relaciones numéricas. Se trata de una figura arboriforme semejante a la de los árboles genealógicos con una escala de similitudes que indica los niveles de relación en lugares donde se unen las ramas. Las dos líneas verticales de puntos de la Figura 1 indican grados de semejanza que podrían

considerarse apropiados para el reconocimiento de dos rasgos taxonómicos a diferentes (por ejemplo género y especie) (Stanier, *et al.*, 1992; Pumarola, 1987).

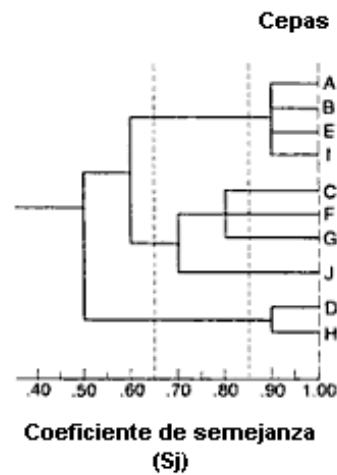


FIGURA 1. Pumarola, 1987.

2.2. Fundamentación Filosófica.

La presente investigación se basa en el paradigma positivista que tiene como escenario de investigación el laboratorio a través de un diseño pre-estructurado y esquematizado, cuyas perspectivas teóricas buscan los hechos o causas de los fenómenos sociales con independencia de los estados subjetivos de los individuos y los fenomenólogos. Su lógica de análisis está orientado a lo confirmatorio, reduccionista, verificación, inferencial e hipotético deductivo mediante el respectivo análisis de resultados. Además de realidad es única y fragmentable en partes que se pueden manipular independientemente, y la relación sujeto – objeto es independiente. Para este enfoque la realidad es algo exterior, ajeno, objetivo y puede y debe ser estudiada y por tanto conocida. El paradigma positivista diferencia claramente tres momentos trascendentes: la producción del conocimiento, su instrumentación y su aplicación en la práctica.

2.3. Fundamentación Legal.

La presente investigación se apoya en el Art. 400 de la Constitución de la República del Ecuador en el Capítulo Segundo (Biodiversidad y Recursos Naturales) en la Sección Segunda (Biodiversidad), la cual menciona que el Estado ejercerá la soberanía sobre la biodiversidad, cuya administración y gestión se realizará con responsabilidad

intergeneracional. Se declara de interés público la conservación de la biodiversidad y todos sus componentes, en particular la biodiversidad agrícola y silvestre y el patrimonio genético del país.

En la ley para la conservación y uso sustentable de la biodiversidad, menciona en el artículo primero que: La Ley para la Conservación y Uso Sustentable de la Biodiversidad tiene por objeto proteger, conservar, restaurar la biodiversidad y regular e impulsar su utilización sustentable; establece los principios generales y normas para la conservación y uso sustentable de la biodiversidad y sus servicios, el acceso a los recursos genéticos, la bioseguridad, la rehabilitación y restauración de ecosistemas degradados y la recuperación de especies amenazadas de extinción, y los mecanismos de protección de los derechos sobre la biodiversidad en materia administrativa, civil y penal.

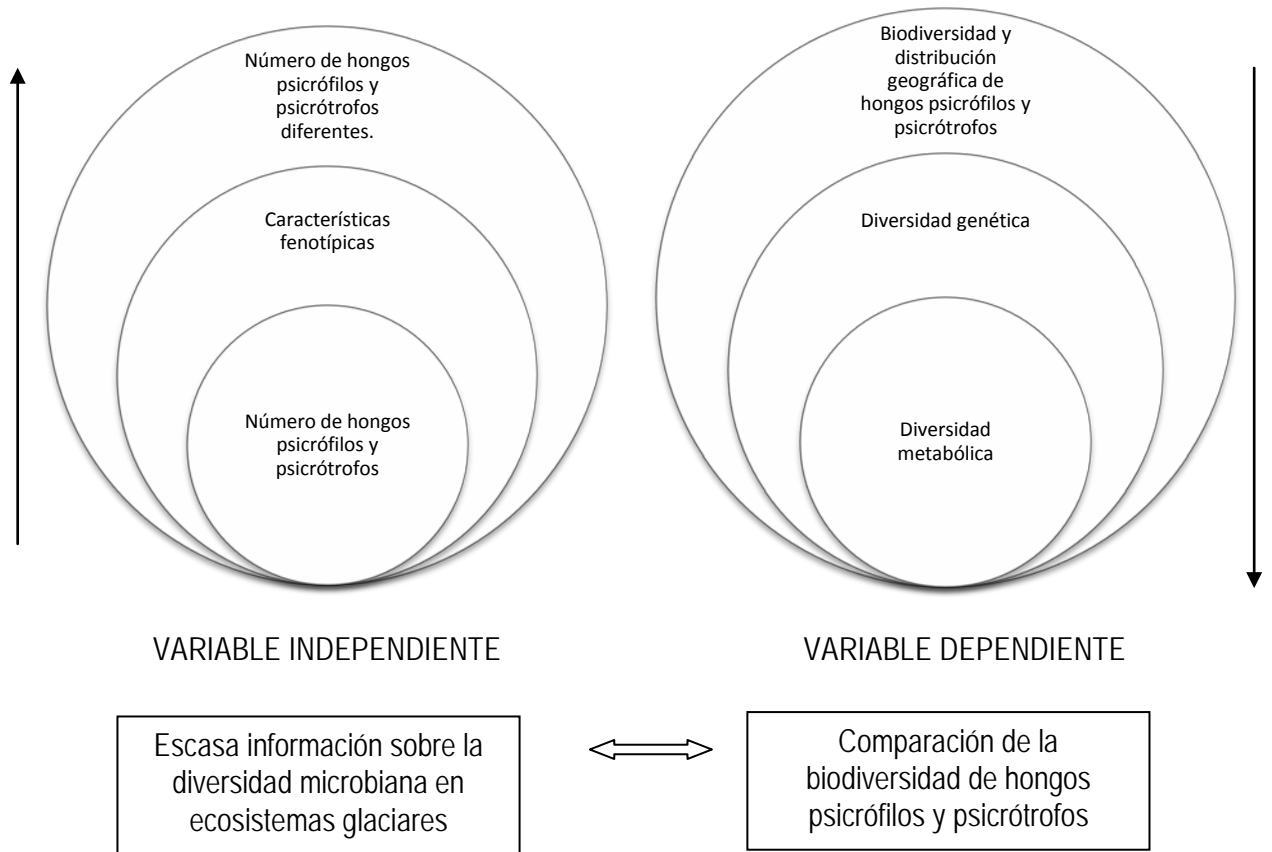
Según el Protocolo al Tratado Antártico sobre Protección del Medio Ambiente menciona varios artículos y en conclusión podemos mencionar los siguientes:

Artículo 1 – Uso exclusivo de la Antártida para fines pacíficos, prohibición de toda medida de carácter militar, excepto para colaborar con las investigaciones científicas. Se prohíben los ensayos de cualquier clase de armas.

Artículo 2 – Libertad de investigación científica en la Antártida y continuidad de la cooperación como en el Año Geofísico Internacional.

Artículo 3 – Compromiso de intercambio de información sobre los proyectos de programas científicos en la Antártida, personal científico y libre disponibilidad de las observaciones y resultados científicos.

2.4. Categorías fundamentales



2.5 Hipótesis

2.5.1. Hipótesis nula

- La diversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos entre la Antártida y Chimborazo es similar

2.5.2. Hipótesis alternante.

- La diversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos entre la Antártida y Chimborazo es diferente.

2.6. Señalamiento de variables de las hipótesis

- Número de unidades formadoras de colonias de hongos por gramo de muestra (ufc/g).
- Aislamiento de hongos psicrófilos y psicrótrofos.
- Caracterización macroscópica y microscópica de los aislamientos.
- Pruebas de crecimiento relacionado a temperatura.
- Pruebas de crecimiento relacionado a pH.
- Pruebas de crecimiento relacionado a la salinidad.
- Diversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos.

CAPITULO III METODOLOGÍA

3.1. Enfoque

La investigación tendrá un enfoque cualitativo.

3.2. Modalidad básica de la investigación

Experimental.

3.3. Nivel o tipo de investigación

Básica exploratoria.

3.4. Población y muestra

Las muestras medioambientales fueron recolectadas en el invierno antártico 2011, en la XV Expedición Ecuatoriana a la Antártida y corresponden a las muestras de suelo y arena de la Isla Greenwich y Dee. Las muestras del Chimborazo fueron recolectadas el 13 de abril del 2011, luego de una fuerte nevada y corresponden a muestras de suelo de la rizósfera de tres plantas: oreja de conejo (*Senecio canescens*), chuquiragua (*Chuquiraga jussieui*), y paja (*Stipa ichu*) de las faldas de este volcán inactivo.

3.5. Operacionalización de variables.

(Ver página siguiente).

Tabla 1. Operacionalización de variables

HIPÓTESIS	VARIABLE	CONCEPTO	INDICADOR	ÍNDICES	INSTRUMENTOS
La diversidad y distribución geográfica de los hongos psicrófilos y psicrótrofos en muestras recolectadas de ecosistemas glaciares de la Antártida y el Chimborazo son similares.	Independiente: Ecosistemas glaciares de la Antártida y el Chimborazo	Población y diversidad de hongos en diferentes muestras recolectas en la Antártida y el Chimborazo	Población de hongos Grupos especie identificados en los dendrogramas respectivos de acuerdo al porcentaje de similitud.	Número de UFC/g Similitudes mayores al 90% indican miembros de un mismo grupo especie	Calculadora Software estadístico NTSys.
	Dependiente: Diversidad de hongos	Características fenotípicas como producto de la expresión visible de los genes de cada individuo. Tipo de metabolismo en los hongos bacterias aisladas	Características macroscópicas Características microscópicas Rango de crecimiento de acuerdo a temperatura y pH Producción de enzimas extracelulares	Color del micelio aéreo, reverso de la colonia, pigmento difusible, halo, color y tamaño del halo, Tipo de esporulación. Evaluación por código binario. No esporula= 0, esporula= 1. Tipo de micelio. Evaluación por código binario. Tabicado= 0, no tabicado= 1. Forma de la espora Color del micelio y espora. Valores de pH y Temperatura Presencia o ausencia de halos alrededor del sitio de inoculación	Microsoft Excel. Tabla de colores Microsoft Excel. Microscopio pH metro Incubadoras

Elaborado por Jenny Correa, 2013

3.6. Recolección de Información.

3.6.1. Caracterización físico – química de las muestras medioambientales.

3.6.1.1. Determinación del pH y conductividad de las muestras.

Para determinar el pH y conductividad de las muestras, se pesaron 10 gramos de suelo, los que fueron colocados en un vaso de precipitación de 100 ml. Luego se añadió 25 ml de agua destilada, y se mezcló con una cuchara por el lapso de 5 minutos. Las muestras se dejaron en reposo por una hora, y una vez transcurrido ese tiempo, se procedió a tomar las lecturas correspondientes de las muestras, con la ayuda de un pH-metro y un conductímetro.

3.6.1.2. Determinación del porcentaje de humedad

Se pesó previamente las cápsulas de porcelana a utilizarse y luego se colocaron en éstas 5 gramos de suelo de cada una de las muestras (Peso 1). Estas se colocaron en una estufa y se las sometieron a 105° C por 24 horas. Al retirar las muestras se las dejaron enfriar y se procedió a pesar nuevamente (Peso 2).

El porcentaje de humedad fue determinado mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso 1} - \text{Peso 2}}{\text{Peso 1}} \times 100$$

Todos los cálculos involucran únicamente los pesos de agua y suelo, por lo que el peso de la cápsula de porcelana fue restado

3.6.1.3. Determinación del porcentaje materia orgánica.

Se pesaron previamente las cápsulas de porcelana a utilizarse y luego se colocaron en éstas 5 gramos de suelo de cada una de las muestras. Estas se colocaron en una estufa y se las sometieron a 105°C por 24 horas. Al retirar las muestras se las dejó enfriar y se procedió a pesar nuevamente (Peso 1). Para la determinación de materia orgánica, las muestras procedentes de la estufa se colocaron en una mufla, a 400°C

por 3 horas. Al término de este tiempo se dejó enfriar y finalmente se obtuvo el peso final (Peso 2).

El porcentaje de materia orgánica fue determinado mediante la siguiente fórmula:

$$\% m.o. = \frac{\text{Peso 1} - \text{Peso 2}}{\text{Peso 1}} \times 100$$

Todos los cálculos involucran únicamente los pesos de agua y suelo, por lo que el peso de la cápsula de porcelana fue restado.

3.6.2. Aislamiento selectivo de hongos psicrófilos y psicrótrofos.

3.6.2.1 Determinación de la población y diversidad de hongos.

Cada una de las muestras fue usada para determinar el número de unidades formadoras de colonias (UFCs) por gramo de muestra y la diversidad de hongos. Para ello se usó el método de difusión en placa y diluciones. En botellas con tapa rosca se colocaron 90 ml de agua de la llave junto con aproximadamente 20 esferas de vidrio y se llevó a esterilización a 121°C por 20 minutos a 15 psi en un autoclave. Una vez transcurrido este tiempo se dejó enfriar las botellas. Para preparar la dilución 1/10 se pesaron 10 gramos de suelo, los que se colocaron en la botella que contenía 90 ml de agua de llave estéril. La suspensión resultante fue agitada por 1 hora. Una vez transcurrido éste tiempo se preparó las diluciones 1/10² y 1/10³. Cien microlitros (100 µl) de las diluciones 1/10, 1/10², 1/10³ fueron colocados y extendidos por duplicado, sobre la superficie de cajas Petri que contuvo agar papa dextrosa (PDA) y agar extracto de malta al 3%, suplementados con sulfato de estreptomina, a una concentración de 50ug/ml y rifampicina a una concentración de 10 ug/ml. Las cajas inoculadas fueron incubadas a 4°C y 26°C por dos semanas. Luego de la incubación se procedió a contar el número de colonias de hongos presentes en cada una de las cajas, no se realizó el número de colonias diferentes puesto que el crecimiento que los hongos tienen es muy similar. El número de ufc por gramo de suelo fue calculado para aquellas diluciones en las que el número de colonias se encuentre en un rango entre 30 hasta 300, usando la siguiente fórmula:

$$UFC/ g \text{ de suelo} = \frac{N \times FD \times Vt}{Vi \times S}$$

Donde:

N Número de colonias.

FD Dilución en la cual se contó N (Ej.: Conteo realizado en la dilución 1/10³, FD = 1x10³).

Vt Volumen de la dilución 1/10, en mililitros.

Vi Volumen inoculado en mililitros.

S Cantidad de suelo utilizada para preparar la dilución 1/10.

3.6.2.2 Aislamiento, purificación y almacenamiento de hongos psicrófilos y psicrótrofos.

Los platos que presenten crecimiento visible y diversidad de colonias de hongos se escogieron para proceder con el aislamiento selectivo de las cepas. Con la ayuda de una aguja estéril se tomó un trozo de agar que contuvo la colonia del hongo aislado y fue colocado en el centro de la caja Petri con medio PDA, para permitir el crecimiento radial del hongo. Los platos aislados se incubaron a 4°C y 26°C, por dos semanas. Aquellos que luego del período de incubación presentaron características de cultivo puro, fueron etiquetados y posteriormente se almacenó en tubos plásticos que contenían 1 mililitro de glicerol al 20% (w/v) y almacenados a -10°C en un congelador, para su preservación a largo plazo.

3.6.3. Caracterización macroscópica de los cultivos.

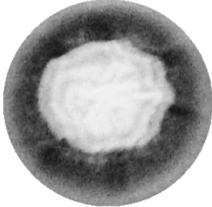

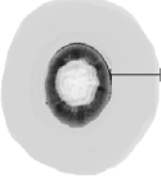
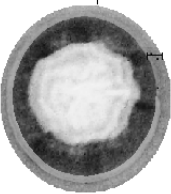
Los cultivos puros obtenidos se agruparon de acuerdo a la morfología y coloración de las colonias, los que se determinaron usando una tabla estándar de colores. Para los hongos se realizó la determinación del color del micelio, reverso de la colonia y pigmento difusible; si la colonia crece a nivel del medio, bajo el nivel del medio, o sobre el nivel del medio, si

es polvosa o algodonosa, la presencia de gotículas y halo de la colonia. Las características generales fueron descritas de acuerdo a las características de la Tabla 2.

3.6.4. Caracterización microscópica de los cultivos.





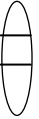
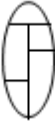

Los hongos aislados fueron usados para preparar muestras que se observaron bajo el microscopio, en las que se determinó el tipo de esporulación, tipo de micelio, forma de la espora, color del micelio y espora para aquellos que esporulen. Las características generales fueron descritas de acuerdo a las características de la Tabla 3.

Tabla 2. Descripción morfológica de colonias de hongos de acuerdo al micelio, gotículas, pigmento difusible, halo, y reverso de la colonia.

Micelio		Color	
		Relieve	Sobre relieve
			Nivel del medio
			Bajo el nivel del medio
		Borde	Aserrado
			Lobulado
			Irregular
	Filamentoso		
	Textura	Polvosa	
		Algodonosa	
	Brillo	Brillante	
		Mate	
Gotículas		Presencia	
		Color	
Pigmento Difusible		Presencia	
		Color	
halo		Presencia	
		Color derecho	
		Tamaño derecho	
		Color inverso	
		Tamaño inverso	
		Regular	
		Irregular	
Reverso de la colonia		Color	

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla N3.- Características microscópicas de Hongos

	Caracter	Característica
Tipo de micelio	Tabicado	Posee tabiques a lo largo del micelio
	Cenocítico	No posee tabiques a lo largo del micelio
Esporulación	Presente	Existe presencia de esporas
Tipo de espora	Unicelular	Son esporas de una sola célula
	Pluricelular	Son esporas de dos o más células
Forma de la espora	1	
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
	7	
Coloración	Conidióforo	Si el conidióforo presenta coloración. (Presentará una especie de puntos en el interior del conidióforo)
	Espora	Si la espora presenta coloración. (Presentará una especie de puntos en el interior de la espora)

Elaborado por Jenny Correa, 2013

3.6.5 Pruebas fisiológicas de crecimiento.

3.6.5.1. Rango de crecimiento en función de la temperatura.

Se inocularon 3 µl de suspensiones de esporas previamente preparadas, sobre la superficie de PDA. Los platos aislados a 4°C fueron incubados a 26°C, 37°C y 50°C por 7 días, mientras que los aislados a 26°C, fueron incubados a 4°C, 37°C y 50°C durante el mismo tiempo. Transcurrido el tiempo de incubación se evaluaron las cajas para observar el crecimiento de los hongos, el mismo que se evaluó mediante código binario. Al hongo que presente crecimiento, se le asignó 1, en caso contrario, es decir, ausencia de crecimiento, 0. La clasificación de los hongos en función de la temperatura fue establecida a partir de la siguiente Tabla 4 que se muestra a continuación.

Tabla 4. Clasificación de los cultivos según el rango de crecimiento en función de la temperatura de incubación.

Temperaturas de incubación °C				Clasificación
4	26	37	50	
+	+	+	+	Mesófilo extremo
+	+	+	-	Mesófilo
+	+	-	-	Psicrótrofo
+	-	-	-	Psicrófilo

3.6.5.2. Rango de crecimiento en función del pH.

Se inocularon 3 µl de las suspensiones de esporas de hongos en la superficie de PDA, ajustado a los pHs 4.5, 5.5, 6.5, 7.5, 8.5. El pH se ajustó con la ayuda de sistemas de búferes, evitando cambios en el pH debido al metabolismo de los microorganismos. Las cajas se incubaron dependiendo de la temperatura óptima que se obtuvieron en la sección 3.6.6.1. durante 7 días. Transcurrido el tiempo de incubación se evaluaron las cajas para observar el crecimiento de los hongos, el mismo que se evaluó mediante código binario. Al hongo que presente crecimiento, se asignó 1, en caso contrario, es decir, ausencia de crecimiento, 0. La clasificación de los hongos en función del pH del medio de cultivo fue establecido a partir de la Tabla 5.

Tabla 5. Clasificación de los cultivos según el rango de crecimiento en función del pH del medio.

pH del medio					Clasificación
4.5	5.5	6.5	7.5	8.5	
+	+	-	-	-	Acidófilo
+	+	+	-	-	Neutrotolerante
+	+	+	+	-	Neutrotolerante
-	+	+	+	-	Neutrófilo
-	-	+	+	-	Neutrófilo
-	-	+	-	-	Neutrófilo
-	+	+	+	+	Alcalino tolerante
-	-	+	+	+	Alcalino tolerante
-	-	-	+	+	Alcalófilo

3.6.5.3. Rango de crecimiento en función de la salinidad.

Se inocularon 3 μ l de las suspensiones de esporas de hongos en la superficie de PDA que contuvo 1, 5, 10% NaCl w/v. Las cajas se incubaron dependiendo de la temperatura óptima que se obtuvo en la sección 3.6.6.1., durante 7 días. Transcurrido el tiempo de incubación se evaluaron las cajas para observar el crecimiento de los hongos, el mismo que se evaluó mediante código binario. Al hongo que presentó crecimiento, se asignó 1, en caso contrario, es decir, ausencia de crecimiento, 0. La clasificación de hongos en función de la concentración de NaCl del medio de cultivo fue establecido según se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Clasificación de los cultivos según el rango de crecimiento en función de la concentración de NaCl del medio de cultivo.

NaCl (%)			Clasificación
1	5	10	
+	-	-	Halófilo débil
+	+	-	Halófilo
+	+	+	Halófilo extremo

3.7. Procesamiento y análisis

3.7.1. Diseño Experimental

Se implementó un diseño completamente al azar (A x B x C), con tres factores de estudio, donde se analizó la población y diversidad de hongos con dos replicas tanto en las muestras de la Antártida como en las del Chimborazo. Los niveles de los factores de estudio fueron:

A: Origen de la muestra.

a₀: Suelo Antártida.

a₁: Arena Antártida

a₂: Chimborazo.

B: Medio de cultivo.

b₀: PDA.

b₁: Agar extracto de levadura

C: Temperatura de incubación

c₀: 4°C

c₁: 26°C

En la Tabla 7 se muestran los tratamientos producto de la combinación de los factores en estudio.

Tabla 7. Tratamientos en estudio

Tratamientos	A: Tipo de muestra	B: Medio de Cultivo	C: Temperatura de crecimiento (°C)
a ₀ b ₀ c ₀	SUELO-ANTARTIDA	PDA	4°
a ₀ b ₀ c ₁	SUELO-ANTARTIDA	PDA	26°
a ₀ b ₁ c ₀	SUELO-ANTARTIDA	MALTA	4°
a ₀ b ₁ c ₁	SUELO-ANTARTIDA	MALTA	26°
a ₁ b ₀ c ₀	ARENA-ANTARTIDA	PDA	4°
a ₁ b ₀ c ₁	ARENA-ANTARTIDA	PDA	26°
a ₁ b ₁ c ₀	ARENA-ANTARTIDA	MALTA	4°
a ₁ b ₁ c ₁	ARENA-ANTARTIDA	MALTA	26°
a ₂ b ₀ c ₀	SUELO-CHIMBORAZO	PDA	4°
a ₂ b ₀ c ₁	SUELO-CHIMBORAZO	PDA	26°
a ₂ b ₁ c ₀	SUELO-CHIMBORAZO	MALTA	4°
a ₂ b ₁ c ₁	SUELO-CHIMBORAZO	MALTA	26°

Se utilizaron 3 muestras medioambientales provenientes del suelo de la Antártida, arena de la Antártida y suelo del Chimborazo. A partir de ellas se preparó diluciones las cuales fueron inoculadas sobre cajas Petri que contenían medio de cultivo estéril. Las cajas se incubaron a dos temperaturas. Con los resultados obtenidos se realizó el análisis de varianza para la población y diversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos en Agar extracto de malta y Agar papa dextrosa como medio de cultivo. Se procedió a realizar un análisis de varianza (Tabla 8) para establecer si existen diferencias significativas, en cuyo caso se procedió a realizar la separación de medias mediante la prueba de Tukey al 5% de significancia.

Tabla 8. Esquema del análisis de varianza

Fuente de variación	Grados de libertad
Factor A	$a - 1$
Factor B	$b - 1$
Factor C	$c - 1$
AB	$(a - 1)(b - 1)$
AC	$(a - 1)(c - 1)$
BC	$(b - 1)(c - 1)$
ABC	$(a - 1)(b - 1)(c - 1)$
Error	$(abc)(r - 1)$
Total	$(abc*r) - 1$

3.7.2. Formación de grupos de color.

Los datos de color de la parte aérea, reverso de la colonia, gotículas, halo y pigmento difusible fueron usados para agrupar a todos los cultivos similares en los denominados grupos de color.

3.7.3. Taxonomía numérica de datos fenotípicos.

Con los resultados de las pruebas fenotípicas se elaboró una base de datos, en código binario, con el número de pruebas o características estudiadas. La información fue procesada en el software estadístico NTSys, en el que primeramente se calcularon los porcentajes de similitud, usando el coeficiente de simple coincidencia (S_{SM}). Finalmente los porcentajes fueron utilizados para construir un dendrograma mediante el uso del algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) del mismo programa. Una vez obtenido este gráfico, se identificó los grupos especie basados en un coeficiente de similitud mayor al 90%. Aquellas que comparten este valor de similitud se consideraron como miembros de un mismo grupo-especie.

Tabla 9. Codificación de la información para las pruebas de taxonomía numérica de datos fenotípicos para hongos.

Descripción		Código
1	Micelio	amarillo limón Mamli
2		amarillo metálico Mamme
3		amarillo piel Mampi
4		azul caribe Mazca
5	Color	blanco Mblbl
6		blanco metálico Mblme
7		cappuccino Mcapp
8		cobre glitter Mcogl
9		cobre metálico Mcome

Tabla 9. Continuación...

10			cristal	Mcris
11			gris lunar	Mgrlu
12			incoloro	Minco
13			marfil	Mmame
14			melocotón	Mmelo
15			ocre oro	Mocor
16			oro metálico	Morme
17			plata metálico	Mplme
18	Micelio	Color	Rosa	Mrosa
19			rosa té	Mrote
20			sienne natural	Msina
21			verde bandera	Mveba
22			verde gramo	Mvegr
23			verde metálico	Mmeve
24			verde pino	Mvepi
25			verde pistache	Mvepi
26			verde veronese	Mveve

Tabla 9. Continuación...

27	Micelio	Sobrerrelieve	Rsobr
28		Relieve	Nivel del medio Rnime
29			Bajo el nivel del medio Rbani
30			Lobulado Blobu
31		Borde	Irregular Birre
32			Filamentoso Bfila
33			Polvosa Tpolv
34		Textura	Algodonosa Talgo
35			Brillante Tbril
36		Billo	Mate Tmate
37	Gotículas	Presencia	Gopre
38			amaillo piel Gampi
39			amarillo Gamal
40		Color	cobre metalico Gcome
41			coral Gcora
42			jacarandá Gjain

Tabla 9. Continuación...

43	Gotículas		incoloro	Ginco
44			ocre oro	Gocor
45		Color	rosa oscuro	Groos
46			salmón	Gsalm
47			verde manzana	Gvema
48	Pigmento Difusible		Presencia	Pipr
49			amarillo canario	Pamca
50			amarillo oro	Pamor
51			amarillo piel	Pampi
52			cobre	Pcobr
53		Color	cobre metálico	Pcome
54			melocotón	Pmeme
55			oro metálico	Porme
56			rosa oscuro	Proos
57	Pigmento Difusible	Color	salmón	Psalm
58			verde gramo	Pvegr

Tabla 9. Continuación...

59	Pigmento	Color	verde manzana	Pvema
----	----------	-------	---------------	-------

60	Difusible		verde hoja	Pveho
61			verede musgo	Pvemu
62	Halo	Presencia		Hapre
63			amarillo linón	Hamli
64			amarillo piel	Hampi
65			blanco	Hblan
66			blanco metálico	Hblme
67			cappuccino	Hcapp
68			durazno	Hdura
69		Color derecho	incoloro	Hinco
70			marfil	Hmarf
71			melocotón	Hmelo
72			ocre oro	Hocor
73			verde bandera	Hveba
74			verde gramo	Hvegr

Tabla 9. Continuación...

75	Halo	Color	amarillo cadmio	Hamca
76		inverso	amarillo oro	Hamor

77		amarillo piel	Hampi
78		blanco	Hblan
79		blanco metálico	Hblme
80		capuccino	Hcapp
81		incoloro	Hinco
82		marfil	Hmarf
83		oro metálico	Horme
84		piel	Hpiel
85		salmón	Hsalm
86		siena natural	Hsina
87		verde bandera	Hveba
88		verde gramo	Hvegr
89		Regular	Hregu

Tabla 9. Continuación...

90	Halo	Color reverso de la colonia	amarillo canario	Hramc
91			amarillo piel	Hramp
92			blanco	Hrbla

93		cappuccino	Hrcap
94		cerámica	Hrcer
95		cobre	Hrcob
96		gris lunar	Hrgri
97		incolore	Hrinc
98		jacarandá	Hrjac
99		magenta	Hrmag
100		marfil	Hrmar
101		marrón	Hrmar
102		melocotón	Hrmel
103		negro	Hrneg
104		oro metálico	Hrorm
105		piel	Hrpie
106		salmón	Hrsal

Tabla 9. Continuación...

107	Halo	Color reverso de la colonia	sepia	Hrsep
108			sienna natural	Hrsin
109			verde gramo	Hrveg

110			verde hoja	Hrveh
111			verde metálico	Hrvem
112			verde musgo	Hrvmu
113			verde oliva	Hrveo
114			verde pistache	Hrvep
115			verde veronese	Hrvev
116	Características Microscópicas	Tipo de micelio	Tabicado	Mtabi
117			Cenocítico	Mceno
118		Esporulación	Presente	Epres
119		Tipo de spora	Unicelular	Eunic
120			Pluricelular	Eplur
121		Forma de la spora	1	Form1
122			2	Form2
123			3	Form3

Tabla 9. Continuación...

124	Características Microscópicas	Forma de la spora	4	Form4
125			7	Form7
126		Coloración	Conidióforo	Cconi
127			Espora	Cespo

128	Pruebas fisiológicas de crecimiento	pH	4,5	pH4,5
129			5,5	pH5,5
130			6,5	pH6,5
131			7,5	pH7,5
132			8,5	pH8,5
133			9,5	pH9,5
134			Salinidad	1%
135	5%	sal5		
136	10%	sal10		
137	T °C	4	T4	
138		26	T26	
139		37	T37	

Elaborado por Jenny Correa, 2013

CAPITULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Análisis de los Resultados

4.1.1. Caracterización Físico – Química de las muestras de suelo.

La Tabla A1 (Anexo A), muestra los valores de pH, conductividad, porcentaje de humedad y porcentaje de materia orgánica, de las distintas muestras medioambientales utilizadas. En relación al pH, los valores varían desde casi neutro en el suelo del Chimborazo (6.14), hasta un valor de 7.85 encontrado en la arena de la Antártida. Las diferencias pueden ser consideradas como no significativas ya que estos valores ubican a las muestras en valores prácticamente neutros de pH. Para la conductividad se observa diferencias significativas entre los valores obtenidos. El valor más alto fue determinado para la muestra de arena (2140 us/cm), mientras que el más bajo fue del suelo del Chimborazo con solo (49 us/cm). También se encontraron diferencias significativas en el porcentaje de humedad. El valor más alto fue calculado para la muestra de suelo del Chimborazo con un 22%. Los valores de las muestras de la Antártida fueron menores al 10%. Finalmente. En relación a la materia orgánica de las muestras, el valor más alto fue encontrado en los suelos de la Antártida. En las otras dos muestras, los valores fueron prácticamente similares.

4.1.2. Aislamiento selectivo de hongos psicrófilos y psicrótrofos.

4.1.2.1. Determinación de la población y diversidad de hongos.

La Tabla A2 (Anexo A) muestra los resultados del conteo del número de colonias de hongos. No se logró determinar el número de colonias de hongos diferentes puesto los hongos en sus primeras etapas de crecimiento presentaron una morfología muy similar. La Tabla A3 presenta el número de unidades formadoras de colonias por gramo de suelo seco.

La Tabla B1 (Anexo B) muestra el análisis de varianza del número de ufc/g de suelo seco de hongos aislados de las muestras medio ambientales. Es posible observar que existen diferencias altamente significativas para los factores A (origen de la muestra), C (temperatura de aislamiento), y para la interacción AC (Origen de la muestra + temperatura). Para el factor B, y el resto de las interacciones no se encontraron diferencias estadísticas. La separación de medias para el factor A (origen de la muestra), se presenta en la Tabla B2 (Anexo B), en donde el valor mayor de ufc/g de suelo seco, se obtuvo en la muestra de suelo de la Antártida (a0; 3.32×10^5 ufc/g) y el valor más bajo se encontró en la muestra de la arena de la Antártida (a1; 6.28×10^3). En lo que respecta al factor C (temperatura), representado en la Tabla B3 (Anexo B), se logró recuperar un mayor número de cultivos de hongos a 4°C (c0; 2.41×10^5 ufc/g) que a 26°C (c1; 6.19×10^4 ufc/g). La Tabla B4 (Anexo B) muestra la separación de las medias de la interacción AC (origen de la muestra + temperatura), ubicando en el nivel más alto a los tratamientos a0c0 (suelo Antártida + 4°C) con 5.37×10^5 ufc/g y en el nivel más bajo se ubicó el tratamiento a1c1 (arena Antártida + 26°C) con 1.19×10^3 ufc/g.

En lo que respecta al factor B y las interacciones, no se realizó la separación de medias mediante Tukey, ya que todas las medias son estadísticamente similares. Así, para el factor B el mayor número de ufc/g de suelo seco se registró en agar papa dextrosa como medio de cultivo (bo; 1.54×10^5 ufc/g) comparado con agar extracto de levadura con un valor muy cercano (b1; 1.49×10^5 ufc/g), representados en la Tabla B5 (Anexo B)

Para la interacción AB (origen de la muestra + medio de cultivo) (Tabla B6, Anexo B), el valor más alto de ufc/g se encontró para la combinación a0b0 (suelo Antártida + PDA), con 3.34×10^5 ufc/g, mientras que el valor más bajo se calculó para la combinación a1b1 (arena Antártida + agar extracto de malta) con 4.98×10^3 ufc/g.

La interacción de los factores BC (medio de cultivo + temperatura) se ilustra en la Tabla B7 (Anexo B), ubicando al tratamiento b1c0 (MALTA + 4°C) con el valor más alto, con

2.41×10^5 ufc/g y la población más baja se registró en el tratamiento b1c1 (agar extracto de malta +26°C), con 5.59×10^4 ufc/g. La separación de medias para el número de ufc/g de suelo seco de la interacción ABC (Origen de la muestra + medio de cultivo + temperatura) se muestra en la Tabla B8 (Anexo B), indicando que en el tratamiento a0b1c0 (suelo Antártida + MALTA +4°C), se obtuvo la población más alta, con 5.52×10^5 ufc/g, valor muy cercano al del tratamiento a0b0c0 (suelo Antártida + PDA +4°C), con 5.22×10^5 , mientras que en el tratamiento a1b1c1 (arena Antártida + PDA + 26°C) la población aislada fue la más baja, con 9.48×10^2 ufc/g. En la Figura C1 se indica el número de ufc/g de suelo seco para los tratamientos en estudio.

Por otra parte, el análisis de varianza para la diversidad de colonias diferentes no se pudo realizar debido a las semejanzas fenotípicas de los hongos en sus primeros días de crecimiento.

4.1.3. Aislamiento, purificación y almacenamiento de hongos psicrófilos y psicrótrofos.

Ochenta y nueve hongos fueron aislados y purificados en medio PDA a partir de los platos de cultivo del aislamiento selectivo. Cincuenta y un hongos se aislaron de la muestra de suelo de la Antártida, nueve se aislaron de muestra de arena de la Antártida y veinte y nueve se aislaron a partir de la muestra de suelo del Chimborazo. Se aislaron cuarenta y seis hongos del medio PDA y cuarenta y tres del agar extracto de malta. En cuanto a temperatura se refiere cincuenta y cuatro hongos se aislaron a 26°C mientras que treinta y cinco se aislaron a 4°C. (Figura C2. Anexo C).

La figura C3 (Anexo C), muestra la distribución de los aislamientos en función de la temperatura y medio de cultivo para los hongos aislados del suelo de la Antártida. Las diferencias en función del medio de cultivo, correspondiente al factor B, no son significativas puesto que se aislaron un número similar de hongos en el medio PAD (26) y en agar extracto de malta (25). Para el factor C, temperatura de aislamiento, si existieron diferencias significativas, puesto que se aislaron mayor número de hongos a 26°C (29) que a 4°C (22).

La figura C4 (Anexo C), muestra la distribución de los aislamientos en función de la temperatura y medio de cultivo para los hongos aislados de la muestra de arena de la

Antártida. Las diferencias en función del medio de cultivo, correspondiente al factor B, así como también las diferencias para el factor C, temperatura de aislamiento, son altamente significativas, puesto que se registraron mayor número de hongos aislados en agar extracto de malta (6) que en medio PDA (3) y mayor número de hongos aislados a 26 °C (6) que a 4°C (3).

La figura C5 (Anexo C) muestra la distribución de los aislamientos en función de la temperatura y medio de cultivo para los hongos aislados del suelo del Chimborazo. Las diferencias en función del medio de cultivo, correspondiente al factor B, son significativas puesto que se aislaron un número mayor de hongos en el medio PAD (17) que en agar extracto de malta (12). Para el factor C, temperatura de aislamiento, existieron diferencias altamente significativas, puesto que se aislaron mayor número de hongos a 26°C (19) que a 4°C (10).

La Tabla A4 (Anexo A) muestra la codificación e información complementaria utilizada, para cada uno de los cultivos de hongos aislados, purificados y almacenados, obtenidos de los diferentes tratamientos del presente estudio.

4.1.4. Caracterización macroscópica y formación de grupos de color de hongos aislados de muestras de suelo de la Antártida y el Chimborazo.

Se caracterizó macroscópicamente ochenta y nueve hongos aislados de muestras medioambientales de la Antártida y del Chimborazo. Se obtuvieron sesenta y dos grupos distintos de color los cuales se muestran en la Tabla A5 (Anexo A). El grupo que presenta mayor número de miembros es el grupo veinte y cuatro con cinco miembros, seguido del grupo uno, once, diez y ocho, veinte y uno y cuarenta y ocho con tres miembros, los grupos restantes están conformados por dos y un solo miembro.

Las características macroscópicas de relieve, borde, textura y brillo se muestran en la Tabla A6 (Anexo A). Al evaluar el relieve de la colonia de hongos se determinó que veinte presentan sobre relieve, sesenta crecen a nivel del medio de cultivo y nueve crecen bajo el medio de cultivo, como se puede visualizar en la Figura C6 (Anexo C). En cuanto a la forma del borde de la colonia se refiere ningún hongo presenta el borde aserrado, ocho presentan el borde lobulado, diez y seis presentan el borde irregular y sesenta y cinco

presentan el borde filamentosos, representados en la Figura C7 (Anexo C). Los hongos presentan texturas tanto polvosas como algodonosas, la Figura C8 (Anexo C), muestra que veinte y cinco presentan una textura algodonosa y sesenta y cuatro hongos presentan la textura polvosa. Al caracterizar el brillo de la colonia, en la Figura C9 (Anexo C) se muestra que veinte y siete hongos presentan brillo mientras que sesenta y dos carecen de este.

La Figura C10 (Anexo C) indica que treinta y tres hongos presentan gotículas mientras que cincuenta y seis carecen de éstas, lo que se muestra en la Tabla A7 (Anexo A), con sus respectivos colores. La Figura C11 (Anexo C), muestra que los hongos que presentan pigmento difusible son veinte y siete mientras que sesenta y dos carecen de éste, este factor también fue utilizado para la realización de los grupos de color. En la Tabla A8 también se indica que de los hongos que presentan halo, veinte y dos son de forma regular y sesenta y dos son de forma irregular, cinco hongos no presentan halo y están representados en la Figura C12 (Anexo C). En la Tabla A8 (Anexo A), también se representa el color derecho del halo, mientras que la Tabla A9 (Anexo A), se muestran los colores inversos del halo.

4.1.5. Caracterización microscópica de hongos aislados de muestras de suelo de la Antártida y el Chimborazo.

Al caracterizar microscópicamente se evaluó el tipo de micelio, esporulación, tipo de spora y coloración que se muestra en la Tabla A10 (Anexo A), en el tipo de micelio, cincuenta y ocho hongos presentan un micelio tabicado y treinta y un presentan un micelio cenocítico, es decir libre de tabiques, representados en la Figura C13 (Anexo C). Setenta y nueve hongos presentan esporas, (Figura C14; Anexo C), de las cuales setenta y siete son unicelulares y dos son pluricelulares, diez hongos carecen de esporas, representados en la Figura C15 (Anexo C). La Figura C16 (Anexo C) muestra que sesenta y cinco esporas son coloreadas. La Figura C17 (Anexo C) indica que sesenta y seis conidióforos presentan coloración. Las esporas presentan diferentes formas las cuales se presentan en la Tabla A11 (Anexo C), se muestra siete formas diferentes de esporas, la forma de spora más común es la forma de esfera, con cincuenta y tres miembros que se representa en la Figura C18 (Anexo C).

4.1.6. Pruebas fisiológicas de crecimiento.

4.1.6.1. Rango de crecimiento en función de la temperatura.

La Tabla A12 (Anexo A) muestra el número de hongos que presentaron crecimiento de acuerdo a diferentes valores de temperatura de incubación, cincuenta y seis son clasificados como psicrótrofos, veinte y tres como mesófilos y diez como psicrófilos, los cuales se los representa en la Figura C19 (Anexo C). Además se evaluaron estas características según la temperatura de aislamiento, donde se encontró que la mayoría de mesófilos y psicrótrofos se aislaron a 26 °C, y todos los psicrófilos se aislaron a 4°C.

La Tabla A13, muestra la clasificación de hongos de acuerdo al rango de crecimiento en función de la temperatura de acuerdo a la temperatura de aislamiento.

4.1.6.2. Rango de crecimiento en función del pH.

Al evaluar el rango de crecimiento de los hongos en función del pH, que se muestran en la Tabla A14 (Anexo A), Se encontró mayor cantidad de hongos neutrotolerantes, con cuarenta y dos miembros, treinta y tres son acidófilos, trece hongos son clasificados como alcalino tolerantes, un hongo es neutrófilo. Esto se representa en la Figura C20 (Anexo C).

La Tabla A15, muestra la clasificación de hongos de acuerdo al rango de crecimiento en función del pH del medio de cultivo de acuerdo al origen de la muestra.

4.1.6.3. Rango de crecimiento en función de la salinidad.

En la Tabla A16 (Anexo A), se muestran los hongos que crecen a diferentes concentraciones de sal. Se registraron mayor cantidad de cultivos halófilos extremos, con cuarenta y ocho miembros, veinte y ocho hongos son halófilos, once son halófilos débiles, y dos hongos no son halófilos, representados en la Figura C21 (Anexo C). De los cuarenta y ocho cultivos clasificados como halófilos extremos, veinte y nueve se aislaron de la muestra de suelo de la Antártida, trece de la muestra del Chimborazo y seis de la muestra de arena de la Antártida (Tabla A15; Anexo A).

4.1.7. Taxonomía numérica de datos fenotípicos.

La Tabla B9 (Anexo B), muestra las pruebas fenotípicas utilizadas para la realización del dendrogama basado en el coeficiente de similitud, el cual se muestra en la Figura C22 (Anexo C). Se identificaron 30 grupos-especie (Tabla A18; Anexo A), de los cuales 21 grupos presentaron más de un solo representante, mientras que los 9 grupos restantes fueron recuperados como cultivos individuales. Se consideró al grupo 1 como el grupo más grande, con 13 representantes.

Existen 10 grupos en los que se encuentran miembros tanto de la Antártida como del Chimborazo, Y corresponden a los grupos 1, 5, 8, 11, 12, 13, 18, 20, 21, 26. El grupo 1 presenta características particulares, puesto que de sus trece miembros solo uno proviene del Chimborazo. Finalmente se encontraron 13 grupos-especie exclusivos para la Antártida y 7 para el Chimborazo.

El análisis individual de la taxonomía numérica de datos fenotípicos mostró que, los grupos-especie identificados en las muestras de la Antártida fueron 22 (Tabla 19, Anexo A; Figura C23 ,Anexo C), mientras que los grupos especie identificados en el Chimborazo fueron 15 (Tabla 19, Anexo A; Figura C24, Anexo C).

4.2. Interpretación de datos

4.2.1. Población y diversidad de hongos

En relación al origen de la muestra el valor más alto de ufc/gr de suelo seco se registró en la muestra de suelo de la Antártida, seguido por la muestra de suelo del Chimborazo, mientras que el valor más bajo se observó en la muestra de arena de la Antártida. Las características físico químicas de las muestras medioambientales evidencian las diferentes condiciones en las que los microorganismos se desarrollaron. Como se puede notar el porcentaje de materia orgánica influye directamente en el crecimiento de hongos puesto que el mayor porcentaje se encuentra en la muestra de suelo de la Antártida, seguido por la muestra de suelo del Chimborazo y finalmente por la muestra de arena de la Antártida. Lo que concuerda correctamente con los datos obtenidos. Otro factor importante es el pH, que también tiene relación con el número de ufc/gr de suelo seco encontrados en cada muestra, pues se ha demostrado que la mayoría de hongos son acidófilos y por lo tanto el pH ajustado en este experimento es 5.5, lo que concuerda nuevamente con los datos experimentales, puesto que al tener la muestra de arena de la

Antártida un valor de pH de 7.85, posiblemente reprime el crecimiento de hongos en este tipo de muestra. En lo que tiene que ver con la humedad, se debe recordar que la muestra del Chimborazo fue recolectada luego de una nevada, por lo que la cantidad de agua sobre el suelo era evidentemente alta, y se podría suponer que algunas esporas pudieron ser arrastradas hacia suelo más profundo.

Con relación al Factor B, al comparar los medios de cultivo, se determinó que el número de unidades formadoras de colonias (ufc) fue similar en medio PDA y en Agar Extracto de Malta, con un 52% y 48% respectivamente, sin embargo el Agar Papa Dextrosa (PDA) es el medio más eficiente por su fácil preparación y bajo costo de sus ingredientes, es el más indicado para iniciar el aislamiento y producción.

Finalmente, en relación al factor C (temperatura de aislamiento), la mayor población se encontró a 4°C, esto probablemente se debe a que las temperaturas de los ecosistemas glaciares de la Antártida y el Chimborazo son extremadamente bajas, por tanto es lógico que se obtenga la mayor cantidad de hongos a ésta temperatura. Es importante mencionar que a pesar que el número de ufc/gr de suelo seco sea mayor a 4°C, hay mayor número de hongos diferentes a 26°C.

4.2.2. Caracterización fenotípica

Se aislaron más hongos que presentan un micelio tabicado (58) que cenocítico (31). Hay que tener en cuenta que la gran mayoría de hifas jóvenes se presentan de forma cenocítica y a medida que van desarrollándose, se comienzan a formar los tabiques. Por lo tanto es importante realizar este tipo de pruebas cuando el hongo se haya desarrollado completamente. Las hifas que contienen unos tabiques llamados SEPTOS dividen a estas en unidades diferenciadas, mononucleares, semejantes a células y son más las más comunes en hongos terrestres. Se encontraron también más hongos que presentan esporas (79), que las que carecen de ellas (10), puesto que este es el mecanismo de adaptación, reproducción y supervivencia más utilizado por estos microorganismos.

4.2.2.1. Rango de crecimiento en función de la temperatura

La mayoría de hongos aislados pertenecen al grupo de psicrófilos y psicrótrofos con más del 74%. De los 35 hongos aislados a 4°C, 22 fueron ubicados como psicrótrofos, 10

como psicrófilos y apenas 3 fueron mesófilos. Al evaluar los hongos aislados a 26°C se determinó que el número de psicrótrofos es casi el doble que el de mesófilos y además a ésta temperatura no fue posible aislar ningún microorganismo psicrófilo. Las condiciones extremadamente frías de estos ecosistemas glaciares influyen en los resultados obtenidos. Al estar expuestos a temperaturas tan bajas, los hongos psicrófilos y psicrótrofos tienen que combinar una serie de estrategias que les permitan sobrevivir el invierno en los ecosistemas glaciares y es probable que los mecanismos fisiológicos y metabólicos les confieran estas características únicas, que los diferencian de la gran mayoría de microorganismos. Es importante investigar las características metabólicas de este tipo de hongos, para tratar de encontrar algún tipo de compuesto bioactivo útil en biotecnología (Robinson, 2001). Se deberían realizar estudios posteriores para tratar de descifrar el mecanismo que utilizan los microorganismos mesófilos para resistir las bajas temperaturas de éstos ecosistemas.

4.2.2.2. Rango de crecimiento en función del pH

La gran mayoría de hongos presentaron características de neutrotolerantes y acidófilos, esto tiene sentido, pues se ha comprobado que los hongos prefieren desarrollarse en medios ligeramente ácidos (alrededor de 5 y 6). Las muestras de suelo de la Antártida y del Chimborazo presentan esta característica, (Tabla A1; anexo A).

4.2.2.3. Rango de crecimiento en función de la concentración de sal

Se encontró una población relativamente alta de hongos resistentes a concentraciones medias y altas de sal. Los pequeños contenidos de sal estimulan la germinación de los conidios y su límite de tolerancia es >20%. Sin embargo depende de las cepas de hongos ya que con 6-8%, algunas se retrasan en cuanto otras se ven favorecidas. Solo se encontraron 2 hongos que no toleran la concentración de sal, y estos se obtuvieron de las muestras de suelos de la Antártida y del Chimborazo.

4.2.3. Taxonomía numérica de datos fenotípicos.

El análisis de datos fenotípicos en taxonomía numérica, reveló 30 grupos-especie diferentes, es decir la mitad de los grupos de color registrados preliminarmente basados

únicamente en el color del micelio, reverso de la colonia y pigmento difusible (62). Este tipo de pruebas es más específica, ya que el dendrograma está basado en 139 características mientras que los grupos de color estuvieron basados en solo 3.

Con la realización del dendrograma basado en el coeficiente de similaridad, se pudo determinar los cultivos repetidos, así, de los 89 hongos originalmente aislados al principio del experimento, se encontraron 30 posibles especies diferentes. Lo que significa que posiblemente solo el 32% de los 89 hongos originales, son diferentes.

Este tipo de pruebas rápidas de identificación de microorganismos similares en programas de aislamiento selectivo, permite reducir considerablemente el número de microbios para estudios posteriores, evitando así, la pérdida de recursos económicos y tiempo.

4.2.4. Discusión general del trabajo

El estudio se enfocó en comparar la biodiversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos de ecosistemas glaciares de la Antártida y del Chimborazo. Los factores estudiados en esta investigación fueron: el origen de la muestra, el medio de cultivo y la temperatura de aislamiento. Para lograrlo se determinó una metodología adecuada de aislamiento selectivo y otra para seleccionar los cultivos diferentes con la ayuda de pruebas macroscópicas, microscópicas y fisiológicas de crecimiento.

En la presente investigación 89 hongos fueron aislados y purificados. La gran mayoría fueron aislados de muestras de suelo de la Antártida con un 57%, el 33% pertenecen a muestras de suelo del Chimborazo y el 10% de los hongos fueron aislados de la muestra de arena de la Antártida. Pruebas físico-químicas en las muestras medioambientales utilizadas fueron necesarias para analizar su influencia en el crecimiento de los hongos, tal como ocurre con el porcentaje de materia orgánica y pH, que probablemente influyeron en la población y diversidad de los mismos.

Los resultados en cuanto al rango de crecimiento en función de la temperatura, muestran que el 74%, es decir la gran mayoría de los hongos se clasificaron como psicrótrofos y psicrófilos. El resto de hongos, 26%, se clasifican como mesófilos. La resistencia de hongos mesófilos a baja temperatura puede deberse la presencia de esporas, ya que estas estructuras de protección permiten la supervivencia de esta especie hasta que las condiciones sean favorables y el hongo pueda desarrollarse.

En la presente investigación, con el análisis de las pruebas fenotípicas realizadas, se pudo obtener el dendrograma basado en el coeficiente de similaridad al 90%, donde se identificaron treinta grupos especie, de los cuales 21 presentaron más de un miembro y los 9 restantes fueron recuperados como cultivos individuales. El haber recuperado 30 grupos-especie diferentes indica la gran diversidad de hongos resistentes a condiciones extremas.

La comparación de los grupos especie arrojó datos importantes, ya que se encontraron grupos endémicos presentes solamente ya sea en la Antártida (13) o el Chimborazo (7). Será necesario efectuar estudios posteriores para determinar el grado de endemismo de estos grupos de hongos. Así mismo, 10 de éstos presentaron miembros tanto del Chimborazo como de la Antártida. Este hecho también permite generar nuevas incógnitas. ¿Acaso éstos microorganismos están presentes en todos los ecosistemas glaciares?, ¿Cuál es el origen de los mismos?. Lo real es que al encontrar que hongos con características fenotípicas similares crecen en ecosistemas alejados uno de otro por decenas de miles de kilómetros, no solamente ampliamos nuestro conocimiento acerca de la diversidad de los mismos, sino que también se establecen nuevos límites para su distribución geográfica. Necesariamente se requieren estudios posteriores de ecología y taxonomía microbiana para esclarecer las incógnitas generadas por el presente trabajo de investigación.

Finalmente, podemos mencionar que los resultados de la taxonomía numérica de datos fenotípicos nos permite determinar que a pesar que existen grupos similares en los dos ecosistemas, esto solamente abarca a un poco más del 30% de los individuos. La gran mayoría, es decir, casi el 70% de los grupos-especie, son endémicos, por lo tanto podemos concluir que realmente existen diferencias en la diversidad biológica de los hongos presentes en los ecosistemas de la Antártida y del Chimborazo. Evidentemente, será necesario realizar la identificación molecular de los mismos para conocer con claridad la extensión de la biodiversidad de los hongos endémicos y comunes en cada uno de los ecosistemas.

Los estudios realizados en este trabajo son la base fundamental para realizar futuras investigaciones que permitan avances biotecnológicos ligados a ciencia y medicina. Las condiciones extremas de estos ambientes glaciares, probablemente ha permitido el

desarrollo de microorganismos de características únicas, las cuales han sido poco estudiadas, debido principalmente a la poca accesibilidad a estos lugares.

4.3. Verificación de la hipótesis.

4.3.1. Hipótesis Nula (H_0).

- La biodiversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos entre la Antártida y el Chimborazo es similar.

4.3.2. Hipótesis Alternante (H_1).

- La biodiversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos entre la Antártida y el Chimborazo es diferente.

Después de analizar los resultados de la población de cultivos aislados, características macro y microscópicas, pruebas fisiológicas de crecimiento, y taxonomía numérica de datos fenotípicos, "se acepta la hipótesis alternante (H_1)" afirmando la biodiversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos entre la Antártida y el Chimborazo es diferente

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones.

- Se encontró la mayor población de hongos en la muestra de suelo de la Antártida con 3.32×10^5 ufc/g seguido por la muestra de suelo del Chimborazo con 1.16×10^5 ufc/g y finalmente la muestra de arena de la Antártida con 6.28×10^3 ufc/g.
- Se aislaron ochenta y nueve hongos a partir de los platos de aislamiento selectivo. Cincuenta y un hongos se aislaron de la muestra de suelo de la Antártida, nueve se aislaron de muestra de arena de la Antártida y veinte y nueve se aislaron a partir de la muestra de suelo del Chimborazo. Se aislaron cuarenta y seis hongos del medio PDA y cuarenta y tres del agar extracto de malta. En cuanto a temperatura se refiere cincuenta y cuatro hongos se aislaron a 26°C mientras que treinta y cinco se aislaron a 4°C .
- De los ochenta y nueve hongos, cincuenta y seis son clasificados como psicrótrofos, lo que corresponde al 63%, veinte y tres como mesófilos, correspondientes al 26% y diez como psicrófilos, correspondientes al 11%.
- Se encontró mayor cantidad de hongos neutrotolerantes (42) y acidófilos (33), Al clasificar los hongos que crecen a diferentes concentraciones de sal, se registraron mayor cantidad de cultivos halófilos extremos (48).
- Se identificaron treinta grupos especies en el dendrograma de la taxonomía numérica de datos fenotípicos, y basado en una similaridad del 90%. Veinte grupos presentaron más de un solo representante, mientras que los diez grupos restantes fueron recuperados como cultivos individuales. Se encontraron trece grupos endémicos presentes solamente en la Antártida y siete en el Chimborazo. Diez grupos de hongos son comunes entre la Antártida y el Chimborazo.

5.2. Recomendaciones

- Efectuar estudios posteriores para determinar el grado de endemismo de los grupos de hongos encontrados en esta investigación
- Identificar si los hongos que se encuentran tanto en la Antártida como en el Chimborazo, están presentes en otros ecosistemas glaciares.

- Determinar la existencia de metabolitos secundarios en las cepas aisladas, útiles para biotecnología.

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1 Datos informativos

6.1.1 Título

Determinación de la población y caracterización preliminar de hongos presentes en ecosistemas glaciares

6.1.2 Instituciones ejecutoras

Universidad Técnica de Amato - Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

6.1.3 Beneficiarios

Investigadores y Estudiantes Universitarios del Ecuador. Centros e instituciones de investigaciones microbiológicas y biotecnológicos. Empresas privadas relacionadas a la producción de productos bioactivos y metabolitos secundarios.

6.1.4 Ubicación

Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Avenida los Chasquis y Río Payamino. Ciudadela Huachi Chico. Ambato

6.1.5 Tiempo estimado para la ejecución

Ocho meses

6.1.6 Equipos técnico responsable

Dr. Carlos Rodríguez – Jenny Correa

Docentes y tesistas que se encuentren trabajando en aislamiento selectivo de microorganismos útiles en biotecnología.

6.2 Antecedentes de la propuesta.

La investigación relacionada con hongos psicrófilos y psicrótrofos ha sido escasa debido a difícil accesibilidad para la recolección de muestras y poco interés en este tipo de

microorganismos, puesto que las bajas temperaturas en las que desarrollan es un factor limitante. La mayoría de investigaciones se han centrado en microorganismos mesófilos que producen biocompuestos útiles en medicina que en la actualidad no son lo suficientemente efectivos puesto que el uso excesivo de antibióticos permite que los pacientes desarrollen inmunidad frente estos, por lo que es necesario explorar un nuevo campo de investigación, donde el objeto de estudio sean hongos que puedan resistir a condiciones extremas como son las bajas temperaturas.

Los hongos psicrófilos y psicrótrofos de ecosistemas glaciares pueden resistir temperaturas muy bajas inclusive bajo cero, lo que los hace capaces de producir otro tipo de sustancias y metabolitos secundarios que aún no han sido estudiados en su totalidad con aplicaciones biotecnológicas que se centran en la utilización de algunas de sus proteínas con actividad catalítica (enzimas) como aditivos de productos comerciales (detergentes, alimentación animal y humana), en procesos industriales de bioconversión (generación de alcohol a partir de maíz o de la paja de cereales como el trigo), o en sistemas analíticos (biosensores y técnicas de detección de ADN). Actualmente se buscan organismos que produzcan enzimas que degraden las grasas a baja temperatura para su utilización en detergentes de lavado en frío (por ejemplo, en organismos de la Antártida), y hongos que produzcan metabolitos secundarios para la síntesis de nuevos antibióticos.

La investigación "Comparación de la biodiversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos entre ecosistemas glaciares de la Antártida y el Chimborazo" demostró la gran variedad de hongos, a partir de pruebas fenotípicas y posteriormente taxonomía numérica a las que fueron sometidas, con las que probablemente se podrán encontrar nuevas especies de hongos, con rutas metabólicas especiales que probablemente produzcan metabolitos secundarios útiles en medicina y biotecnología.

6.3 Justificación

El estudio "Comparación de la biodiversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos entre ecosistemas glaciares de la Antártida y el Chimborazo", demostró la gran variedad de hongos presentes en los suelos cuya temperatura está bajo cero, puesto que en el invierno principalmente están cubiertas por hielo. Con los hongos obtenidos en esta

investigación se podrá establecer un protocolo para aislar hongos en suelos de ecosistemas glaciares. La aplicación de esta técnica permitirá determinar características especiales que han adquirido los hongos que les ayuden a desarrollarse en estos ecosistemas extremos, con temperaturas extremadamente bajas y alto contenido de humedad. Es posible encontrar hongos que produzcan otro tipo de sustancias y metabolitos secundarios que aún no han sido estudiados en su totalidad útiles principalmente en biotecnología

6.4 Objetivos

6.4.1 General

- Establecer un protocolo de aislamiento de hongos presentes en ecosistemas glaciares

6.4.2 Específicos

- Aislar selectivamente hongos de muestras de suelos de ecosistemas glaciares.
- Determinar los hongos diferentes mediante taxonomía numérica

6.5 Análisis de factibilidad

La viabilidad de la propuesta "Establecimiento de un protocolo de aislamiento de hongos presentes en ecosistemas glaciares" se asegura con los resultados obtenidos en la investigación "Comparación de la biodiversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos entre ecosistemas glaciares de la Antártida y el Chimborazo", Por ende el cumplimiento de los objetivos específicos dará como resultado el cumplimiento del objetivo general. Además, los resultados de la investigación en la cual se fundamenta la presente propuesta, permitirán que los resultados finales sean obtenidos sin ninguna clase de inconveniente.

6.6 Fundamentación

La investigación "Comparación de la biodiversidad de hongos psicrófilos y psicrótrofos entre ecosistemas glaciares de la Antártida y el Chimborazo", es la base científica para la formulación de la siguiente propuesta.

6.7 Metodología – Modelo Operativo

6.7.1. Caracterización físico – química de las muestras medioambientales.

6.7.1.1. Determinación del pH y conductividad de las muestras.

Para determinar el pH y conductividad de las muestras, se pesarán 10 gramos de suelo en un vaso de precipitación de 100 ml. Luego se añadirá 25 ml de agua destilada y se mezcla con una cuchara por el lapso de 5 minutos. Las muestras se dejarán en reposo por una hora, y una vez transcurrido ese tiempo, se procederá a tomar las lecturas correspondientes de las muestras, con la ayuda de un pH-metro y un conductímetro.

6.7.1.2. Determinación del porcentaje de humedad

Se pesará previamente las cápsulas de porcelana a utilizarse y luego se colocarán en éstas 5 gramos de suelo de cada una de las muestras (Peso 1). Estas se colocarán en una estufa y se las someterán a 105° C por 24 horas. Al retirar las muestras se las dejarán enfriar y se procederá a pesar nuevamente (Peso 2).

El porcentaje de humedad será determinado mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{\text{Peso 1} - \text{Peso 2}}{\text{Peso 1}} \times 100$$

Todos los cálculos involucrarán únicamente los pesos de agua y suelo, por lo que el peso de la cápsula de porcelana será restado.

6.7.1.1. Determinación del porcentaje materia orgánica.

Se pesarán previamente las cápsulas de porcelana a utilizarse y luego se colocarán en éstas 5 gramos de suelo de cada una de las muestras. Estas se colocarán en una estufa y se las someterán a 105° C por 24 horas. Al retirar las muestras se las dejará

enfriar y se procederá a pesar nuevamente (Peso 1). Para la determinación de materia orgánica, las muestras procedentes de la estufa se colocarán en una mufla, a 400° C por 3 horas. Al término de este tiempo se deja enfriar y finalmente se obtendrá el peso final (Peso 2).

El porcentaje de materia orgánica será determinado mediante la siguiente fórmula:

$$\% m.o. = \frac{\text{Peso 1} - \text{Peso 2}}{\text{Peso 1}} \times 100$$

Todos los cálculos involucran únicamente los pesos de agua y suelo, por lo que el peso de la cápsula de porcelana fue restado.

6.7.2. Aislamiento selectivo de hongos psicrófilos y psicrótrofos.

6.7.2.1. Determinación de la población y diversidad de hongos.

Cada una de las muestras será usada para determinar el número de unidades formadoras de colonias (UFCs) por gramo de muestra y la diversidad de hongos. Para ello se usará el método de difusión en placa y diluciones. En botellas con tapa rosca se colocarán 90 ml de agua de la llave junto con aproximadamente 20 esferas de vidrio y se llevará a esterilización a 121°C por 20 minutos a 15 psi en un autoclave. Una vez transcurrido este tiempo se deja enfriar las botellas. Para preparar la dilución 1/10 se pesarán 10 gramos de suelo, los que se colocarán en la botella que contenía 90 ml de agua de llave estéril. La suspensión resultante será agitada por 1 hora. Una vez transcurrido éste tiempo se preparará las diluciones 1/10² y 1/10³. Cien microlitros (100 µl) de las diluciones 1/10, 1/10², 1/10³ deberán ser colocados y extendidos por duplicado, sobre la superficie de cajas Petri que contendrán agar papa dextrosa (PDA) y agar extracto de malta al 3%, suplementados con sulfato de estreptomicina, a una concentración de 50ug/ml y rifampicina a una concentración de 10 ug/ml. Las cajas inoculadas deberán ser incubadas a 4°C y 26°C por dos semanas. Luego de la incubación se procederá a contar el número de colonias de hongos presentes en cada una de las cajas y si es posible el número de colonias diferentes. El número de ufc por gramo de suelo será calculado para aquellas diluciones en las que el número de colonias se encuentre en un rango entre 30 hasta 300, usando la siguiente fórmula:

$$UFC/ g \text{ de suelo} = \frac{N \times FD \times Vt}{Vi \times S}$$

Donde:

N Número de colonias.

FD Dilución en la cual se contó N (Ej.: Conteo realizado en la dilución 1/10³, FD = 1x10³).

Vt Volumen de la dilución 1/10, en mililitros.

Vi Volumen inoculado en mililitros.

S Cantidad de suelo utilizada para preparar la dilución 1/10.

6.7.2.2. Aislamiento, purificación y almacenamiento de hongos psicrófilos y psicrótrofos.

Los platos que presenten crecimiento visible y diversidad de colonias de hongos se escogerán para proceder con el aislamiento selectivo de las cepas. Con la ayuda de una aguja estéril se tomará un trozo de agar que contuvo la colonia del hongo aislado y deberá ser colocado en el centro de la caja Petri con medio PDA, para permitir el crecimiento radial del hongo. Los platos aislados se incubarán a 4°C y 26°C, por dos semanas. Aquellos que luego del período de incubación presentaron características de cultivo puro, serán etiquetados y posteriormente se almacenarán en tubos plásticos que contengan 1 mililitro de glicerol al 20% (w/v) para posteriormente ser guardados a -10°C en un congelador, para su preservación a largo plazo.

6.7.3. Caracterización macroscópica de los cultivos.

Los cultivos puros obtenidos se agruparán de acuerdo a la morfología y coloración de las colonias, los que se determinarán usando una tabla estándar de colores. Para los hongos se realizará la determinación del color del micelio, reverso de la colonia y pigmento

difusible; si la colonia crece a nivel del medio, bajo el nivel del medio, o sobre el nivel del medio, si es polvosa o algodonosa, la presencia de gotículas y halo de la colonia.

6.7.4. Caracterización microscópica de los cultivos.

Los hongos aislados serán usados para preparar muestras que se observarán bajo el microscopio, en las que se determinará el tipo de esporulación, tipo de micelio, forma de la espora, color del micelio y espora para aquellos que esporulen.

6.7.5 Pruebas fisiológicas de crecimiento.

6.7.5.1. Rango de crecimiento en función de la temperatura.

Se inocularán 3 µl de suspensiones de esporas previamente preparadas, sobre la superficie de PDA. Los platos aislados a 4°C serán incubados a 26°C, 37°C y 50°C por 7 días, mientras que los aislados a 26°C, serán incubados a 4°C, 37°C y 50°C durante el mismo tiempo. Transcurrido el tiempo de incubación se evaluarán las cajas para observar el crecimiento de los hongos, el mismo que se evaluará mediante código binario. Al hongo que presente crecimiento, se le asignará 1, en caso contrario, es decir, ausencia de crecimiento, 0. Los hongos podrán ser clasificados como psicrófilos, psicrótrofos y mesófilos, dependiendo del rango de temperatura de crecimiento.

6.7.5.2. Rango de crecimiento en función del pH.

Se inocularán 3 µl de las suspensiones de esporas de hongos en la superficie de PDA, ajustado a los pHs 4.5, 5.5, 6.5, 7.5, 8.5, y 9.5. El pH se ajustará con la ayuda de sistemas de búferes, evitando cambios en el pH debido al metabolismo de los microorganismos. Las cajas se incubarán dependiendo de la temperatura óptima que se obtuvieron en la sección anterior, durante 7 días. Transcurrido el tiempo de incubación se evaluarán las cajas para observar el crecimiento de los hongos, el mismo que se evaluará mediante código binario. Al hongo que presente crecimiento, se asignará 1, en caso contrario, es decir, ausencia de crecimiento, 0.

6.7.5.3. Rango de crecimiento en función de la salinidad.

Se inocularán 3 μ l de las suspensiones de esporas de hongos en la superficie de PDA que contendrán 1, 5, 10% NaCl w/v. Las cajas se incubaron dependiendo de la temperatura óptima que se obtuvo en la sección 6.7.4.1., durante 7 días. Transcurrido el tiempo de incubación se evaluarán las cajas para observar el crecimiento de los hongos, el mismo que se evaluará mediante código binario. Al hongo que presente crecimiento, se asignará 1, en caso contrario, es decir, ausencia de crecimiento, 0.

6.8 Administración

INDICADORES A MEJORAR	SITUACIÓN ACTUAL	RESULTADOS ESPERADOS	ACTIVIDADES	RESPONSABLES
-----------------------	------------------	----------------------	-------------	--------------

Establecimiento de una metodología para el aislamiento selectivo de hongos.	Carencia de datos de biodiversidad y metabolismo de hongos psicrófilos y psicrótrofos.	Aislamiento de gran variedad de hongos presentes en ecosistemas glaciares de la Antártida y del Chimborazo.	Caracterización macroscópica y microscópica de hongos aislados.	Docente
	.	Hallazgo de nuevos compuestos bioactivos para su aplicación biotecnológica.	Pruebas fisiológicas y bioquímicas de los hongos aislados (pH, salinidad, temperatura).	Investigador
	Resistencia de patógenos a antibióticos.			Estudiante
			Análisis de datos fenotípicos.	Tesistas

Elaborado por: Jenny correa, 2012.

6.9 Previsión de la evaluación

PREGUNTAS BÁSICAS	EXPLICACIÓN

¿Quiénes solicitan evaluar?	Docente Investigador
¿Por qué evaluar?	Proporciona información acerca de los mecanismos adquiridos por hongos sometidos a condiciones extremas de humedad y temperatura como en ecosistemas glaciares de la Antártida y del Chimborazo.
¿Para qué evaluar?	Para la determinación de la biodiversidad presente en ecosistemas glaciares de la Antártida y el Chimborazo
¿Qué evaluar?	Datos obtenidos a partir de taxonomía numérica.
¿Quién evalúa?	Docente
¿Cuándo evaluar?	Al finalizar las pruebas de taxonomía numérica.
¿Cómo evaluar?	Realizando una matriz en código binario para la elaboración de un dendrograma.
Con qué evaluar	Programa NTSys y MSTATC (análisis estadístico).

Elaborado por: Jenny Correa, 2012.

BIBLIOGRAFÍA

1. **BARREIRO, José y SANDOVAL, Almeida. 2006.** Operaciones de conservación de alimentos por bajas temperaturas. Editorial Equinoccio, Universidad de Simón Bolívar. Primera edición. Caracas – Venezuela. Pag. 47.
2. **BOTERO, Luis. 1990.** Chimborazo de los indios. Colección antropológica aplicada N°1, Primera edición. Ediciones Abya-Yala. Quito-Ecuador. Pag. 177
3. **BRYSON, Bill. 2003.** The rough guide to Ecuador. "Rough Guides are consistently readable, informed and, most crucially, reliable." Second edition. Sunday Telegraph, London. Pag. 229.
4. **CAMPORA, L. 1997,** La Antártica, Ministerio de Defensa, Chile. Pag. 6, 8, 11.
5. **CASTILLO, Francisco, et al., 2005.** Biotecnología Ambiental, Editorial Tébar, S.I. Madrid - España. Pag 382, 383, 384.
6. **CÓRDOVA, Hildegardo. 2002.** Naturaleza y sociedad, una introducción a la geografía. Primera edición. Perú.
7. **DEMING J.W. 2002.** Psicofilos and polar regions Current Opinion in Microbiology, 5: 301-309.
8. **ELLNER, Richard, 2000.** Microbiología de la leche y de los productos lácteos, preguntas y respuestas. Ediciones Díaz de Santos, S. A. Madrid España. Pag. 22
9. **GARCÍA, Vera. 2004. Introducción a la Microbiología,** Segunda edición, Puerto Rico. Pag. 84-94
10. **GODAGNONE, R., 2002.** La Antártida, un Desafío para Pedólogos, Sistema de Información Geográfica Arq. Juan C. de la Fuente. INTA – Dirección Nacional del Antártico. Buenos Aires.
11. **GOFF, L. 1999.** Biodiversidad antártica. Diario el país. Madrid-España
12. **GONZÁLES, Antonio, 1998.** Los sistemas de clasificación de los seres vivos, volumen 26 Ediciones Akal S.A., Madrid-España. Pag 51.
13. **HERNÁNDEZ, Alicia, et al., 2003** Microbiología Industrial. Editorial EUNED, Pag 16, 26.
14. **IZAGUIRRE, Irina y MATALONI, Gabriela. 2000,** Antártida, descubriendo el continente blanco. Ediciones Caleuche, primera edición. Argentina. Pag 17, 93.

15. **KALMAN, Bobbie, 2000.** ¿Qué le da forma a la tierra?. Crabtree, Publishing Company.
16. **MADIGAN, Michael; MARTINKO, John M; PARKER, Jack. 2004.** "BROCK Biología de los microorganismos"; 10° edición; Pearson Educación; Madrid.
17. **MARGESIN R., FELLER G., GERDAY C., RUSSELL N. 2002.** Coldadapted microorganisms: adaptation strategies and biotechnological potential. En: The Bitton Ed., Encyclopedia of Environmental Microbiology. G. John Wiley & Sons, New York, Vol.2. Pag 871-885.
18. **MATTERA, Joanne, 2003.** Maravillas naturales. Antártida el glaciar más grande del mundo. Primera edición, The Rosen Publishing Group, Inc. Editorial Buenas letras. New York. Pag. 4-6
19. **MENA, Patricio y HOFSTEDDE, Robert. 2006.** Los páramos ecuatorianos. Botánica Económica de los Andes Centrales. La Paz – Bolivia.
20. **MONTAÑO, Noé. SANDOVAL, Ana. CAMARGO, Sara. SÁNCHEZ, Juan. 2010.** Los microorganismos: pequeños gigantes. Ciencia y cultura, elementos.
21. **MURRAY, Patrick, POSENYHAL, Ken, PFALLER, Michael, 2007.** Microbiología Médica. Sexta edición. Barcelona - España. Pag. 57, 58, 61.
22. **ODUM, Eugene y BARRETT, Gary. 2005.** Fundamentos de ecología. Ediciones Thomson. Quinta Edición. Australia. Pag. 348.
23. **ORDÓÑEZ, et al., 2008.** Aislamiento e Identificación de Microhongos Terrestres de Punta Fort William, Antártida. Revista Tecnológica ESPOL – RTE, Vol. xx, N. xx, pp-pp, (Mes, 200x), ISSN: 0257-1749. Pag 2, 25, 81.
24. **PÁRES, Ramón y JUÁREZ, Antonio, 2002.** Bioquímica de los microorganismos. Primera reimpresión. Editorial Reverté, S.A. Barselona España. Pag 6.
25. **POSTGATE, John. 2009.** Las fronteras de la vida. Primera edición en Drakontos Bolsillo. Madrid- España Pag. 42 - 45
26. **PRATS, Guillerme, 2005,** Microbiología clínica. Editorial médica panamericana. Primera edición. Buenos Aires. Pag 85.

27. **PUMALORA, Agustín. 1987.** Microbiología y parasitología médica, Segunda Edición. Masson S.A. Barcelona – España. Pag 102
28. **ROBINSON, Clare. 2001.** Cold adaptation in Arctic and Antarctic fungi. Research review. Londres-UK.
29. **RODRÍGUEZ, Carlos, 2003.** Antropología dental prehispánica. Primera edición. Syllaba Press. Pag 108-110.
30. **RUSSELL, Nicholas. 2006.** Antarctic micro-organisms: coming in from the cold. Volumen 2 7 No 2
31. **SÁNCHEZ, Rodolfo, 2008.** Antártida. Introducción a un continente remoto. Editorial Albatros Saci. Primera edición. Argentina. Pag. 17
32. **STANIER, Roguer. et al., 1992.** Microbiología. Segunda edición. Editorial Reverté, S.A. Barcelona-España. Pag. 335
33. **TORTORA, Gerard, FUNKE, Berdell, CASE, Christine. 2007.** Introducción a la microbiología. Novena edición. Editorial médica Panamericana, Estados Unidos. Pag. 160
34. **VALENCIA, E., CABRIALES, J. 2001.** El suelo y sus habitantes microbianos, consideraciones ecológicas. Avance y perspectiva. Noviembre-Diciembre. Vol 20.
35. **VELASTEGUÍ, Ramiro, 2012.** Características macroscópicas y microscópicas de los hongos. Comunicación personal. Universidad técnica de Ambato, Faculta de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.
36. **VILLAS, Roberto. et al. 2003.** Patrimonio geológico minero en el contexto del cierre de minas. Río de Janeiro, RJ, Brasil. Pag. 165

ANEXO A

DATOS EXPERIMENTALES

Tabla A1. Características fisicoquímicas de las muestras medioambientales de la Antártida y del Chimborazo.

Muestra	Antártida Arena	Antártida Suelo	Chimborazo
pH	7,85	6,82	6,14
Conductividad (us/cm)	2140	152	49
%Humedad	5,10	7,84	22,71
%Materia orgánica	2,28	5,45	2,88

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A2. Número de colonias obtenidas de los platos del aislamiento selectivo.

Muestra	Medio	Temperatura °C	R1	R2	Dilución
Antártida suelo	PDA	4	57	50	1,00x10 ²
Antártida suelo	MALTA	4	56	57	1,00 x10 ²
Antártida suelo	PDA	26	188	110	1,00 x10 ¹
Antártida suelo	MALTA	26	114	107	1,00 x10 ¹
Antártida arena	PDA	4	15	14	1,00 x10 ¹
Antártida arena	MALTA	4	9	10	1,00 x10 ¹
Antártida arena	PDA	26	1	2	1,00 x10 ¹
Antártida arena	MALTA	26	1	1	1,00 x10 ¹
Chimborazo Suelo	PDA	4	16	16	1,00 x10 ²
Chimborazo Suelo	MALTA	4	15	13	1,00 x10 ²
Chimborazo Suelo	PDA	26	50	48	1,00 x10 ¹
Chimborazo Suelo	MALTA	26	46	55	1,00 x10 ¹

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A3. Número de ufc/g suelo seco

Muestra	Agar	Temperatura °C	R1	R2
Antártida suelo	PDA	4	556631	488273
Antártida suelo	PDA	26	183591	107420
Antártida suelo	MALTA	4	546866	556631
Antártida suelo	MALTA	26	111326	104490
Antártida arena	PDA	4	14226	13277
Antártida arena	PDA	26	948	1897
Antártida arena	MALTA	4	8535	9484
Antártida arena	MALTA	26	948	948
Chimborazo Suelo	PDA	4	186301	186301
Chimborazo Suelo	PDA	26	58219	55890
Chimborazo Suelo	MALTA	4	174657	151370
Chimborazo Suelo	MALTA	26	53562	64041

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A4. Codificación de hongos aislados de muestras medioambientales de la Antártida y del Chimborazo

Código	Procedencia	Repetición	Dilución	Medio	Temperatura °C
AN-340	Suelo Antártida	2	1/10	PDA	26
AN-341	Suelo Antártida	1	1/100	PDA	26
AN-342	Suelo Antártida	2	1/1000	PDA	26
AN-344	Suelo Antártida	2	1/1000	PDA	26
AN-345	Suelo Antártida	2	1/1000	PDA	26
AN-346	Suelo Antártida	2	1/1000	PDA	26
AN-358	Suelo Antártida	1	1/10	PDA	26
AN-368	Suelo Antártida	1	1/1000	PDA	26
AN-369	Suelo Antártida	1	1/1000	PDA	26
AN-372	Suelo Antártida	2	1/100	PDA	26
AN-150	Suelo Antártida	2	1/10	PDA	26
AN-507	Suelo Antártida	2	1/100	PDA	26
AN-508	Suelo Antártida	1	1/100	PDA	26
AN-509	Suelo Antártida	2	1/1000	PDA	26
AN-515	Arena Antártida	1	1/10	PDA	26
AN-516	Arena Antártida	1	1/10	PDA	26
AN-519	Suelo Antártida	2	1/1000	PDA	26
AN-520	Suelo Antártida	1	1/100	PDA	26
AN-521	Suelo Antártida	2	1/100	PDA	26
AN-522	Suelo Antártida	1	1/100	PDA	26
AN-366	Suelo Antártida	2	1/100	AEM	26

Tabla A4. Continuación...

AN-367	Suelo Antártida	2	1/1000	AEM	26
AN-370	Suelo Antártida	1	1/10	AEM	26
AN-371	Suelo Antártida	1	1/100	AEM	26
AN-501	Suelo Antártida	2	1/1000	AEM	26
AN-502	Suelo Antártida	2	1/1000	AEM	26
AN-503	Suelo Antártida	2	1/1000	AEM	26
AN-505	Suelo Antártida	2	1/100	AEM	26
AN-506	Suelo Antártida	1	1/100	AEM	26
AN-512	Arena Antártida	1	1/10	AEM	26
AN-513	Arena Antártida	1	1/10	AEM	26
AN-517	Suelo Antártida	1	1/100	AEM	26
AN-518	Suelo Antártida	1	1/100	AEM	26
AN-523	Arena Antártida	1	1/10	AEM	26
AN-524	Arena Antártida	1	1/10	AEM	26
CH-3541	Chimborazo Suelo	1	1/1000	PDA	26
CH-353	Chimborazo Suelo	2	1/1000	PDA	26
CH-354	Chimborazo Suelo	1	1/1000	PDA	26
CH-3542	Chimborazo Suelo	1	1/1000	PDA	26
CH-355	Chimborazo Suelo	1	1/100	PDA	26
CH-356	Chimborazo Suelo	2	1/10	PDA	26
CH-357	Chimborazo Suelo	2	1/10	PDA	26
CH-360	Chimborazo Suelo	2	1/100	PDA	26

Tabla A4. Continuación...

CH-148	Chimborazo	1	1/10	PDA	26
--------	------------	---	------	-----	----

CH-149	Chimborazo	2	1/100	PDA	26
CH-704	Chimborazo	1	1/1000	PDA	26
CH-347	Chimborazo	2	1/10	AEM	26
CH-348	Chimborazo	2	1/100	AEM	26
CH-349	Chimborazo	2	1/100	AEM	26
CH-350	Chimborazo	1	1/100	AEM	26
CH-351	Chimborazo	1	1/100	AEM	26
CH-352	Chimborazo	1	1/100	AEM	26
CH-359	Chimborazo	2	1/100	AEM	26
CH-152	Chimborazo	2	1/100	AEM	26
AN-327	Suelo Antártida	1	1/10	PDA	4
AN-328	Suelo Antártida	1	1/10	PDA	4
AN-329	Suelo Antártida	1	1/10	PDA	4
AN-330	Suelo Antártida	1	1/100	PDA	4
AN-339	Suelo Antártida	1	1/10	PDA	4
AN-534	Suelo Antártida	2	1/100	PDA	4
AN-535	Suelo Antártida	2	1/100	PDA	4
AN-536	Suelo Antártida	1	1/1000	PDA	4
AN-539	Arena Antártida	2	1/10	PDA	4
AN-314	Suelo Antártida	2	1/100	AEM	4
AN-315	Suelo Antártida	1	1/100	AEM	4

Tabla A4. Continuación...

AN-316	Suelo Antártida	1	1/10	AEM	4
AN-317	Suelo Antártida	2	1/10	AEM	4

AN-322	Suelo Antártida	2	1/10	AEM	4
AN-323	Suelo Antártida	2	1/10	AEM	4
AN-324	Suelo Antártida	1	1/10	AEM	4
AN-325	Suelo Antártida	1	1/10	AEM	4
AN-326	Suelo Antártida	1	1/10	AEM	4
AN-529	Suelo Antártida	2	1/10	AEM	4
AN-530	Suelo Antártida	2	1/100	AEM	4
AN-531	Suelo Antártida	2	1/100	AEM	4
AN-532	Suelo Antártida	2	1/1000	AEM	4
AN-533	Suelo Antártida	2	1/1000	AEM	4
AN-537	Arena Antártida	1	1/10	AEM	4
AN-538	Arena Antártida	2	1/10	AEM	4
CH-331	Chimborazo Suelo	2	1/100	PDA	4
CH-334	Chimborazo Suelo	2	1/1000	PDA	4
CH-335	Chimborazo Suelo	1	1/1000	PDA	4
CH-107	Chimborazo Suelo	1	1/1000	PDA	4
CH-108	Chimborazo Suelo	2	1/1000	PDA	4
CH-110	Chimborazo Suelo	1	1/1000	PDA	4
CH-338	Chimborazo Suelo	1	1/1000	AEM	4

Tabla A4. Continuación...

CH-113	Chimborazo Suelo	2	1/1000	AEM	4
CH-115	Chimborazo Suelo	1	1/100	AEM	4
CH-116	Chimborazo Suelo	1	1/100	AEM	4

Tabla A5. Grupos de color formados por hongos aislados de muestras medioambientales de la Antártida y del Chimborazo de 4 y 26°C.

N°	Color			Código	Procedencia	Agar	Temperatura °C
	Micelio	Reverso de la colonia	Pigmento difusible				
1	amarillo limón	jacarandá	-	AN-515	Arena	PDA	26
				AN-512	Arena	AEM	26
				AN-523	Arena	AEM	26
2	amarillo metálico	capuccino	salmón	AN-535	Suelo	PDA	4
3	amarillo piel	amarillo piel		AN-532	Suelo	AEM	4
4	azul caribe	capuccino		CH-338	Suelo	AEM	4
5	blanco	amarillo piel		AN-533	Suelo	AEM	4
6	blanco	blanco	-	AN-342	Suelo	PDA	26
				CH-355	Suelo	PDA	26
7	blanco	capuccino	-	AN-537	Arena	AEM	4
8	blanco	jacarandá	-	CH-335	Suelo	PDA	4
				CH-116	Suelo	AEM	4

Tabla A5. Continuación...

9	blanco	marfil	-	AN-340	Suelo	PDA	26
				CH-354	Suelo o	PDA	26
10	blanco	negro	rosa oscuro	AN-327	Suelo	PDA	4

11	blanco	piel	-	AN-358	Suelo	PDA	26
				AN-150	Suelo	PDA	26
				AN-530	Suelo	AEM	4
12	blanco	salmón		AN-502	Suelo	AEM	26
13	blanco metálico	magenta	-	AN-316	Suelo	AEM	4
				AN-325	Suelo	AEM	4
14	capuccino	capuccino	melocotón	CH-334	Suelo	PDA	4
15	cobre glitter	sienna natural	salmón	AN-509	Suelo	PDA	26
16	cobre metálico	sienna natural	amarillo canario	CH-152	Suelo	AEM	26
17	crystal	marfil	-	AN-345	Suelo	PDA	26
18	gris lunar	gris lunar	-	AN-507	Suelo	PDA	26
				AN-521	Suelo	PDA	26
				AN-314	Suelo	AEM	4
19	gris lunar	jacarandá	oro metálico	AN-322	Suelo	AEM	4
20	gris lunar	negro	-	CH-704	Suelo	PDA	26

Tabla A5. Continuación...

21	incolore	incolore	-	CH-349	Suelo	AEM	26
				CH-351	Suelo	AEM	26
				CH-352	Suelo	AEM	26
22	incolore	marfil		AN-370	Suelo	AEM	26

23	marfil	cerámica	-	AN-369	Suelo	PDA	26
				AN-372	Suelo	PDA	26
24	marfil	marfil	-	AN-329	Suelo	PDA	4
				AN-330	Suelo	PDA	4
				AN-536	Suelo	PDA	4
				AN-317	Suelo	AEM	4
				AN-326	Suelo	AEM	4
25	melocotón	sepia	amarillo piel	CH-107	Suelo	PDA	4
26	ocre oro	cappuccino	-	AN-315	Suelo	AEM	4
27	oro metálico	jacarandá	amarillo oro	CH-149	Suelo	PDA	26
28	plata metálica	cappuccino	-	CH-3541	Suelo	PDA	26
				CH-3542	Suelo	PDA	26
29	plata metálica	marrón	-	AN-534	Suelo	PDA	4
30	plata metálica	melocotón	-	AN-538	Arena	AEM	4

Tabla A5. Continuación...

31	plata metálico	amarillo canario	verde manzana	AN-516	Arena	PDA	26
				AN-513	Arena	AEM	26
32	plata metálico	amarillo canario	verde manzana	AN-524	Arena	AEM	26
33	plata metálico	jacarandá	-	AN-501	Suelo	AEM	26

34	plata metálico	negro	-	AN-517	Suelo	AEM	26
				AN-518	Suelo	AEM	26
35	rosa	melocotón	-	AN-328	Suelo	PDA	4
				AN-339	Suelo	PDA	4
36	rosa	marfil	-	CH-331	Suelo	PDA	4
37	rosa té	cobre	cobre metálico	AN-366	Suelo	AEM	26
				AN-371	Suelo	AEM	26
38	sienna natural	verde pistache	amarillo oro	CH-356	Suelo	PDA	26
39	verde bandera	oro metálico	oro metálico	AN-341	Suelo	PDA	26
40	verde bandera	marfil	verde gramo	AN-520	Suelo	PDA	26
41	verde bandera	amarillo piel	-	AN-503	Suelo	AEM	26
				CH-359	Suelo	AEM	26
42	verde bandera	verde hoja	verde musgo	AN-508	Suelo	PDA	26
				AN-522	Suelo	PDA	26

Tabla A5. Continuación...

43	verde bandera	salmón	verde hoja	AN-505	Suelo	AEM	26
44	verde bandera	verde musgo	verde manzana	AN-506	Suelo	AEM	26
45	verde gramo	melocotón	amarillo piel	AN-344	Suelo	PDA	26
46	verde	verde oliva	amarillo	CH-108	Suelo	PDA	4

	gramo		piel				
47	verde gramo	negro	rosa oscuro	AN-324	Suelo	AEM	4
48	verde gramo	negro	-	CH-110	Suelo	PDA	4
				CH-115	Suelo	AEM	4
				AN-367	Suelo	AEM	26
49	verde gramo	salmón	-	CH-357	Suelo	PDA	26
50	verde metálico	amarillo piel	-	AN-368	Suelo	PDA	26
51	verde metálico	jacarandá	salmón	CH-148	Suelo	PDA	26
52	verde metálico	marfil	-	CH-113	Suelo	AEM	4
53	verde pino	sienna natural	-	CH-353	Suelo	PDA	26
54	verde pino	verde oliva	-	CH-347	Suelo	AEM	26
55	verde pistache	jacarandá	cobre	CH-348	Suelo	AEM	26
				CH-350	Suelo	AEM	26

Tabla A5. Continuación...

56	verde veronese	verde gramo	-	AN-346	Suelo	PDA	26
57	verde veronese	piel	verde gramo	AN-519	Suelo	PDA	26
58	verde veronese	piel	-	CH-360	Suelo	PDA	26
59	verde	verde	-	AN-539	Arena	PDA	4

	veronese	metálico					
60	verde veronese	melocotón	-	AN-323	Suelo	AEM	4
61	verde veronese	amarillo piel	-	AN-529	Suelo	AEM	4
62	verde veronese	verde veronese	-	AN-531	Suelo	AEM	4

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A6. Características Macroscópicas de hongos aislados de las muestras medioambientales de la Antártida y del Chimborazo.

Código	Procedencia de muestra	Relieve	Borde	Textura	Brillo
--------	------------------------------	---------	-------	---------	--------

			Sobre relieve	Nivel del medio	Bajo el nivel del medio	Aserrado	Lobulado	Irregular	Filamentoso	Polvosa	Algodonosa	Brillante	Mate
AN-340	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-341	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-342	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0
AN-344	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-345	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0
AN-346	Suelo	26	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1
AN-358	Suelo	26	0	0	1	0	1	0	0	0	1	1	0
AN-368	Suelo	26	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1
AN-369	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-372	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-150	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0
AN-507	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
AN-508	Suelo	26	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1

Tabla A6. Continuación...

AN-509	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-515	Arena	26	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
AN-516	Arena	26	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1
AN-519	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1

AN-520	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-521	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
AN-522	Suelo	26	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1
AN-366	Suelo	26	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1
AN-367	Suelo	26	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1
AN-370	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-371	Suelo	26	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1
AN-501	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-502	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-503	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-505	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-506	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-512	Arena	26	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1
AN-513	Arena	26	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1
AN-517	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0
AN-518	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0
AN-523	Arena	26	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	1

Tabla A6. Continuación...

AN-524	Arena	26	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1
CH-3541	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
CH-353	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
CH-354	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0
CH-3542	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1

CH-355	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0
CH-356	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0
CH-357	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
CH-360	Suelo	26	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0
CH-148	Suelo	26	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1
CH-149	Suelo	26	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0
CH-704	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
CH-347	Suelo	26	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1
CH-348	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0
CH-349	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
CH-350	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0
CH-351	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
CH-352	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
CH-359	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1
CH-152	Suelo	26	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1
AN-327	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1

Tabla A6. Continuación...

AN-328	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0
AN-329	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1
AN-330	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-339	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0
AN-534	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1
AN-535	Suelo	4	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0

AN-536	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-539	Arena	4	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-314	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1
AN-315	Suelo	4	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1
AN-316	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0
AN-317	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-322	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0
AN-323	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-324	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0
AN-325	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0
AN-326	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-529	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-530	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0
AN-531	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1
AN-532	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0

Tabla A6. Continuación...

AN-533	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0
AN-537	Arena	4	0	1	0	0	0	0	1	0	1	1	0
AN-538	Arena	4	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	1
CH-331	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	0	1	0	1
CH-334	Suelo	4	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	1
CH-335	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	1	0	1	0
CH-107	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	1

AN-340	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-341	Suelo	26	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-342	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-344	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-345	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-346	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-358	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-368	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-369	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-372	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-150	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-507	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-508	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-509	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-515	Arena	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla A7. Continuación...

AN-516	Arena	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-519	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-520	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-521	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-522	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-366	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-367	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

AN-370	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-371	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-501	Suelo	26	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
AN-502	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-503	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-505	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-506	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-512	Arena	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-513	Arena	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-517	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-518	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-523	Arena	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-524	Arena	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-3541	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla A7. Continuación...

CH-353	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
CH-354	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
CH-3542	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-355	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
CH-356	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
CH-357	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-360	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CH-148	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-149	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-704	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-347	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-348	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-349	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-350	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-351	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-352	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-359	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-152	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-327	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
AN-328	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-329	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla A7. Continuación...

AN-330	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-339	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-534	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
AN-535	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-536	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-539	Arena	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-314	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

AN-315	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-316	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN-317	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-322	Suelo	4	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
AN-323	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-324	Suelo	4	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-325	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN-326	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-529	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-530	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
AN-531	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-532	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-533	Suelo	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-537	Arena	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla A7. Continuación...

AN-538	Arena	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
CH-331	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-334	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-335	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
CH-107	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-108	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-110	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

CH-338	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
CH-113	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-115	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-116	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A8. Características macroscópicas de hongos aislados de la rizósfera de la Antártida y del Chimborazo.

Código	Procedencia temperatura de preservación	Halo													
		Color derecho													

					amarillo linón	amarillo piel	blanco	blanco metálico	capuccino	durazno	incoloro	marfil	melocotón	ocre oro	sienna natural	verde bandera	verde gramo
AN-340	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-341	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-342	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-344	Suelo	26	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-345	Suelo	26	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-346	Suelo	26	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-358	Suelo	26	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-368	Suelo	26	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-369	Suelo	26	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-372	Suelo	26	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-150	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-507	Suelo	26	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-508	Suelo	26	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-509	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-515	Arena	26	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

Tabla A8. Continuación...

AN-516	Arena	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-519	Suelo	26	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-520	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-521	Suelo	26	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0

AN-522	Suelo	26	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-366	Suelo	26	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-367	Suelo	26	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
AN-370	Suelo	26	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN-371	Suelo	26	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-501	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
AN-502	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN-503	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN-505	Suelo	26	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-506	Suelo	26	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-512	Arena	26	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
AN-513	Arena	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN-517	Suelo	26	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-518	Suelo	26	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-523	Arena	26	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
AN-524	Arena	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
CH-3541	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

Tabla A8. Continuación...

CH-353	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
CH-354	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
CH-3542	Suelo	26	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
CH-355	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
CH-356	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0

CH-357	Suelo	26	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-360	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
CH-148	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
CH-149	Suelo	26	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-704	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
CH-347	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
CH-348	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
CH-349	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-350	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
CH-351	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-352	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-359	Suelo	26	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-152	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
AN-327	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-328	Suelo	4	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-329	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

Tabla A8. Continuación...

AN-330	Suelo	4	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-339	Suelo	4	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-534	Suelo	4	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-535	Suelo	4	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-536	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-539	Arena	4	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

AN-314	Suelo	4	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-315	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-316	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN-317	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-322	Suelo	4	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-323	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-324	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-325	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN-326	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-529	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-530	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-531	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-532	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-533	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-537	Arena	4	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

Tabla A8. Continuación...

AN-538	Arena	4	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-331	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
CH-334	Suelo	4	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-335	Suelo	4	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
CH-107	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
CH-108	Suelo	4	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-110	Suelo	4	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0

CH-338	Suelo	4	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
CH-113	Suelo	4	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-115	Suelo	4	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-116	Suelo	4	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A9. Características macroscópicas de hongos aislados de la rizósfera de la Antártida y del Chimborazo.

Código	Procedencia	Temperatura de aislamiento	Halo																										
			Color Inverso																										
			amarillo cadmio	amarillo oro	amarillo piel	blanco	blanco metálico	cappuccino	incoloro	marfil	oro metálico	piel	salmón	siena natural	verde bandera	verde gramo													

AN-340	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-341	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-342	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-344	Suelo	26	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-345	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-346	Suelo	26	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-358	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN-368	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
AN-369	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-372	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-150	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-507	Suelo	26	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-508	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN-509	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-515	Arena	26	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla A9. Continuación...

AN-516	Arena	26	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN-519	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0
AN-520	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-521	Suelo	26	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-522	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN-366	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN-367	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
AN-370	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

AN-371	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
AN-501	Suelo	26	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
AN-502	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
AN-503	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
AN-505	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
AN-506	Suelo	26	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
AN-512	Arena	26	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
AN-513	Arena	26	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
AN-517	Suelo	26	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
AN-518	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	
AN-523	Arena	26	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
AN-524	Arena	26	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	
CH-3541	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1

Tabla A9. Continuación...

CH-353	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
CH-354	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
CH-3542	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
CH-355	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
CH-356	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
CH-357	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
CH-360	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
CH-148	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
CH-149	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0

CH-704	Suelo	26	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-347	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
CH-348	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
CH-349	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-350	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
CH-351	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-352	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-359	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
CH-152	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-327	Suelo	4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
AN-328	Suelo	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-329	Suelo	4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

Tabla A9. Continuación...

AN-330	Suelo	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-339	Suelo	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-534	Suelo	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-535	Suelo	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-536	Suelo	4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
AN-539	Arena	4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
AN-314	Suelo	4	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-315	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AN-316	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-317	Suelo	4	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0

AN-322	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
AN-323	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-324	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-325	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
AN-326	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-529	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-530	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-531	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-532	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-533	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
AN-537	Arena	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0

Tabla A9. Continuación...

AN-538	Arena	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-331	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
CH-334	Suelo	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-335	Suelo	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CH-107	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
CH-108	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
CH-110	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
CH-338	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
CH-113	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
CH-115	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
CH-116	Suelo	4	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabla A10. Características microscópicas de hongos aislados de la rizósfera de la Antártida y del Chimborazo.

Código	Procedencia	Temperatura de aislamiento °C	Tipo de micelio		Esporulación	Tipo de espora		Coloración	
			Tabicado	Cenocítico		Unicelular	Pluricelular	Conidióforo	Espora
AN-340	Suelo	26	1	0	1	1	0	0	1

AN-341	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
AN-342	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
AN-344	Suelo	26	1	0	1	1	0	0	1
AN-345	Suelo	26	0	1	1	0	1	0	0
AN-346	Suelo	26	0	1	1	1	0	0	1
AN-358	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
AN-368	Suelo	26	1	0	1	1	0	0	1
AN-369	Suelo	26	0	1	1	1	0	1	1
AN-372	Suelo	26	0	1	1	1	0	1	1
AN-150	Suelo	26	0	1	1	1	0	0	0
AN-507	Suelo	26	0	1	1	1	0	1	1
AN-508	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	0

Tabla A10. Continuación...

AN-509	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
AN-515	Arena	26	0	1	1	1	0	0	1
AN-516	Arena	26	1	0	1	1	0	1	1
AN-519	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	0
AN-520	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	0
AN-521	Suelo	26	0	1	1	1	0	1	1
AN-522	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	0
AN-366	Suelo	26	1	0	1	1	0	0	0
AN-367	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
AN-370	Suelo	26	1	0	1	1	0	0	1
AN-371	Suelo	26	1	0	1	1	0	0	0

AN-501	Suelo	26	1	0	1	1	0	0	1
AN-502	Suelo	26	0	1	1	1	0	0	1
AN-503	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
AN-505	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
AN-506	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
AN-512	Arena	26	1	0	1	1	0	1	1
AN-513	Arena	26	1	0	1	1	0	1	1
AN-517	Suelo	26	1	0	0	0	0	1	0
AN-518	Suelo	26	1	0	0	0	0	1	0
AN-523	Arena	26	1	0	1	1	0	1	1

Tabla A10. Continuación...

AN-524	Arena	26	1	0	1	1	0	1	1
CH-3541	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
CH-353	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
CH-354	Suelo	26	0	1	0	0	0	1	0
CH-3542	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
CH-355	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
CH-356	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
CH-357	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
CH-360	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
CH-148	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
CH-149	Suelo	26	0	1	1	1	0	1	1
CH-704	Suelo	26	1	0	0	0	0	1	0

CH-347	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
CH-348	Suelo	26	1	0	0	0	0	1	0
CH-349	Suelo	26	0	1	0	0	0	1	0
CH-350	Suelo	26	1	0	0	0	0	1	0
CH-351	Suelo	26	0	1	0	0	0	1	0
CH-352	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
CH-359	Suelo	26	1	0	1	1	0	1	1
CH-152	Suelo	26	0	1	0	0	0	1	0

Tabla A10. Continuación...

AN-327	Suelo	4	0	1	1	1	0	1	1
AN-328	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1
AN-329	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1
AN-330	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1
AN-339	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1
AN-534	Suelo	4	0	1	1	1	0	0	1
AN-535	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1
AN-536	Suelo	4	0	1	1	1	0	0	0
AN-539	Arena	4	1	0	1	1	0	1	1
AN-314	Suelo	4	0	1	1	1	0	1	1
AN-315	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1
AN-316	Suelo	4	0	1	1	1	0	0	1
AN-317	Suelo	4	0	1	1	1	0	0	0

AN-322	Suelo	4	0	1	1	1	0	1	1
AN-323	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1
AN-324	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1
AN-325	Suelo	4	0	1	1	1	0	0	1
AN-326	Suelo	4	0	1	1	1	0	0	0
AN-529	Suelo	4	0	1	1	1	0	0	1
AN-530	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1
AN-531	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1

Tabla A10. Continuación...

AN-532	Suelo	4	1	0	1	0	1	1	1
AN-533	Suelo	4	0	1	1	1	0	1	1
AN-537	Arena	4	0	1	1	1	0	1	1
AN-538	Arena	4	1	0	1	1	0	1	1
CH-331	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1
CH-334	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1
CH-335	Suelo	4	0	1	1	1	0	0	0
CH-107	Suelo	4	0	1	1	1	0	1	1
CH-108	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1
CH-110	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1
CH-338	Suelo	4	0	1	1	1	0	0	0
CH-113	Suelo	4	0	1	1	1	0	1	1
CH-115	Suelo	4	1	0	1	1	0	1	1
CH-116	Suelo	4	0	1	1	1	0	0	0

Tabla A11. Características microscópicas de hongos aislados de la rizósfera de la Antártida y del Chimborazo.

Código	Procedencia	Temperatura de aislamiento °C	Forma de la espora						
			1	2	3	4	5	6	7
AN-340	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-341	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-342	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-344	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	0
AN-345	Suelo	26	0	0	0	1	0	0	0
AN-346	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-358	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-368	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-369	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0

AN-372	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-150	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-507	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-508	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-509	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1
AN-515	Arena	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-516	Arena	26	1	0	0	0	0	0	0

Tabla A11. Continuación...

AN-519	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-520	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-521	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-522	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-366	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-367	Suelo	26	0	0	1	0	0	0	0
AN-370	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	0
AN-371	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-501	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1
AN-502	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1
AN-503	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	0
AN-505	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-506	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-512	Arena	26	0	0	0	0	0	0	1
AN-513	Arena	26	1	0	0	0	0	0	0
AN-517	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0

AN-518	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0
AN-523	Arena	26	0	0	0	0	0	0	1
AN-524	Arena	26	1	0	0	0	0	0	0
CH-3541	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	0
CH-353	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0

Tabla A11. Continuación...

CH-354	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0
CH-3542	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	0
CH-355	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
CH-356	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1
CH-357	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
CH-360	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
CH-148	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
CH-149	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	0
CH-704	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0
CH-347	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	1
CH-348	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0
CH-349	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0
CH-350	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0
CH-351	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0
CH-352	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0
CH-359	Suelo	26	1	0	0	0	0	0	0
CH-152	Suelo	26	0	0	0	0	0	0	0

AN-327	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
AN-328	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	1
AN-329	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	0
AN-330	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	0

Tabla A11. Continuación...

AN-339	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	1
AN-534	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	1
AN-535	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	0
AN-536	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
AN-539	Arena	4	1	0	0	0	0	0	0
AN-314	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
AN-315	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
AN-316	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
AN-317	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
AN-322	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	1
AN-323	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	0
AN-324	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
AN-325	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
AN-326	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
AN-529	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
AN-530	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
AN-531	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
AN-532	Suelo	4	0	0	0	1	0	0	0

AN-533	Suelo	4	0	0	0	0	0	0	1
AN-537	Arena	4	1	0	0	0	0	0	0

Tabla A11. Continuación...

AN-538	Arena	4	1	0	0	0	0	0	0
CH-331	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	0
CH-334	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
CH-335	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
CH-107	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
CH-108	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
CH-110	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
CH-338	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
CH-113	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
CH-115	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0
CH-116	Suelo	4	1	0	0	0	0	0	0

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A12. Número de hongos que presentaron crecimiento de acuerdo a diferentes valores de temperatura.

Código	Procedencia	Temperatura de aislamiento °C	Temperatura			Clasificación
			4°C	26°C	37°C	
AN-340	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-341	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-342	Suelo	26	0	1	1	Mesófilo
AN-344	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo
AN-345	Suelo	26	0	1	1	Mesófilo
AN-346	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-358	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-368	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-369	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo
AN-372	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo
AN-150	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo
AN-507	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo

AN-508	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-509	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo
AN-515	Arena	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-516	Arena	26	1	1	0	Psicrótrofo

Tabla A12. Continuación...

AN-519	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-520	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-521	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo
AN-522	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-366	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-367	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-370	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-371	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-501	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-502	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo
AN-503	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-505	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-506	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-512	Arena	26	0	1	0	Mesófilo
AN-513	Arena	26	1	1	0	Psicrótrofo
AN-517	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo
AN-518	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo
AN-523	Arena	26	0	1	0	Mesófilo
AN-524	Arena	26	1	1	0	Psicrótrofo

CH-3541	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo
CH-353	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo

Tabla A12. Continuación...

CH-354	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
CH-3542	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
CH-355	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
CH-356	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo
CH-357	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
CH-360	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
CH-148	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
CH-149	Suelo	26	1	1	1	Mesófilo
CH-704	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
CH-347	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
CH-348	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
CH-349	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
CH-350	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
CH-351	Suelo	26	1	1	0	Psicrótrofo
CH-352	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo
CH-359	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo
CH-152	Suelo	26	0	1	0	Mesófilo
AN-327	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-328	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-329	Suelo	4	1	0	0	Psicrófilo

AN-330	Suelo	4	1	1	1	Mesófilo
--------	-------	---	---	---	---	----------

Tabla A12. Continuación...

AN-339	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-534	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-535	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-536	Suelo	4	1	0	0	Psicrófilo
AN-539	Arena	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-314	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-315	Suelo	4	1	0	0	Psicrófilo
AN-316	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-317	Suelo	4	1	1	1	Mesófilo
AN-322	Suelo	4	1	0	0	Psicrófilo
AN-323	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-324	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-325	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-326	Suelo	4	1	1	1	Mesófilo
AN-529	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-530	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-531	Suelo	4	1	0	0	Psicrófilo
AN-532	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-533	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-537	Arena	4	1	1	0	Psicrótrofo
AN-538	Arena	4	1	0	0	Psicrófilo

Tabla A12. Continuación...

CH-331	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
CH-334	Suelo	4	1	0	0	Psicrófilo
CH-335	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
CH-107	Suelo	4	1	0	0	Psicrófilo
CH-108	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
CH-110	Suelo	4	1	0	0	Psicrófilo
CH-338	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
CH-113	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo
CH-115	Suelo	4	1	0	0	Psicrófilo
CH-116	Suelo	4	1	1	0	Psicrótrofo

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A13. Clasificación de hongos de acuerdo al rango de crecimiento en función de la temperatura de acuerdo a la temperatura de aislamiento.

	Temperatura de aislamiento	
	26°C	4°C
Mesófilos	20	3
Psicrótrofos	34	22
Psicrófilos	0	10

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A14. Número de hongos que presentaron crecimiento de acuerdo a diferentes valores de pH.

Código	Procedencia	Temperatura de aislamiento °C	pH						Clasificación
			4,5	5,5	6,5	7,5	8,5	9,5	
AN-340	Suelo	26	1	1	1	0	0	0	Acidófilo
AN-341	Suelo	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-342	Suelo	26	1	1	0	0	0	0	Acidófilo
AN-344	Suelo	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-345	Suelo	26	1	1	0	0	0	0	Acidófilo
AN-346	Suelo	26	1	1	1	1	1	1	Alcalino tolerante
AN-358	Suelo	26	1	1	0	0	0	0	Acidófilo
AN-368	Suelo	26	1	1	1	1	1	1	Alcalino tolerante
AN-369	Suelo	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-372	Suelo	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-150	Suelo	26	1	1	1	0	0	0	Acidófilo
AN-507	Suelo	26	1	1	1	0	0	0	Acidófilo
AN-508	Suelo	26	1	1	1	1	1	1	Alcalino tolerante
AN-509	Suelo	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-515	Arena	26	1	1	1	0	0	0	Acidófilo

AN-516	Arena	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
--------	-------	----	---	---	---	---	---	---	-----------------

Tabla A14. Continuación...

AN-519	Suelo	26	1	1	1	1	1	1	Alcalino tolerante
AN-520	Suelo	26	1	1	1	1	1	1	Alcalino tolerante
AN-521	Suelo	26	1	1	1	0	0	0	Acidófilo
AN-522	Suelo	26	1	1	1	1	1	1	Alcalino tolerante
AN-366	Suelo	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-367	Suelo	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-370	Suelo	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-371	Suelo	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-501	Suelo	26	1	1	1	0	0	0	Acidófilo
AN-502	Suelo	26	0	1	1	0	0	0	Acidófilo
AN-503	Suelo	26	1	1	1	1	1	1	Alcalinotoletante
AN-505	Suelo	26	1	1	1	1	1	1	Alcalinotoletante
AN-506	Suelo	26	1	1	1	1	1	1	Alcalinotoletante
AN-512	Arena	26	1	1	0	0	0	0	Acidófilo
AN-513	Arena	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-517	Suelo	26	1	1	1	0	0	0	Acidófilo
AN-518	Suelo	26	1	1	1	0	0	0	Acidófilo
AN-523	Arena	26	1	1	0	0	0	0	Acidófilo
AN-524	Arena	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
CH-3541	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	Acidófilo
CH-353	Suelo	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante

Tabla A14. Continuación...

CH-354	Suelo	26	1	1	1	0	0	0	Acidófilo
CH-3542	Suelo	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
CH-355	Suelo	26	1	1	0	0	0	0	Acidófilo
CH-356	Suelo	26	1	1	0	0	0	0	Acidófilo
CH-357	Suelo	26	1	1	1	1	1	1	Alcalinotolerante
CH-360	Suelo	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
CH-148	Suelo	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
CH-149	Suelo	26	0	1	1	0	0	0	Acidófilo
CH-704	Suelo	26	1	1	1	0	0	0	Acidófilo
CH-347	Suelo	26	0	1	1	0	0	0	Acidófilo
CH-348	Suelo	26	1	1	1	0	0	0	Acidófilo
CH-349	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	Acidófilo
CH-350	Suelo	26	1	1	1	0	0	0	Acidófilo
CH-351	Suelo	26	0	1	0	0	0	0	Acidófilo
CH-352	Suelo	26	0	1	1	0	0	0	Acidófilo
CH-359	Suelo	26	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
CH-152	Suelo	26	1	1	0	0	0	0	Acidófilo
AN-327	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-328	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-329	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-330	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante

Tabla A14. Continuación...

AN-339	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
--------	-------	---	---	---	---	---	---	---	-----------------

AN-534	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-535	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-536	Suelo	4	0	0	1	0	0	0	Neutrófilo
AN-539	Arena	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerante
AN-314	Suelo	4	1	1	1	0	0	0	Acidófilo
AN-315	Suelo	4	0	1	1	0	0	0	Acidófilo
AN-316	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes
AN-317	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes
AN-322	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes
AN-323	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes
AN-324	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes
AN-325	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes
AN-326	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes
AN-529	Suelo	4	1	1	1	1	1	1	Alcalinotolerante
AN-530	Suelo	4	1	1	1	1	1	0	Alcalinotolerante
AN-531	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes
AN-532	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes
AN-533	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes
AN-537	Arena	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes
AN-538	Arena	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes

Tabla A14. Continuación...

CH-331	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes
CH-334	Suelo	4	0	1	1	0	0	0	Acidófilo

CH-335	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes
CH-107	Suelo	4	0	1	0	0	0	0	Acidófilo
CH-108	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes
CH-110	Suelo	4	1	1	1	0	0	0	Neutrotolerantes
CH-338	Suelo	4	1	1	1	0	0	0	Acidófilo
CH-113	Suelo	4	1	1	1	1	1	1	Alcalinotolerante
CH-115	Suelo	4	1	1	1	0	0	0	Acidófilo
CH-116	Suelo	4	1	1	1	1	0	0	Neutrotolerantes

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A15. Clasificación de hongos de acuerdo al rango de crecimiento en función del pH del medio de cultivo de acuerdo al origen de la muestra.

	Origen de la muestra		
	Arena Antártida	Suelo Antártida	Suelo Chimborazo
Alcalinotolerante	0	11	2
Neutrófilo	0	1	0
Neutrotolerante	6	26	10
Acidófilo	3	13	17

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A16. Número de hongos que presentaron crecimiento de acuerdo a diferentes valores de CINA.

Código	Procedencia	Salinidad	Característica

			1%	5%	10%	
AN-340	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
AN-341	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-342	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
AN-344	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-345	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
AN-346	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-358	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
AN-368	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-369	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
AN-372	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
AN-150	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
AN-507	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
AN-508	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-509	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-515	Arena	26	1	0	0	Halófilos
AN-516	Arena	26	1	1	1	Halófilos extremos

Tabla A16. Continuación...

AN-519	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-520	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-521	Suelo	26	1	0	0	Halófilos

AN-522	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-366	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-367	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-370	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-371	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-501	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
AN-502	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
AN-503	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-505	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-506	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-512	Arena	26	1	0	0	Halófilos
AN-513	Arena	26	1	1	1	Halófilos extremos
AN-517	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
AN-518	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
AN-523	Arena	26	1	0	0	Halófilos
AN-524	Arena	26	1	1	1	Halófilos extremos
CH-3541	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
CH-353	Suelo	26	1	0	0	Halófilos

Tabla A16. Continuación...

CH-354	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
CH-3542	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
CH-355	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
CH-356	Suelo	26	1	0	0	Halófilos

CH-357	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
CH-360	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
CH-148	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
CH-149	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
CH-704	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
CH-347	Suelo	26	1	1	0	Halófilos débiles
CH-348	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
CH-349	Suelo	26	1	1	0	Halófilos débiles
CH-350	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
CH-351	Suelo	26	1	1	0	Halófilos débiles
CH-352	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
CH-359	Suelo	26	1	1	1	Halófilos extremos
CH-152	Suelo	26	1	0	0	Halófilos
AN-327	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
AN-328	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
AN-329	Suelo	4	1	0	0	Halófilos
AN-330	Suelo	4	1	1	0	Halófilos débiles

Tabla A16. Continuación...

AN-339	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
AN-534	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
AN-535	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
AN-536	Suelo	4	1	0	0	Halófilos
AN-539	Arena	4	1	1	1	Halófilos extremos

AN-314	Suelo	4	1	0	0	Halófilos
AN-315	Suelo	4	0	0	0	No halófilos
AN-316	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
AN-317	Suelo	4	1	1	0	Halófilos débiles
AN-322	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
AN-323	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
AN-324	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
AN-325	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
AN-326	Suelo	4	1	1	0	Halófilos débiles
AN-529	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
AN-530	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
AN-531	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
AN-532	Suelo	4	1	1	0	Halófilos débiles
AN-533	Suelo	4	1	1	0	Halófilos débiles
AN-537	Arena	4	1	1	1	Halófilos extremos
AN-538	Arena	4	1	1	1	Halófilos extremos

Tabla A16. Continuación...

CH-331	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
CH-334	Suelo	4	0	0	0	No halófilos
CH-335	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
CH-107	Suelo	4	1	0	0	Halófilos
CH-108	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
CH-110	Suelo	4	1	1	0	Halófilos débiles

CH-338	Suelo	4	1	1	0	Halófilos débiles
CH-113	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos
CH-115	Suelo	4	1	1	0	Halófilos débiles
CH-116	Suelo	4	1	1	1	Halófilos extremos

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A17. Clasificación de hongos de acuerdo al rango de crecimiento en función de la concentración de NaCl del medio de cultivo de acuerdo al origen de la muestra.

	Origen de la muestra		
	Arena Antártida	Suelo Antártida	Suelo Chimborazo
No halófilos	0	1	1
Halófilos débiles	0	5	6
Halófilos	3	16	9
Halófilos extremos	6	29	13

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A18. Grupos especie formados luego del análisis de la taxonomía numérica de datos fenotípicos de hongos aislados de las muestras medioambientales de la Antártida y el Chimborazo.

Nº	Código
1	AN-340, AN-536, AN-317, AN-326, AN-370, CH-331, AN-539, AN-531, AN-323, AN-503, AN-529, AN-329, AN-330
2	AN-341, AN-520
3	AN-344

4	AN-509
5	AN-502, CH-347
6	CH-107
7	CH-3541, CH-3542
8	AN-346, CH-113, AN-508, AN-522, AN-505, AN-506, AN-519, CH-357, CH-359
9	AN-316, AN-524, AN-513, AN-367
10	AN-327, AN-324, AN-533, AN-537
11	AN-530, CH-360, CH-355, AN-532
12	AN-316, AN-325, CH-338, CH-335, CH-116
13	AN-368, CH-148
14	AN-328, AN-339, AN-538, AN-535
15	AN-534
16	AN-322, AN-366
17	AN-371
18	AN-315, CH-334
19	CH-108, CH-110, CH-115

Tabla A18. Continuación...

20	AN-342, AN-150, CH-356
21	AN-517, AN-518, CH-354
22	AN-358
23	AN-345
24	CH-704, CH-349, CH-351, CH-352
25	CH-152
26	AN-369, AN-372, CH-353

27	AN-507, AN-521, AN-314
28	AN-515, AN-512, AN-523, AN-501
29	CH-348, CH-350
30	CH-149

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A19. Grupos especie formados luego del análisis de la taxonomía numérica de datos fenotípicos de hongos aislados de las muestras medioambientales de la Antártida

Nº	Código
1	AN-340, AN-536, AN-317, AN-326, AN-329, AN-330, AN-509, AN-370, AN-539, AN-531, AN-323, AN-503, AN-529
2	AN-341
3	AN-344

4	AN-508, AN-522, AN-505, AN-506, AN-519, AN-520
5	AN-516, AN-524, AN-513, AN-367
6	AN-346, AN-368
7	AN-327, AN-324, AN-530, AN-533, AN-537
8	AN-316, AN-325
9	AN-328, AN-339, AN-538, AN-535
10	AN-534
11	AN-322
12	AN-369, AN-372
13	AN-507, AN-521, AN-314
14	AN-502
15	AN-515, AN-512, AN-523, AN-501
16	AN-315
17	AN-342, AN-150
18	AN-358
19	AN-517, AN-518
20	AN-345

Tabla A19. Continuación...

21	AN-532
22	AN-366, AN-371

Elaborado por Jenny Correa, 2013

Tabla A20. Grupos especie formados luego del análisis de la taxonomía numérica de datos fenotípicos de hongos aislados de las muestras medioambientales del Chimborazo.

Nº	Código
1	CH-3541,CH-3542,CH-353
2	CH-347, CH-331
3	CH-357, CH-359, CH-113
4	CH-108, CH-110, CH-115
5	CH-355, CH-360
6	CH-148
7	CH-704, CH-349, CH-351, CH-352
8	CH-152
9	CH-334
10	CH-107
11	CH-354
12	CH-348, CH-350
13	CH-335,CH-116, CH-338
14	CH-356
15	CH-149

Elaborado por Jenny Correa, 2013

ANEXO B

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Tabla B1. Análisis de varianza para el número de ufc de hongos por gramo de suelo seco (ufc/g).

Fuente de variación	g.l	SC	CM	Fc	Probabilidad
A: origen de la muestra	2	4,39x10 ¹¹	2,19 x10 ¹¹	4,67 x10 ²	0,0000 **
B: Medio de cultivo	1	2,05 x10 ⁸	2,05 x10 ⁸	4,36 x10 ⁻¹	
AB	2	7,52 x10 ⁷	3,76 x10 ⁷	8,00x10 ⁻²	

C: Temperatura	1	1,92 x10 ¹¹	1,92 x10 ¹¹	4,10 x10 ²	0,0000 **
AC	2	1,72 x10 ¹¹	8,59 x10 ¹⁰	1,83 x10 ²	0,0000 **
BC	1	2,36 x10 ⁸	2,36 x10 ⁸	5,01x10 ⁻¹	
ABC	2	2,32 x10 ⁹	2,36 x10 ⁸	2,47x10 ⁰	0,1261
Error	12	5,64 x10 ⁹	1,16 x10 ⁹		
Total	23	8,12 x10 ¹¹	4,70 x10 ⁸		

Tabla B2. Separación de medias para el número de hongos por gramo de suelo seco para el tratamiento A

Tratamientos	Descripción	ufc/g suelo seco	Rango
A a0	SUELO-ANTARTIDA	3,32 x10 ⁵	A
a2	SUELO-CHIMBORAZO	1,16x10 ⁵	B
a1	ARENA-ANTARTIDA	6,28x10 ³	C

Tabla B3. Separación de medias para el número de hongos por gramo de suelo seco para el tratamiento C

Tratamientos	Descripción	ufc/g suelo seco	Rango
C c0	4°	2,41x10 ⁵	A
c1	26°	6,19 x10 ⁴	B

Tabla B4. Separación de medias para el número de hongos por gramo de suelo seco para la interacción AC

Tratamientos	Descripción	ufc/g suelo seco	Rango	
Interacción AC	a0c0	SUELO-ANTARTIDA + 4°	5,37 x10 ⁵	A
	a2c0	SUELO-CHIMBORAZO + 4°	1,75x10 ⁵	B
	a0c1	SUELO-ANTARTIDA + 26°	1,27 x10 ⁵	B
	a2c1	SUELO-CHIMBORAZO + 26°	5,79 x10 ⁴	C
	a1c0	AREN-ANTARTIDA + 4°	1,14 x10 ⁴	CD
	a1c1	AREN-ANTARTIDA + 26°	1,19 x10 ³	D

Tabla B5. Separación de medias para el número de hongos por gramo de suelo seco para el tratamiento B

Tratamientos	Descripción	ufc/g suelo seco	
B	b0	PDA	1,54 x10 ⁵
	b1	AGAR EXTRACTO DE MALTA	1,49 x10 ⁵

Tabla B6. Separación de medias para el número de hongos por gramo de suelo seco para la interacción AB

Tratamientos	Descripción	ufc/g suelo seco	
Interacción AB	a0b0	SUELO-ANTARTIDA + PDA	3,34 x10 ⁵
	a0b1	SUELO-ANTARTIDA + MALTA	3,30E x10 ⁵
	a2b0	SUELO-CHIMBORAZO + PDA	1,22 x10 ⁵
	a2b1	SUELO-CHIMBORAZO + MALTA	1,11 x10 ⁵
	a1b0	AREN-ANTARTIDA + PDA	7,59 x10 ³
	a1b1	AREN-ANTARTIDA + MALTA	4,98 x10 ³

Tabla B7. Separación de medias para el número de hongos por gramo de suelo seco para la interacción BC

Tratamientos	Descripción	ufc/g suelo seco	
Interacción BC	b1c0	MALTA + 4°	2,413 x10 ⁵
	b0c0	PDA + 4°	2,408 x10 ⁵
	b0c1	PDA + 26°	6,799 x10 ⁴
	b1c1	MALTA + 26°	5,589 x10 ⁴

Tabla B8. Separación de medias para el número de hongos por gramo de suelo seco para la interacción ABC

Tratamientos	Descripción	ufc/g suelo seco	
Interacción ABC	a0b1c0	SUELO-ANTARTIDA + MALTA + 4°	5,52 x10 ⁵
	a0b0c0	SUELO-ANTARTIDA + PDA + 4°	5,22 x10 ⁵
	a2b0c0	SUELO-CHIMBORAZO + PDA + 4°	1,86 x10 ⁵
	a2b1c0	SUELO-CHIMBORAZO + MALTA + 4°	1,63 x10 ⁵
	a0b0c1	SUELO-ANTARTIDA + PDA + 26°	1,46 x10 ⁵
	a0b1c1	SUELO-ANTARTIDA + MALTA + 26°	1,08 x10 ⁵
	a2b1c1	SUELO-CHIMBORAZO + MALTA + 26°	5,88 x10 ⁴
	a2b0c1	SUELO-CHIMBORAZO + PDA + 26°	5,71 x10 ⁴

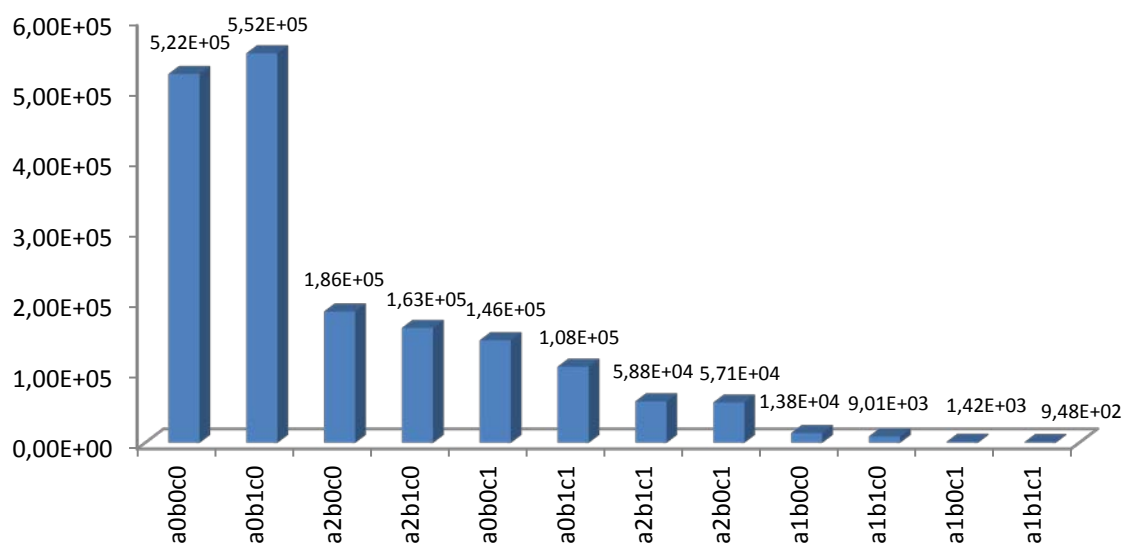
a1b0c0	AREN-ANTARTIDA + PDA + 4°	1,38 x10 ⁴
a1b1c0	AREN-ANTARTIDA + MALTA + 4°	9,01 x10 ³
a1b0c1	AREN-ANTARTIDA + PDA + 26°	1,42 x10 ³
a1b1c1	AREN-ANTARTIDA + MALTA + 26°	9,48 x10 ²

Tabla B9. Matriz de datos

ANEXO C

GRÁFICOS

Figura C1. Número de ufc/g de suelo seco para los tratamientos en estudio.



Tratamientos	Descripción
a0b0c0	SUELO-ANTARTIDA + PDA + 4°
a0b1c0	SUELO-ANTARTIDA + MALTA + 4°
a2b0c0	SUELO-CHIMBORAZO + PDA + 4°
a2b1c0	SUELO-CHIMBORAZO + MALTA + 4°
a0b0c1	SUELO-ANTARTIDA + PDA + 26°
a0b1c1	SUELO-ANTARTIDA + MALTA + 26°
a2b1c1	SUELO-CHIMBORAZO + MALTA + 26°
a2b0c1	SUELO-CHIMBORAZO + PDA + 26°
a1b0c0	AREN-ANTARTIDA + PDA + 4°
a1b1c0	AREN-ANTARTIDA + MALTA + 4°
a1b0c1	AREN-ANTARTIDA + PDA + 26°
a1b1c1	AREN-ANTARTIDA + MALTA + 26°

Figura C2. Número de hongos aislados para cada muestra medioambiental, tipo de agar, y temperatura.

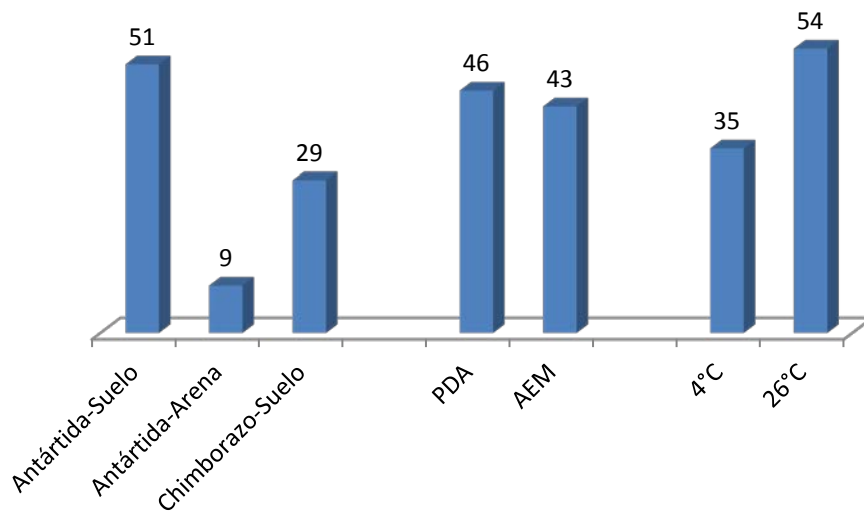


Figura C3. Número de hongos aislados en cada medio de cultivo y temperatura a partir de la muestra de suelo de La Antártida.

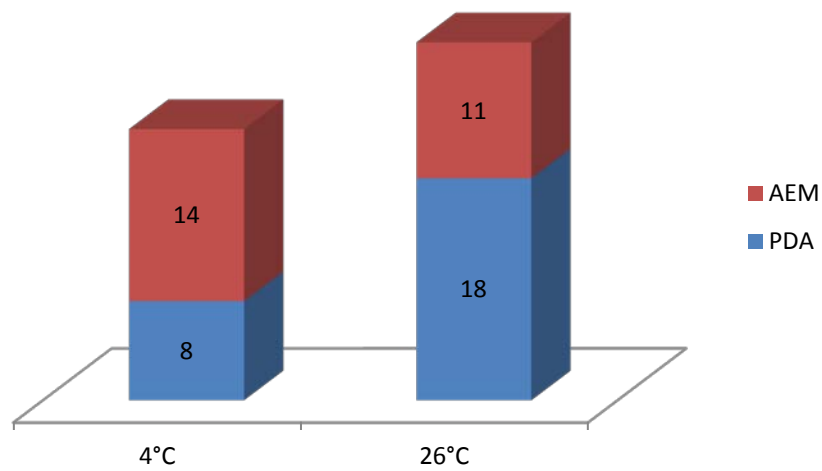


Figura C4. Número de hongos aislados en cada medio de cultivo y temperatura a partir de la muestra de arena de La Antártida.

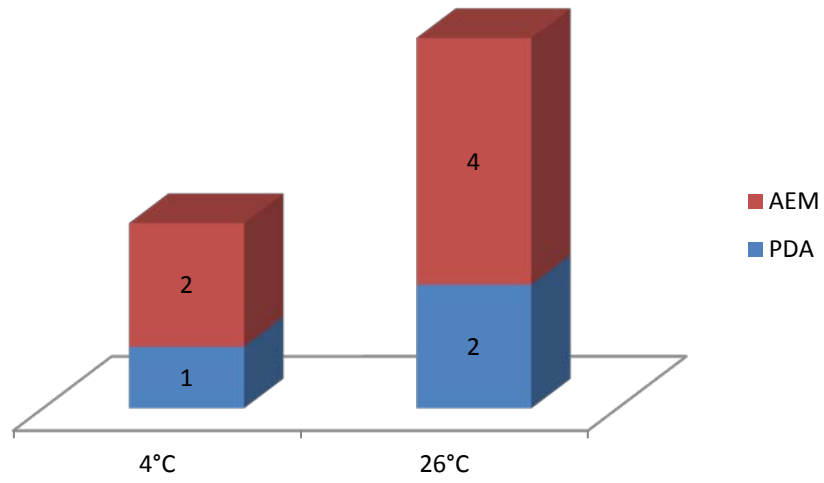


Figura C5. Número de hongos aislados en cada medio de cultivo y temperatura a partir de la muestra de suelo del Chimborazo.

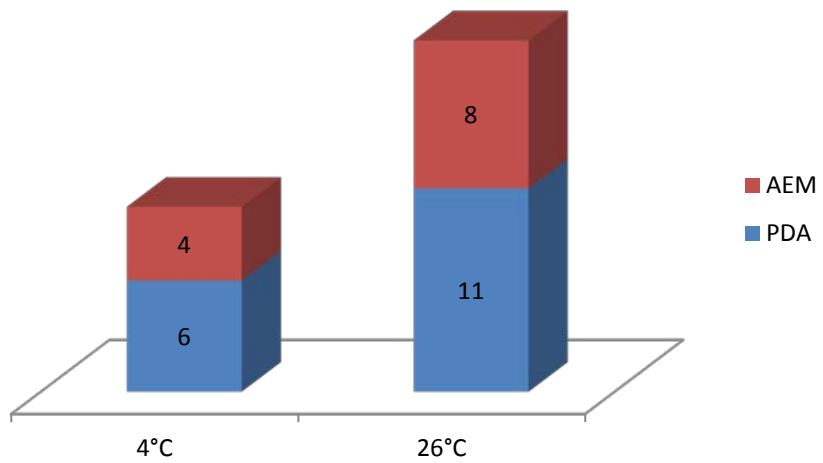


Figura C6. Características macroscópicas de las colonias de hongos: Relieve.

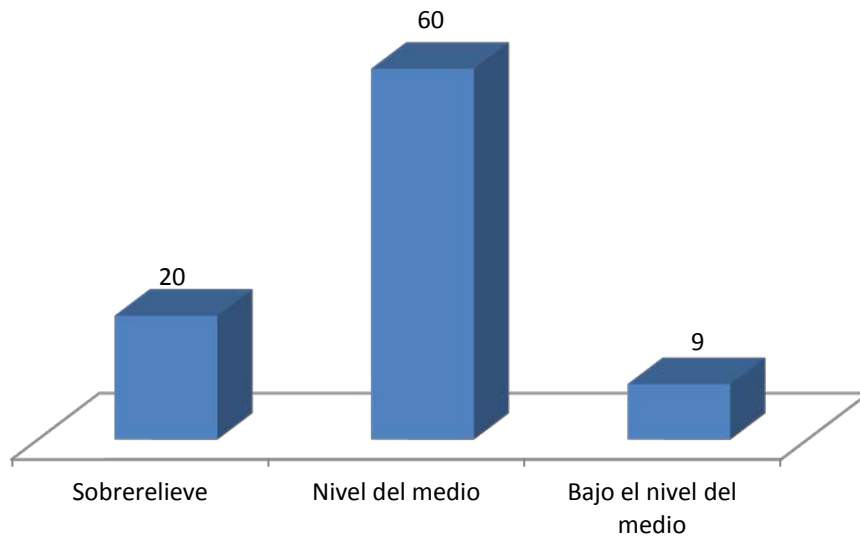


Figura C7. Características macroscópicas de las colonias de hongos: Borde.

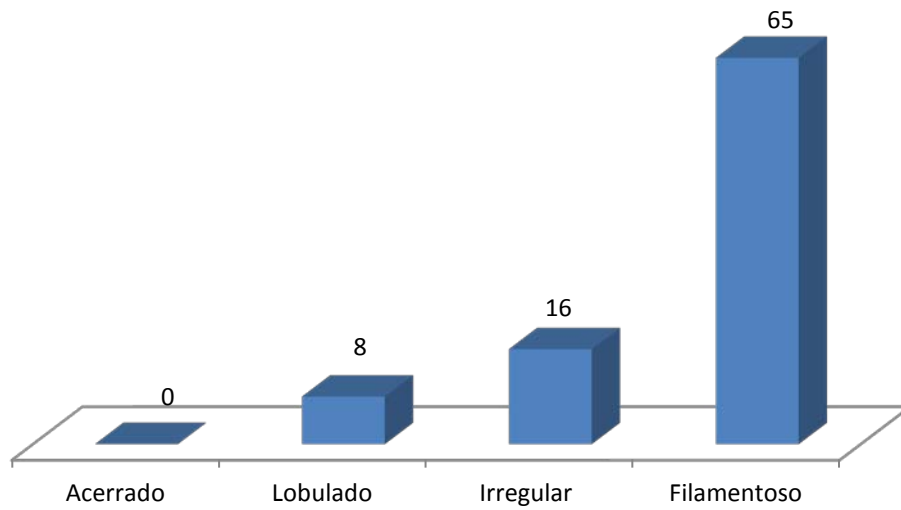


Figura C8. Características macroscópicas de las colonias de hongos: Textura

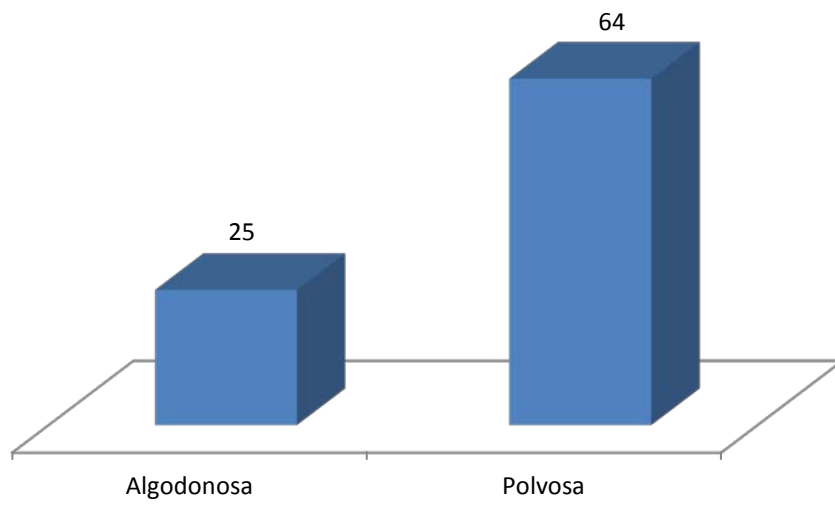


Figura C9. Características macroscópicas de las colonias de hongos: Brillo

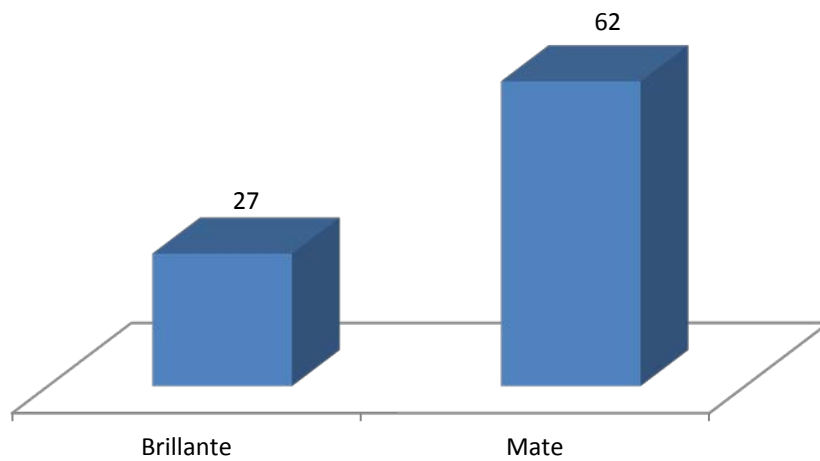


Figura C10. Características macroscópicas de las colonias de hongos: Gotículas

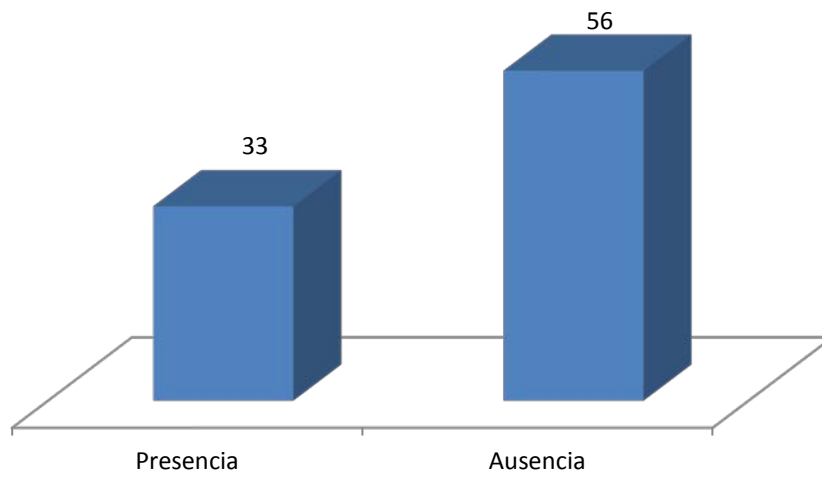


Figura C11. Características macroscópicas de las colonias de hongos: Pigmento difusible

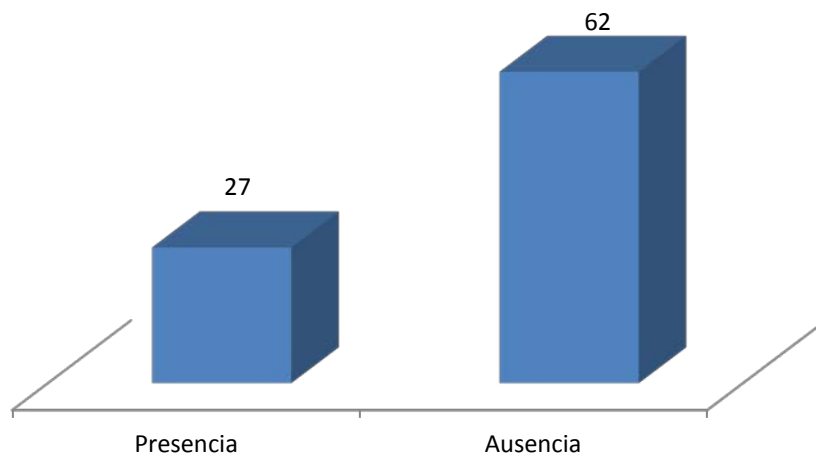


Figura C12. Características macroscópicas de las colonias de hongos: Halo

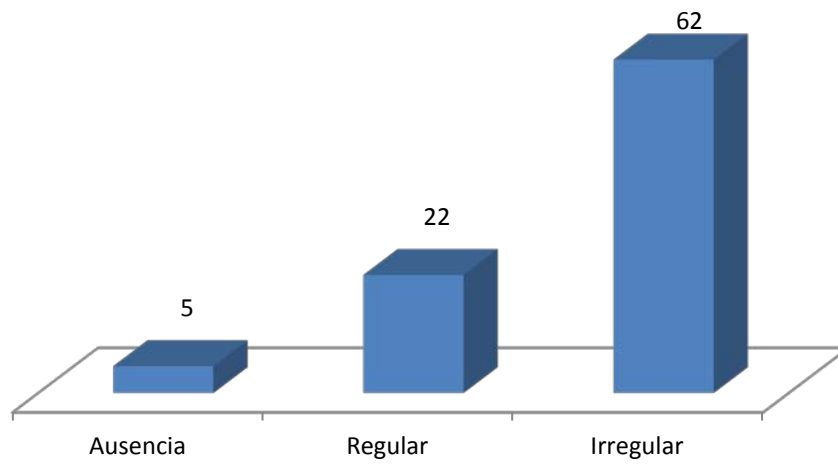


Figura C13. Características microscópicas de las colonias de hongos: Tipo de micelio

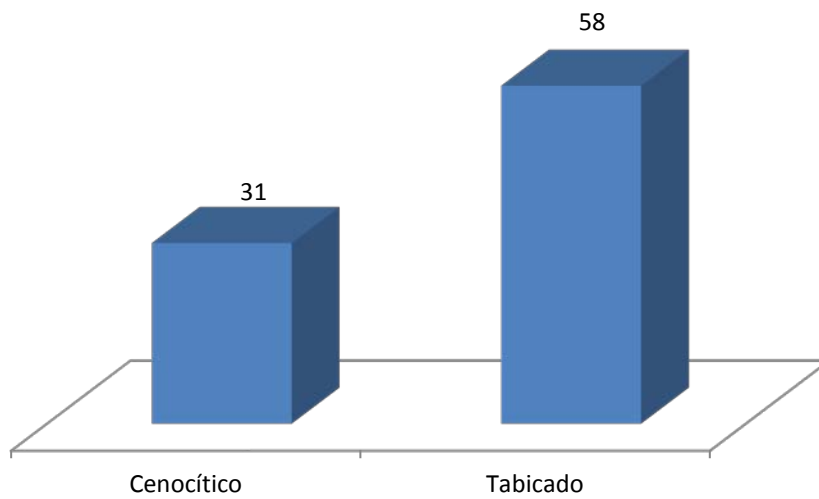


Figura C14. Características microscópicas de las colonias de hongos: Esporulación.

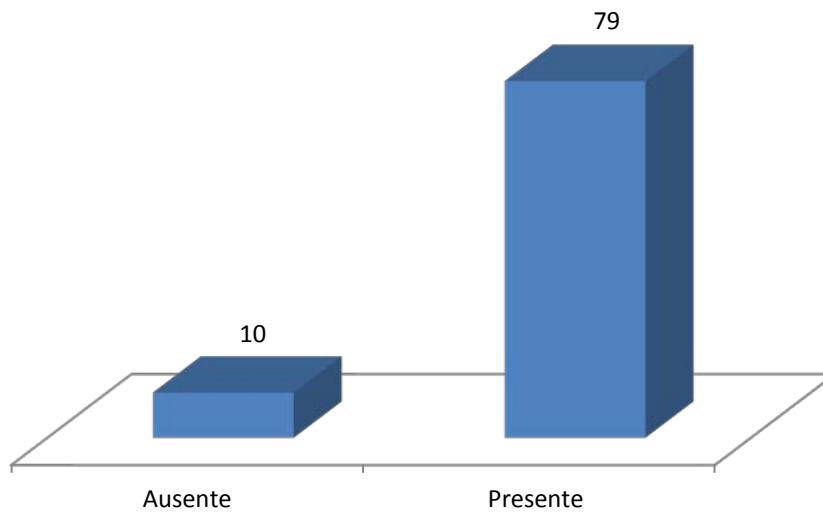


Figura C15. Características microscópicas de las colonias de hongos: Tipo de espora

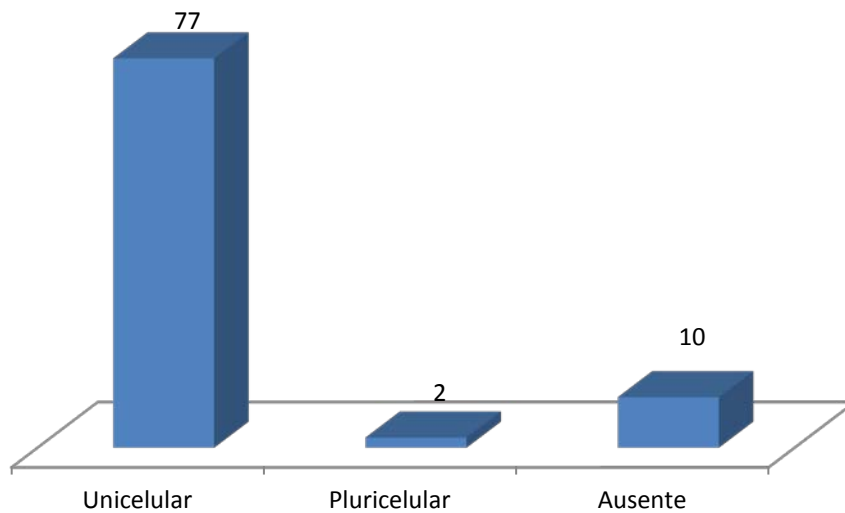


Figura C16. Características microscópicas de las colonias de hongos: Coloración de la espora.

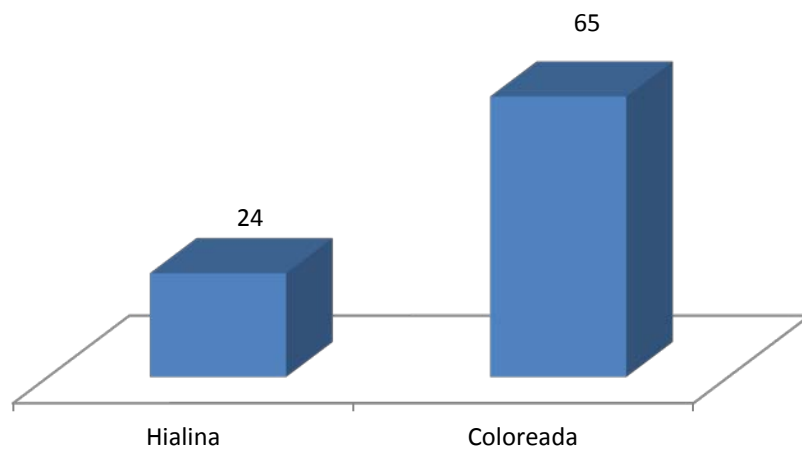


Figura C17. Características microscópicas de las colonias de hongos: Coloración del conidióforo

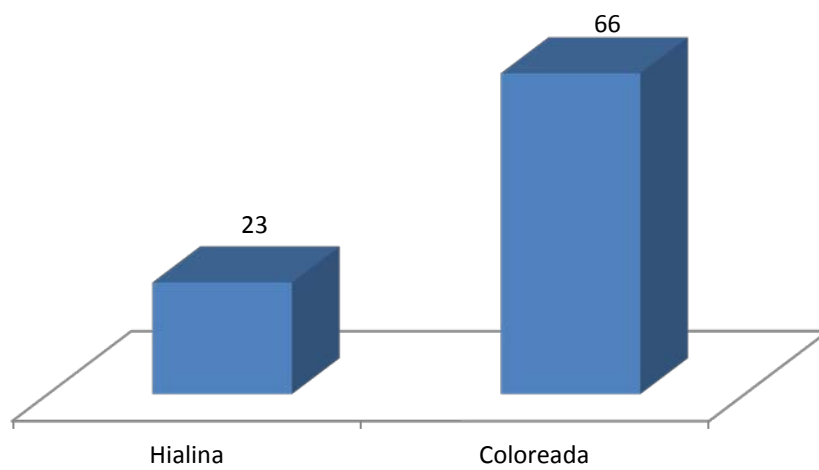


Figura C18. Características microscópicas de las colonias de hongos: Forma de la espora.

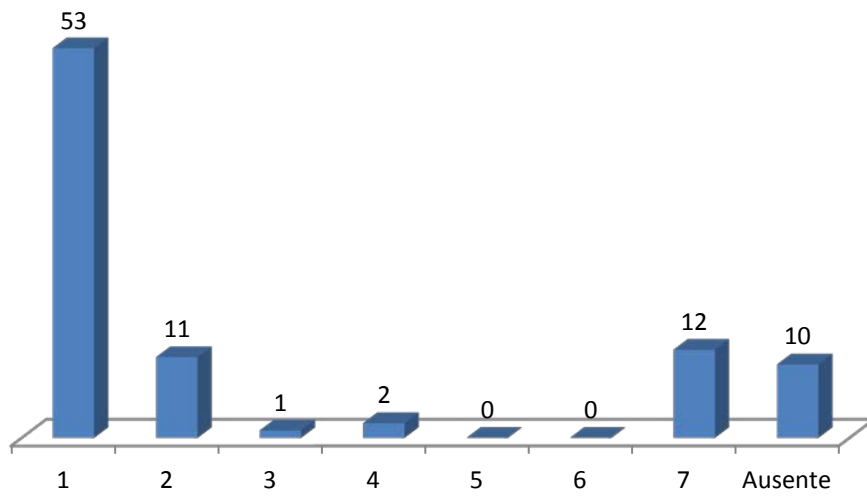


Figura C19. Pruebas fisiológicas de crecimiento de colonias de hongos: Temperatura

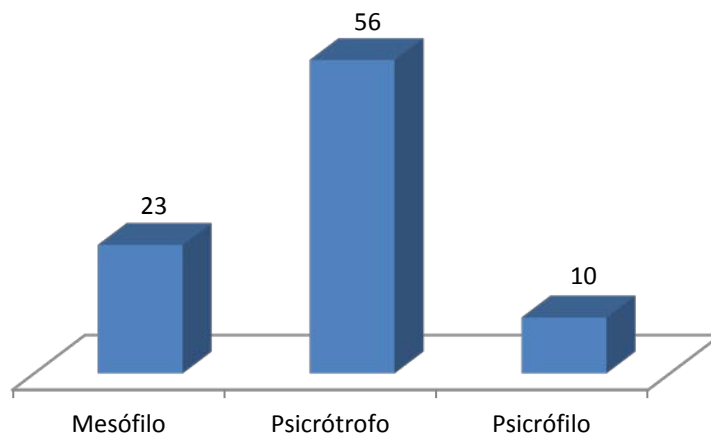


Figura C20. Pruebas fisiológicas de crecimiento de colonias de hongos: pH

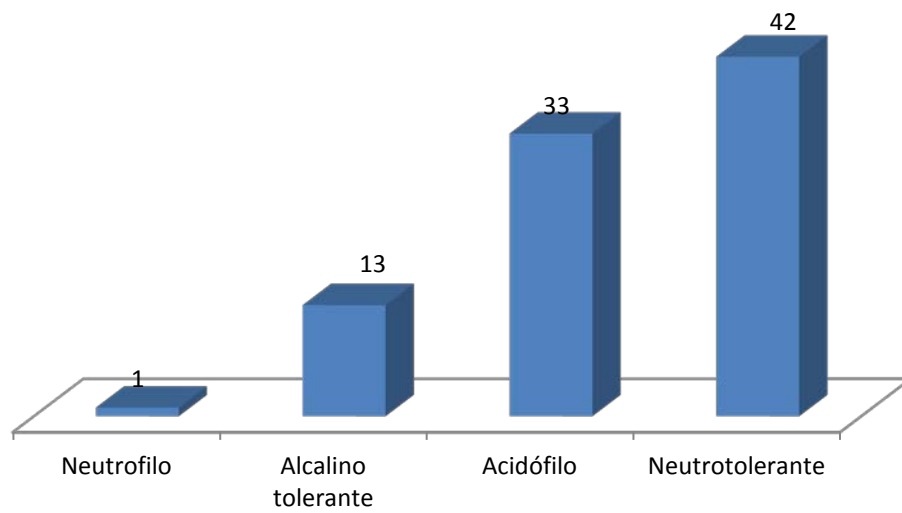


Figura C21. Pruebas fisiológicas de crecimiento de colonias de hongos: Salinidad

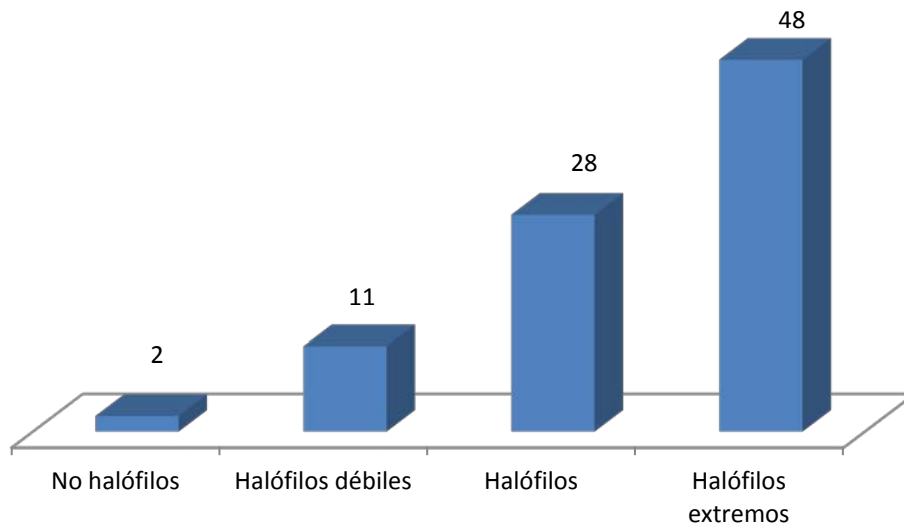


Figura C22. Dendrograma basado en la similitud calculada con el coeficiente de simple coincidencia, de 89 hongos aislados de muestras medioambientales de la Antártida y del Chimborazo.

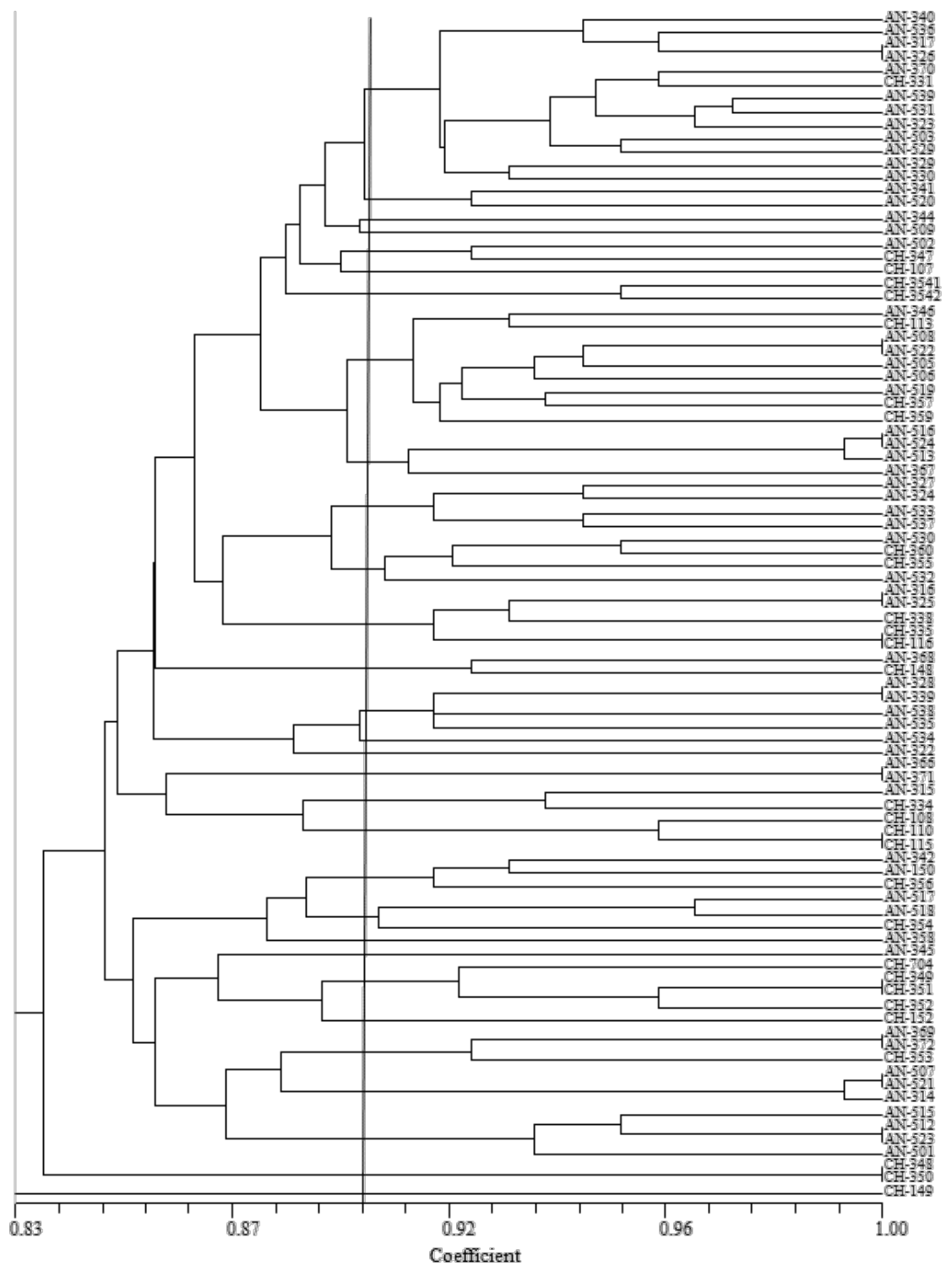


Figura C23. Dendrograma basado en la similaridad calculada con el coeficiente de simple coincidencia, de hongos aislados de muestras medioambientales de la

Antártida.

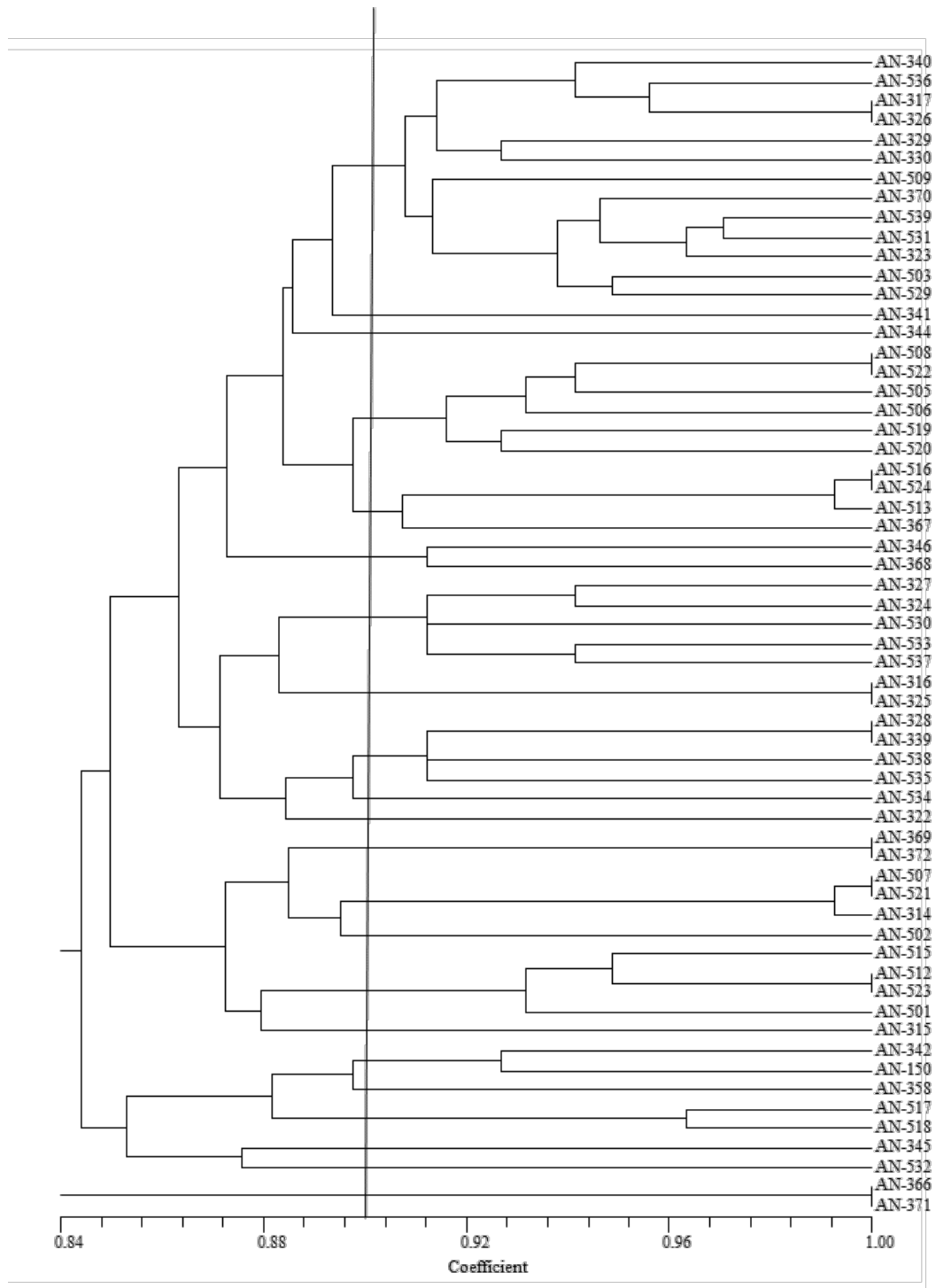
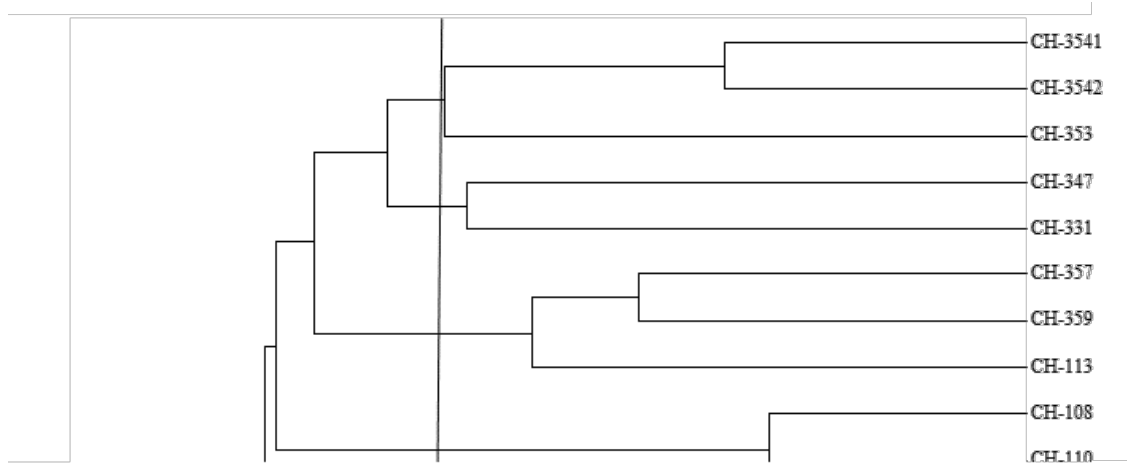


Figura C24. Dendrograma basado en la similaridad calculada con el coeficiente de simple coincidencia, de hongos aislados de muestras medioambientales del Chimborazo.



ANEXO D

MEDIOS DE CULTIVO Y

SOLUCIONES

MEDIOS DE CULTIVO

Agar PDA

Agar	39 g
Agua	1000 ml

Agar extracto de malta

Agar Nutritivo	15 g
Extrato de malta	30 g
Agua	1000 ml

SOLUCIONES BÚFER

Búfer de Fosfato di Básico de Sodio y Ácido Cítrico

Solución de ácido cítrico 0.1M (PM: 210.14g)

Solución de fosfato di básico de sodio 0.2 M (PM: 141.98 g)

Se prepara un volumen final de 100 ml:

pH	0,1 M Ácido Cítrico (ml)	0,2 M Na ₂ HPO ₄ (ml)
4,50	54,57	45,43
5,50	43,13	56,87
6,50	29,04	70,96
7,50	7,50	92,38

Búfer de Hidróxido de Sodio y Ácido Bórico

Solución de Hidróxido de Sodio 0.2 M (PM: 40.00 g)

Solución de ácido bórico 0.2 M (PM 61.80 g)

Se prepara un volumen final de 100 ml :

pH	0,2 M Ácido Bórico (ml)	0,2 M NaOH (ml)
8,5	75,0	25,0

ANEXO E

TABLA DE COLORES

Tabla de colores utilizada en la caracterización macroscópica.



ANEXO F

FOTOGRAFÍAS

Aislamiento selectivo de la muestra de las muestras.



Figura 1. Difusión en placa para la dilución 1/10.



Figura 2. Difusión en placa para la dilución 1/100.



Figura 3. Difusión en placa para la dilución 1/1000.

Cultivos puros de las muestras aisladas



Figura 4. Crecimiento de hongos aislados en cultivo puro.



Figura 5. Crecimiento de hongos aislados en cultivo puro.



Figura 6. Crecimiento de hongos aislados en cultivo puro.

Pruebas fisiológicas de crecimiento a distinto pH



Figura 7. Crecimiento de hongos a pH 4.5



Figura 8. Crecimiento de hongos a pH 5.5



Figura 9. Crecimiento de hongos a pH 6.5

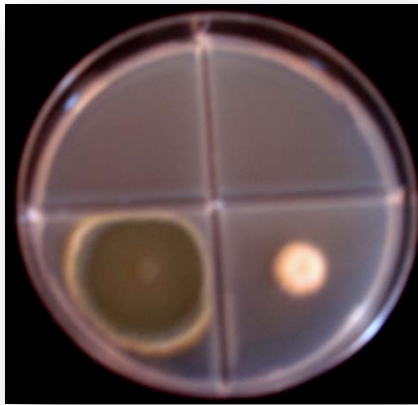


Figura 10. Crecimiento de hongos a pH 7.5

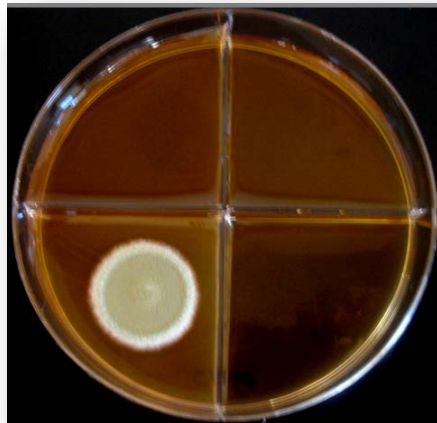


Figura 11. Crecimiento de hongos a pH 8.5

Pruebas fisiológicas de crecimiento a distintas concentraciones de sal

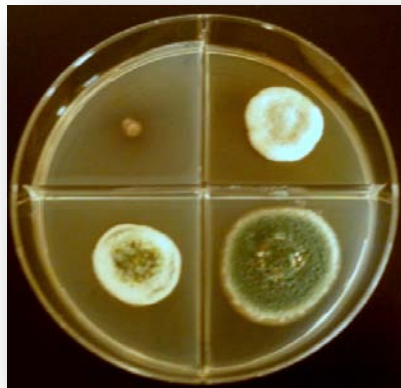


Figura 12. Crecimiento de hongos a una concentración al 1% (p/v) de NaCl.



Figura 13. Crecimiento de hongos a una concentración al 5% (p/v) de NaCl.



Figura 14. Crecimiento de hongos a una concentración al 10% (p/v) de NaCl.

Pruebas fisiológicas de crecimiento a distinta temperatura

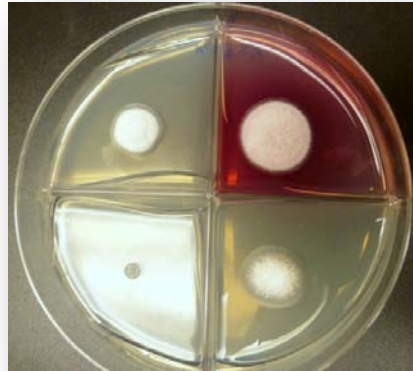


Figura 15. Crecimiento de hongos a una temperatura de 4°C.

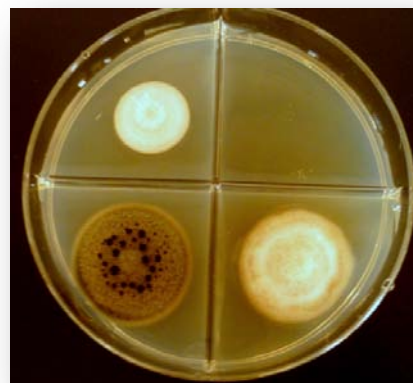


Figura 16. Crecimiento de hongos a una temperatura de 26°C.

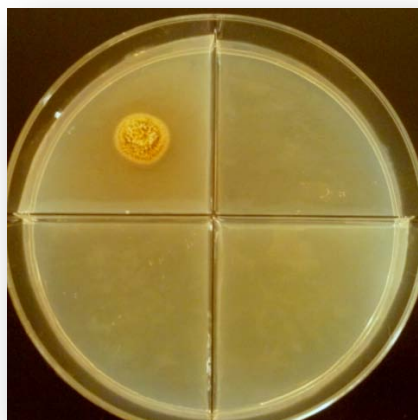


Figura 17. Crecimiento de hongos a una temperatura de 37°C.

Pruebas microscópicas.

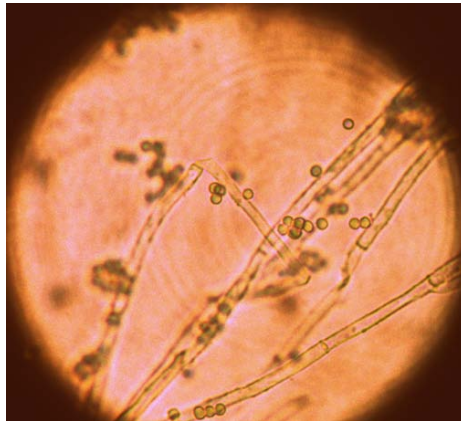


Figura 18. Vista microscópica de micelio y esporas.



Figura 19. Vista microscópica de micelio y esporas.

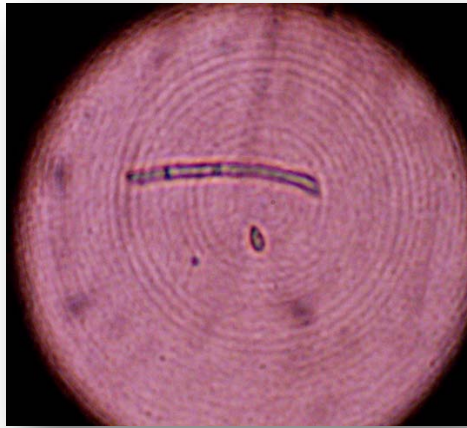


Figura 20. Vista microscópica de micelio y esporas.

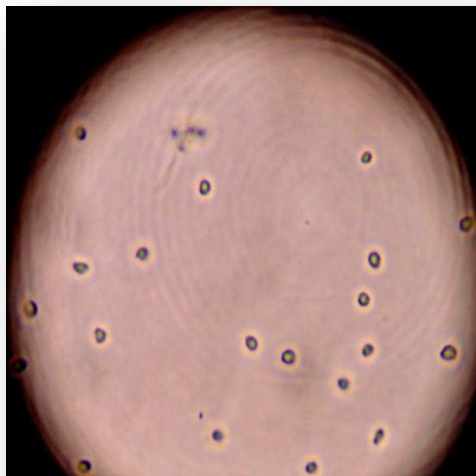


Figura 21. Vista microscópica de esporas.