



Universidad  
Nacional  
de Loja

## Universidad Nacional de Loja

**Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables**

**Carrera de Ingeniería en Manejo y Conservación del Medio Ambiente**

### **“RELACIÓN ENTRE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS DE LA MICROBIOTA DE ESCARABAJOS ESTERCOLEROS (COLEOPTERA: SCARABAEINAE) Y DEL SUELO CON TRES ESTADOS DE SUCESIÓN DEL BOSQUE DE LA RESERVA NATURAL TAPICALACA DEL CANTÓN PALANDA.”**

Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de Ingeniera en Manejo y Conservación del Medio Ambiente

**Autor:**

Heidy Janela Jiménez Granda

**Directora:**

Ing. Daniela Alejandra Román Cáceres, Mg.Sc.,

Loja – Ecuador

2023

## Certificación

Loja, 16 de agosto de 2022

Ing. Daniela Alejandra Román Cáceres, Mg.Sc.,  
**DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

### **CERTIFICO:**

Que he revisado y orientado todo el proceso de elaboración del Trabajo de Titulación denominado: **“RELACIÓN ENTRE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS DE LA MICROBIOTA DE ESCARABAJOS ESTERCOLEROS (COLEOPTERA: SCARABAEINAE) Y DEL SUELO CON TRES ESTADOS DE SUCESIÓN DEL BOSQUE DE LA RESERVA NATURAL TAPICHALACA DEL CANTÓN PALANDA”**, previo a la obtención del título de **Ingeniera en Manejo y Conservación del Medio Ambiente**, de la autoría de la estudiante **Heidy Janela Jiménez Granda**, con cédula de identidad **Nro. 1105256737**, una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos exigidos por la Universidad Nacional de Loja, para el efecto, autorizo la presentación del mismo para su respectiva sustentación y defensa.

Firmado electrónicamente por:



**DANIELA  
ALEJANDRA  
ROMAN CACERES**

Ing. Daniela Alejandra Román Cáceres, Mg.Sc.,  
**DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

## Autoría

Yo, **Heidy Janela Jiménez Granda**, declaro ser autora del presente Trabajo de Titulación: **“RELACIÓN ENTRE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS DE LA MICROBIOTA DE ESCARABAJOS ESTERCOLEROS (COLEOPTERA: SCARABAEINAE) Y DEL SUELO CON TRES ESTADOS DE SUCESIÓN DEL BOSQUE DE LA RESERVA NATURAL TAPICHALACA DEL CANTÓN PALANDA.”** y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos o acciones legales por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional – Biblioteca Virtual.

**Firma:**



**C.I.:** 1105256737

**Fecha:** 9 de febrero de 2023

**E-mail:** heidy.jimenez@unl.edu.ec

**Teléfono:** 0985208424

**Carta de autorización por parte de la autora, para consulta, reproducción parcial o total y publicación electrónica del texto completo, del Trabajo de Titulación.**

Yo, **Heidy Janela Jiménez Granda**, declaro ser autora del trabajo de titulación denominado: **“RELACIÓN ENTRE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS DE LA MICROBIOTA DE ESCARABAJOS ESTERCOLEROS (COLEOPTERA: SCARABAEINAE) Y DEL SUELO CON TRES ESTADOS DE SUCESIÓN DEL BOSQUE DE LA RESERVA NATURAL TAPICHALACA DEL CANTÓN PALANDA.”**, como requisito para optar por el título de **Ingeniera en Manejo y Conservación del Medio Ambiente**, autorizo al Sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Digital Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los siete días del mes de diciembre del dos mil veintidós.

**Firma:**



**Autor/** Heidy Janela Jiménez Granda

**Cédula de identidad:** 1105256737

**Dirección:** Loja, Ciudadela Zarzas II, Avenida Eloy Alfaro

**Teléfono:** 0985208424

**Correo electrónico:** heidy.jimenez@unl.edu.ec

**DATOS COMPLEMENTARIOS**

**Directora del Trabajo de Titulación:** Ing. Daniela Alejandra Román Cáceres, Mg.Sc.,



## **Dedicatoria**

El presente trabajo de tesis es dedicado a la memoria de mi hermano Froilán Jiménez Granda, quién con su ejemplo me enseñó a trabajar por mis sueños. A mis padres, hermanas y hermano que, con su amor, confianza y apoyo siempre me han acompañado en el cumplimiento de mis objetivos.

**Heidy Janela Jiménez Granda**

## **Agradecimiento**

Dejo plasmados mis sentimientos de gratitud, principalmente a Dios quien bendice mi vida. A nuestra querida alma Mater la Universidad Nacional de Loja que a través de la facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables me permitió cursar mi formación académica, de manera especial, a los docentes de la carrera de Ingeniería en Manejo y Conservación del Medio Ambiente, quienes con sabiduría y asertividad supieron transmitirme sus conocimientos.

Mi gratitud imperecedera a la directora de Tesis, Ing. Daniela Alejandra Román Cáceres, Mg.Sc., y a la codirectora Blga. Aura del Carmen Paucar Cabrera, Ph.D., por su orientación y acompañamiento durante el desarrollo de mi trabajo de titulación.

**Heidy Janela Jiménez Granda**

## Índice de contenidos

<b>Portada</b> .....	<b>i</b>
<b>Certificación</b> .....	<b>ii</b>
<b>Autoría</b> .....	<b>iii</b>
<b>Carta de autorización</b> .....	<b>iv</b>
<b>Dedicatoria</b> .....	<b>v</b>
<b>Agradecimiento</b> .....	<b>vi</b>
<b>Índice de contenidos</b> .....	<b>vii</b>
Índice de tablas.....	ix
Índice de figuras.....	x
Índice de anexos.....	xii
<b>1. Título</b> .....	<b>1</b>
<b>2. Resumen</b> .....	<b>2</b>
2.1. Abstract.....	3
<b>3. Introducción</b> .....	<b>3</b>
<b>4. Marco Teórico</b> .....	<b>5</b>
4.1. Comunidades bacterianas del suelo.....	5
4.2. Escarabajos estercoleros (coleoptera: scarabaeinae).....	6
4.3. Sucesión ecológica .....	7
<b>5. Metodología</b> .....	<b>8</b>
5.1. Área de estudio.....	8
5.2. Muestreo de escarabajos peloteros y suelo de los tres estados de sucesión ecológica .....	9
5.3. Aislamiento de consorcios bacterianos provenientes del intestino de los escarabajos y del suelo .....	11
5.3.1. Aislamiento de los consorcios bacterianos del intestino de los escarabajos....	11
5.3.2. Aislamiento de los consorcios bacterianos del suelo.....	12

5.4. Identificación morfológica de bacterias presentes en la microbiota del intestino de los escarabajos y en las muestras de suelo .....	13
<b>6. Resultados .....</b>	<b>14</b>
6.1. Muestreo de escarabajos peloteros y suelo de los tres estados de sucesión ecológica.....	14
6.2. Aislamiento de consorcios bacterianos provenientes del intestino de los escarabajos y del suelo .....	15
6.3. Identificación morfológica de bacterias presentes en el microbiota del intestino de los escarabajos y en las muestras de suelo .....	20
<b>7. Discusión .....</b>	<b>32</b>
<b>8. Conclusiones.....</b>	<b>36</b>
<b>9. Recomendaciones .....</b>	<b>37</b>
<b>10. Referencias.....</b>	<b>38</b>
<b>11. Anexos .....</b>	<b>45</b>

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Especies de escarabajos capturados en los tres estados de sucesión ecológica de la Reserva Natural Tapichalaca.....	15
<b>Tabla 2.</b> Temperatura y pH de las muestras de suelo de los tres estados de sucesión ecológica de la Reserva Natural Tapichalaca. ....	15
<b>Tabla 3.</b> Posibles géneros bacterianos identificados en las muestras de intestino de los escarabajos que habitan en los tres estados de sucesión de la Reserva Tapichalaca. ....	26
<b>Tabla 4.</b> Características macroscópicas y microscópicas de los posibles géneros bacterianos identificados en las muestras de intestino de los escarabajos los tres estados de sucesión de la Reserva Natural Tapichalaca. ....	27
<b>Tabla 5.</b> Posibles géneros bacterianos identificados en las muestras de suelo de los tres estados de sucesión de la Reserva Tapichalaca. ....	30
<b>Tabla 6.</b> Características macroscópicas y microscópicas de los posibles géneros bacterianos identificados en las muestras de suelo de los tres estados de sucesión de la Reserva Natural Tapichalaca. ....	31

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b>	Mapa de ubicación de la Reserva Natural Tapichalaca. ....	9
<b>Figura 2.</b>	Unidad de muestreo para suelos y escarabajos. ....	11
<b>Figura 3.</b>	Características morfológicas de colonias bacterianas. ....	13
<b>Figura 4.</b>	Morfología de las bacterias .....	14
<b>Figura 5.</b>	Aislamiento de consorcios bacterianos de la muestra intestinal del escarabajo 0007541 perteneciente al área de sucesión antigua (bosque natural). <b>a)</b> Cultivo mixto <b>b)</b> Colonia 1 pura <b>c)</b> Colonia 2 pura.....	16
<b>Figura 6.</b>	Aislamiento de consorcios bacterianos de la muestra intestinal del escarabajo 0007543 perteneciente al área de sucesión joven (bosque restaurado). <b>a)</b> Cultivo mixto <b>b)</b> Colonia 1 pura <b>c)</b> Colonia 2 pura.....	17
<b>Figura 7.</b>	Aislamiento de consorcios bacterianos de la muestra intestinal del escarabajo 0007546 perteneciente al área de sucesión pastizal. <b>a)</b> Cultivo mixto <b>b)</b> Colonia 1 pura <b>c)</b> Colonia 2 pura.....	18
<b>Figura 8.</b>	Aislamiento de consorcios bacterianos de la muestra de suelo del área de sucesión antigua. <b>a)</b> Cultivo mixto <b>b)</b> Colonia 1 pura <b>c)</b> Colonia 2 pura.....	19
<b>Figura 9.</b>	Aislamiento de consorcios bacterianos de la muestra de suelo del área de sucesión joven. <b>a)</b> Cultivo mixto <b>b)</b> Colonia 1 pura <b>c)</b> Colonia 2 pura.....	19
<b>Figura 10.</b>	Aislamiento de consorcios bacterianos de la muestra de suelo del área de sucesión pastizal. <b>a)</b> Cultivo mixto <b>b)</b> Colonia 1 pura <b>c)</b> Colonia 2 pura .....	20
<b>Figura 11.</b>	Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra intestino del escarabajo 0007541. ....	21
<b>Figura 12.</b>	Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra intestino del escarabajo 0007542 .....	22
<b>Figura 13.</b>	Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra intestino del escarabajo 0007543. ....	22
<b>Figura 14.</b>	Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra intestino del escarabajo 0007544. ....	23
<b>Figura 15.</b>	Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra intestino del escarabajo 0007545. ....	24
<b>Figura 16.</b>	Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra intestino del escarabajo 0007546. ....	25

<b>Figura 17.</b> Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra de suelo del bosque natural. ....	28
<b>Figura 18.</b> Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra de suelo del bosque restaurado. ....	29
<b>Figura 19.</b> Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra de suelo del pastizal. ....	30

## Índice de anexos

<b>Anexo 1.</b> Permiso de investigación científica .....	45
<b>Anexo 2.</b> Guía de movilización de especímenes .....	51
<b>Anexo 3.</b> Etiqueta de muestreo de escarabajos.....	52
<b>Anexo 4.</b> Selección aleatoria de escarabajos .....	52
<b>Anexo 5.</b> Número de identificación de escarabajos muestreados.....	53
<b>Anexo 6.</b> Etiquetas muestras de suelo.....	53
<b>Anexo 7.</b> Etiquetado de cultivos mixtos.....	53
<b>Anexo 8.</b> Control positivo con muestra directa del intestino de un escarabajo.....	54
<b>Anexo 9.</b> Control negativo: medio de cultivo.....	54
<b>Anexo 10.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007541, dilución -5.....	55
<b>Anexo 11.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007541, dilución -6.....	55
<b>Anexo 12.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007541, dilución -7.....	56
<b>Anexo 13.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007542, diluciones -5 y -6. ....	56
<b>Anexo 14.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007542, dilución -7.....	57
<b>Anexo 15.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007543, dilución -5.....	58
<b>Anexo 16.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007543, diluciones -6 y -7. ....	58
<b>Anexo 17.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007544, dilución -5.....	59
<b>Anexo 18.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007544, dilución -6.....	59
<b>Anexo 19.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007544, dilución -7.....	60
<b>Anexo 20.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007545, dilución -5.....	60
<b>Anexo 21.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007545, dilución -6.....	61
<b>Anexo 22.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007545, dilución -7.....	61
<b>Anexo 23.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007546, dilución -5.....	62
<b>Anexo 24.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007546, dilución -6.....	62
<b>Anexo 25.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007546, dilución -7.....	63
<b>Anexo 26.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del bosque natural, dilución - 2.....	64
<b>Anexo 27.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del bosque natural, dilución - 3.....	64
<b>Anexo 28.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del bosque natural, diluciones -4 y -5. ....	65



<b>Anexo 29.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del bosque restaurado, dilución -2 .....	65
<b>Anexo 30.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del bosque restaurado, diluciones -3, -4 y -5.....	67
<b>Anexo 31.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del pastizal, dilución -2 ....	66
<b>Anexo 32.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del pastizal, dilución -3. ...	67
<b>Anexo 33.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del pastizal, dilución -4. ...	68
<b>Anexo 34.</b> Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del pastizal, dilución -5. ...	68
<b>Anexo 35.</b> Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas del intestino del escarabajo 0007541 del bosque natural.....	69
<b>Anexo 36.</b> Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas del ..... intestino del escarabajo 0007542 del bosque natural.....	71
<b>Anexo 37.</b> Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas del intestino del escarabajo 0007543 del bosque restaurado.....	73
<b>Anexo 38.</b> Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas del intestino del escarabajo 0007544 del pastizal.....	74
<b>Anexo 39.</b> Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas del intestino del escarabajo 0007545 de pastizal.....	75
<b>Anexo 40.</b> Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas del intestino del escarabajo 0007546 de pastizal.....	77
<b>Anexo 41.</b> Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas de la muestra de suelo del boque natural.....	79
<b>Anexo 42.</b> Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas de la muestra de suelo del boque restaurado.....	80
<b>Anexo 43.</b> Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas de la muestra de suelo del pastizal.....	83
<b>Anexo 44.</b> Certificación de traducción del Resumen (Abstract) .....	85

## **1. Título**

“RELACIÓN ENTRE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS DE LA MICROBIOTA DE ESCARABAJOS ESTERCOLEROS (COLEOPTERA: SCARABAEINAE) Y DEL SUELO CON TRES ESTADOS DE SUCESIÓN DEL BOSQUE DE LA RESERVA NATURAL TAPICHALACA DEL CANTÓN PALANDA.”

## 2. Resumen

El suelo es un ecosistema importante en el que diferentes especies bacterianas desempeñan un papel fundamental como bioindicadores de su comportamiento ecológico y evolutivo. En el presente estudio se aislaron y caracterizaron morfológicamente comunidades bacterianas de la microbiota intestinal de escarabajos peloteros (Coleoptera: Scarabainae) y del suelo de tres estados de sucesión ecológica (antigua o bosque natural, joven o bosque restaurado y pastizal) de la Reserva Natural Tapichalaca. Se llevó a cabo el aislamiento bacteriano de muestras de suelo y de intestino de escarabajos mediante la inoculación de cultivos mixtos y puros en dos medios de cultivo: Agar Nutritivo (AN) y Agar Tripticasa de Soya (TSA). La identificación morfológica de las colonias bacterianas se realizó a través de la observación de características macroscópicas y la identificación de las células bacterianas mediante Tinción Gram y observación microscópica. Se asociaron cepas bacterianas a diferentes posibles géneros bacterianos que permiten concluir la variación entre algunos de los posibles géneros identificados en el aislamiento de consorcios bacterianos de las muestras del intestino de los escarabajos y de las muestras de suelo en relación a los tres estados de sucesión ecológica. En las muestras intestinales de escarabajos, de los cinco posibles géneros asignados, el género *Clostridium* se identificó en el bosque natural y *Enterobacter* en la muestra intestinal de un espécimen del pastizal. En las muestras de suelo, el género *Corynebacterium* se asoció con la muestra de suelo del bosque natural y *Pseudomonas* en la muestra de suelo del pastizal.

**Palabras clave:** bacterias, estados de sucesión, identificación, géneros bacterianos.

## 2.1. Abstract

Soil is an important ecosystem in which different bacterial species play a fundamental role as bioindicators of their ecological and evolutionary behavior. In the present study, bacterial communities of the intestinal microbiota of dung beetles (Coleoptera: Scarabainae) and soil from three stages of ecological succession (old or natural forest, young or restored forest and grassland) of the Tapichalaca Natural Reserve were isolated and morphologically characterized. Bacterial isolation of soil and beetle gut samples was carried out by inoculation of mixed and pure cultures in two culture media: Nutrient Agar (NA) and Trypticase Soy Agar (TSA). The morphological identification of bacterial colonies was performed through the observation of macroscopic characteristics and the identification of bacterial cells by Gram staining and microscopic observation. Bacterial strains were associated to different possible bacterial genera that allow us to conclude the variation among some of the possible genera identified in the isolation of bacterial consortia from beetle gut samples and soil samples in relation to the three stages of ecological succession. In the beetle gut samples, of the five possible genera assigned, the genus *Clostridium* was identified in the natural forest and *Enterobacter* in the gut sample of a grassland specimen. In the soil samples, the genus *Corynebacterium* was associated with the soil sample from the natural forest and *Pseudomonas* in the soil sample from the pasture.

**Key words:** bacteria, successional stages, identification, bacterial genera.

### 3. Introducción

La mayor parte de la selva tropical de la región amazónica en Ecuador se considera una de las áreas con mayor diversidad biológica a nivel del mundo (Viteri-Salazar y Toledo, 2020). A pesar de este reconocimiento, la conversión de los bosques en la Amazonía ecuatoriana ha ido incrementado con diferentes fines productivos que incluyen actividades de extracción de petróleo, colonización, inmigración, extracción de madera, etc., lo cual genera situaciones ambientalmente irreversibles, como el cambio de uso de suelo. (Huera-Lucero et al., 2020). El suelo es un recurso natural imprescindible para el desarrollo de los organismos vivos y por ende, su degradación también afecta a aquellos grupos funcionales que allí habitan (Lal, 2015). Los organismos del suelo cumplen un rol valioso como bioindicadores del estado o perturbación del suelo, tanto por sus funciones como por su diversidad, densidad y abundancia.

Entre algunos grupos taxonómicos considerados como bioindicadores del comportamiento ecológico y evolutivo, se encuentran las bacterias formadoras de consorcios, que responden rápidamente a las perturbaciones ambientales y son actores fundamentales en los procesos biogeoquímicos y la descomposición de la materia orgánica, por lo tanto, su composición puede ser valiosa para valorar el funcionamiento del ecosistema suelo (Gu et al., 2018). Otro grupo taxonómico es el de los escarabajos peloteros, que llevan a cabo funciones como el ciclo de nutrientes a través de la eliminación de estiércol, la bioturbación del suelo, el crecimiento de plantas, la dispersión secundaria de semillas y el control de parásitos. Al igual que las bacterias, los escarabajos son sensibles a la modificación del hábitat (Milotić et al., 2017). Además, estos dos grupos interactúan simbióticamente entre sí; los escarabajos proporcionan hospedaje y protección a las bacterias que se encuentran en su interior y por su parte, las bacterias participan en el proceso de digestión de los escarabajos y mediante la protección contra patógenos les ayudan a desarrollar la capacidad de adaptarse a los constantes cambios ambientales. Las bacterias que cumplen funciones simbióticas con los escarabajos, forman parte de su microbiota central durante todo su ciclo de vida (Estes et al., 2013; Chouaia et al., 2019).

Knelman y coinvestigadores, (2019) sostienen que el desarrollo o el ensamblaje de las bacterias que habitan en el suelo se ve condicionado por los cambios que generan las perturbaciones en las propiedades edáficas como la química del carbono (C) del suelo, las reservas de nutrientes, el pH y el potencial de erosión, etc... Otros autores mencionan que la

destrucción del hábitat, la sobreexplotación, la compactación, la erosión, la contaminación, acidificación salinización y las bajas en la materia orgánica del suelo provoca la degradación insostenible de los suelos y pérdida de diversidad genética (Aksoy et al., 2017; Kopittke et al., 2019).

Por ello, existe un interés creciente en estudiar y comprender las respuestas de las comunidades bacterianas del suelo bajo la restauración ecológica (Yu et al., 2021). Los modelos de sucesión ecológica pueden ser comparados mediante el cambio en el número de los taxones y la variabilidad entre las comunidades locales dentro de una región o hábitat determinados, ya sea entre las etapas de sucesiones tempranas y tardías. Al considerar que las trayectorias sucesionales pueden ser muy irregulares y no lineales, dependiendo de sus características ambientales no se espera que las comunidades bacterianas sean iguales (Ortiz-Álvarez et al., 2018)

En Ecuador no existen estudios o investigaciones previas en las cuales se haya evaluado y comparado cómo la estructura del paisaje de un hábitat rehabilitado o en proceso de regeneración incide en la diversidad de bacterias presentes en el suelo y en la microbiota del intestino de los escarabajos estercoleros. El presente trabajo investigativo pretende generar información sobre el desarrollo de las comunidades bacterianas en el suelo y en el intestino de los escarabajos estercoleros (Coleoptera: Scarabaeinae) que habitan en diferentes estados de sucesión del bosque de la Reserva Natural Tapichalaca, del Cantón Palanda, Provincia de Zamora. La Reserva natural Tapichalaca se caracteriza por contar con un modelo de conservación que incluye la adquisición de tierras dedicadas a la ganadería para llevar a cabo procesos de restauración ecológica (BirdLife International, 2022). En este sentido, se busca dar respuesta a la siguiente interrogante: ¿Existe diferencia en la composición bacteriana en la microbiota intestinal de los escarabajos estercoleros (Coleoptera: Scarabaeinae) y en el suelo de los tres estados de sucesión (antigua o bosque natural, joven o bosque restaurado y pastizal) del bosque de la Reserva Natural Tapichalaca?

Cabe mencionar que esta investigación forma parte del Proyecto de investigación “Uso de escarabajos biorrecicladores (Coleoptera: Scarabaeinae) y consorcios bacterianos del suelo como estrategia para la regeneración de ecosistemas en tres áreas de Loja y Zamora Chinchipe”, el mismo que fue aprobado por la Dirección de Investigación de la Universidad Nacional de Loja. Los resultados obtenidos también servirán para el cumplimiento de dicho proyecto.

## **Objetivo general**

- Caracterizar consorcios bacterianos de la microbiota de los escarabajos peloteros (Coleoptera: Scarabaeinae) y del suelo de tres estados de sucesión ecológica (antigua, joven, pastizal) del bosque de la Reserva Natural Tapichalaca.

## **Objetivos específicos**

- Obtener muestras de escarabajos peloteros (Coleóptera: Scarabainae) y de suelo de los tres estados de sucesión ecológica.
- Aislar consorcios bacterianos provenientes del intestino de los escarabajos estercoleros y del suelo.
- Identificar fenotípicamente las bacterias presentes en la microbiota del intestino de los escarabajos y en el suelo de los tres diferentes estados de sucesión ecológica.

## **4. Marco Teórico**

### **4.1. Comunidades bacterianas del suelo**

Es de consideración general que la mayor parte de los suelos hospedan en ellos comunidades bacterianas diversas, las bacterias son los microorganismos con mayor abundancia en el suelo (Wei et al., 2018; Bay et al., 2020). Sansupa et al. (2021), sobre los beneficios de las bacterias del suelo, exponen que estos microorganismos promueven el proceso de los ciclos bioquímicos, contribuyen a optimizar la estructura edáfica, controlan los patógenos y generan resistencia al estrés en las plantas, además, incrementan las reservas de nutrientes para que estas las aprovechen eficazmente.

Las bacterias del suelo se han convertido en uno de los principales actores que impulsan el funcionamiento de los ecosistemas forestales en múltiples escalas de tiempo (Shigyo et al., 2019), no obstante, la presencia de este grupo de microorganismos en el suelo se puede ver influenciada por los cambios en el uso de la tierra o por las diferentes edades de sucesión de la misma (Sun et al., 2017). Barnett y colaboradores (2020), desarrollaron un estudio en el cual analizan el ensamblaje de las comunidades bacterianas en el suelo de tres tipos de uso de la tierra (tierras de cultivo agrícolas, campos viejos y bosques), lograron determinar que el uso de la tierra en acción mutua con el pH, tienen efectos impulsores sobre el agrupamiento de

comunidades bacterianas en las diferentes áreas de estudio, y esta interacción varía según la clase de pH.

Walters y Martiny (2020), hacen referencia a la importancia que representan las bacterias por ser los organismos más diversos del planeta que influyen en el funcionamiento del ecosistema, ya sea en las comunidades asociadas al hospedador, los suelos o los océanos, no obstante, no se ha logrado conocer con certeza cuáles son los hábitats con mayor diversidad de bacterias. Es así como se llevó a cabo un estudio para saber qué hábitats albergan los niveles más altos de diversidad bacteriana; se incluyó el estudio de suelos con diferente tipo de uso (agrícola, pastizales, matorrales, bosques, desierto caliente, desierto frío y suelo de tundra). Encontraron mayor riqueza en los suelos agrícolas junto a los biomas cálidos de desierto, pastizales y matorrales. Por otro lado, los suelos forestales contenían menor diversidad y la tundra y los desiertos fríos mantenían la riqueza más baja.

#### **4.2. Escarabajos estercoleros (coleoptera: scarabaeinae)**

Los escarabajos estercoleros o peloteros (Coleoptera: Scarabaeinae), son insectos que generalmente se encuentran en mayor densidad y diversidad en climas cálidos o tropicales (Huerta et al., 2013). Estos comprenden un grupo funcional muy importante para la provisión de servicios ecosistémicos (Beynon et al., 2015), por su cumplimiento de funciones clave para la conservación de la biodiversidad. Al alimentarse de estiércol, pueden actuar como dispersores secundarios de semillas y ayudar al reciclaje de nutrientes (Huerta et al., 2013). Además, también realizan dos actividades fundamentales que son, aireación del suelo y la descomposición de la hojarasca vegetal en el suelo (Manning et al., 2016).

Por ello, y por las ventajas estadísticas de la riqueza de especies, sus distribuciones geográficas amplias, la facilidad de recolección y la sensibilidad que presentan ante el cambio de hábitat, los escarabajos peloteros cumplen enteramente los criterios biológicos y prácticos para considerarlos como un taxón bioindicador (Tocco et al., 2018; Raine y Slade, 2019) ideal para evaluar los efectos de los cambios antrópicos y naturales en el medio ambiente sobre la biodiversidad (Correa et al., 2018).

Ebert y otros autores (2021), estudiaron la microbiota del intestino de escarabajos peloteros; analizaban la diversidad de bacterias del intestino posterior de nueve géneros. Determinaron que la comunidad intestinal de los especímenes del género *Cephalodesmius* presentaba más de 600 taxones bacterianos diferentes. Mientras que en el caso de los géneros



restantes poseían menos de 200 taxones bacterianos. Del género *Ontófago* se exponían menos de 100 taxones bacterianos en el intestino. Dentro de todos los géneros, los filos bacterianos que más se repetían fueron *Proteobacterias*, *Firmicutes*, y *Bacteroidetes*.

También se han efectuado estudios que relacionan a los dos taxones, por ejemplo; Kolasa y colaboradores (2019), estudiaron el microbioma de 24 especies de escarabajos pertenecientes a tres gremios tróficos (detritívoros, herbívoros, carnívoros) y cinco familias (Carabidae, Staphylinidae, Chrysomelidae, Curculionidae, Scarabaeidae). En este trabajo los resultados permiten determinar que las comunidades microbianas cambian considerablemente en los huéspedes (escarabajos) y que la diversidad de bacterias se condiciona por las relaciones filogenéticas del huésped y por la afinidad trófica. También se encontró que la microbiota de la especie Scarabaeidae, en su mayoría estaba representada por *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y *Carnobacterium*, *Bacillus*.

### **4.3. Sucesión ecológica**

La sucesión ecológica refleja el proceso de reincorporación de las comunidades biológicas a hábitats que han sufrido una perturbación natural o antropogénica (Chang y Turner, 2019), por ello se considera como un proceso importante en el sistema terrestre, cuyo rol importante se centra en la mejora de la calidad del suelo y la diversidad de plantas (Zeng et al., 2017). En los ecosistemas terrestres la retroalimentación planta-suelo influye en las comunidades vegetales y microbianas y juegan un papel importante en la determinación de su estructura y dinámica sucesional (Yan et al., 2020).

Las bacterias del suelo representan el vínculo entre el suelo y las plantas, por ello, resulta necesario estudiar la comunidad microbiana del suelo dentro de la cual se encuentran las bacterias, ya sea para comprender cómo los organismos heterótrofos y simbióticos cambian con el tiempo, y cómo estos cambios se relacionan con los cambios propios en las comunidades de plantas en cada estado sucesional. Los estudios comparativos entre sitios con diferentes etapas de sucesión proporcionan información que permite comprender si las comunidades se recuperan a un estado anterior o divergen a un nuevo estado en diferentes etapas de sucesión (Zeng et al., 2017; Chang y Turner, 2019).

Algunos autores, como Barber y coautores (2017), han comparado la composición bacteriana del suelo de praderas de pastos altos con los de sitios de pre restauración locales y remanentes de praderas en una cronosecuencia de 27 años. Determinaron que algunas

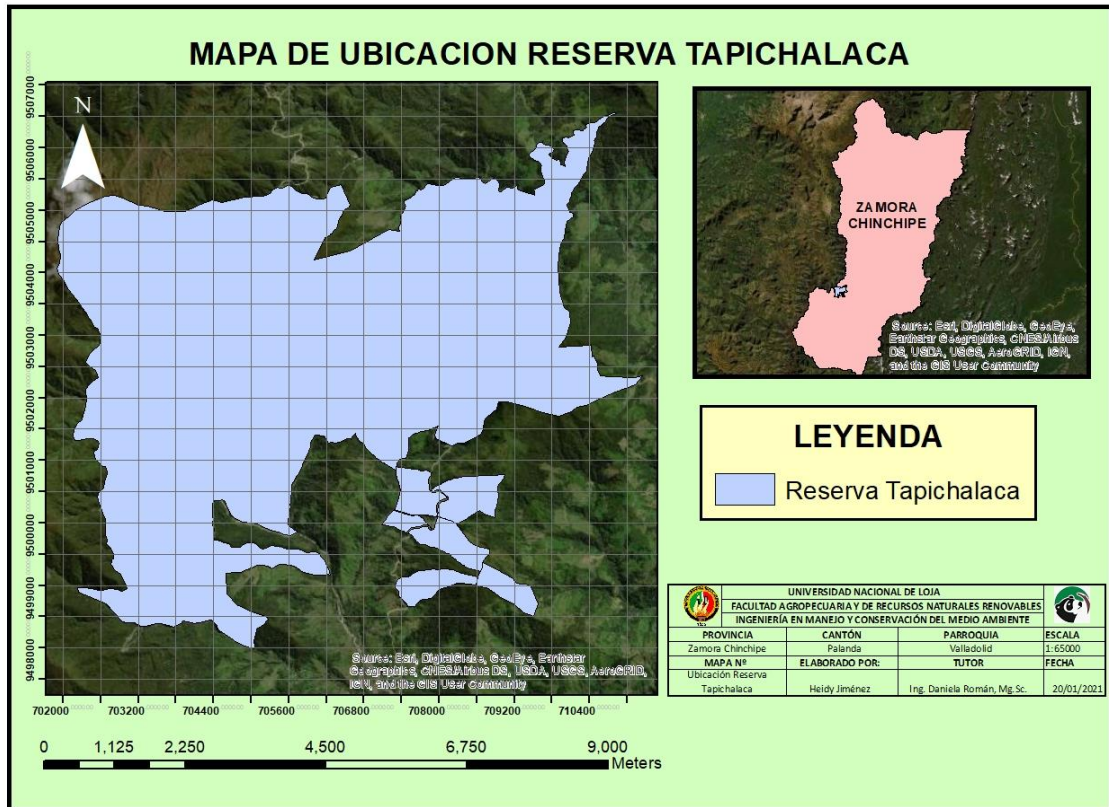
comunidades bacterianas del suelo en áreas de restauración de praderas más antiguas diferían significativamente de aquellas de sitios de restauración jóvenes, pero eran similares a las de los remanentes de praderas locales, haciendo referencia a una restauración ecológica exitosa. Otro caso es el estudio de Teng y otros autores (2019), analizaron las comunidades bacterianas del suelo de cuatro áreas recuperadas en cronosecuencias de 5, 11, 21 y 30 años posteriores a la forestación, utilizaron como referencia un sitio cercano de bosque con frondosas naturales. Establecieron que la riqueza de bacterias incrementa con el aumento de la edad de la cronosecuencia hasta los 30 años, y disminuye en el sitio de referencia, lo que recalca la forma en la que las diferentes propiedades de las bacterias están influenciadas durante la recuperación del ecosistema dentro del mismo entorno.

## 5. Metodología

### 5.1. Área de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en Ecuador, provincia de Zamora Chinchipe, cantón Palanda, en la Reserva Natural Tapichalaca perteneciente a la Fundación Jocotoco. Sus límites son, al norte con el Parque Nacional Podocarpus y al sur con la parroquia Valladolid, cuenta con un área de 3624 hectáreas y se encuentra en las coordenadas 04°29'S; 79°08'W; con un rango altitudinal que va de 1800 a 3400 msnm. La temperatura media varía de los 10 – 20 °C y su pluviosidad puede llegar hasta 5 mm de lluvia por año (Fundación JOCOTOCO, 2022).

La reserva se caracteriza por poseer paisajes heterogéneos con diferentes estados de sucesión ecológica. Incluye áreas de bosque nublado primario hasta bosque altoandino, achaparrado y páramo (Birdlife International, 2022), dentro de estos espacios habitan especies de flora y fauna única; entre estos se encuentran: la Rana Arborícola de Tapichalaca (*Hyloscirtus tapichalaca*), aves que se encuentran globalmente amenazadas: El Jocotoco Antpitta, Perico Cachetidorado, Perico Pechiblanco, Pava Barbada, etc... Es importante mencionar que la Reserva de Tapichalaca conforma un importante "corredor ecológico" para el Tapir Andino, del Oso de Anteojos, Puma, Guanta Andina, Ciervo Enano y Coatí Andino. En cuanto a las especies de flora, posee especies endémicas de Ecuador, como la liana *Bomarea longipesen* y el romerillo (*Podocarpus spp.*) (Fundación JOCOTOCO, 2022).



**Figura 1.** Mapa de ubicación de la Reserva Natural Tapichalaca.

Fuente: Elaboración propia (2021)

## 5.2. Muestreo de escarabajos peloteros y suelo de los tres estados de sucesión ecológica

Previo a iniciar con el proceso de muestreo, se tramitó la Solicitud de permiso de investigación (Anexo 1) y la Guía de Movilización al Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica (Anexo 2).

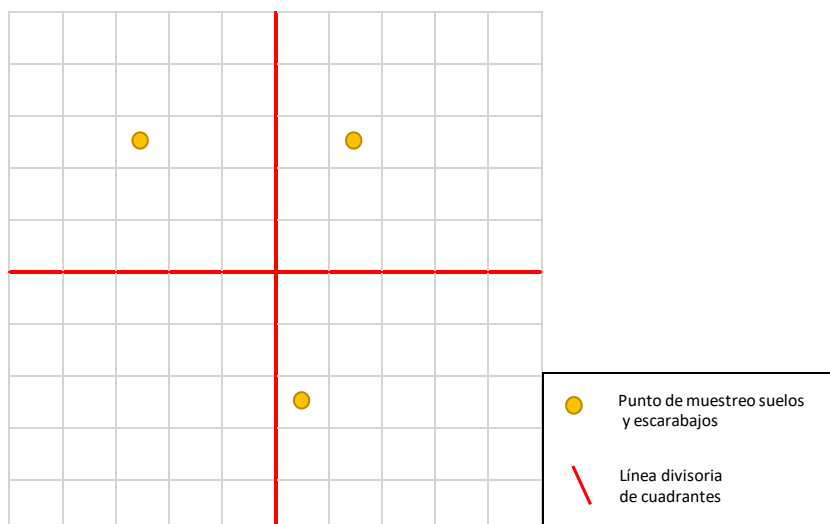
El primer sitio de estudio corresponde al área de sucesión antigua o bosque conservado ( $-4^{\circ}49'S$ ;  $-79^{\circ}12'W$ ), el segundo sitio al área de sucesión joven o bosque restaurado ( $-4^{\circ}50'S$ ;  $-79^{\circ}13'W$ ) y el tercer sitio corresponde al pastizal ( $-4^{\circ}50'S$ ;  $-79^{\circ}13'W$ ). En cada estado de sucesión se estableció una parcela de 10 m x 10 m, subdividida en 4 cuadrantes de 25 m x 25 m y mediante sorteo aleatorio se elige una subparcela, posteriormente esta es subdividida en subparcelas de 1 m x 1 m y aleatoriamente se establecieron tres puntos de muestreo (Figura 2).

Durante el mes de febrero del año 2022 se realizó un solo muestreo por tipo de sucesión el cual fue monitoreado durante 24 horas. La captura de los escarabajos se llevó a cabo mediante trampas de caída (pitfall) modificadas, cebadas con heces humanas, según Da Silva y Hernández, (2015). Las modificaciones consistieron en colocar el cebo en un vaso plástico elevado para evitar que el excremento pudiera entrar en contacto con los escarabajos y alterar

los resultados; el recipiente enterrado contenía suelo del mismo sitio de muestreo, de manera que los escarabajos capturados permanecían vivos hasta llegar al laboratorio; la boca del recipiente contenía un embudo para evitar que los escarabajos salieran del recipiente; la trampa estaba protegida de la lluvia con un plato plástico para evitar contaminación del cebo hacia el recipiente enterrado en caso de precipitación. Una vez capturados los escarabajos, vivos se desenterraron los recipientes, se colocaron tapas agujereadas y se etiquetaron todos los recipientes de colecta por punto de muestreo (localidad, tipo de paisaje, número de transecto, número de trampa, fecha y colector) (Anexo 3).

Se transportó a todos los especímenes colectados al Museo de Zoología de la Universidad Nacional de Loja (LOUNAZ), con el fin de realizar la selección aleatoria de los especímenes para la extracción del intestino. Se tomó en cuenta a los individuos de la especie que más se repetía y se seleccionaron mediante sorteo aleatorio dos individuos de dos de los tres puntos de muestreo por cada estado de sucesión (Anexo 4), todo el proceso de selección de los especímenes se realizó bajo la asesoría de la Dra. Aura Paucar Cabrera, especialista en entomología. Además, se asignó un número de identificación a cada uno de los escarabajos seleccionados (Anexo 5). El criterio de selección de solo dos escarabajos por área de sucesión se realizó con la finalidad de llevar a efecto un mejor manejo de los cultivos; a partir de cada escarabajo se realizó la siembra de nueve cultivos, que incrementaron de acuerdo a la cantidad de colonias puras seleccionadas.

El muestreo del suelo se llevó a cabo en los mismos puntos seleccionados para el muestreo de escarabajos (Figura 2), se tomaron las tres muestras (A, B, C) a 20 cm de profundidad y fueron homogeneizadas entre sí para obtener una sola muestra compuesta por estado de sucesión. Se las depositó en una funda ziploc con su respectiva etiqueta (Gu et al., 2018) (Anexo 6) para llevarlas al laboratorio, de cada una de estas muestras se tomó cierta cantidad y se midió el pH. Finalmente, se colocó cada muestra representativa sobre papel aluminio etiquetado y se dejó secar durante 48 h a temperatura ambiente.



**Figura 2.** Unidad de muestreo para suelos y escarabajos.  
Fuente: Elaboración propia (2022)

### **5.3. Aislamiento de consorcios bacterianos provenientes del intestino de los escarabajos y del suelo**

#### **5.3.1. Aislamiento de los consorcios bacterianos del intestino de los escarabajos**

Se sacrificó a los escarabajos mediante enfriamiento a una temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas, pasado este tiempo se los desinfectó en un vaso de precipitación con alcohol al 70% durante 3 minutos, por último fueron enjuagados en agua estéril para evitar contaminación (Arias-Cordero et al., 2012). En la cámara de flujo laminar con la finalidad de mantener un ambiente estéril se procedió a realizar la disección del intestino, empleando una aguja de microcirugía se realizó un corte en la base de su abdomen y se lo extrajo con una pinza desinfectada. Con el uso de otra pinza desinfectada se extrajo el intestino (intestino anterior - recto) (Schloss et al., 2006; Vasanthakumar et al., 2008). Es importante indicar que una vez que se efectuó la toma de muestras, los escarabajos fueron montados para ser depositados en el museo LOUNAZ.

La muestra de intestino fue colocada en un tubo criovial con 2 ml de agua de peptona y se lo trituró por dos minutos con la ayuda de un varilla de agitación desinfectada, luego se agitó en el vórtex por 20 segundos para homogeneizar la muestra y obtener la muestra madre, a partir de la cual se procedieron a realizar 7 diluciones seriadas con factor 1:10 mediante el siguiente proceso:

- Colocar 0,5 ml de muestra madre en un tubo eppendorf.
- Agregar 1,5 ml de agua de peptona autoclavada.
- Homogeneizar durante 20 segundos para obtener la primera dilución ( $10^{-1}$ ).

- Repetir el proceso hasta conseguir la séptima dilución ( $10^{-7}$ ).

La siembra se realizó a partir de la quinta dilución, esta consistió en colocar dentro de las cajas Petri con medio de cultivo 0,01 ml de cada una de estas diluciones para ser esparcida mediante la técnica de agotamiento en estrías (Reynoso et al., 2015). Para la obtención de cultivos mixtos se trabajó con dos medios básicos de cultivo: Agar nutritivo (AN) que permite el crecimiento de la mayoría de bacterias y Agar Tripticasa de soja (TSA) que favorece el desarrollo de bacterias más exigentes. Las placas respectivamente etiquetadas (Anexo 7) fueron puestas a la incubadora durante 48 horas a 28 °C (Vasanthakumar et al., 2008; Galvis et al., 2009). Además, se contó con dos repeticiones por cada dilución sembrada y con dos controles generales: un control positivo con muestra directa del intestino (Anexo 8) y un control negativo solamente con medio de cultivo (Anexo 9). Los cultivos fueron revisados cada 24 h.

Posterior al crecimiento de colonias en los cultivos mixtos, estas se diferenciaron de acuerdo a características morfológicas y se aislaron de manera independiente denominándolas Col1 y Col2, etc. tal y como se observa en la Figura 5, luego fueron sembradas nuevamente en TSA y AN y puestas en incubación durante 24 h a 28 °C para adquirir cultivos puros y a partir de estos se llevó a cabo la identificación morfológica celular.











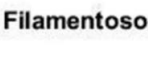



### **5.3.2. Aislamiento de los consorcios bacterianos del suelo**

Las tres muestras compuestas de suelo una vez secas se tamizaron, de cada una se pesaron 10 gr para mezclarlos en 90 ml agua estéril y obtener la muestra madre. El proceso se realizó con cada muestra de suelo, por separado; las muestras madre se homogeneizaron en el agitador durante 20 minutos (Sansupa et al., 2021). A partir de las tres muestras madre homogeneizadas, se hicieron cinco diluciones seriadas ( $10^{-1}$  -  $10^{-5}$ ) (Castañeda, 2004).

El aislamiento, se inició a partir de la dilución ( $10^{-2}$ ) y el procedimiento de siembra fue el mismo que se empleó para las muestras del intestino de los escarabajos. A partir de los cultivos mixtos se realizó la selección de colonias diferentes con base en la caracterización macroscópica. Cada colonia identificada se aisló nuevamente en agar TSA y AN para la obtención de cultivos puros.

#### 5.4. Identificación morfológica de bacterias presentes en la microbiota del intestino de los escarabajos y en las muestras de suelo

En esta fase se identificó la morfología de las colonias puras seleccionadas, para la identificación se consideraron las características de la figura 3:

Forma	Borde	Elevación	Superficie
Puntiforme 	Entero 	Plana 	Lisa o rugosa
Circular 	Ondulado 	Elevada 	Mate o brillante
Rizoide 	Lobulado 	Convexa 	Seca o cremosa
Irregular 	Filamentoso 	Crateriforme 	Invasiva o superficial
Filamentosa 		Acuminada 	

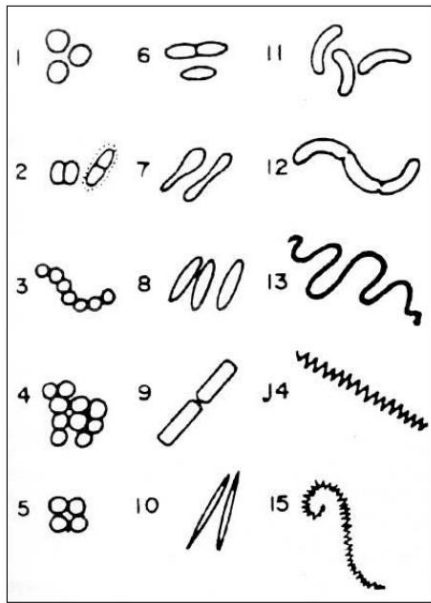
**Figura 3.** Características morfológicas de colonias bacterianas.

*Nota:* Reproducida de Manual de Prácticas de Laboratorio de Bacteriología y Micología (Salvador y Castillo, 2013).

De cada colonia pura se tomó una muestra para realizar la técnica de tinción Gram e identificar si son Gram positivos o Gram negativos, cuyo procedimiento se lo describe a continuación (Reynoso et al., 2015):

- Hacer el frotis tomando una colonia como muestra y se fija en el mechero
- Cubrir el frotis ya fijado con cristal violeta y dejar actuar durante 30 s y luego lavar con agua destilada
- Cubrir con solución de Lugol (I3K), dejar actuar durante 1 min y lavar con agua destilada.
- Cubrir con alcohol-acetona, durante 30 s y lavar con agua destilada
- Cubrir con safranina y dejar actuar por 1 min. Finalmente volver a lavar con agua destilada, secar y observar al microscopio con el objetivo de inmersión (100x).

La observación de las células bacterianas se hizo con el uso el microscopio. La morfología de las células bacterianas puede presentar las siguientes formas (Figura 4):



**Figura 4.** Morfología de las bacterias

*Nota:* 1. coccos; 2. diplococo; 3. coccos en cadenas; 4. coccos en racimos; 5. coccos en tetradas; 6. cocobacilos; 7. bacilos; 8. bacilos bordes redondeados; 9. bacilos bordes rectos; 10; bacilos fusiformes; 11, 12. bacilos curvos; 13 al 15. Espiroquetas. Adaptada de Morfología (Pérez, (2009)).

## 6. Resultados

### 6.1. Muestreo de escarabajos peloteros y suelo de los tres estados de sucesión ecológica

En el muestreo realizado en los tres puntos seleccionados de cada área de sucesión, se eligieron al azar seis escarabajos de aquellos colectados: dos ejemplares en el área de sucesión antigua (bosque natural) dos en el área de sucesión joven (bosque restaurado) y finalmente en el pastizal dos ejemplares. Todos los especímenes capturados pertenecen al género *Ontherus*, que en su mayoría están representados por la especie *Ontherus howdeni* con un total de cinco ejemplares y existe un sólo individuo de la especie *Ontherus hadros* (Tabla 1).



**Tabla 1.** Especies de escarabajos capturados en los tres estados de sucesión ecológica de la Reserva Natural Tapichalaca.

<b>Número de identificación</b>	<b>Género</b>	<b>Especie</b>	<b>Área de sucesión</b>
<b>0007541</b>	<i>Ontherus</i>	<i>Ontherus howdeni</i>	Bosque natural
<b>0007542</b>	<i>Ontherus</i>	<i>Ontherus hadros</i>	Bosque natural
<b>0007543</b>	<i>Ontherus</i>	<i>Ontherus howdeni</i>	Bosque restaurado
<b>0007544</b>	<i>Ontherus</i>	<i>Ontherus howdeni</i>	Bosque restaurado
<b>0007545</b>	<i>Ontherus</i>	<i>Ontherus howdeni</i>	Pastizal
<b>0007546</b>	<i>Ontherus</i>	<i>Ontherus howdeni</i>	Pastizal

En el muestreo de suelo se obtuvieron tres muestras homogeneizadas: del área de sucesión antigua (bosque natural), del área de sucesión joven (bosque restaurado) y del pastizal. Se encontró una temperatura de 22°C y un pH de 6,99 para BN, 21,8°C y 6,53 en el caso de BR y en PAS 21,7°C Y 5,70 respectivamente (Tabla 2).

**Tabla 2.** Temperatura y pH de las muestras de suelo de los tres estados de sucesión ecológica de la Reserva Natural Tapichalaca.

<b>Área de sucesión</b>	<b>Temperatura</b>	<b>pH</b>	<b>Altitud</b>
Bosque natural	22°C	6,99	2503 m.s.n.m
Bosque restaurado	21,8°C	6,53	2450 m.s.n.m
Pastizal	21,7°C	5,70	2390.n.m

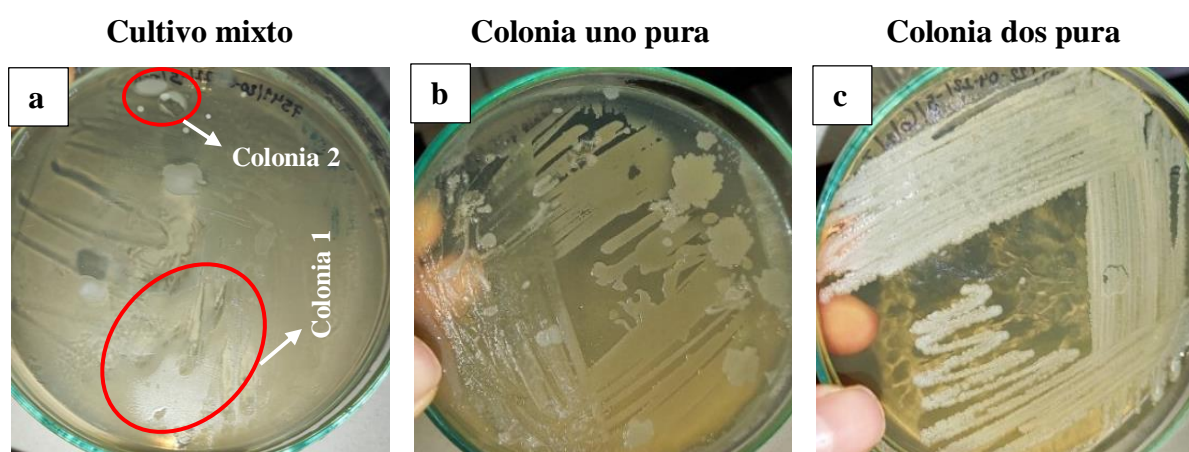
## **6.2. Aislamiento de consorcios bacterianos provenientes del intestino de los escarabajos y del suelo**

En el proceso de aislamiento de colonias bacterianas tanto con las muestras de suelo como con las muestras de intestino de los escarabajos, la selección de colonias puras se realizó a partir de aquellos cultivos mixtos que presentaron características macroscópicas diferentes y en el caso de las siembras que presentaron morfologías iguales o similares fueron descartadas. Obteniendo los siguientes resultados:

En el aislamiento de consorcios bacterianos de la muestra de intestino del espécimen 0007541 del área de sucesión antigua que corresponde al bosque natural, existió crecimiento de ocho cultivos mixtos, a partir de los cuales con base a la caracterización morfológica de colonias, se seleccionaron dos colonias puras de la dilución -5 y su repetición uno -5R<sub>1</sub>, en la repetición dos -5R<sub>2</sub> se seleccionó una sola colonia pura (Anexo 10). Para las siembras de la dilución -6 se identificaron tres colonias puras, una colonia en la caja principal y una en cada repetición (Anexo 11). Finalmente, en la siembra principal de la dilución -7 se obtuvo crecimiento de una colonia pura y en la repetición uno -7R<sub>1</sub> se identificaron tres colonias puras (Anexo 12). Se seleccionaron en total doce colonias puras para la muestra intestinal del escarabajo 0007541.

En el aislamiento bacteriano de la muestra de intestino del espécimen del número 0007542 se obtuvieron seis cultivos mixtos, de los cuales se aislaron once colonias puras distribuidas de la siguiente manera: una colonia en la siembra principal de la dilución -5, tres colonias en la dilución -6: una colonia en la siembra principal y dos colonias en la repetición uno -6R<sub>1</sub> (Anexo 13). Por último, en la dilución -7 se obtuvieron dos colonias en la siembra principal, tres en la repetición uno -7R<sub>1</sub> y una colonia en la repetición dos -7R<sub>2</sub> (Anexo 14).

Como resultado total de las dos muestras intestinales de los escarabajos del estado de sucesión antigua, se identificaron veintitrés colonias puras. La figura 5 muestra la selección de dos colonias bacterianas diferentes en el cultivo mixto de la dilución -5 de la muestra de intestino del escarabajo 0007541 y el aislamiento independiente de cada una.



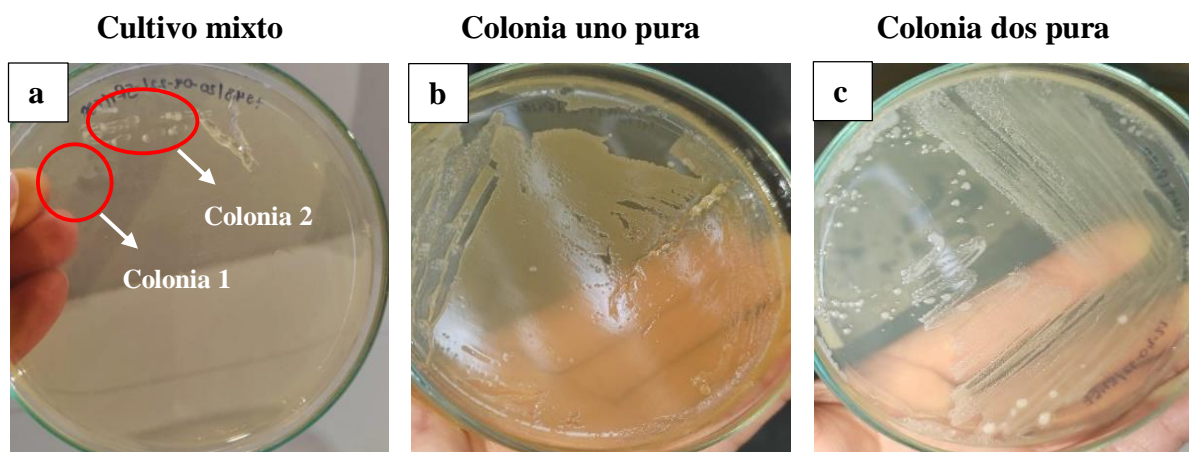
**Figura 5.** Aislamiento de consorcios bacterianos de la muestra intestinal del escarabajo 0007541 perteneciente al área de sucesión antigua (bosque natural). **a)** Cultivo mixto **b)** Colonia 1 pura **c)** Colonia 2 pura.

**Fuente:** Elaboración propia (2022)

En el aislamiento bacteriano realizado con la muestra intestinal del escarabajo 0007543 del área de sucesión joven (bosque restaurado) se obtuvieron cinco cultivos mixtos que dieron como resultado seis colonias puras; se seleccionaron dos colonias puras de la repetición uno  $-5R_1$ , una colonia de la repetición dos  $-5R_2$  (Anexo 15), dos colonias pertenecientes a las siembras de la dilución  $-6$  y su repetición dos  $-6R_2$  y la última colonia se presentó en la repetición dos de la dilución  $-7R_2$  (Anexo 16).

A partir de la muestra de intestino del espécimen 0007544 crecieron ocho cultivos mixtos en los cuales se identificaron nueve colonias puras; una colonia seleccionada para cada las siembras existentes en la dilución  $-5$ ,  $-5R_1$ ,  $-5R_2$  (Anexo 17), dos colonias en la siembra principal de la dilución  $-6$  y una colonia en la repetición uno de la misma (Anexo 18), las tres colonias restantes se presentaron una colonia en la siembra principal de la dilución  $-7$  y una colonia en cada repetición ( $-7R_1$ ,  $-7R_2$ ) (Anexo 19).

En total, el aislamiento bacteriano de las muestras de intestino de los dos escarabajos del área de sucesión joven o bosque restaurado sumó catorce colonias puras. En la siguiente figura se puede observar el crecimiento de dos colonias disimiles en un cultivo mixto correspondiente a la dilución  $-5R_2$  y junto al cultivo mixto se observan las dos colonias seleccionadas en crecimiento de cultivo puro.



**Figura 6.** Aislamiento de consorcios bacterianos de la muestra intestinal del escarabajo 0007543 perteneciente al área de sucesión joven (bosque restaurado). **a)** Cultivo mixto **b)** Colonia 1 pura **c)** Colonia 2 pura

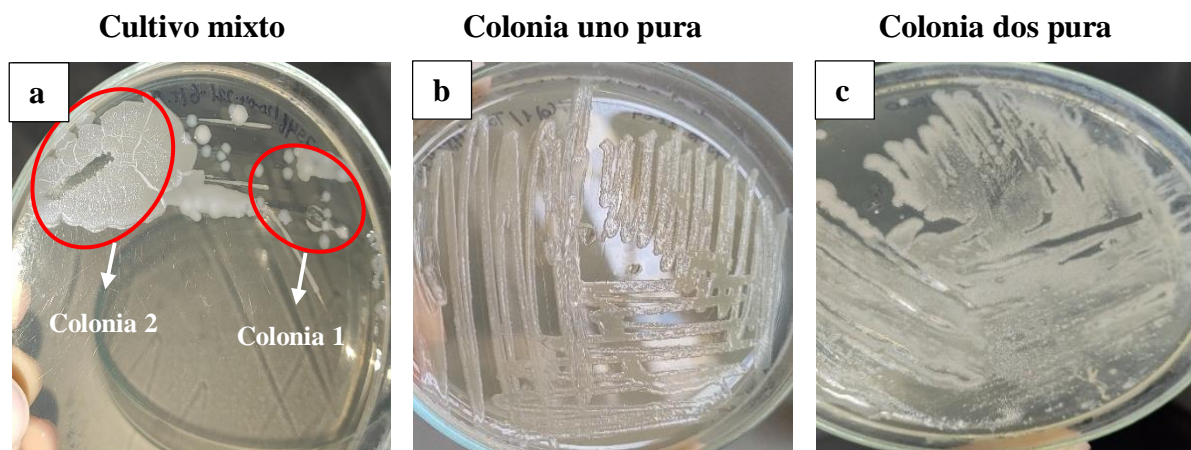
**Fuente:** Elaboración propia (2022)

En el aislamiento de consorcios bacterianos con la muestra intestinal del escarabajo 0007545 del pastizal resultaron ocho cultivos mixtos, y se identificaron las siguientes colonias puras: una colonia en la siembra principal de la dilución  $-5$  y una colonia en la repetición dos  $-5R_2$  (Anexo 20); una colonia en cada las repeticiones  $-6R_1$ , y  $-6R_2$  (Anexo 21), en la dilución  $-$

7 hubo crecimiento de una colonia en la caja principal, tres colonias en la repetición uno  $-7R_1$  y una colonia en la repetición dos  $-7R_2$  (Anexo 22). En total existieron nueve colonias puras.

Como resultado del aislamiento de la muestra de intestino del espécimen 0007546 crecieron ocho cultivos mixtos y se seleccionaron diez colonias puras, identificadas dos colonias para la repetición uno de dilución  $-5R_1$ , una colonia en la segunda repetición  $-5R_2$  (Anexo 23), dos colonias en la siembra principal de la dilución  $-6$  y una colonia en cada una de sus repeticiones (Figura 24), finalmente se identificaron dos colonias en la siembra principal de la dilución  $-7$  y una en la repetición dos  $-7R_2$  (Figura 25).

Las dos muestras de intestino de los escarabajos provenientes del pastizal suman en conjunto un total de veinte colonias puras. En la figura 7 se puede apreciar el crecimiento de cultivo mixto que corresponde a la dilución  $-6$  de la muestra intestinal del escarabajo 0007546 y la selección de colonias puras realizada.

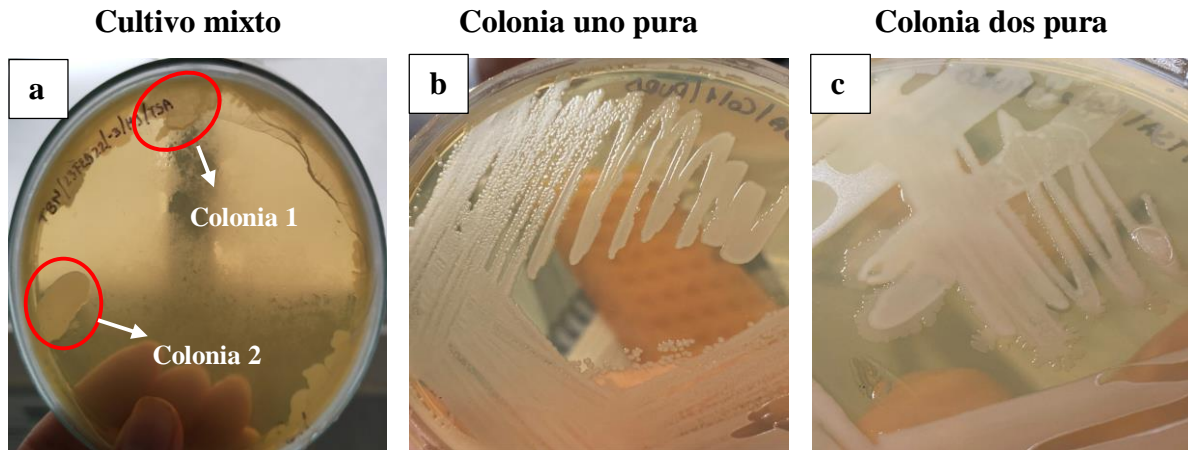


**Figura 7.** Aislamiento de consorcios bacterianos de la muestra intestinal del escarabajo 0007546 perteneciente al área de sucesión pastizal. **a)** Cultivo mixto **b)** Colonia 1 pura **c)** Colonia 2 pura

**Fuente:** Elaboración propia (2022)

En el aislamiento de consorcios bacterianos de la muestra de suelo del área de sucesión antigua que corresponde al bosque natural, se observó el crecimiento de nueve cultivos mixtos y la selección de once colonias puras. En el caso de la dilución  $-2$  y su repetición dos  $-2R_2$  se seleccionó una colonia pura, y en la repetición uno  $-2R_1$  se identificaron dos colonias (Anexo 26), en la dilución  $-3$ , de la caja principal se obtuvieron dos colonias y una colonia pura en cada una de sus repeticiones (Anexo 27), en la repetición  $-4$  se tomó una colonia en cada una de sus repeticiones; por último, en la dilución  $-5$  sólo se obtuvo crecimiento de una colonia en la repetición uno (Anexo 28). En la figura 8 se ha colocado un ejemplo del cultivo mixto y de las colonias seleccionadas con un crecimiento en estado puro.

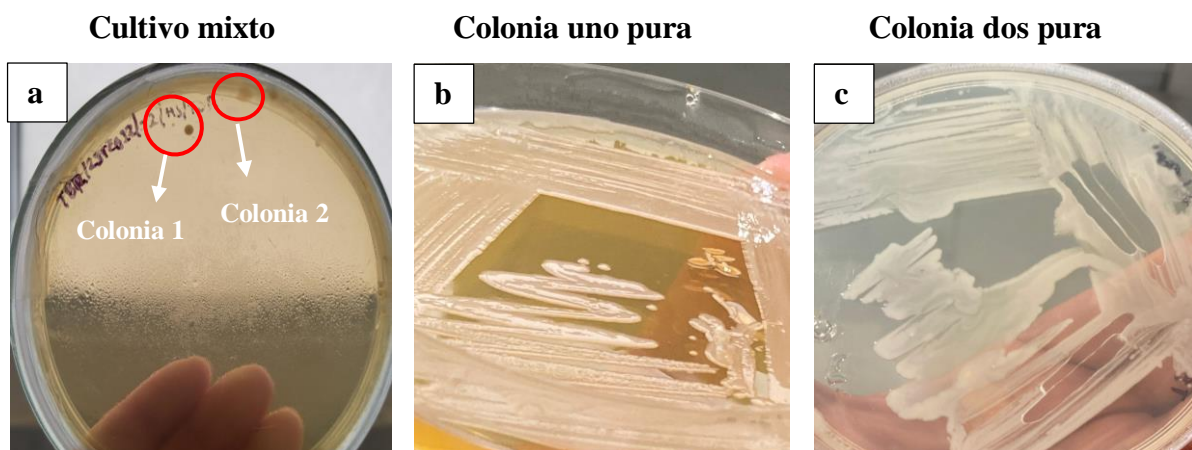




**Figura 8.** Aislamiento de consorcios bacterianos de la muestra de suelo del área de sucesión antigua. a) Cultivo mixto b) Colonia 1 pura c) Colonia 2 pura

**Fuente:** Elaboración propia (2022)

En el aislamiento bacteriano con la muestra de suelo del bosque restaurado, se evidenció crecimiento de siete cultivos mixtos y se seleccionaron once colonias puras: dos colonias en la siembra de las diluciones -2, -2R<sub>1</sub> y -2R<sub>2</sub> (Anexo 29); en la siembra principal de la dilución -3 se seleccionó una colonia y en la dilución -4 se identificaron dos colonias, finalmente, en las repeticiones -5R<sub>1</sub> y -5R<sub>2</sub> se identificó una colonia pura (Anexo 30). En la siguiente figura se puede apreciar las siembras pertenecientes a la dilución -2, se evidencia el crecimiento de bacterias en cultivo mixto y la selección de colonias puras.



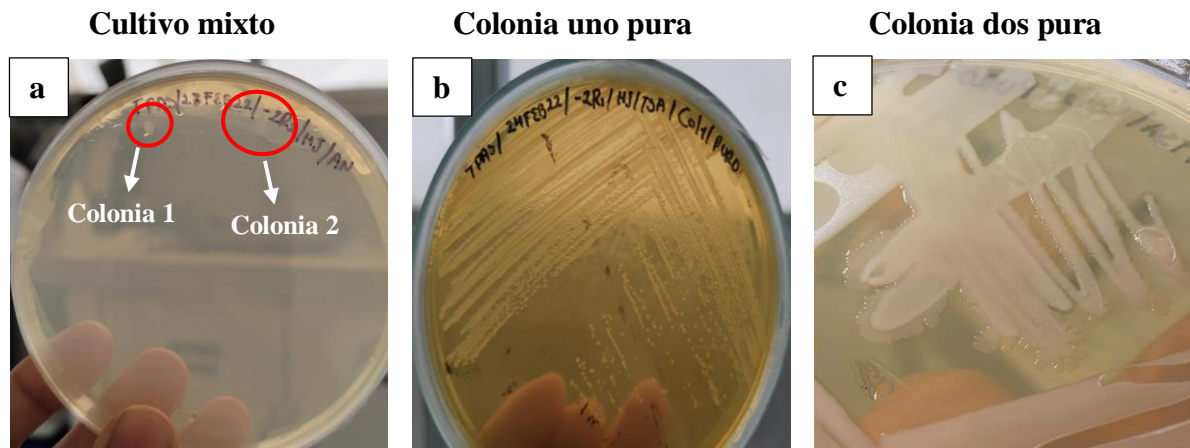
**Figura 9.** Aislamiento de consorcios bacterianos de la muestra de suelo del área de sucesión joven. a) Cultivo mixto b) Colonia 1 pura c) Colonia 2 pura

**Fuente:** Elaboración propia (2022)

En el proceso de aislamiento bacteriano con la muestra de suelo del pastizal se evidenció el crecimiento de nueve cultivos mixtos y la identificación de catorce colonias puras; dos colonias puras en la dilución -2 y dos colonias en la repetición uno -2R<sub>1</sub> (Anexo 31), tres

colonias en la siembra principal de la dilución -3 y una colonia para cada repetición (-3R<sub>1</sub> y -3R<sub>2</sub>) (Anexo 32), una colonia para la siembra principal de la dilución -4 y su repetición uno -4R<sub>1</sub> (Anexo 33), la última selección fue para la siembra principal -5 en donde se encontró una colonia y para la repetición uno -5R<sub>1</sub> se identificaron dos colonias (Anexo 34).

A continuación se indica el resultado del aislamiento bacteriano crecimiento del cultivo mixto en la siembra -2R<sub>1</sub>, y los cultivos puros de las colonias seleccionadas (Figura 10).



**Figura 10.** Aislamiento de consorcios bacterianos de la muestra de suelo del área de sucesión pastizal. a) Cultivo mixto b) Colonia 1 pura c) Colonia 2 pura

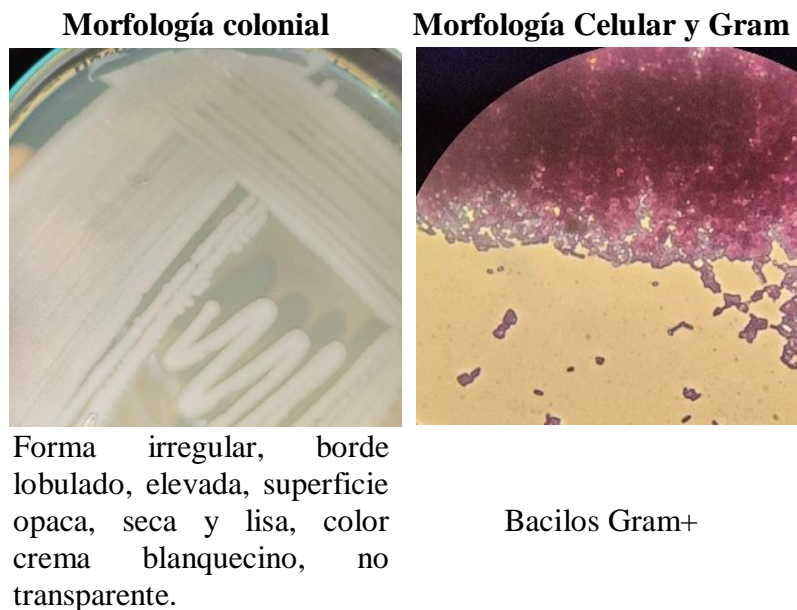
**Fuente:** Elaboración propia (2022)

### 6.3. Identificación morfológica de bacterias presentes en el intestino de los escarabajos y en las muestras de suelo

Con base a las características macroscópicas de las colonias y a la identificación morfológica de las células bacterianas provenientes de la muestra de intestino del escarabajo 0007541 del área de sucesión antigua (bosque natural), se evidenciaron siete morfologías coloniales diferentes. Existieron dos morfologías coloniales con mayor presencia: una morfología de las más repetidas se puede observar en la siembra -5R<sub>1</sub>/Col<sub>1</sub> con características de forma irregular, borde lobulado, elevada, superficie opaca, seca y lisa, color crema blanquecino, no transparente y con células bacterianas identificadas como bacilos Gram+, esta morfología colonial y celular se repitió en las siembras -6 y -7R<sub>1</sub>/Col<sub>3</sub>. La segunda morfología colonial más repetida fue la que se presenta en la siembra -5R<sub>1</sub>/Col<sub>2</sub> con aspectos de forma irregular, borde lobulado, elevada, superficie brillante, cremosa y rugosa, color crema oscuro, no transparente y se identificó como bacterias cocos Gram+, también se observó en las siembras de las diluciones -5R<sub>2</sub> y -7. En menor cantidad se observó la morfología colonial de las siembras 5/Col<sub>1</sub> y -7R<sub>1</sub>/Col<sub>2</sub> que en sus células bacterianas se presentaron Bacilos Gram+,

el último caso de colonias con características morfológicas iguales fue en las cajas -7R<sub>1</sub>/Col<sub>1</sub> y -6R<sub>1</sub>, finalmente, la morfología colonial observada en las siembras de la dilución -5/Col<sub>2</sub> fue única (Anexo 35).

A continuación se muestra un ejemplo en donde se describe de las características macroscópicas y microscópicas de la colonia -5R<sub>1</sub>/Col<sub>2</sub>.

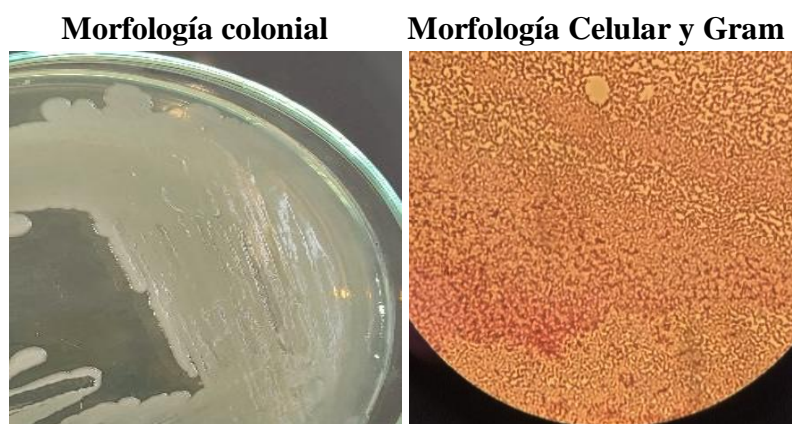


**Figura 11.** Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra intestino del escarabajo 0007541.

**Fuente:** Elaboración propia (2022)

En la observación macroscópica y microscópica de las colonias bacterianas de la muestra de intestino del escarabajo 0007542 se diferenciaron seis morfologías coloniales, la morfología colonial presente en mayor número de siembras es la que se observa en las siembras -6R<sub>1</sub>/Col<sub>1</sub>, -7/Col<sub>1</sub> y -7/Col<sub>2</sub> que posee una forma irregular, borde rizado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color crema blanquecino, translúcida y microscópicamente se identificó como Cocos Gram-. La segunda morfología más repetida es la observada en las siembras -7R<sub>2</sub>, -7R<sub>1</sub>/Col<sub>2</sub>, y -7R<sub>1</sub>/Col<sub>4</sub> que se distingue por ser puntiforme, borde ondulado, elevada, superficie opaca, seca y lisa, color crema, no transparente y se observó con morfología de Bacilos Gram+, el otro caso de morfología colonial repetida es el que se presenta en las siembras -6 y -6R<sub>1</sub>/Col<sub>2</sub>, la morfología colonial de las siembras y -5, -7R<sub>1</sub>/Col<sub>1</sub> y -7R<sub>1</sub> Col<sub>3</sub> se observaron en una sola ocasión; en el caso de la siembra -7R<sub>1</sub> Col<sub>3</sub> su morfología fue única tanto a nivel de características macroscópicas (Anexo 36).

La siguiente morfología colonial y celular corresponde a la siembra -6R<sub>1</sub>/Col<sub>2</sub>.



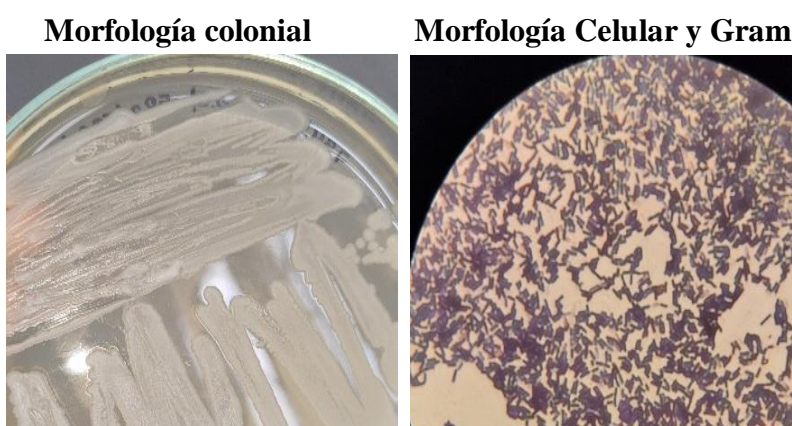
Forma irregular, borde rizado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color crema blanquecino, translúcida.

Cocos Gram -

**Figura 12.** Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra intestino del escarabajo 0007542

**Fuente:** Elaboración propia (2022)

El aislamiento bacteriano a partir de la muestra 0007543 del bosque restaurado permitió la identificación de cinco morfologías coloniales, la morfología presentada en la siembra -5R<sub>2</sub> con características de forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie opaca, seca y rugosa color crema blanquecino, no transparente y con morfología celular correspondiente a Bacilos Gram+, fue la única repetida, en este caso para la siembra -7R<sub>2</sub> (Figura 13). Las morfologías restantes se presentaron en una sola siembra (Anexo 37).



Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie opaca, seca y rugosa color crema blanquecino, no transparente.

Bacilos Gram+

**Figura 13.** Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra intestino del escarabajo 0007543.

**Fuente:** Elaboración propia (2022)



En las colonias puras de la muestra de intestino del escarabajo 0007544 se identificaron cuatro morfologías coloniales diferentes, una morfologías de características de forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color crema, no transparente y en el proceso de tinción cuya morfología bacteriana es cocos Gram- estuvo presente en las siembras de -6/Col<sub>1</sub>, -7 y -7R<sub>1</sub>, las siembras -5R<sub>2</sub>, -6/Col<sub>2</sub> y -7R<sub>2</sub> presentaron una morfología similar y se identificaron como Cocos Gram+. La tercera morfología repetida fue para las siembras -5 y -5R<sub>2</sub> (Anexo 38).

La figura 14 contiene la morfología colonial y celular de la siembra -6Col<sub>1</sub>.



Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color crema, no transparente.

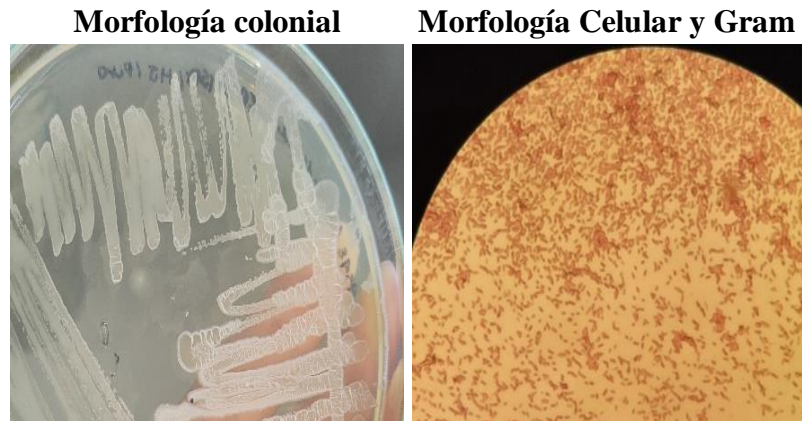
Cocos Gram-

**Figura 14.** Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra intestino del escarabajo 0007544.

**Fuente:** Elaboración propia (2022)

De acuerdo a las características macroscópicas observadas en las colonias bacterianas provenientes de la muestra intestinal del escarabajo 0007545 del pastizal, se distinguieron cinco morfologías coloniales diferentes, un tipo de morfología presentó forma irregular, borde rizado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color blanco, no transparente, y se encontró en cuatro siembras distintas: -5, 6R<sub>1</sub>, -7R<sub>1</sub>/Col<sub>1</sub> y -7R<sub>1</sub>/Col<sub>3</sub>, las cuales también coincidieron en ser Cocos Gram-. Existió otra morfología repetida en las siembras -6R<sub>2</sub> y -7 y se identificaron como Bacilos Gram-. Las tres morfologías coloniales restantes fue única y corresponden a las siembras -6, -7R<sub>1</sub>/Col<sub>2</sub> y -7R<sub>2</sub> (Anexo 39).

Según las características macroscópicas y microscópicas observadas, en la figura 15 se indica la morfología de la colonia -6R<sub>2</sub> de la muestra del intestino del escarabajo 0007545 del pastizal.



Forma irregular, borde rizado, elevación umbilicada, superficie opaca, seca y rugosa, color crema, no transparente.

Bacilos Gram-

**Figura 15.** Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra intestino del escarabajo 0007545.

**Fuente:** Elaboración propia (2022)

En el segundo espécimen proveniente del pastizal (0007546) se pudo apreciar cinco morfologías coloniales. La morfología de la colonia -5R1/Col<sub>2</sub> con forma irregular, borde rizado, elevada, superficie brillante, viscosa y rugosa, color crema, no transparente se encontró también en las siembras -5R<sub>2</sub> y -7/Col<sub>2</sub>, las que además coincidieron en su morfología celular bacteriana como Cocos Gram-. Las colonias puras de las siembras -6/Col<sub>1</sub>, -6R<sub>1</sub> y -6R<sub>2</sub> presentaron una morfología irregular, borde rizado, superficie elevada, brillante, observados como Cocos Gram+. Las siembras -5R<sub>1</sub>/Col<sub>1</sub> y -7R<sub>2</sub> fueron observadas como Cocos Gram- y mostraron colonias de forma circular, borde entero, superficie opaca, viscosa y lisa, color crema; coincidiendo así en morfología colonial y celular. Finalmente, las siembras -6/Col<sub>2</sub> y -7/Col<sub>1</sub> tuvieron morfología única (Anexo 40).

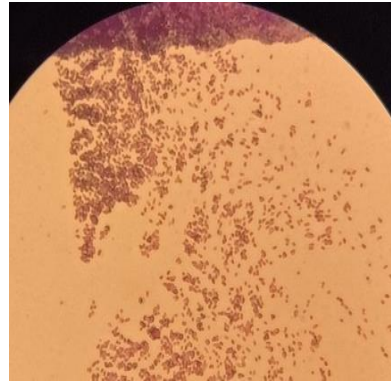
En el siguiente gráfico se ha colocado un ejemplo de caracterización morfológica colonial y su respectiva identificación de morfología celular bacteriana, la figura corresponde a la colonia -6/Col<sub>1</sub> de la muestra intestinal del escarabajo 0007546 del área de sucesión pastizal.

### Morfología colonial



Forma irregular, borde rizado, elevación plana, superficie brillante, viscosa y rugosa, color amarillo claro, translúcida.

### Morfología Celular y Gram



Cocos Gram+

**Figura 16.** Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra intestino del escarabajo 0007546.

**Fuente:** Elaboración propia (2022)

De acuerdo a la caracterización macroscópica de las colonias puras y a la observación microscópica de las células bacterianas se realizó la revisión bibliográfica de varios artículos y principalmente la revisión del manual de Bergey (Palleroni, 2005) para lograr asociar los diferentes consorcios bacterianos con posibles géneros. Se identificaron cinco posibles géneros bacterianos: *Clostridium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Enterobacter* y *Staphylococcus*. El género *Clostridium* se identificó en los cultivos puros del intestino del espécimen 7541 del área de sucesión antigua (bosque natural); *Pseudomonas* y *Staphylococcus* se asignaron para las colonias bacterianas de la muestra intestinal del espécimen 7542 del área de sucesión antigua (bosque natural); *Enterobacter* fue identificado en la muestra de intestino del escarabajo 7546 del pastizal; en el caso del género *Bacillus* se encontró al menos en una de las dos muestras de intestino de los especímenes del área de sucesión antigua (bosque natural) y del área de sucesión joven (bosque restaurado), y en ambas muestras de los escarabajos provenientes del pastizal (Tabla 3).


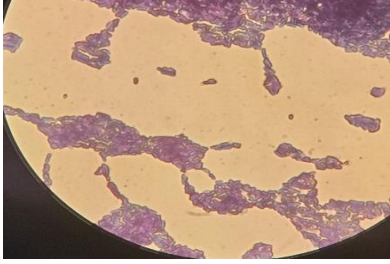


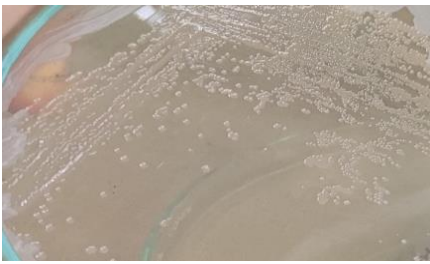
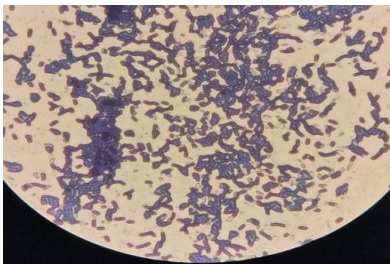

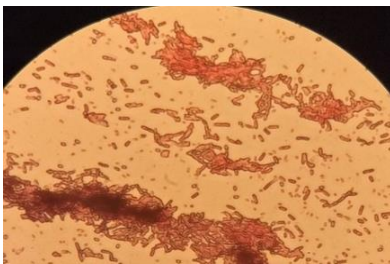

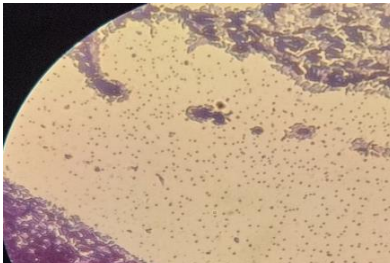
**Tabla 3.** Posibles géneros bacterianos identificados en las muestras de intestino de los escarabajos que habitan en los tres estados de sucesión de la Reserva Tapichalaca.

Género	Estado de sucesión					
	Bosque					
	Bosque natural		Restaurado		Pastizal	
	7541	7542	7543	7544	7645	7546
<i>Clostridium</i>	X					
<i>Pseudomonas</i>		X				
<i>Bacillus</i>		X	X		X	X
<i>Enterobacter</i>						X
<i>Staphylococcus</i>		X				

Los microorganismos del género *Clostridium* (Gram+) se caracterizan por ser bacilos o cocobacilos y por formar colonias irregulares, con bordes ondulados, color crema opaco. El género *Pseudomonas* (Gram-) presenta colonias con forma irregular, borde rizado, superficie pigmentada, elevada, viscosa y rugosa de color crema. El género *Enterobacter* también es un Gram- cuyas características coloniales son de forma circular, dura, lisa o rugosa. Los microorganismos *Bacillus* son Gram+ y presentan colonias de forma irregular o puntiforme, convexas, de color crema o blanco con bordes ondulados. Las bacterias del género *Staphylococcus* se identifican por ser cocos Gram+ y constituir colonias circulares, borde rizado, elevación plana, superficie brillante, cremosa y rugosa, color blanco y translúcido (Tabla 4).



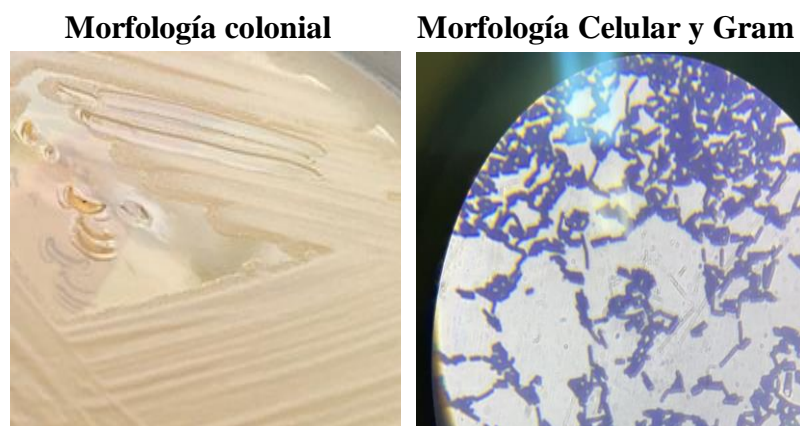
**Tabla 4.** Características macroscópicas y microscópicas de los posibles géneros bacterianos identificados en las muestras de intestino de los escarabajos los tres estados de sucesión de la Reserva Natural Tapichalaca.

<b>.Identificación de posibles géneros bacterianos en las muestras de intestino de escarabajos de las áreas de sucesión de la Reserva Natural Tapichalaca.</b>		
<b>Morfología colonial</b>	<b>Morfología celular</b>	<b>Género</b>
		<i>Clostridium</i>
		<i>Pseudomonas</i>
		<i>Bacillus</i>
		<i>Enterobacter</i>
		<i>Staphylococcus</i>

En el aislamiento de consorcios bacterianos con las muestras de suelo, también se llevó a cabo la caracterización macroscópica de las colonias puras y la identificación microscópica de las células bacterianas.

Como resultado del aislamiento bacteriano con la muestra de suelo del área de sucesión antigua (bosque natural) se distinguieron nueve morfologías coloniales diferentes, el único caso de morfología colonial repetida fue para las siembras -2R<sub>2</sub> y -3/Col<sub>1</sub> que presentaron características de forma irregular, superficie elevada, cremosa, color crema y la no transparencia de luz y coincidieron microscópicamente en la forma de Bacilos Gram+; las siembras de la dilución -3/Col<sub>2</sub> y la repetición -3R<sub>2</sub> también poseían las mismas características morfológicas de colonia y células bacterianas. Cada una de las colonias puras restantes presentó morfologías macroscópicas y microscópicas diferentes, como se observa en el Anexo 41.

A continuación se ha colocado como ejemplo de morfología colonial y celular a la colonia pura



Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie mate y lisa, color crema opaco, no transparenta

Bacilos Gram+

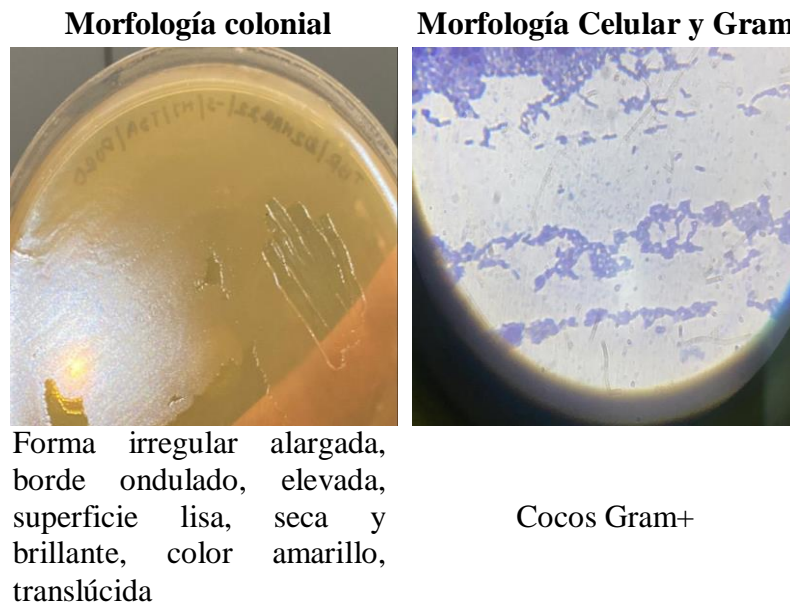
**Figura 17.** Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra de suelo del bosque natural.

**Fuente:** Elaboración propia (2022)

En los cultivos puros obtenidos de la muestra de suelo del bosque restaurado se identificaron seis tipos de morfología. La morfología que más se repite tanto en las colonias como en la forma y el Gram de las células bacterianas se observó en las siembras -2/col<sub>1</sub>, -2/col<sub>2</sub>, -2R<sub>1</sub>Col<sub>2</sub>, y -2R<sub>2</sub>Col<sub>2</sub>, las cuales presentan forma irregular, borde ondulado, superficie elevada, cremosa, rugosa y brillante, color crema blanquecino y se identificaron Cocos Gram+.

Los cultivos puros de las diluciones -3 y -4Col<sub>1</sub> coincidieron en su morfología colonial y celular, el otro caso con morfologías repetidas es el de las siembras -4Col<sub>2</sub> y -5R<sub>1</sub>. Las siembras -5R<sub>2</sub>, -2R<sub>1</sub>Col<sub>2</sub> y -2R<sub>2</sub>Col<sub>1</sub> mostraron una morfología particular. (Anexo 42).

En la figura 18 se visualiza las características morfológicas y la morfología celular de la colonia pura -2R<sub>2</sub> de la muestra de suelo del área de sucesión joven que corresponde al bosque restaurado.



**Figura 18.** Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra de suelo del bosque restaurado.

**Fuente:** Elaboración propia (2022)

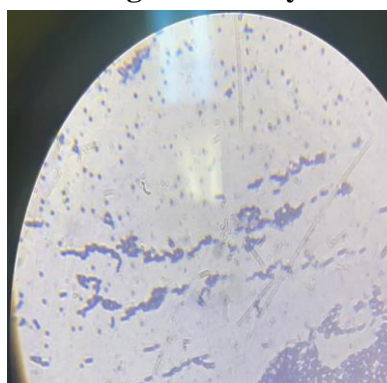
La observación de características macroscópicas de las colonias puras obtenidas en el aislamiento bacteriano con la muestra de suelo del pastizal permitió diferenciar nueve morfologías coloniales. La morfología de forma irregular, borde entero, elevada, superficie cremosa, brillante y rugosa, color crema opaco, no transparente que se identificó bacterias Cocos Gram+ estuvo presente en las colonias -2R<sub>1</sub>/Col<sub>2</sub>, -3R<sub>2</sub> y -4R<sub>1</sub>. En las colonias puras de las siembras -2/Col<sub>1</sub> y -2/Col<sub>2</sub> se observaron morfologías iguales; las siembras -3/Col<sub>1</sub> y -3/Col<sub>2</sub> presentaron igual morfología colonial y celular entre sí y en el caso de las colonias puras -4 y -5 también tuvieron características iguales. Las morfologías identificadas en las colonias de las siembras -2R<sub>1</sub>/Col<sub>1</sub>, -3/Col<sub>3</sub>, -3R<sub>1</sub>, -5R<sub>1</sub>/Col<sub>1</sub>, y -5R<sub>1</sub>/Col<sub>2</sub> fueron observadas en una sola ocasión (Anexo 43).

A continuación, se describe mediante la figura 19 las características morfológicas de la colonia y de las células bacterianas de la siembra -3R<sub>2</sub> de la muestra de suelo del pastizal.

### Morfología colonial



### Morfología Celular y Gram



Forma circular, borde entero, elevación plana, superficie brillante, viscosa y rugosa, color amarillo, opaco, no transparente.

Cocos Gram+

**Figura 19.** Características macroscópicas y microscópicas de colonia bacteriana, muestra de suelo del pastizal.

**Fuente:** Elaboración propia (2022)

Como resultado de la diferenciación de características macroscópicas y microscópicas de las cepas bacterianas encontradas en las muestras de suelo y con base a la revisión bibliográfica realizada, fueron asociadas a cuatro posibles géneros bacterianos: *Corynebacterium*, *Clostridium*, *Pseudomonas* y *Bacillus*. El género *Corynebacterium* se encontró únicamente en la muestra de suelo del bosque natural y *Pseudomonas* en la muestra de suelo del pastizal; *Clostridium* y *Bacillus* estaban presentes tanto en la muestra de suelo del bosque natural como en las muestras del bosque restaurado y del pastizal. (Tabla 5).

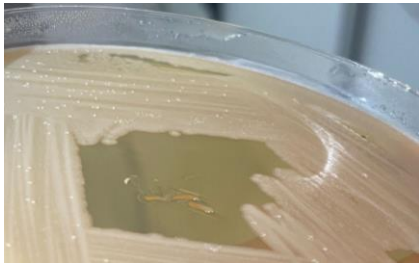
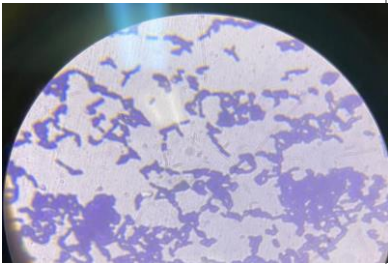

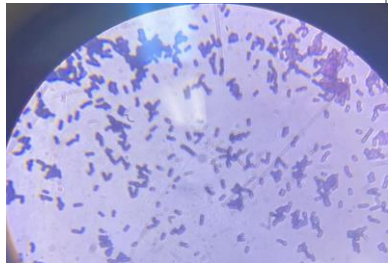

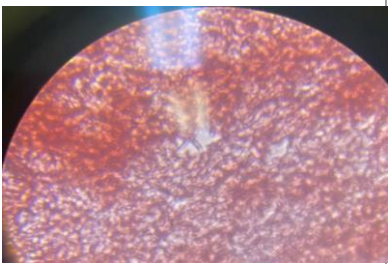

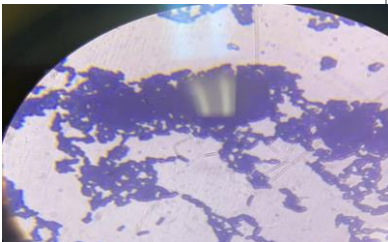
**Tabla 5.** Posibles géneros bacterianos identificados en las muestras de suelo de los tres estados de sucesión de la Reserva Tapichalaca.

Género	Estado de sucesión		
	Bosque natural	Bosque restaurado	Pastizal
<i>Corynebacterium</i>	X		
<i>Clostridium</i>	X	X	X
<i>Pseudomonas</i>			X
<i>Bacillus</i>	X	X	X



El género *Corynebacterium* es un Gram+ con colonias de forma irregular, borde ondulado, elevación umbonada, superficie cremosa, brillante y rugosa, color crema blanquecino opaco, no transparente (Tabla 6).

**Tabla 6.** Características macroscópicas y microscópicas de los posibles géneros bacterianos identificados en las muestras de suelo de los tres estados de sucesión de la Reserva Natural Tapichalaca.

Identificación de posibles géneros bacterianos en las muestras de suelo de la Reserva Natural Tapichalaca		
Morfología colonial	Morfología celular	Género
		<i>Corynebacterium</i>
		<i>Clostridium</i>
		<i>Pseudomonas</i>
		<i>Bacillus</i>

## 7. Discusión

De acuerdo a los resultados obtenidos dentro del muestreo de escarabajos realizado en la Reserva Natural Tapichalaca, se pudo evidenciar que los especímenes recolectados en las tres áreas de sucesión: antigua (bosque natural), joven (bosque restaurado) y pastizal, pertenecen al género *Ontherus*. Según Chamorro et al., (2018), este género se puede encontrar en varias provincias de la Amazonía ecuatoriana incluyendo a Zamora Chinchipe, específicamente en bosques húmedos y altoandinos. También puede encontrarse en pastizales abiertos (Cárdenas-Bautista et al., 2020). Autores como J. L. da Silva y Vaz-De-mello (2020), mencionan que, la mayoría de las especies de *Ontherus* se encuentran restringidas a altitudes por debajo de los 1000 metros sobre el nivel del mar, en contraste con esta información y la altura presentada en los paisajes en estudio que varía de 2390 a 2503 metros sobre el nivel del mar, se puede reafirmar la presencia de escarabajos *Ontherus* en estos tres sitios.

En cuanto a las condiciones del suelo, en el muestreo de suelo se logró evidenciar que el pH varía de acuerdo al estado sucesional, los resultados arrojaron valores prácticamente neutros de 6,99 para el suelo del BN; 6,53 para el BR, y un valor de valor de 5,70 para el pastizal, considerándose este último el valor con mayor cambio y acidez. A futuro se deberán hacer estudios sobre la incidencia de las condiciones físicas y químicas del suelo de bosques naturales e intervenidos sobre las comunidades de bacterias.

Este estudio proporciona información efectiva sobre el aislamiento de colonias bacterianas provenientes de las muestras de suelo y muestras de intestino de los escarabajos, realizada mediante la técnica dependiente de cultivo de siembra en placa en dos medios básicos de cultivo (AN y TSA). El crecimiento positivo tanto de bacterias exigentes como no exigentes, ya sean estas aerobias o anaerobias en todas las diluciones sembradas para ambos tipos de muestra, y nos permite indicar que el método de cultivo fue el adecuado. Es importante tomar en cuenta que, en esta primera fase se planteó únicamente la identificación morfológica de las mismas. En el artículo redactado por Heylen et al., (2012) se menciona que mediante estos métodos se obtienen cepas de referencia que ayudan al diseño y al perfeccionamiento de los métodos con base en la detección molecular. Es decir, la interpretación de los datos obtenidos con la técnica actual, con la cual se aíslan cultivos puros sirve como punto de partida para estudios de los microorganismos cultivados, en donde se apliquen técnicas independientes de cultivo.

Los dos medios de cultivo empleados (AN y TSA) son propicios para cultivar varios tipos de microbiomas independientemente de la naturaleza y de sus entornos, ya sean humanos, animales o plantas (Sarhan et al., 2019). El medio de cultivo más eficiente fue el Trypticase soya agar (TSA), en este medio se observó mayor número de colonias puras, aunque no exista información precisa sobre qué medios son más favorables que otros cuando se trata de conseguir el crecimiento de la mayor cantidad posible de diferentes tipos de bacterias, esto puede deberse a que el TSA es un medio más enriquecido que en Agar nutritivo y a diferencia de este último, el TSA además de favorecer el crecimiento de microorganismos no exigentes también posee requerimientos nutricionales de aquellos microorganismos moderadamente exigentes (Arnoldo, 2020).

La identificación de bacterias presentes en el intestino de los escarabajos permitió reconocer cinco posibles géneros bacterianos como: *Clostridium* que estuvo presente únicamente en el intestino del espécimen 7541 del área de sucesión antigua, esta particularidad acerca de su presencia puede deberse que este género del orden Clostridial no suele ser muy abundante en escarabajos comedores de estiércol (Ebert et al., 2021). Otra razón que explique la existencia de estas bacterias en la microbiota intestinal de los escarabajos es que generalmente se encuentran relacionadas a ciertos factores como la compartimentación del intestino o las diferentes etapas de su desarrollo, encontrándose más presentes en nuevos adultos (Briones-Roblero et al., 2017; Chouaia et al., 2019). El género *Pseudomonas* se encontró únicamente en la muestra intestinal del escarabajo 7542 del área de sucesión antigua. Las *Pseudomonas* están frecuentemente asociadas a diversas etapas de la vida de los insectos, y les aseguran un conjunto de funciones fisiológicas, por ejemplo, la degradación de polisacáridos, lípidos y de la celulosa, asignación de nutrientes, fijación de nitrógeno y reciclaje de compuestos nitrogenados. Se han registrado individuos del género mencionado en especies de escarabajo como el *Holotrichia paralelea* (Coleoptera: Scarabaeidae) ( Briones-Roblero et al., 2017; Estes et al., 2013). Huang y demás autores, (2012) con base en los resultados de su investigación con muestras de larvas, afirman que *Pseudomonas* fue el grupo más dominante de bacterias celulolíticas en el intestino de las larvas de escarabajos que habitan en el suelo. No obstante, en el presente estudio los resultados no fueron similares, lo que posiblemente pueda estar justificado por el método de aislamiento. El género *Staphylococcus* también se encontró en la muestra del escarabajo 7542, la existencia y la capacidad de estas bacterias en el microbioma de los escarabajos para producir compuestos antimicrobianos y desarrollarse en

sustratos ricos en lípidos y proteínas, incluidos los productos cárnicos les permiten aportar la regulación de la carroña (Shukla et al., 2018).

El único género bacteriano que se identificó en al menos una muestra de intestino de escarabajo de cada estado de sucesión fue *Bacillus*, las bacterias de este género son cosmopolitas relacionadas con el tracto digestivo de animales e insectos, por lo tanto, juegan un papel extremadamente diverso en organismos vertebrados e invertebrados. Además, se señala que es posible que estos microorganismos se adquieran del medio ambiente dado su cosmopolitismo y posiblemente sean microbios intestinales transitorios que pasan por el intestino con la alimentación (Shelomi y Chen, 2020).

Por otro lado, el género *Enterobacter* se logró identificar en una muestra de intestino de escarabajo del pastizal, las Enterobacteriaceae se asocian con frecuencia con funciones nutricionales en insectos. Diferentes especies de *Enterobacter* tienen una diversidad de capacidades funcionales en los intestinos de los insectos al ayudar en su nutrición (Estes et al., 2013). Sin embargo, la estructura comunitaria de esta familia está relacionada con cambios evolutivos en la ecología de los escarabajos, como el hábito alimentario, el hábitat y la morfología intestinal (Kudo et al., 2019).

En el aislamiento de cepas bacterianas con las muestras de suelo, se registró la existencia de *Corynebacterium* en la muestra de suelo del bosque natural, la presencia de este género bacteriano puede manifestarse debido a la gran cantidad de vegetación que existe en el bosque natural, ya que es uno de aquellos géneros que prosperan en suelos vírgenes cumpliendo con la función de solubilizadoras de fosfato lo que aumenta el crecimiento de las plantas por varios mecanismos directos e indirectos. (Kaur y Kaur, 2020). Aunque, en varios estudios también se indica que estas bacterias generalmente se encuentran en suelos contaminados por petróleo, lo que puede atribuirse al hecho de que estos suelos a menudo albergan una gran variedad de flora microbiana que es capaz de utilizar los hidrocarburos como fuente de energía y carbono, debido al aumento de suministro de carbono que generan los hidrocarburos residuales en el suelo, favoreciendo así, el crecimiento de estos organismos competentes en la degradación de contaminantes hidrocarbúricos (Nwinyi y Akinmulewo, 2019; Ozoude et al., 2018).

El género *Pseudomonas* se identificó solamente en la muestra del pastizal, estas bacterias logran desarrollarse en cualquier entorno dentro de un rango de pH de 4 a 8 (Li et

al., 2018), rango que coincide con el que posee esta área de sucesión. Puede decirse también que al tratarse de un suelo en recuperación y que aún presenta rasgos de degradación por ganadería, la presencia de *Pseudomonas* es posible ya que en algunos estudios se ha comprobado que pueden ser predominantes suelos de baja calidad (Bollinger et al., 2020).

Los géneros *Clostridium* y *Bacillus* se reconocieron en los cultivos puros obtenidos de las muestras de suelo de los tres estados de sucesión (antigua o bosque natural, joven o bosque restaurado y pastizal). Las bacterias *Clostridium* ciertamente se encuentran en diversos ambientes (Shin et al., 2018), se han estudiado en sitios de bosques primarios de tierras altas que no han sufrido alteraciones y en sitios de bosques secundarios de tierras altas que tenían apariencia similar a los bosques primarios, pero han sufrido alteraciones o han sido pastoreados durante años, luego abandonados y en proceso de regeneración natural; en donde se ha observado que incluso su presencia puede ser mayor en los bosques secundarios que en los primarios (Eaton et al., 2020). Las bacterias del género *Clostridium* también se han aislado de muestras de suelos que han sido labrados y de suelos de pastizales anteriormente dedicados a la ganadería y se ha evidenciado que su presencia es abundante, no obstante, esta puede ser mayor en presencia de ganadería ya que se piensa estas bacterias están estrechamente relacionadas con el estiércol (Ding et al., 2014; Larina et al., 2020).

Los miembros del género *Bacillus* casi siempre se encuentran en la rizósfera de diversos ambientes, incluyendo bosques y suelos desérticos (Dong et al., 2019; Zheng et al., 2020). Tanto en el bosque natural como en el bosque restaurado, la notable presencia de vegetación puede ser gracias a que estos microorganismos endófitos ayudan a la descomposición de la materia orgánica y mejoran la disponibilidad de nutrientes para el crecimiento de la mayoría de plantas (Hu et al., 2021). En ocasiones el cambio de uso de suelo no suele afectar la presencia de estas bacterias, por ello se ha encontrado que pueden ser abundantes en los pastizales. Aunque en algunos estudios se menciona que cuando las tierras que han sido trabajadas regresan a los ecosistemas naturales, los nutrientes del suelo inicialmente disminuyen rápidamente debido al efecto de la fertilización, lo que puede influir notablemente en la diversidad microbiana del suelo (Guo et al., 2018; Xu et al., 2021). No obstante, en este estudio no se concuerda con esta idea, a razón de que, las muestras del pastizal permitieron relacionar las colonias puras con una mayor cantidad de géneros bacterianos en comparación a las muestras del bosque restaurado.

## 8. Conclusiones

- Se capturaron dos escarabajos por cada estado de sucesión: antigua (bosque natural), joven (bosque restaurado) y pastizal, todos los escarabajos pertenecen al género *Ontherus*, es posible que este género sea representativo para las tres áreas de sucesión, se necesitaría realizar un estudio netamente sobre riqueza y abundancia de scarabeíños y así comprobar esta premisa. En las muestras de suelo, los valores de pH para el bosque natural y restaurado fueron cercanos, esto puede deberse a que su composición estructural es muy parecida; en el caso de la muestra del área de sucesión pastizal el valor del pH varía considerablemente.
- El aislamiento de consorcios bacterianos fue exitoso para los dos tipos de muestra (muestra intestinal de escarabajos y muestra de suelo), se obtuvo crecimiento de bacterias en todas las diluciones, lo que indica que los medios básicos de cultivo Agar nutritivo (AN) y Agar Tripticosa de soya (TSA) ofrecen las condiciones ideales para el desarrollo de bacterias que no son exigentes y aquellas un poco exigentes.
- Existe variación solo entre algunos de los posibles géneros identificados en el aislamiento de consorcios bacterianos de las muestras del intestino de los escarabajos y de las muestras de suelo en relación con los tres estados de sucesión ecológica (antigua o bosque natural, joven o bosque restaurado y pastizal) de la Reserva Natural Tapichalaca.
- En las muestras intestinales de escarabajos del género *Ontherus* (*O. hadros* y *O. howdeni*), de los cinco posibles géneros asignados, dos se observaron en un solo estado de sucesión: *Clostridium* se identificó en el bosque natural y *Enterobacter* en la muestra intestinal de un espécimen del pastizal. En las muestras de suelo también existieron dos géneros bacterianos que se presentaron para un solo estado de sucesión; el género *Corynebacterium* identificado en la muestra de suelo del bosque natural y *Pseudomonas* en la muestra del pastizal. No obstante, las muestras de intestino de los escarabajos y las muestras de suelo tanto del bosque natural, bosque restaurado y pastizal presentan géneros bacteriano semejantes, lo que puede significar que los tres sitios cuentan con condiciones medioambientales afines al desarrollo de los mismos géneros bacterianos.

## **9. Recomendaciones**

- Continuar con la investigación acerca de la presencia de bacterias en el suelo de los diferentes estados de sucesión de la Reserva Natural Tapichalaca y considerar evaluar la influencia que pueden tener ciertas variables ecológicas sobre el desarrollo y diversidad de estos microorganismos, por ejemplo, se puede considerar la cobertura vegetal.
- Emplear técnicas independientes de cultivo para el estudio de bacterias que permitan profundizar el conocimiento sobre la composición, estructura y diversidad bacteriana en el suelo y en el intestino de los escarabajos de los diferentes estados de sucesión en la Reserva Natural Tapichalaca.
- Realizar un estudio específicamente sobre la abundancia de los diferentes géneros bacterianos que se puedan identificar en el suelo de cada estado de sucesión ecológica, para lograr conocer de forma certera la preferencia que los miembros de cada género bacteriano tienen respecto a las condiciones de hábitat para su desarrollo.

## 10. Referencias

- Aksoy, E., Louwagie, G., Gardi, C., Gregor, M., Schröder, C., & Löhnertz, M. (2017). Assessing soil biodiversity potentials in Europe. *Science of The Total Environment*, 589, 236–249. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.02.173>
- Arias-Cordero, E., Ping, L., Reichwald, K., Delb, H., Platzer, M., & Boland, W. (2012). Comparative Evaluation of the Gut Microbiota Associated with the Below- and Above-Ground Life Stages (Larvae and Beetles) of the Forest Cockchafer, *Melolontha hippocastani*. *PLoS ONE*, 7(12), e51557. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0051557>
- Arnoldo, G. (2020). *Producción masiva de Azospirillum spp., formulación, control de calidad y su uso en la agricultura: Revisión de Literatura* (Vol. 1, pp. 1–29).
- Barber, N. A., Chantos-Davidson, K. M., Amel Peralta, R., Sherwood, J. P., & Swingley, W. D. (2017). Soil microbial community composition in tallgrass prairie restorations converge with remnants across a 27-year chronosequence. *Environmental Microbiology*, 19(8), 3118–3131. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13785>
- Barnett, S. E., Youngblut, N. D., & Buckley, D. H. (2020). Soil characteristics and land-use drive bacterial community assembly patterns. *FEMS Microbiology Ecology*, 96(1), 1–11. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiz194>
- Bay, S. K., McGeoch, M. A., Gillor, O., Wieler, N., Palmer, D. J., Baker, D. J., Chown, S. L., & Greening, C. (2020). Soil Bacterial Communities Exhibit Strong Biogeographic Patterns at Fine Taxonomic Resolution. *MSystems*, 5(4). <https://doi.org/10.1128/mSystems.00540-20>
- Bollinger, A., Thies, S., Katzke, N., & Jaeger, K. (2020). The biotechnological potential of marine bacteria in the novel lineage of *Pseudomonas pertucinogena*. *Microbial Biotechnology*, 13(1), 19–31. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13288>
- Briones-Roblero, C. I., Hernández-García, J. A., Gonzalez-Escobedo, R., Soto-Robles, L. V., Rivera-Orduña, F. N., & Zúñiga, G. (2017). Structure and dynamics of the gut bacterial microbiota of the bark beetle, *Dendroctonus rhizophagus* (Curculionidae: Scolytinae) across their life stages. *PLOS ONE*, 12(4), e0175470. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0175470>
- Cárdenas-Bautista, J. S., Parada-Alfonso, J. A., & Carvajal-Cogollo, J. E. (2020). Dung beetles (Scarabaeidae, Scarabaeinae) of the Foothills&ndash;Andean Forest strip of Villavicencio, Colombia. *Check List*, 16(4), 821–839. <https://doi.org/10.15560/16.4.821>
- Castañeda, M. T. (2004). *Microbiología aplicada*. <http://hdl.handle.net/11191/1746>



- Chamorro, W., Marín-Armijos, D., Granda, V., & Vaz-De-Mello, F. Z. (2018). Checklist with a key to genera and subgenera of dung beetles (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) present and supposed for Ecuador. *Revista Colombiana de Entomologia*, *44*(1), 72–100. <https://doi.org/10.25100/socolen.v44i1.6545>
- Chang, C. C., & Turner, B. L. (2019). Ecological succession in a changing world. *Journal of Ecology*, *107*(2), 503–509. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13132>
- Chouaia, B., Goda, N., Mazza, G., Alali, S., Florian, F., Gionechetti, F., Callegari, M., Gonella, E., Magoga, G., Fusi, M., Crotti, E., Daffonchio, D., Alma, A., Paoli, F., Roversi, P. F., Marianelli, L., & Montagna, M. (2019). Developmental stages and gut microenvironments influence gut microbiota dynamics in the invasive beetle *Popillia japonica* Newman (Coleoptera: Scarabaeidae). *Environmental Microbiology*, *21*(11), 4343–4359. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14797>
- Correa, C. M. A., Braga, R. F., Puker, A., Abot, A. R., & Korasaki, V. (2018). Optimising Methods for Dung Beetle (Coleoptera: Scarabaeidae) Sampling in Brazilian Pastures. *Environmental Entomology*, *47*(1), 48–54. <https://doi.org/10.1093/ee/nvx191>
- da Silva, J. L., & Vaz-De-mello, F. Z. (2020). Areas of endemism in the brazilian atlantic forest based on the distribution of dung beetles (Coleoptera, scarabaeidae, scarabaeinae). *Iheringia - Serie Zoologia*, *110*, 1–10. <https://doi.org/10.1590/1678-4766e2020003>
- Da Silva, P. G., & Hernández, M. I. M. (2015). Spatial patterns of movement of dung beetle species in a tropical forest suggest a new trap spacing for dung beetle biodiversity studies. *PLoS ONE*, *10*(5), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0126112>
- Ding, G. C., Radl, V., Schloter-Hai, B., Jechalke, S., Heuer, H., Smalla, K., & Schloter, M. (2014). Dynamics of soil bacterial communities in response to repeated application of manure containing sulfadiazine. *PLoS ONE*, *9*(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092958>
- Dong, X., Lv, L., Wang, W., Liu, Y., Yin, C., Xu, Q., Yan, H., Fu, J., & Liu, X. (2019). Differences in distribution of potassium-solubilizing bacteria in forest and plantation soils in myanmar. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *16*(5), 1–14. <https://doi.org/10.3390/ijerph16050700>
- Eaton, W. D., McGee, K. M., Hoke, E., Lemenze, A., & Hajibabaei, M. (2020). Influence of Two Important Leguminous Trees on Their Soil Microbiomes and Nitrogen Cycle Activities in a Primary and Recovering Secondary Forest in the Northern Zone of Costa Rica. *Soil Systems*, *4*(4), 65. <https://doi.org/10.3390/soilsystems4040065>
- Ebert, K., Arnold, W., Ebert, P., & Merritt, D. (2021). *Hindgut Microbiota Reflects Different*

*Digestive Strategies in.* 87(5), 1–17.

- Estes, A. M., Hearn, D. J., Snell-Rood, E. C., Feindler, M., Feeser, K., Abebe, T., Dunning Hotopp, J. C., & Moczek, A. P. (2013). Brood Ball-Mediated Transmission of Microbiome Members in the Dung Beetle, *Onthophagus taurus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *PLoS ONE*, 8(11), e79061. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079061>
- Galvis, D., Quiñones, R., & Jiménez, P. (2009). *DEL TRACTO DIGESTIVO DE LARVAS DE COLEÓPTEROS Y LEPIDÓPTEROS*. 106–115.
- Gu, Y., Bai, Y., Xiang, Q., Yu, X., Zhao, K., Zhang, X., Li, C., Liu, S., & Chen, Q. (2018). Degradation shaped bacterial and archaeal communities with predictable taxa and their association patterns in Zoige wetland at Tibet plateau. *Scientific Reports*, 8(1), 3884. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21874-0>
- Guo, Y., Chen, X., Wu, Y., Zhang, L., Cheng, J., Wei, G., & Lin, Y. (2018). Natural revegetation of a semiarid habitat alters taxonomic and functional diversity of soil microbial communities. *Science of The Total Environment*, 635, 598–606. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.04.171>
- Heylen, K., Hoefman, S., Vekeman, B., Peiren, J., & De Vos, P. (2012). Safeguarding bacterial resources promotes biotechnological innovation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 94(3), 565–574. <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3797-y>
- Hu, H., Pang, L., & Tian, K. (2021). *After Life Effect of Endophytic Bacterium Bacillus Cereus on Litter Decomposition*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-866340/v1>
- Huang, S., Sheng, P., & Zhang, H. (2012). Isolation and Identification of Cellulolytic Bacteria from the Gut of *Holotrichia parallela* Larvae (Coleoptera: Scarabaeidae). *International Journal of Molecular Sciences*, 13(3), 2563–2577. <https://doi.org/10.3390/ijms13032563>
- Huera-Lucero, T., Labrador-Moreno, J., Blanco-Salas, J., & Ruiz-Téllez, T. (2020). A Framework to Incorporate Biological Soil Quality Indicators into Assessing the Sustainability of Territories in the Ecuadorian Amazon. *Sustainability*, 12(7), 3007. <https://doi.org/10.3390/su12073007>
- Kaur, R., & Kaur, S. (2020). Variation in the Phosphate Solubilizing Bacteria from Virgin and the Agricultural Soils of Punjab. *Current Microbiology*, 77(9), 2118–2127. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02080-6>
- Knelman, J., Schmidt, S., Garayburu-Caruso, V., Kumar, S., & Graham, E. (2019). Multiple, Compounding Disturbances in a Forest Ecosystem: Fire Increases Susceptibility of Soil Edaphic Properties, Bacterial Community Structure, and Function to Change with Extreme Precipitation Event. *Soil Systems*, 3(2), 40.

<https://doi.org/10.3390/soilsystems3020040>

- Kopittke, P. M., Menzies, N. W., Wang, P., McKenna, B. A., & Lombi, E. (2019). Soil and the intensification of agriculture for global food security. *Environment International*, 132(May), 105078. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105078>
- Kudo, R., Masuya, H., Endoh, R., Kikuchi, T., & Ikeda, H. (2019). Gut bacterial and fungal communities in ground-dwelling beetles are associated with host food habit and habitat. *The ISME Journal*, 13(3), 676–685. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0298-3>
- Lal, R. (2015). Restoring Soil Quality to Mitigate Soil Degradation. *Sustainability*, 7(5), 5875–5895. <https://doi.org/10.3390/su7055875>
- Larina, G. E., Seraya, L. G., Ivanova, I. O., Poddymkina, L. M., & Vershinin, V. V. (2020). Microbial complex adaptation in soils of different cultivation degrees. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 579(1), 012068. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/579/1/012068>
- Li, J., Yu, H., Wu, X., Shen, L., Liu, Y., Qiu, G., Zeng, W., & Yu, R. (2018). Novel Hyper Antimony-Oxidizing Bacteria Isolated from Contaminated Mine Soils in China. *Geomicrobiology Journal*, 35(8), 713–720. <https://doi.org/10.1080/01490451.2018.1454556>
- Milotić, T., Quidé, S., Van Loo, T., & Hoffmann, M. (2017). Linking functional group richness and ecosystem functions of dung beetles: an experimental quantification. *Oecologia*, 183(1), 177–190. <https://doi.org/10.1007/s00442-016-3756-5>
- Nwinyi, O. C., & Akinmulewo, B. A. (2019). Remediation of soil polluted with spent oil using cow dung. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 331(1), 012058. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/331/1/012058>
- Ortiz-Álvarez, R., Fierer, N., de los Ríos, A., Casamayor, E. O., & Barberán, A. (2018). Consistent changes in the taxonomic structure and functional attributes of bacterial communities during primary succession. *The ISME Journal*, 12(7), 1658–1667. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0076-2>
- Ozoude, T., Eleanya, E., Uzoaru, N., & Okey-Ndeche, N. (2018). Isolation and Characterization of Some Hydrocarbon Utilizing Bacteria Isolated from Contaminated Soil in Zuma, Bwari Area Council, Fct, Abuja, Nigeria. *Microbiology Research Journal International*, 22(6), 1–8. <https://doi.org/10.9734/mrji/2017/34158>
- Palleroni, N. J. (2005). Order IX. Family I. Genus I. Pseudomonas. *BERGEY'S MANUAL OF Systematic Bacteriology.*, 2, 323–379.
- Pérez, M. (2009). Morfología y estructura bacteriana." *Temas de bacteriología y virología*

- médica. *European Journal of Social Sciences*, 9(1), 48–60.
- Plassart, P., Prévost-Bouré, N. C., Uroz, S., Dequiedt, S., Stone, D., Creamer, R., Griffiths, R. I., Bailey, M. J., Ranjard, L., & Lemanceau, P. (2019). Soil parameters, land use, and geographical distance drive soil bacterial communities along a European transect. *Scientific Reports*, 9(1), 605. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36867-2>
- Raine, E. H., & Slade, E. M. (2019). Dung beetle–mammal associations: methods, research trends and future directions. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 286(1897), 20182002. <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.2002>
- Reynoso, M. M., Magnoli, C. E., Barros, G. G., & Demo, M. S. (2015). *Manual de microbiología general*.
- Salvador, B., & Castillo, L. F. V. (2013). Manual de prácticas de laboratorio de bacteriología y micología 1/52. In *Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma del Estado de México*. [http://veterinaria.uaemex.mx/\\_docs/607\\_970\\_MP\\_Bacteriología\\_y\\_Micología.pdf](http://veterinaria.uaemex.mx/_docs/607_970_MP_Bacteriología_y_Micología.pdf)
- Sansupa, C., Purahong, W., Wubet, T., Tiansawat, P., Pathom-Aree, W., Teaumroong, N., Chantawannakul, P., Buscot, F., Elliott, S., & Disayathanoowat, T. (2021). Soil bacterial communities and their associated functions for forest restoration on a limestone mine in northern Thailand. *PLOS ONE*, 16(4), e0248806. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0248806>
- Sarhan, M. S., Hamza, M. A., Youssef, H. H., Patz, S., Becker, M., ElSawey, H., Nemr, R., Daanaa, H.-S. A., Mourad, E. F., Morsi, A. T., Abdelfadeel, M. R., Abbas, M. T., Fayez, M., Ruppel, S., & Hegazi, N. A. (2019). Culturomics of the plant prokaryotic microbiome and the dawn of plant-based culture media – A review. *Journal of Advanced Research*, 19, 15–27. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.04.002>
- Schloss, P. D., Delalibera, I., Handelsman, J., & Raffa, K. F. (2006). Bacteria associated with the guts of two wood-boring beetles: *Anoplophora glabripennis* and *Saperda vestita* (Cerambycidae). *Environmental Entomology*, 35(3), 625–629. <https://doi.org/10.1603/0046-225X-35.3.625>
- Shelomi, M., & Chen, M.-J. (2020). Culturing-Enriched Metabarcoding Analysis of the *Oryctes rhinoceros* Gut Microbiome. *Insects*, 11(11), 782. <https://doi.org/10.3390/insects11110782>
- Shigyo, N., Umeki, K., & Hirao, T. (2019). Seasonal Dynamics of Soil Fungal and Bacterial Communities in Cool-Temperate Montane Forests. *Frontiers in Microbiology*, 10(AUG), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01944>

- Shin, Y., Paek, J., Son, A. Y., Kim, H., Kook, J.-K., Paek, W. K., & Chang, Y. H. (2018). *Clostridium composti* sp. nov., a new anaerobic bacteria isolated from compost. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 68(12), 3869–3873. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003074>
- Shukla, S. P., Plata, C., Reichelt, M., Steiger, S., Heckel, D. G., Kaltenpoth, M., Vilcinskas, A., & Vogel, H. (2018). Microbiome-assisted carrion preservation aids larval development in a burying beetle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(44), 11274–11279. <https://doi.org/10.1073/pnas.1812808115>
- Sun, S., Li, S., Avera, B. N., Strahm, B. D., & Badgley, B. D. (2017). Soil Bacterial and Fungal Communities Show Distinct Recovery Patterns during Forest Ecosystem Restoration. *Applied and Environmental Microbiology*, 83(14). <https://doi.org/10.1128/AEM.00966-17>
- Teng, M., Huang, C., Wang, P., Zeng, L., Zhou, Z., Xiao, W., Huang, Z., & Liu, C. (2019). Impacts of forest restoration on soil erosion in the Three Gorges Reservoir area, China. *Science of The Total Environment*, 697(1), 134164. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134164>
- Tocco, C., Balmer, J. P., & Villet, M. H. (2018). Trophic preference of southern African dung beetles (Scarabaeoidea: Scarabaeinae and Aphodiinae) and its influence on bioindicator surveys. *African Journal of Ecology*, 56(4), 938–948. <https://doi.org/10.1111/aje.12523>
- Vasanthakumar, A., Handelsman, J. O., Schloss, P. D., Bauer, L. S., & Raffa, K. F. (2008). Gut microbiota of an invasive Subcortical Beetle, *Agrilus planipennis* fairmaire, across various life stages. *Environmental Entomology*, 37(5), 1344–1353. [https://doi.org/10.1603/0046-225X\(2008\)37\[1344:GMOAIS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0046-225X(2008)37[1344:GMOAIS]2.0.CO;2)
- Viteri-Salazar, O., & Toledo, L. (2020). The expansion of the agricultural frontier in the northern Amazon region of Ecuador, 2000–2011: Process, causes, and impact. *Land Use Policy*, 99(February), 104986. <https://doi.org/10.1016/j.landusepol.2020.104986>
- Walters, K. E., & Martiny, J. B. H. (2020). Alpha-, beta-, and gamma-diversity of bacteria varies across habitats. *PLOS ONE*, 15(9), e0233872. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233872>
- Wei, H., Peng, C., Yang, B., Song, H., Li, Q., Jiang, L., Wei, G., Wang, K., Wang, H., Liu, S., Liu, X., Chen, D., Li, Y., & Wang, M. (2018). Contrasting Soil Bacterial Community, Diversity, and Function in Two Forests in China. *Frontiers in Microbiology*, 9(July). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01693>

- Xu, A., Liu, J., Guo, Z., Wang, C., Pan, K., Zhang, F., & Pan, X. (2021). Soil microbial community composition but not diversity is affected by land-use types in the agro-pastoral ecotone undergoing frequent conversions between cropland and grassland. *Geoderma*, 401(April), 115165. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2021.115165>
- Yan, D., Bissett, A., Gellie, N., Mills, J. G., Lowe, A. J., & Breed, M. F. (2020). Soil bacterial community differences along a coastal restoration chronosequence. *Plant Ecology*, 221(9), 795–811. <https://doi.org/10.1007/s11258-019-00979-0>
- Yu, Q., Hanif, A., Rao, X., He, J., Sun, D., Liu, S., He, D., & Shen, W. (2021). Long-term restoration altered edaphic properties and soil microbial communities in forests: evidence from four plantations of southern China. *Restoration Ecology*, 29(4), 1–11. <https://doi.org/10.1111/rec.13354>
- Zeng, Q., An, S., & Liu, Y. (2017). Soil bacterial community response to vegetation succession after fencing in the grassland of China. *Science of The Total Environment*, 609, 2–10. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.07.102>
- Zheng, X., Liu, G., Wang, Z., Wang, J., Zhang, H., & Liu, B. (2020). *Bacillus dafuensis* sp. Nov., Isolated from a Forest Soil in China. *Current Microbiology*, 77(9), 2049–2055. <https://doi.org/10.1007/s00284-020-02014-2>
- Žurovec, O., Wall, D. P., Brennan, F. P., Krol, D. J., Forrester, P. J., & Richards, K. G. (2021). Increasing soil pH reduces fertiliser derived N<sub>2</sub>O emissions in intensively managed temperate grassland. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 311, 107319. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107319>

## 11. Anexos

### Anexo 1. Permiso de investigación científica



Ministerio del Ambiente, Agua  
y Transición Ecológica

#### AUTORIZACIÓN DE RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES DE LA DIVERSIDAD BIOLOGICA No. 1713

ESTUDIANTES E INVESTIGADORES (SIN FINES COMERCIALES)

#### 1.- AUTORIZACIÓN DE RECOLECTA DE ESPECÍMENES DE ESPECIES LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA

#### 2.- CÓDIGO

MAAE-ARSFC-2021-1713

#### 3.- DURACIÓN DEL PROYECTO

FECHA INICIO	FECHA FIN
2021-12-12	2022-12-12

#### 4.- COMPONENTE A RECOLECTAR

Animal
Bacteria

El Ministerio del Ambiente y Agua, en uso de las atribuciones que le confiere la Codificación a la Ley Forestal y de Conservación de Áreas Naturales y Vida Silvestre autoriza a:

#### 5.- INVESTIGADORES /TÉCNICOS QUE INTERVENDRÁN EN LAS ACTIVIDADES DE RECOLECCION

Nº de C.I/Pasaporte	Nombres y Apellidos	Nacionalidad	Nº REGISTRO SENESCYT	EXPERIENCIA	GRUPO BIOLÓGICO
1104822174	PALADINES HURTADO FAUSTO ALEJANDRO	Ecuatoriana	S/N	Estudiante	Insecta
1105256737	JIMENEZ GRANDA HEIDY JANELA	Ecuatoriana	S/N	Estudiante	Bacteroidia; Insecta
1712734829	PAUCAR CABRERA AURA DEL CARMEN	Ecuatoriana	7241143118	Docente Investigadora	Insecta

#### 6.- PARA QUE LLEVEN A CABO LA RECOLECCION DE ESPECIMENES DE ESPECIES LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA:

Nombre del Proyecto: Diversidad de escarabajos copronecrófagos Coleoptera Scarabidae en

Dirección: Calle Madrid 1159 y Andalucía Código postal: 170525 / Quito-Ecuador  
Teléfono: 593-2 398-7600 - www.ambiente.gob.ec



1 / 6

tres estados de sucesión de bosque de la reserva Tapichalaca del cantón Palanda

**7.- SE AUTORIZA LA RECOLECCION CON EL PROPOSITO DE:**

Establecer la relación entre los estados de sucesión del bosque y la diversidad de los escarabajos copronecrófagos (Coleoptera: Scarabainae) y las comunidades bacterianas en la Reserva Tapichalaca del Cantón Palanda.
Evaluar la diversidad de las especies de escarabajos (Coleoptera: Scarabainae) en tres estados de sucesión de bosque de la Reserva Natural Tapichalaca.
Aislar consorcios bacterianos provenientes del intestino de los escarabajos (Coleoptera: Scarabainae) y del suelo.
Cuantificar los cambios en la riqueza, abundancia de escarabajos (Coleoptera: Scarabainae) entre los tres tipos sucesión de la Reserva Tapichalaca.
Identificar fenotípicamente las bacterias presentes en la microbiota del intestino de los escarabajos y en el suelo de los tres diferentes estados de sucesión ecológica.

**8.- ÁREA GEOGRÁFICA QUE CUBRE LA RECOLECCIÓN DE LAS ESPECIES O ESPECÍMENES:**

PROVINCIAS	SNAP	BOSQUE PROTECTOR
ZAMORA CHINCHIPE	NA	NA

**9.- INFORMACIÓN DE LAS ESPECIES A RECOLECTAR**

CLASE	ORDEN	FAMILIA	GENERO	ESPECIE	TIPO MUESTRA	N° MUESTRA	N° LOTE
Insecta	Coleoptera	Scarabaeidae:Scarabaeinae	NA	NA	Aleatorio	1500	

**10.- METODOLOGÍA APLICADA EN CAMPO**

<b>FASE DE RECOLECCIÓN:</b>	Una vez definidos los tres estados de sucesión de bosque de la Reserva Tapichalaca se establecerán puntos de muestreo al azar para cada tipo de sucesión, los cuales estarán separados por una distancia de 100 metros entre sí. Dentro de cada estado de sucesión se colocarán 3 transectos lineales de 200 m, con unidades de muestreo separadas cada 50 m, y una separación de 100m entre transectos. Los puntos al azar se realizarán con la ayuda del software QGIS. De octubre a diciembre del 2021 se realizarán 3 muestreos independientes (uno por mes), en cada tipo de sucesión de bosque, en un período de 3 días ininterrumpidos, con revisión de trampas cada 24 horas. Las capturas se desarrollarán mediante el uso de trampas de caída (pitfall), utilizando cebo de excremento humano (Ferrer et al., 2013). Para evitar inconvenientes y sesgos con las trampas ya colocadas, por otros animales que se encuentre en la zona (aves, mamíferos, reptiles), se cebarán nuevamente las trampas o se colocarán nuevas trampas con el fin de no perturbar el muestreo de los escarabajos. En cada área de colecta se colocará una trampa de intercepción de vuelo para capturar escarabajos peloteros que no visiten el cebo de excremento humano. Así mismo en cada área de sucesión se establecerá una parcela de 100m X 100m la cual se subdividirá en subparcelas de 10m x 10m. A partir de estas subparcelas se seleccionarán aleatoriamente puntos de muestreo (1, 2, 3) de escarabajos, con un total de 9 puntos georreferenciados. La misma subdivisión será empleada para definir puntos al azar de muestreo (A, B, C) de suelo en los tres tipos de sucesión.
<b>FASE DE</b>	Una vez que se colecte los escarabajos, serán puestos en recipientes de plástico, estas tendrán un agujero y se



<b>PRESERVACIÓN:</b>	les colocará tierra del sitio de muestreo. Cada muestra deberá estar debidamente etiquetadas (localidad, coordenadas de recolección, número de trampa, responsable). Los especímenes colectados y etiquetados serán transportados hasta el Museo de Zoología de la Universidad Nacional de Loja (LOUNAZ) para realizar la identificación. Para la caracterización de comunidades bacterianas, estas muestras serán llevadas al Centro de Laboratorio de Biotecnología
----------------------	---

## 11. METODOLOGIA APLICADA EN LABORATORIO

<b>MÉTODOS EMPLEADOS EN EL LABORATORIO:</b>	Los individuos serán identificados con la ayuda de la guía para familias y subfamilias de Scarabaeoidea (Ratcliffe y Jameson, 2016). En la cual se identificarán a la subfamilia a la que pertenecen los especímenes recolectados. Para determinar el género, se utilizará la guía de especies y clave de género y subgénero de escarabajos estercoleros (Coleoptera: Scarabaeidae) presentes y presuntos para Ecuador (Chamorro et al., 2018). La identificación a nivel de especie se procederá a realizar con la ayuda de la especialista Aura Paucar- Cabrera, del Museo de Zoología de la Universidad Nacional de Loja (LOUNAZ). La identificación taxonómica será registrada en una base de datos y los especímenes serán depositados en la colección de invertebrados del Museo de Zoología de la Universidad Nacional de Loja (LOUNAZ). En lo que respecta al proceso en el centro de Biotecnología, los escarabajos serán disecados mediante enfriamiento a 4 °C, posterior se enjuagarán con agua oxigenada (H2O2) al 1%, agua estéril y etanol al 70% por dos minutos y opcionalmente se pueden volver a enjuagar en agua tratando de evitar que se produzca una contaminación de los organismos (Arias-Cordero et al., 2012; Heise et al., 2019). Luego, deberán ser disecados para proceder a sumergirlos en una solución salina al 0.7% y extraer todo lo que comprende el intestino (intestino anterior - recto); mediante el proceso de (Vasanthakumar et al., 2008; Schloss et al., 2006), para lo cual se colocará a los especímenes en una caja Petri y mediante el uso de tijeras de microcirugía y agujas de insulina se realizarán cortes ventrales (zona terminal del metatórax y el abdomen). Parte del intestino se introducirá en un tubo eppendorf con 0,2 ml de agua peptonada al 10% y se agitará en el vórtex por 30s (Schloss et al., 2006). Esta muestra se inoculará empleando la técnica de agotamiento en estrías y utilizando como medio de cultivo Agar Nutritivo (AN), y será puesta en incubación durante 72h a 37 - - 40°C
---	--

## 12.- SE AUTORIZA LA UTILIZACIÓN DE LOS SIGUIENTES MATERIALES Y/O EQUIPOS PARA LA REALIZACIÓN DE ESTA RECOLECCION.

Grupo Biológico a Recolectar	Descripción	Tipo de Equipamiento
Insecta	RED D-NET, CÁMARA FOTOGRÁFICA, ESTÉREO MICROSCOPIO, FLEXÓMETRO, GPS, FUNDAS ZIPLOCK, ALCOHOL AL 75%, PINZAS ENTOMOLÓGICAS, BANDEJA DE LOZA BLANCA, MICROTUBOS DE 1ML, 3ML Y 10ML, TAMIZ ARTESANAL., MARC	Material en Laboratorio
Bacteroidia	TERMOHIGRÓMETRO HPLC GPS BALANZAS ANALÍTICAS ESTEREOMICROSCOPIO MICROSCOPIO CÁMARA DE CRECIMIENTO	Equipo en Laboratorio
Insecta	ENVASES PLÁSTICOS DE 1L DE 14 CM DE PROFUNDIDAD, CEBO (EXCREMENTO HUMANO), FUNDAS ZIPLOCK, ENVASES PLÁSTICOS PERFORADOS, TAMIZ, ETIQUETAS Y DEMÁS MATERIAL DE CAMPO.	Material en Campo
Bacteroidia	CAJAS PETRI, PIPETAS, TIJERAS PARA MICROCIURGÍA, TUBOS DE ENSAYO, SOLUCIONES (SALINA, AGUA OXIGENADA, ETANOL, ETC), AGARES (PAPA DEXTROSA, NUTRITIVO, EMB, MACCONKEY), TINCIONES DE GRAM Y DEMÁS MATERIA	Material en Laboratorio
Insecta	FUNDAS DE PAPEL, NAVAJA, CUCHILLO, ESPÁTULA, MARTILLO Y CINCEL, LIBRETA DE CAMPO, PIOLA PLÁSTICA, CINTA DE MARCAJE, LUPAS, FUNDAS ZIPLOC, PAPEL ALUMINIO O PAPEL ENCERADO, CARTULINA BICOLOR (ESPORADAS)	Equipo en Campo

Bacteroidia	ENVASES PLÁSTICOS DE 1L DE 14 CM DE PROFUNDIDAD, CEBO (EXCREMENTO HUMANO), FUNDAS ZIPLOCK, ENVASES PLÁSTICOS PERFORADOS, TAMIZ, ETIQUETAS Y DEMÁS MATERIAL DE CAMPO.	Equipo en Campo
Insecta	TERMOHIGRÓMETRO HPLC GPS BALANZAS ANALÍTICAS ESTEREOMICROSCOPIO MICROSCOPIO CÁMARA DE CRECIMIENTO	Equipo en Laboratorio
Bacteroidia	GPS, IBUTTON, CAMARA DIGITAL	Material en Campo

### 13.- COLECCIONES NACIONALES DEPOSITARIAS DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Insecta	Museo de la Universidad Nacional de Loja
Bacteroidia	Museo de la Universidad Nacional de Loja

### 14.- RESULTADOS ESPERADOS

diversidad de escarabajos copronecrófagos y análisis de consocios bacterianos del suelo y la microbiota de escarabajos estercoleros en tres estados de sucesión en la Reserva Tapichalaca del Cantón Palanda

### 15.- CONTRIBUCIÓN DEL ESTUDIO PARA LA TOMA DE DECISIONES A LA ESTRATEGIA NACIONAL DE BIODIVERSIDAD 2011-2020.

METAS	DESCRIPCIÓN
Resultado01.06Ecuador ha asegurado mecanismos de sostenibilidad financiera para la implementación de la Estrategia Nacional de Biodiversidad y el cumplimiento de los compromisos nacionales e internacionales respecto a la conservación de su biodiversidad.	Generar información referente a la diversidad de escarabajos copronecrófagos y consorcios bacterianos del suelo y la microbiota de escarabajos estercoleros de tres estados de sucesión de la Reserva Tapichalaca del cantón Palanda

#### DE ACUERDO A LAS SIGUIENTES ESPECIFICACIONES

1. Solicitud de: **PALADINES HURTADO FAUSTO ALEJANDRO**
2. Institución Nacional Científica : **UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA**
3. Fecha de entrega del informe final o preliminar: **2022/11/27**
4. Valoración técnica del proyecto: **AULESTIA CORDOVA DARWIN PAUL**
5. Esta Autorización **NO HABILITA LA MOVILIZACIÓN DE FLORA, FAUNA, MICROORGANISMOS Y HONGOS.**

**6.** Esta Autorización **NO HABILITA EXPORTACIÓN DE FLORA, FAUNA, MICROORGANISMOS Y HONGOS**, sin la correspondiente autorización del Ministerio del Ambiente y Agua.

**7.** Los especímenes o muestras recolectadas no podrán ser utilizadas en actividades de **BIOPROSPECCIÓN, NI ACCESO AL RECURSO GENÉTICO.**

**8.** Los resultados que se desprendan de la investigación, no podrán ser utilizados para estudios posteriores de Acceso a Recurso Genéticos sin la previa autorización del Ministerio del Ambiente y Agua.

**OBLIGACIONES DEL/ LOS INVESTIGADOR/ES.**

**9.** Ingresar al sistema electrónico de recolecta de especímenes de especies la diversidad biológica del ministerio del ambiente y agua, el o los informes parciales o finales en formato PDF, en el formato establecido.

Con los siguientes anexos:

- Escaneado de el o los certificados originales del depósito o recibo de las muestras, emitidas por las Colecciones Científicas Ecuatorianas como Internacionales depositarias de material biológico.
- Escaneado de las publicaciones realizadas o elaboradas en base al material biológico recolectado.
- Escaneado de material fotográfico que considere el investigador pueda ser utilizados para difusión. (se mantendrá los derechos de autor).

**10.** Citar en las publicaciones científicas, Tesis o informes técnicos el número de Autorización de Recolección otorgada por el Ministerio del Ambiente y Agua, con el que se recolecto el material biológico.

**11.** Depositar los holotipos en una institución científica depositaria de material biológico.

**12.** Los holotipos solo podrán salir del país en calidad de préstamo por un periodo no más de un año.

**13.** Las muestras biológicas a ser depositadas deberán ingresar a las colecciones respectivas siguiendo los protocolos emitidos por el Curador/a custodio de los especímenes.

**14.** Las muestras deberán ser preservadas, curadas y depositadas de lo contrario, se deberán sufragar los gastos que demanden la preparación del material para su ingreso a la colección correspondiente.



**Ministerio del Ambiente, Agua  
y Transición Ecológica**

Del incumplimiento de las obligaciones dispuestas en los numerales, 9, 10, 11, 12, 13 y 14 se responsabiliza a **PALADINES HURTADO FAUSTO ALEJANDRO**.

**DIRECTOR DE BIODIVERSIDAD**  
LAGLA CHIMBA BYRON ADRIAN  
2021-11-18

## Anexo 2. Guía de movilización de especímenes



Ministerio del Ambiente, Agua  
y Transición Ecológica

### AUTORIZACION DE MOVILIZACIÓN DE ESPECÍMENES DE ESPECIES DE LA DIVERSIDAD BIOLÓGICA AUTORIZACION DE RECOLECTA



GUÍA N°. 00362  
CÓDIGO: MAE-ARSFC-2021-1713

#### DATOS DEL SOLICITANTE

N. Identificación: 1104822174  
Nombres: PALADINES HURTADO FAUSTO ALEJANDRO

#### DATOS DEL RESPONSABLE DE LAS MUESTRAS O ESPECÍMENES A TRANSPORTAR

Nº de C.I / Pasaporte	Nombres y Apellidos	Nacionalidad	Transportista
1104822174	PALADINES HURTADO FAUSTO ALEJANDRO	Ecuatoriana	No
1105256737	JIMENEZ GRANDA HEIDY JANELA	Ecuatoriana	Si
1712734829	PAUCAR CABRERA AURA DEL CARMEN	Ecuatoriana	No

#### ORIGEN

Provincia
ZAMORA CHINCHIPE

Tipo de Transporte: Terrestre

#### DESTINO

Provincia	Cantón	Parroquia
ZAMORA CHINCHIPE	PALANDA	VALLADOLID

Centro de Tenencia: Museo de la Universidad Nacional de Loja

#### FECHA DE MOVILIZACIÓN

Desde: 2021-12-07	Hasta: 2021-12-09
-------------------	-------------------

#### MATERIAL BIOLÓGICO A MOVILIZAR

Especie	Tipo de Muestra	Número Muestra	Lote Muestra
Animal-Coleoptera-Insecta- NA-NA	Aleatorio	25	N/A

Dirección: Calle Madrid 1159 y Andalucía Código postal: 170525 / Quito-Ecuador  
Teléfono: 593-2 398-7600 - www.ambiente.gob.ec

 **Gobierno** | Juntos lo logramos  
del Encuentro

1 / 1



**Anexo 3.** Etiqueta de muestreo de escarabajos

Localidad:	
Paisaje:	
Transecto	
Nro. Trampa	
Colector:	

**Anexo 4.** Selección aleatoria de escarabajos



**Anexo 5.** Número de identificación de escarabajos muestreados

<b>Número de identificación escarabajos</b>	
<b>Área de sucesión</b>	<b>Número</b>
Antigua (Bosque Natural)	0007541
	0007542
Joven (Bosque Restaurado)	0007543
	0007544
Pastizal	0007545
	0007546

**Anexo 6.** Etiquetas muestras de suelo

Localidad:	
Paisaje:	
Altitud	
Fecha:	
Responsable:	

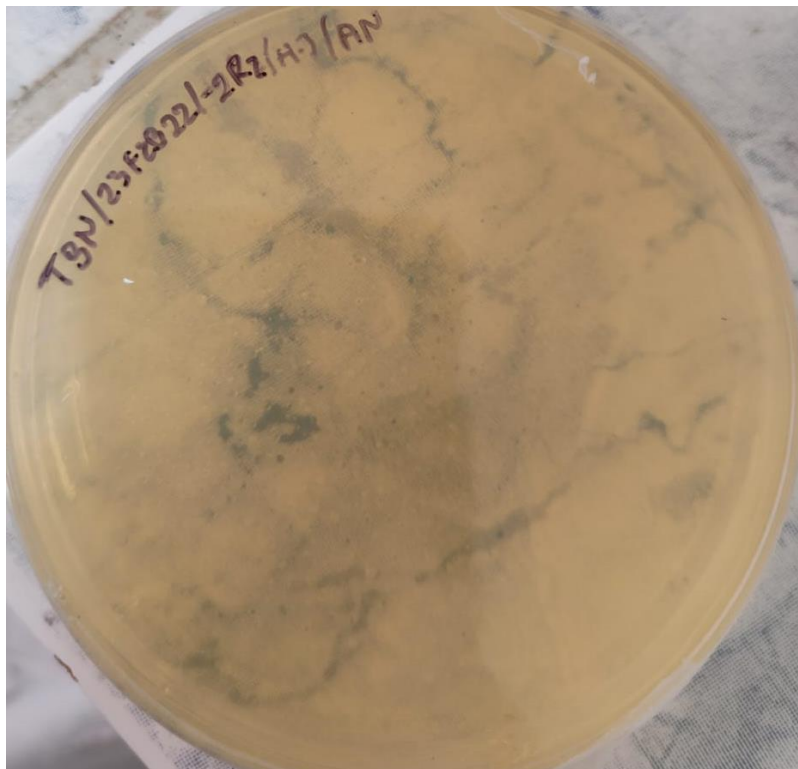
**Anexo 7.** Etiquetado de cultivos mixtos

Localidad:	Tapichalaca (T)
Paisaje:	BN - BR – PAS
Fecha:	24-feb-22
Responsable:	Heidy Jimenez (HJ)
Medio de cultivo:	AN - TSA

**Anexo 8.** Control positivo con muestra directa del intestino de un escarabajo







**Anexo 9.** Control negativo: medio de cultivo

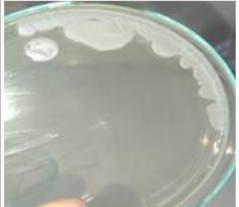











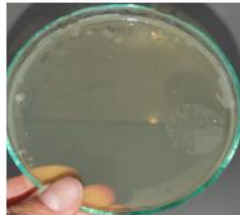


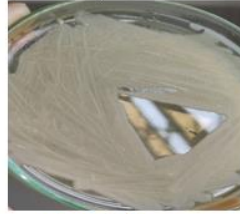
**Anexo 10.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007541, dilución -5.

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA INTESTINAL DEL ESCARABAJO 7541 DEL BOSQUE NATURAL, DILUCIÓN -5		
Cultivo mixto	Colonias puras	
 7541/02/ABR/22/-5/HJ/TSA	 7541/-5/Col1/TSA	 7541/-5/Col2/TSA
 7541/02/ABR/22/-5R1/HJ/TSA	 7541/-5R1/Col1/TSA	 7541/-5R1/Col2/TSA
 7541/02/ABR/22/-5R2/HJ/TSA	 7541/-5R2/HJ/TSA	

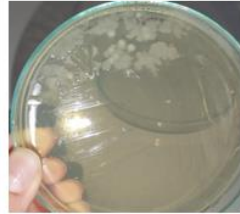
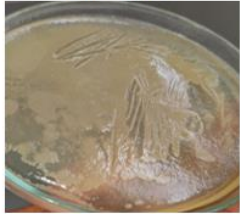
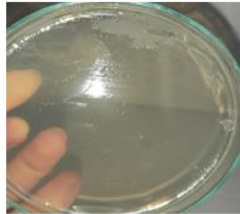

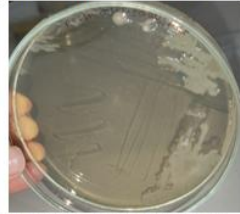

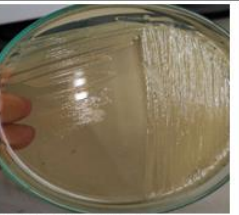
**Anexo 11.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007541, dilución -6.

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA INTESTINAL DEL ESCARABAJO 7541 DEL BOSQUE NATURAL, DILUCIÓN -6	
Cultivo mixto	Colonias puras
 7541/02/ABR/22/-6/HJ/TSA	 7541/-6/HJ/TSA
 7541/02/ABR/22/-6R1/HJ/TSA	 7541-6R1/HJ/TSA
 7541/02/ABR/22/-6R2/HJ/TSA	 7541-6R2/HJ/TSA

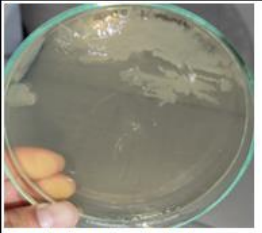



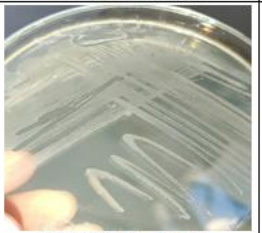
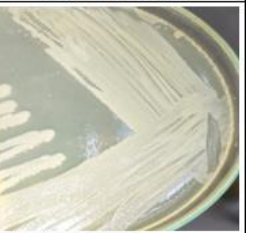


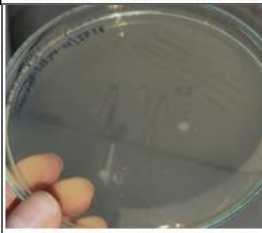
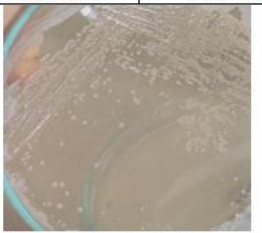
**Anexo 12.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007541, dilución -7.

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA INTESTINAL DEL ESCARABAJO 7541 DEL BOSQUE NATURAL, DILUCIÓN -7	
Cultivo mixto	Colonias puras
 7541/02/ABR/22/-7/HJ/TSA	 7541/-7/HJ/TSA
 7541/02/ABR/22/-7R2/HJ/TSA	 7541/-7R1/Col1/TSA
	 7541/-7R1/Col2/TSA
	 7541/-7R1/Col3/TSA

**Anexo 13.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007542, diluciones -5 y -6.


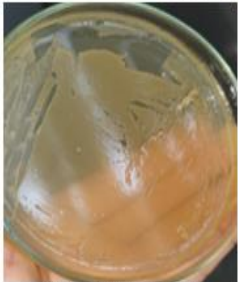



AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA INTESTINAL DEL ESCARABAJO 7542 DEL BOSQUE NATURAL, DILUCIÓN -5 y -6	
Cultivo mixto	Colonias puras
 7542/02/ABR/22/-5/HJ/TSA	 7542/-5/HJ/TSA
 7542/02/ABR/22/-6/HJ/TSA	 7542/-6/HJ/TSA
 7542/02/ABR/22/-6R1/HJ/TSA	 7542/-6R1/Col1/TSA
	 7542/-6R1/Col2/TSA

**Anexo 14.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007542, dilución -7.

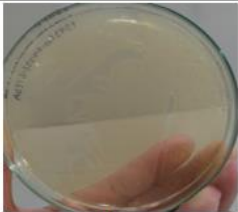

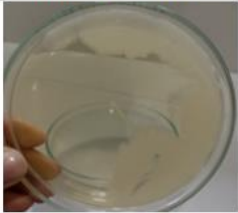



AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA INTESTINAL DEL ESCARABAJO 7542 DEL BOSQUE NATURAL, DILUCIÓN -7		
Cultivo mixto	Colonias puras	
 7542/02/ABR/22/-7/HJ/TSA	 7542/-7/Col1/TSA	 7542/-7/Col2/TSA
 7542/02/ABR/22/-7R1/HJ/TSA	 7542/-7R1/Col1/TSA	 7542/-7R1/Col1/TSA
	 7542/-7R1/Col3/TSA	 7542/-7R1/Col4/TSA
 7542/02/ABR/22/-7R2/HJ/TSA	 7542/-7R2/HJ/TSA	









**Anexo 15.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007543, dilución -5.

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA INTESTINAL DEL ESCARABAJO 7543 DEL BOSQUE RESTAURADO, DILUCIÓN -5		
Cultivo mixto	Colonias puras	
 7543/02/ABR/22/-5R1/HJ/TSA	 7543/-5R1/Col1/TSA	 7543/-5R1/Col2/TSA
 7543/02/ABR/22/-5R2/HJ/TSA	 7543/-5R2/HJ/TSA	






**Anexo 16.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007543, diluciones -6 y -7.

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA INTESTINAL DEL ESCARABAJO 7543 DEL BOSQUE RESTAURADO, DILUCIONES -6 y -7		
Cultivo mixto	Colonias puras puras	
 7543/02/ABR/22/-6/HJ/TSA	 7543/-6/HJ/TSA	
 7543/02/ABR/22/-6R2/HJ/TSA	 7543/-6R2/HJ/TSA	
 7543/02/ABR/22/-7R2/HJ/TSA	 7543/-7R2/HJ/TSA	




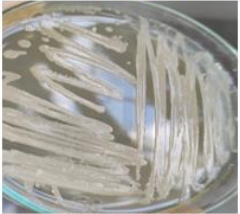


**Anexo 17.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007544, dilución -5.

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA INTESTINAL DEL ESCARABAJO 7544 DEL BOSQUE RESTAURADO, DILUCIÓN -5	
Cultivo mixto	Colonias puras
 7544/02/ABR/22/-5/HJ/TSA	 7544/-5/HJ/TSA
 7544/02/ABR/22/-5R1/HJ/TSA	 7544/-5R1/HJ/TSA
 7544/02/ABR/22/-5R2/HJ/TSA	 7544/-5R2/HJ/TSA


**Anexo 18.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007544, dilución -6.

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA INTESTINAL DEL ESCARABAJO 7544 DEL BOSQUE RESTAURADO, DILUCIÓN -6		
Cultivo mixto	Colonias puras	
 7543/02/ABR/22/-6/HJ/TSA	 7544/-6/Col1/TSA	 7544/-6/Col2/TSA
 7544/02/ABR/22/-6R1/HJ/TSA	 7544/-6R1/HJ/TSA	

**Anexo 19.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007544, dilución -7.

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA INTESTINAL DEL ESCARABAJO 7544 DEL BOSQUE RESTAURADO, DILUCIÓN -7	
Cultivo mixto	Colonias puras
 7544/02/ABR/22/-7/HJ/TSA	 7544/-7/HJ/TSA
 7544/02/ABR/22/-7R1/HJ/TSA	 7544/-7R1/HJ/TSA
 7544/02/ABR/22/-7R2/HJ/TSA	 7544/-7R2/HJ/TSA

**Anexo 20.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007545, dilución -5.



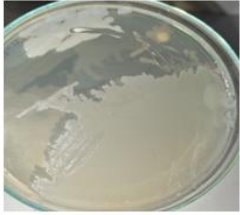
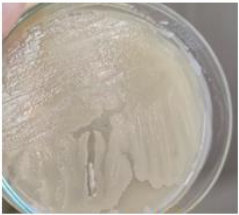


AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA INTESTINAL DEL ESCARABAJO 7545 DEL PASTIZAL, DILUCIÓN -5	
Cultivo mixto	Colonias puras
 7545/02/ABR/22/-5/HJ/TSA	 7545/-5/HJ/TSA
 7545/02/ABR/22/-5R2/HJ/TSA	 7545/-5R2/HJ/TSA

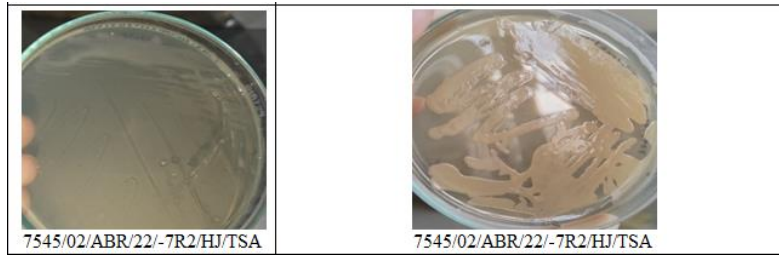


**Anexo 21.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007545, dilución -6.

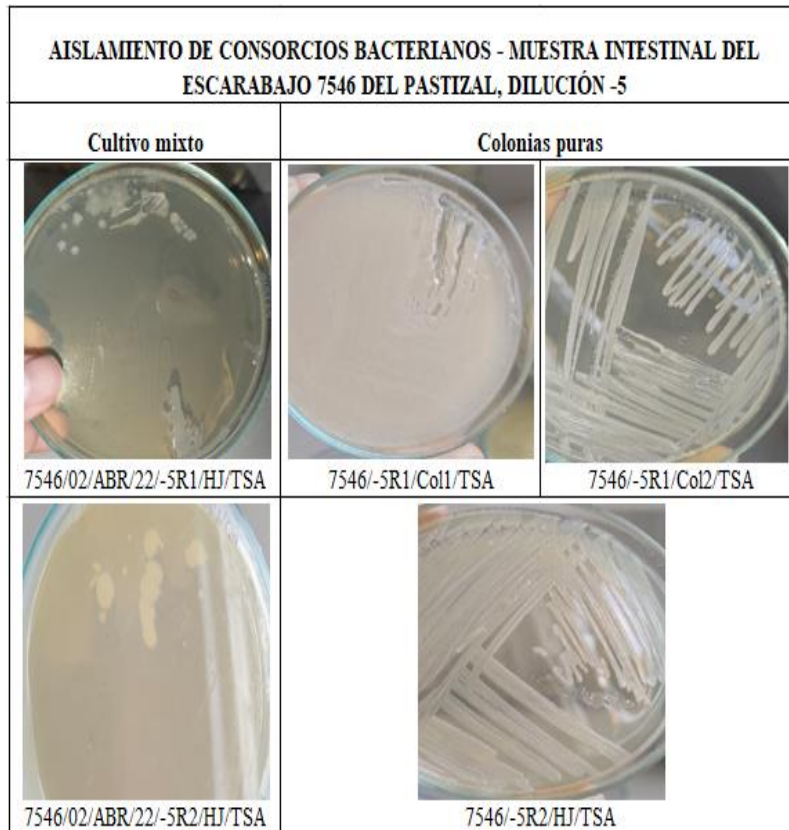
AISLAMIENTO DE COLONIAS BACTERIANAS DE LA MICROBIOTA INTESTINAL, ESCARABAJO 7545 DEL PASTIZAL, DILUCIÓN -6		
Código	Cultivo mixto	Cultivo puro
7545/02/ABR/22/-6R1/HJ/TSA		
7545/02/ABR/22/-6R2/HJ/TSA		

**Anexo 22.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007545, dilución -7.

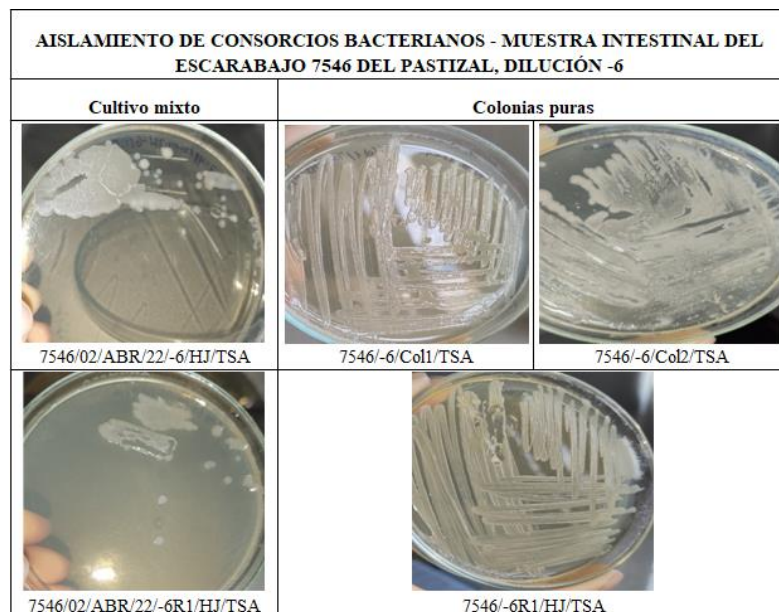
AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA INTESTINAL DEL ESCARABAJO 7545 DEL PASTIZAL, DILUCIÓN -7	
Cultivo mixto	Colonias puras
 7545/02/ABR/22/-7/HJ/TSA	 7545/-7/HJ/TSA
 7545/02/ABR/22/-7R1/HJ/TSA	 7545/-7R1/Col1/TSA
	 7545/-7R1/Col2/TSA
	 7545/-7R1/Col3/TSA



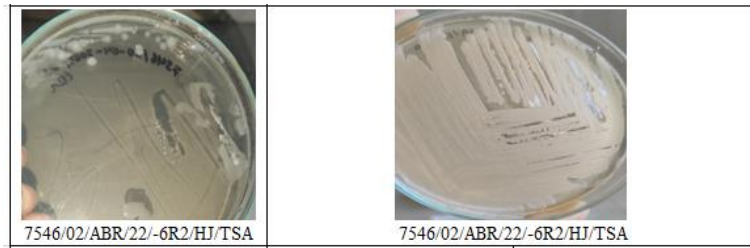
**Anexo 23.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007546, dilución -5.








**Anexo 24.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007546, dilución -6.




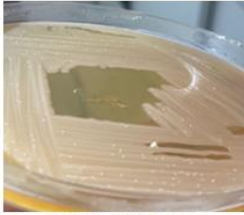

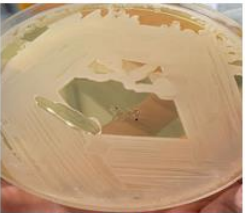
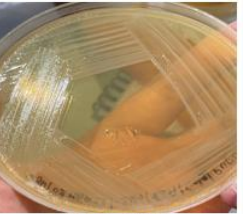
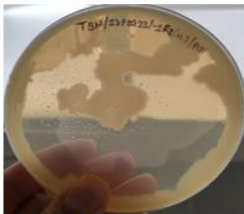





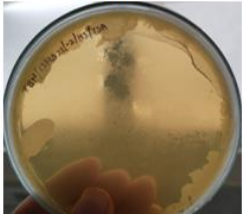





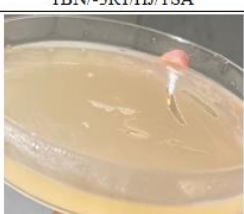
**Anexo 25.** Cultivos mixtos y colonias puras, escarabajo 0007546, dilución -7.

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA INTESTINAL DEL ESCARABAJO 7546 DEL PASTIZAL, DILUCIÓN -7		
Cultivo mixto	Colonias puras	
		
7546/02/ABR/22/-7/HJ/TSA	7546/-7/Col1/TSA	7546/-7/Col2/TSA
		
7546/02/ABR/22/-7R2/HJ/TSA	7546/-7R2/HJ/TSA	

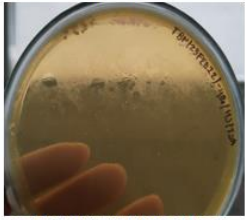

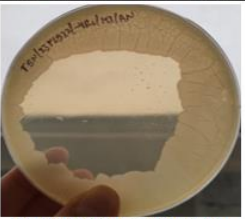

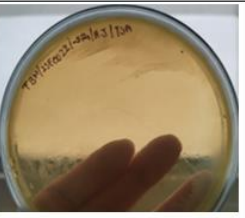

**Anexo 26.** Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del bosque natural, dilución -2.

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA DE SUELO DEL BOSQUE NATURAL, DILUCIÓN -2		
Cutivo mixto	Colonias puras	
 TBN/23FEB22/-2/HJ/TSA	 TBN/-2/HJ/TSA	
 TBN/23FEB22/-2R1/HJ/TSA	 TBN/Col1/TSA	 TBN/Col2/TSA
 TBN/23FEB22/-2R2/HJ/AN	 TBN/-2R2/HJ/AN	


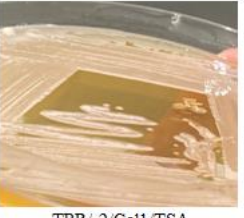
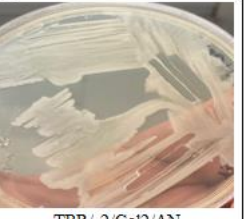
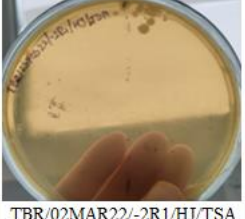
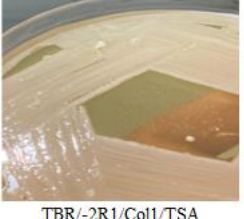
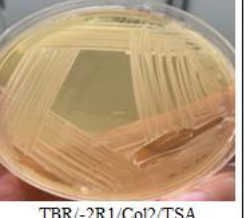

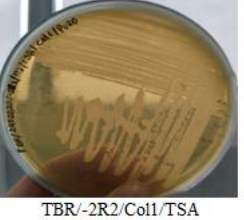
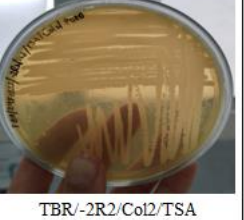
**Anexo 27.** Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del bosque natural, dilución -3.

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA DE SUELO DEL BOSQUE NATURAL, DILUCIÓN -3		
Cutivo mixto	Colonias puras	
 TBN/23FEB22/-3/HJ/TSA	 TBN/Col1/TSA	 TBN/Col2/TSA
 TBN/23FEB22/-3R1/HJ/TSA	 TBN/-3R1/HJ/TSA	
 TBN/23FEB22/-3R2/HJ/AN	 TBN/-3R2/HJ/AN	

**Anexo 28.** Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del bosque natural, diluciones -4 y -5.


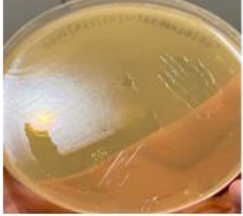
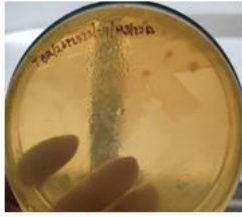
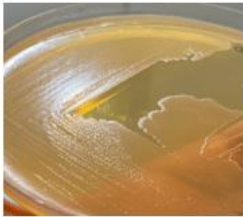





AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA DE SUELO DEL BOSQUE NATURAL, DILUCIONES -4 Y -5	
Cultivo mixto	Colonias puras
 TBN/23FEB22/-4R1/HJ/TSA	 TBN/-4R1/HJ/TSA
 TBN/23FEB22/-4R2/HJ/AN	 TBN/-4R2/HJ/AN
 TBN/23FEB22/-5R1/HJ/TSA	 TBN/-5R1/HJ/TSA

**Anexo 29.** Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del bosque restaurado, dilución -2

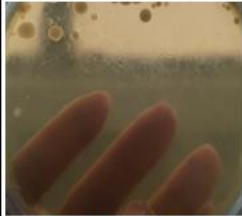


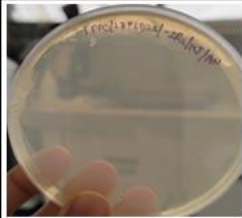
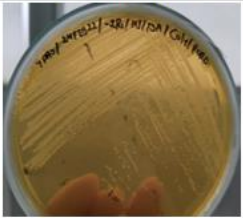

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA DE SUELO DEL BOSQUE RESTAURADO, DILUCIÓN -2		
Cultivo mixto	Colonias puras	
 TBR/02MAR22/-2/HJ/AN	 TBR/-2/Col1/TSA	 TBR/-2/Col2/AN
 TBR/02MAR22/-2R1/HJ/TSA	 TBR/-2R1/Col1/TSA	 TBR/-2R1/Col2/TSA
 TBR/02MAR22/-2R2/HJ/AN	 TBR/-2R2/Col1/TSA	 TBR/-2R2/Col2/TSA





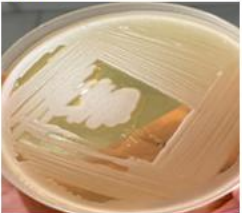


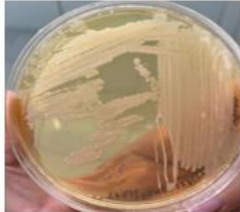


**Anexo 30.** Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del bosque restaurado, diluciones -3, -4 y -5.

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA DE SUELO DEL BOSQUE RESTAURADO, DILUCIONES -3, -4 Y -5		
Cultivo mixto	Colonias puras	
 TBR/02MAR22/-3/HJ/TSA	 TBR/-3/HJ/TSA	
 TBR/02MAR22/-4/HJ/TSA	 TBR/-4/Col1/TSA	 TBR/-4/Col2/TSA
 TBR/02MAR22/-5R1/HJ/TSA	 TBR/-5R1/HJ/TSA	
 TBR/02MAR22/-5R2/HJ/AN	 TBR/-5R2/HJ/AN	





**Anexo 31.** Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del pastizal, dilución -2

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA DE SUELO DEL PASTIZAL, DILUCIÓN -2		
Cultivo mixto	Colonias puras	
 TPAS/02MAR22/-2/HJ/TSA	 TPAS/-2/Col1/TSA	 TPAS/-2/Col2/AN
 TPAS/02MAR22/-2R1/HJ/TSA	 TPAS/-2R1/Col1/TSA	 TPAS/-2R1/Col2/TSA




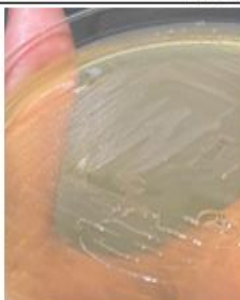

**Anexo 32.** Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del pastizal, dilución -3.

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA DE SUELO DEL PASTIZAL, DILUCIÓN -3	
Cultivo mixto	Colonias puras
	 
TPAS/02MAR22/-3/HJ/TSA	
	
TPAS/02MAR22/-3R1/HJ/TSA	TPAS/-3R1/HJ/TSA
	
PAS/02MAR22/-3R2/HJ/AN	PAS/-3R2/HJ/AN

**Anexo 33.** Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del pastizal, dilución -4.



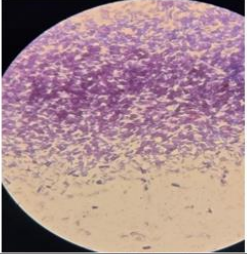


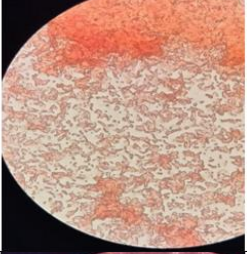
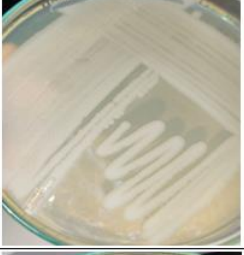

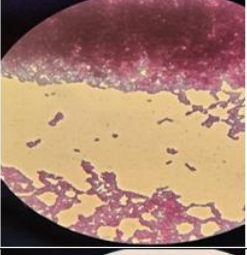



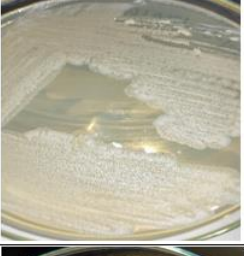

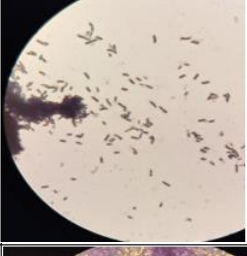


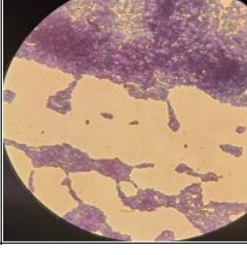
AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA DE SUELO DEL PASTIZAL, DILUCIÓN -4	
Cultivo mixto	Colonias puras
 TPAS/02MAR22/-4/HJ/TSA	 TPAS/-4/HJ/TSA
 TPAS/02MAR22/-4R1/HJ/TSA	 TPAS/-4R1/HJ/TSA

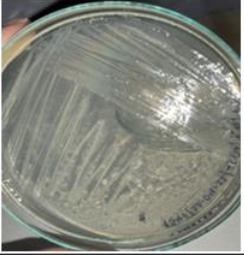

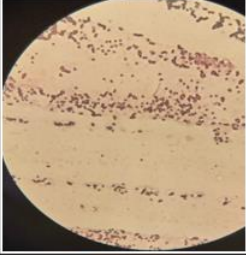
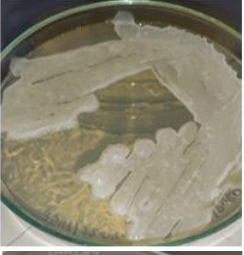

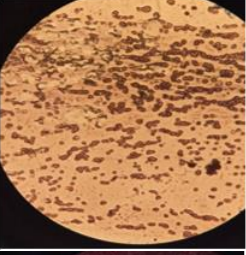


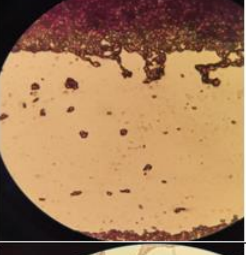


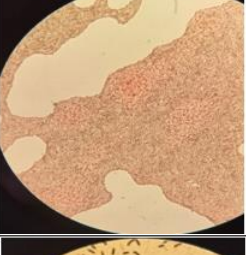

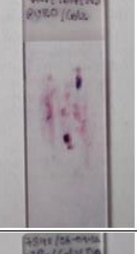
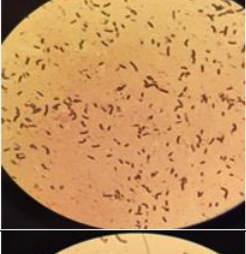
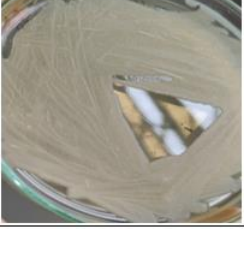

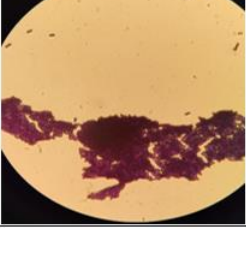
**Anexo 34.** Cultivos mixtos y colonias puras, muestra de suelo del pastizal, dilución -5.

AISLAMIENTO DE CONSORCIOS BACTERIANOS - MUESTRA DE SUELO DEL PASTIZAL, DILUCIÓN -5		
Cultivo mixto	Colonias puras	
 TPAS/02MAR22/-5/HJ/TSA	 TPAS/-5/HJ/TSA	
 TPAS/02MAR22/-5R1/HJ/TSA	 TPAS/-5R1/Col1/TSA	 TPAS/-5R1/Col2/AN





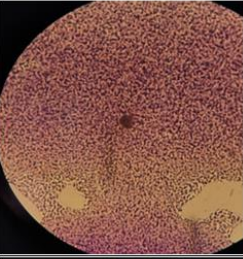


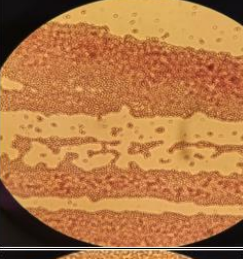
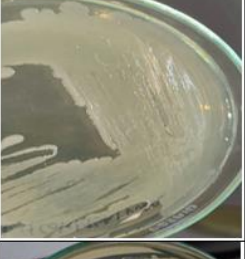

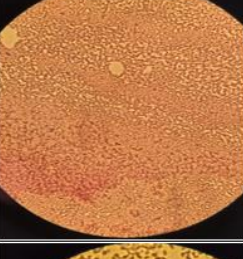
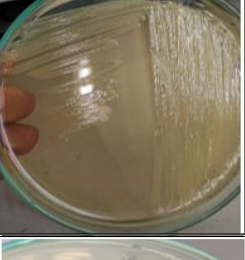

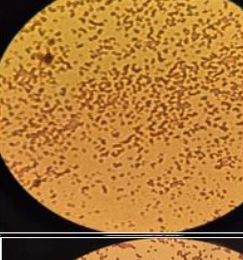
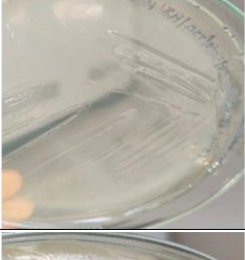

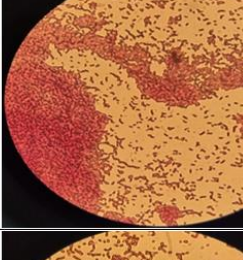


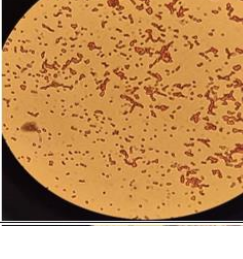
**Anexo 35.** Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas del intestino del escarabajo 0007541 del bosque natural.



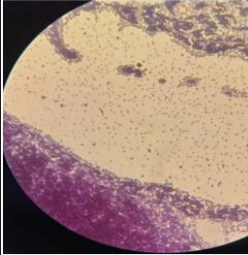
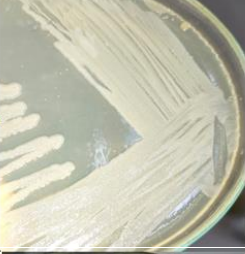

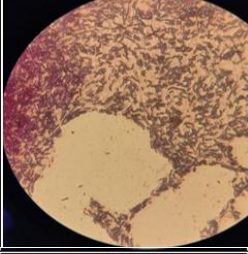





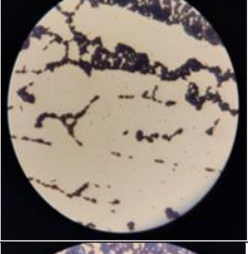


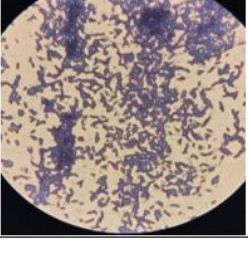
MORFOLOGÍA COLONIAL Y CELULAR: MUESTRA 7541 DEL BOSQUE NATURAL					
Código	Cultivo puro	Tinción Gram	Características	Morfología de bacterias	Tinción Gram
7541/-5/Col1/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevación umbonada, superficie opaca, cremosa y lisa, color crema oscuro, no transparente.	Bacilos Gram +	
7541/-5/Col2/HJ/TSA/PURO			Puntiforme, borde rizado, elevada, superficie brillante, seca y rugosa, color crema, no transparente.	Cocos Gram -	
7541/-5R1/Col1/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde lobulado, elevada, superficie opaca, seca y lisa, color crema blanquecino, no transparente.	Bacilos Gram +	
7541/-5R1/Col2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde lobulado, elevada, superficie brillante, cremosa y rugosa, color crema oscuro, no transparente.	Cocos Gram + (Diplococos)	
7541/-5R2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde lobulado, elevada, superficie brillante, lisa y seca, color crema, no transparente.	Cocos Gram + (Diplococos)	
7541/-6/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie opaca, seca y rugosa, color crema oscuro, no transparente.	Bacilos Gram +	

7541/-6R1HJ/AN/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada superficie brillante, cremosa y rugosa, color amarillo brillante, translúcida.	Cocos Gram -	
7541/-6R2HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde filamentosos, elevación umbonada, superficie brillante, viscosa y rugosa, color crema blanquecino, no transparente.	Cocos Gram -	
7541/-7HJ/AN/PURO			Forma irregular borde ondulado, elevada superficie opaca, cremosa y rugosa, color crema, no transparente.	Cocos Gram +	
7541/-7R1Col3HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde rizado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color amarillo claro, translúcida.	Cocos Gram -	
7541/-7R1Col2HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie opaca, cremosa y lisa, color crema, no transparente.	Bacilos Gram +	
7541/-7R1Col3HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie opaca, cremosa y rugosa, color crema, no transparente.	Bacilos Gram +	



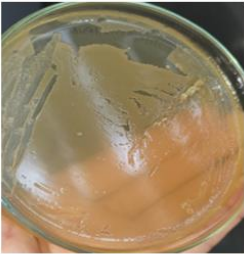

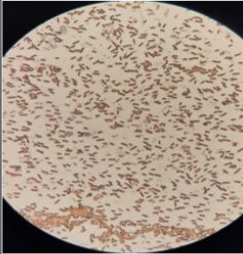


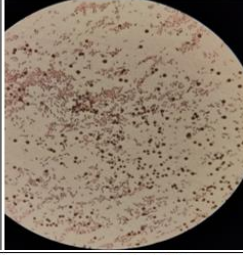


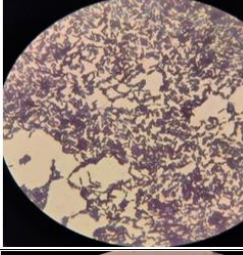


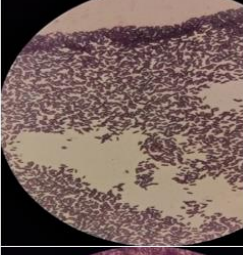


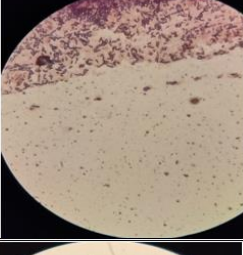


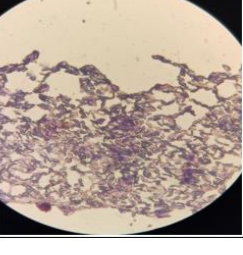
**Anexo 36.** Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas del intestino del escarabajo 0007542 del bosque natural.

MORFOLOGÍA COLONIAL Y CELULAR: MUESTRA 7542 DEL BOSQUE NATURAL					
Código	Cultivo puro	Tinción Gram	Características	Tipo de bacterias	Tinción Gram
7542/-5/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, viscosa y rugosa, color crema, no transparente.	Cocos Gram +	
7542/-6/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, cremosa y lisa, color crema, no transparente.	Cocos Gram -	
7542/-6R1/Col1/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde rizado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color crema blanquecino, translúcida.	Cocos gram -	
7542/-6R1/Col2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, viscosa y rugosa, color crema, translúcida.	Cocos Gram -	
7542/-7/Col1/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevación plana, superficie brillante, viscosa y lisa, color blanquecino, translúcida.	Cocos Gram (-)	
7542/-7/Col2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde rizado, elevada, superficie brillante, viscosa y rugosa, color blanco, translúcida.	Cocos Gram -	



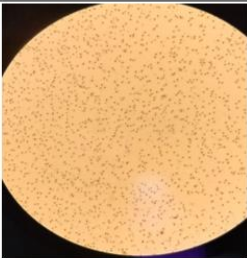


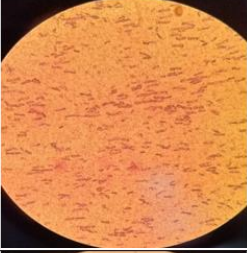


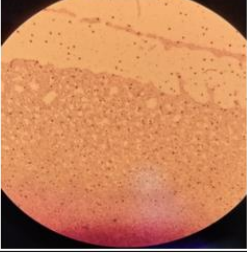


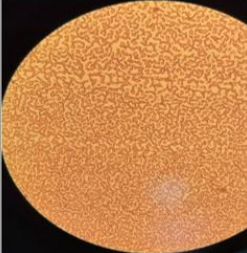


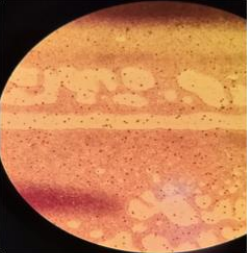


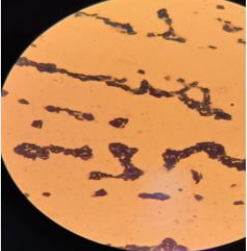
7542/-7R1/Col1/HJ/AN//PURO			Forma regular, borde rizado, elevación plana, superficie brillante, cremosa y rugosa, color blanco y translúcida.	Cocos Gram +	
7542/-7R1/Col2/HJ/AN//PURC			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, cremosa y rugosa, color crema blanquecino, no transparente.	Bacilos Gram +	
7542/-7R1/Col3/HJ/AN//PURO			Forma irregular, borde rizado, elevada, superficie opaca, viscosa y rugosa color crema oscuro, no transparente.	Bacilos Gram -	
7542/-7R1/Col4/HJ/AN//PURO			Puntiforme, borde ondulado, elevada, superficie opaca, seca y lisa, color crema, no transparente.	Bacilos Gram +	
7542/-7R2/HJ/AN//PURO			Puntiforme, borde ondulado, elevación convexa, superficie opaca, cremosa y rugosa, color crema oscuro, no transparente.	Bacilos Gram +	





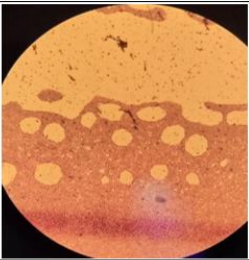
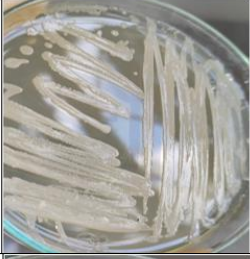

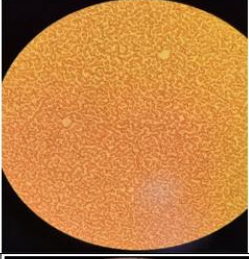


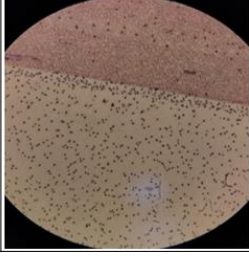
**Anexo 37.** Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas del intestino del escarabajo 0007543 del bosque restaurado.

MORFOLOGÍA COLONIAL Y CELULAR: MUESTRA 7543 DEL BOSQUE RESTAURADO					
Código	Cultivo puro	Tinción Gram	Características	Tipo de bacterias	Tinción Gram
7543/-5R1/Col1/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde rizado, elevada, superficie brillante, cremosa y lisa, color naranja, translúcida	Bacilos Gram -	
7543/-5R1/Col2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde rizado, elevación convexa, superficie brillante, cremosa y rugosa, color crema, translúcida.	Cocos Gram -	
7543/-5R2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie opaca, seca y rugosa color crema blanquecino, no transparente.	Bacilos Gram +	
7543/-6/HJ/TSA/PURO			Forma circular, borde entero, elevación plana, superficie brillante, viscosa y lisa, color amarillo brillante, translúcida.	Bacilos Gram +	
7543/-6R2/HJ/TSA/PURO			Forma filamentososa, borde filamentoso, elevada, superficie brillante, cremosa y lisa, color crema blanquecino, translúcida.	Cocos Gram +	
7543/-7R2/HJ/AN/PURO			Forma irregular, borde rizado, elevada, superficie opaca, seca y lisa, color crema, no transparente.	Bacilos Gram +	



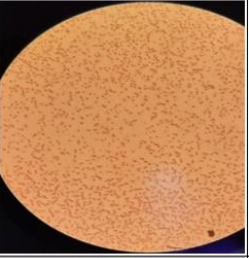


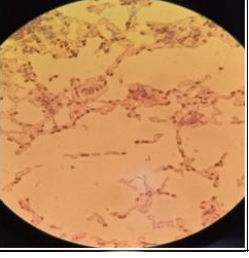
**Anexo 38.** Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas del intestino del escarabajo 0007544 del pastizal.



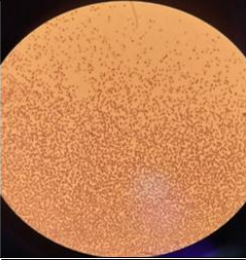


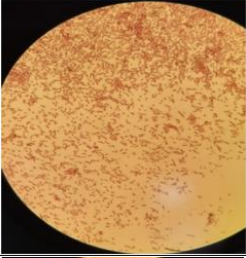


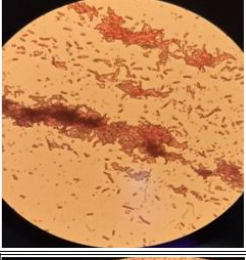


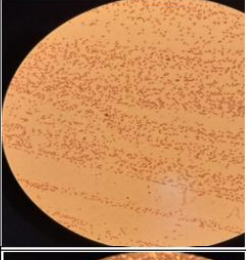


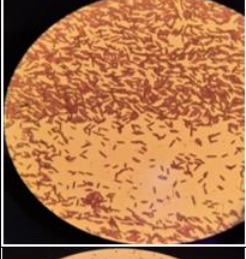


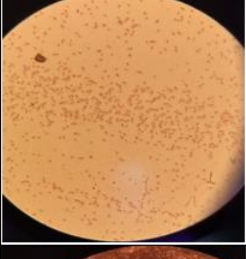


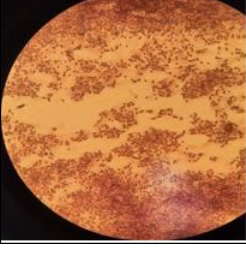
MORFOLOGÍA COLONIAL Y CELULAR: MUESTRA 7544 DEL BOSQUE RESTAURADO					
Código	Cultivo puro	Tinción Gram	Características coloniales	Morfología bacteriana	Tinción Gram
7544/-5/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde rizado, elevada, superficie brillante, viscosa y rugosa, color crema, no transparente.	Cocos Gram -	
7544/-5R1/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde lobulado, elevación convexa, superficie brillante, viscosa y rugosa, color crema, no transparente.	Cocos (Streptococos) Gram -	
7544/-5R2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, cremosa y lisa, color crema, no transparente.	Cocos Gram +	
7544/-6/Col1/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color crema, no transparente.	Cocos Gram -	
7544/-6/Col2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde lobulado, elevación plana, superficie opaca, seca y lisa, color crema, no transparente.	Cocos Gram +	
7544/-6R1/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevación convexa, superficie brillante, viscosa y lisa, color crema oscuro, no transparente.	Bacilos Gram +	



7544/-7/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color crema, no transparente.	Cocos Gram -	
7544/-7R1/HJ/AN//PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color crema, no transparente.	Cocos Gram -	
7544/-7R2/HJ/AN//PURO			Forma irregular, borde lobulado, elevación convexa, superficie brillante, viscosa y lisa, color crema, no transparente.	Cocos Gram +	



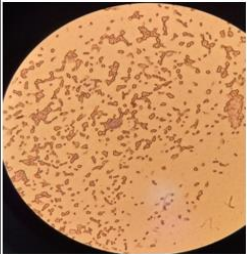

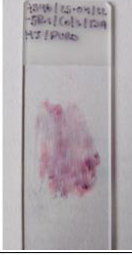
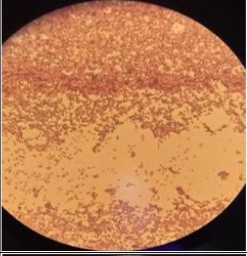


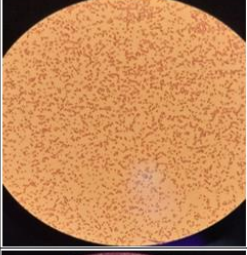


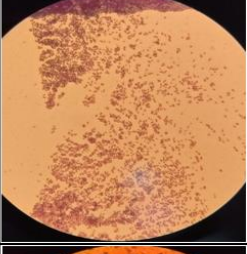


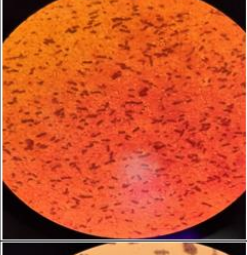


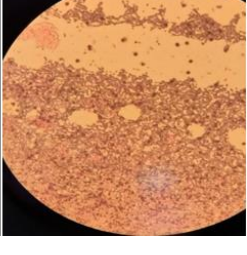
**Anexo 39.** Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas del intestino del escarabajo 0007545 de pastizal.



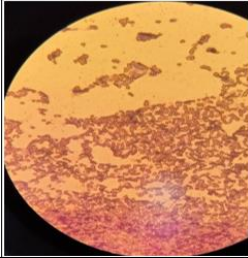


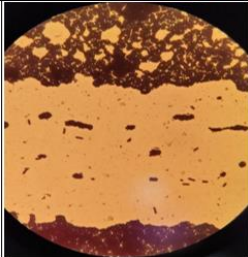


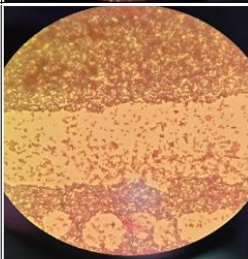
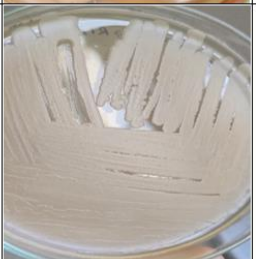

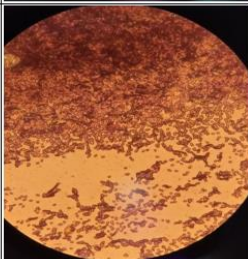
MORFOLOGÍA COLONIAL Y CELULAR: MUESTRA 7545 DEL PASTIZAL					
Código	Cultivo puro	Tinción Gram	Características	Tipo de bacterias	Tinción Gram
7545/-5/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde rizado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color blanco, no transparente	Cocos Gram -	
7545/-6/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie opaca, seca, y rugosa, color crema, no transparente.	Bacilos Gram +	

7545/-6R1/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color crema, no transparente.	Cocos Gram -	
7545/-6R2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde rizado, elevación umbilicada, superficie opaca, seca y rugosa, color crema, no transparente.	Bacilos Gram -	
7545/-7/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde rizado, elevada, superficie brillante, cremosa y lisa, color crema, no transparente.	Bacilos Gram -	
7545/-7R1/Col1/HJ/TSA/PURO			Forma circular, borde rizado, elevación plana superficie, brillante viscosa y rugosa, color amarillo claro, translúcida.	Cocos Gram -	
7545/-7R1Col2/HJ/TSA/PURO			Forma circular, borde entero, elevación plana, superficie brillante, viscosa y lisa, color amarillo brillante, translúcida.	Bacilos Gram -	
7545/-7R1Col3/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color crema blanquecino, no transparente.	Cocos Gram -	
7545/-7R2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color naranja, translúcida.	Cocos Gram -	



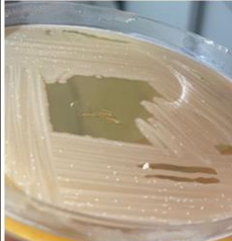

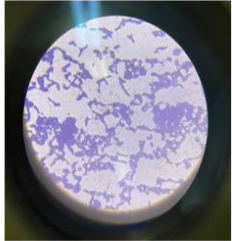


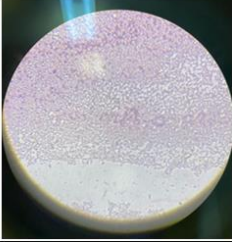


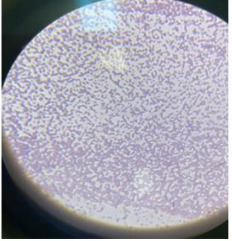

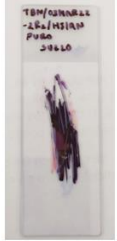
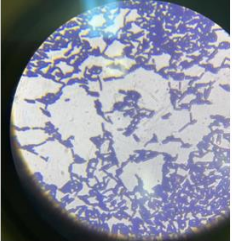


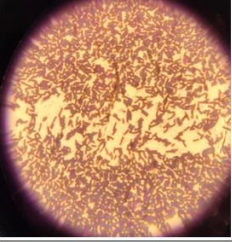


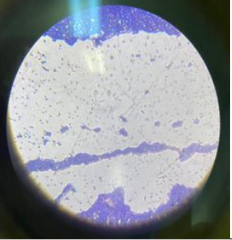
**Anexo 40.** Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas del intestino del escarabajo 0007546 de pastizal.


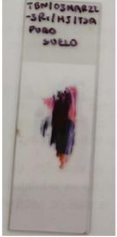
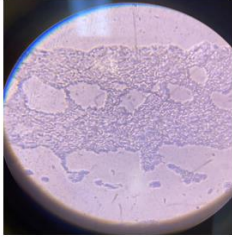


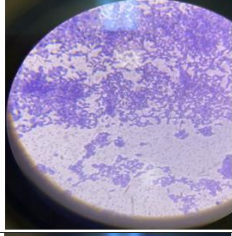


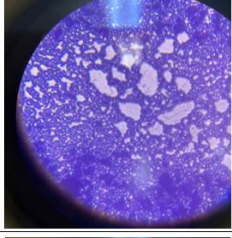


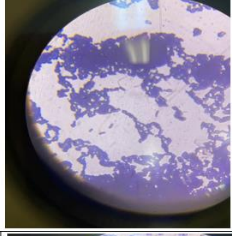


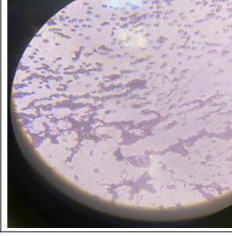
MORFOLOGÍA COLONIAL Y CELULAR: MUESTRA 7546 DEL PASTIZAL					
Código	Cultivo puro	Tinción Gram	Características	Tipo de bacterias	Tinción Gram
7546/-5R1/Col1/HJ/TSA/PURO			Forma circular, borde entero, elevada, superficie opaca, viscosa y lisa, color crema oscuro, no transparente.	Cocos Gram (-)	
7546/-5R1/Col2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde rizado, elevada, superficie brillante, viscosa y rugosa, color crema, no transparente.	Cocos Gram (-)	
7546/-5R2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde rizado, superficie brillante, viscosa y lisa, color amarillo claro, no transparente.	Cocos Gram (-)	
7546/-6/Col1/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde rizado, elevación plana, superficie brillante, viscosa y rugosa, color amarillo claro, translúcida.	Cocos Gram (+)	
7546/-6/Col2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie opaca, cremosa y lisa, color crema blanquecino, no transparente.	Bacilos Gram (-)	
7546/-6R1/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde rizado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color anaranjado, translúcida.	Cocos Gram +	

7546/-6R2//HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevación plana, superficie opaca cremosa, y lisa, color crema oscuro, no transparente.	Cocos Gram +	
7546/-7/Coli/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie opaca, seca y rugosa color crema oscuro, no transparente.	Bacilos Gram +	
7546/-7/Col2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, viscosa y lisa, color crema blanquecino, translúcida.	Cocos Gram -	
7546/-7R2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie opaca, cremosa y rugosa, color crema oscuro no transparente.	Cocos Gram -	



**Anexo 41.** Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas de la muestra de suelo del boque natural.

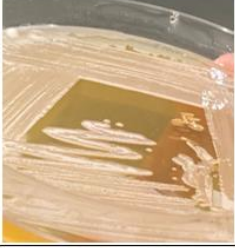

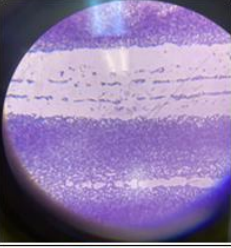


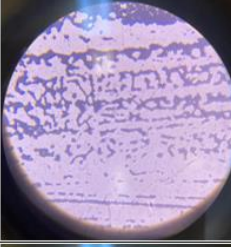
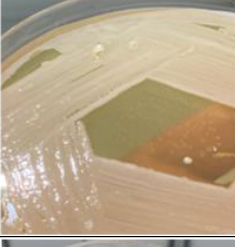

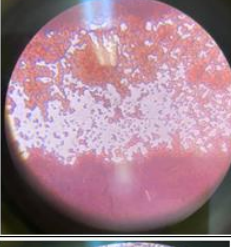
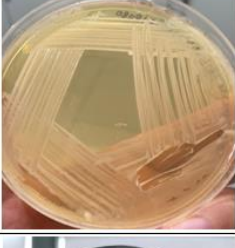

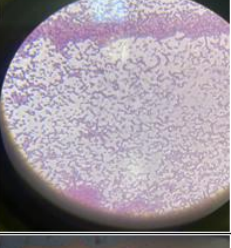


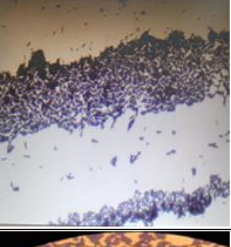
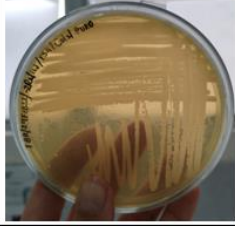

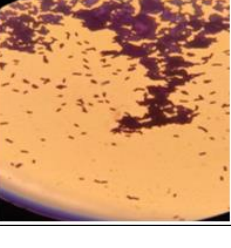
MORFOLOGÍA COLONIAL Y CELULAR: MUESTRA DE SUELO BOSQUE NATURAL					
Código	Cultivo puro	Tinción Gram	Características coloniales	Morfología celular	Tinción Gram
TBN/-2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevación umbonada, superficie cremosa, brillante y rugosa, color crema blanquesino opaco, no transparente.	Bacilos Gram +	
TBN/-2R1/HJ/TSA/Coli/PURO			Forma irregular, borde lobulado, elevada, superficie brillante, cremosa y lisa, color crema, translúcida, olor casi nulo	Cocos Gram - (Diplococos Estreptococos)	
TBN/-2R1/HJ/TSA/Coli/PURO			Forma alargada, borde entero, elevación umbonada, superficie brillante, cremosa y rugosa, color crema, translúcida.	Cocos Gram - (Estreptococos)	
TBN/-2R2/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie mate y lisa, color crema opaco, no transparente, olor casi nulo.	Bacilos gram + (Estreptobacilos)	
TBN/-3/HJ/TSA/Coli/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie mate, seca, rugosa, color crema, no transparente.	Bacilos Gram +	
TBN/-3/HJ/TSA/Coli/PURO			Forma irregular, borde lobulado, elevada, superficie brillante, lisa y seca, color crema, no transparente	Cocos Gram (+)	



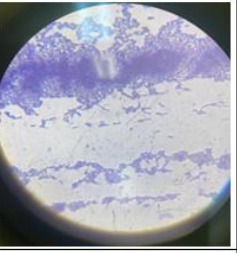


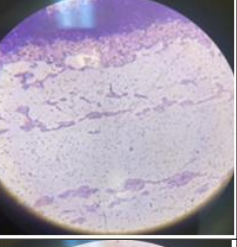


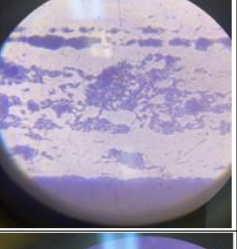


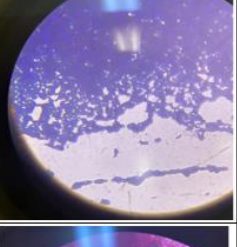


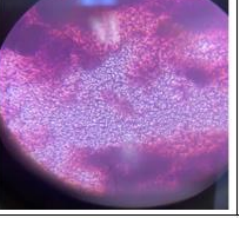
TBN/-3R1/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde erosionado, elevada, superficie seca, mate y lisa, color blanco, no transparente.	Bacilos Gram -	
TBN/-3R2/HJ/AN//PURO			Forma circular, borde entero, elevación umbonada, superficie brillante y seca, color crema, translúcida.	Estreptococos Gram +	
TBN/-4R1/HJ/TSA/PURO			Puntiforme, borde ondulado, elevada, superficie mate, seca y rugosa, color crema blanquesino, no transparente.	Cocos (Sarcinas) Gram +	
TBN/-4R2/HJ/AN//PURO			Forma filamentososa, borde lobulado, elevación umbonada, superficie mate, cremosa, y rugosa, color crema.	Bacilos Gram +	
TBN/-5R1/HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde erosionado, elevación umbonada, superficie seca, superficie mate, cremosa y rugosa, color blanco, no transparente.	Cocos Gram -	

**Anexo 42.** Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas de la muestra de suelo del boque restaurado.





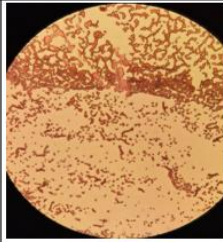


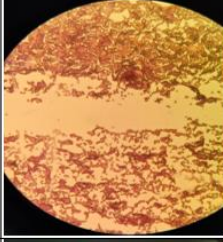

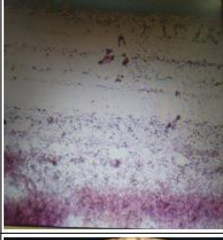


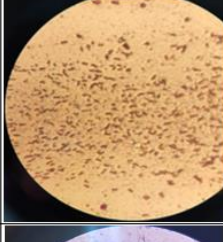


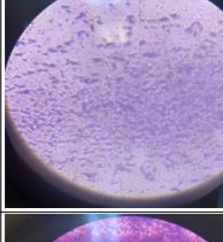


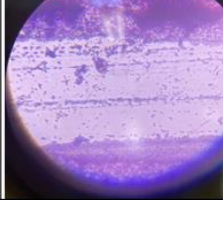
MORFOLOGÍA COLONIAL Y CELULAR: MUESTRA DE SUELO BOSQUE RESTAURADO

Código	Cultivo puro	Tinción Gram	Características coloniales	Morfología celular	Tinción Gram
TBR2/-2/HJ/TSA/Col1/PURO			Forma irregular alargada, borde ondulado, elevada, superficie lisa, cremosa y brillante, color crema	Cocos Gram +	
TBR/-2/HJ/AN/Col2/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie cremosa, rugosa y brillante, color crema blanquecino	Cocos Gram +	
TBR/-2R1HJ/TSA/Col1/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie rugosa, viscosa y brillante, color crema, no transparente	Cocos Gram -	
TBR/2R1HJ/TSA/Col2/PURO			Forma irregular, borde entero, elevada, superficie lisa, cremosa y brillante, color crema, no transparente	Cocos Gram +	
TBR/-2R2/HJ/AN/Col1/PURO			Puntiforme, borde ondulado, elevada, superficie rugosa, cremosa y brillante, color crema	Bacilos Gram +	
TBR/-2R2/HJ/TSA/Col2/PURO			Puntiforme, borde ondulado, elevada, superficie rugosa, cremosa y mate, color crema, no transparente.	Cocos Gram +	

TBR/-3/HJ/TSA/PURO			Forma irregular alargada, borde ondulado, elevada, superficie lisa, seca y brillante, color amarillo, translúcida	Cocos Gram +	
TBR/-4/HJ/TSA/col1/PURO			Forma irregular, borde lobulado, elevada, superficie rugosa, cremosa y mate, color amarillo, no transparente	Cocos Gram +	
TBR/-4/HJ/TSA/col2/PURO			Forma irregular alargada, borde ondulado, elevación plana, superficie mate, lisa y cremosa, color crema oscuro	Bacilos Gram +	
TBR/-5R1/HJ/TSA/PURO			Forma irregular alargada, borde lobulado, elevación umbonada, superficie mate, seca y lisa, color crema	Bacilos Gram +	
TBR/-5R2/HJ/AN/PURO			Forma circular, borde entero, elevada, superficie mate, cremosa y lisa, color blanco, no transparente	Cocos Gram +	



**Anexo 43.** Características macroscópicas y microscópicas de las colonias bacterianas de la muestra de suelo del pastizal.

MORFOLOGÍA COLONIAL Y CELULAR: MUESTRA DE SUELO PASTIZAL					
Código	Cultivo puro	Tinción Gram	Características coloniales	Morfología celular	Tinción Gram
TPAS/-2/HJ/TSA/Col1/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevación elevada, superficie cremosa, brillante y rugosa, color crema opaco, no transparente.	Cocos Gram -	
TPAS/-2/HJ/TSA/Col2/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevación elevada, superficie cremosa, brillante y rugosa, color crema opaco, no transparente.	Cocos Gram -	
PAS/-2R1/HJ/TSA/Col1/PURO			Puntiforme, borde lobulado, elevada, superficie cremosa, brillante y rugosa, color crema, translúcida.	Cocos Gram +	
TPAS/-3/HJ/TSA/Col1/PURO			Forma circular, borde entero, elevación plana, superficie brillante, viscosa y rugosa, color amarillo, opaco, no transparente.	Cocos Gram +	
TPAS/-3/HJ/TSA/Col2/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevación elevada, superficie mate, cremosa y rugosa, color crema opaco, no transparente.	Cocos Gram +	
TPAS/-3/HJ/TSA/Col3/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevación umbonada, superficie brillante, viscosa y rugosa, color naranja, translúcida.	Cocos Gram -	

TPAS/-3R1HJ/TSA/PURO			Puntiforme, borde ondulado, elevación umbonada, superficie cremosa, brillante y rugosa, color crema opaco, no transparente.	Bacilos Gram -	
TPAS/-3R2HJ/AN/PURO			Forma irregular, borde entero, elevación plana, superficie brillante, lisa y viscosa, color crema opaco, no transparente.	Cocos Gram +	
TPAS/-4HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevación umbonada, superficie mate, seca y rugosa, color crema, no transparente.	Bacilos Gram +	
TPAS/-4R1HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevación umbonada, superficie cremosa, brillante y rugosa, color crema, no transparente.	Estafilococos, sarcinas Gram +	
TPAS/-5HJ/TSA/PURO			Forma irregular, borde lobulado, elevación umbonada, superficie mate, cremosa y rugosa, color crema opaco, no transparente.	Bacilos Gram +	
TPAS/-5R1HJ/TSA/Cot1/PURO			Forma irregular, borde ondulado, elevada, superficie brillante, viscosa y rugosa, color amarillo, translúcida	Bacilos Gram +	
TPAS/-5R1HJ/AN/Cot2/PURO			Puntiforme, borde ondulado, elevación elevada, superficie cremosa, brillante y rugosa, color blanquecino.	Bacilos Gram +	

**Anexo 44.** Certificación de traducción del Resumen (Abstract)

**CERTIFICACIÓN DE TRADUCCIÓN DEL RESUMEN (ABSTRACT)**

Lic. Rita Isabel Granda Jiménez,  
**LICENCIADA EN CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN MENCIÓN IDIOMA INGLÉS**

**Certifico:**

Que he traducido minuciosamente el Resumen del Trabajo de Titulación denominado: **“RELACIÓN ENTRE LAS COMUNIDADES BACTERIANAS DE LA MICROBIOTA DE ESCARABAJOS ESTERCOLEROS (COLEOPTERA: SCARABAEINAE) Y DEL SUELO CON TRES ESTADOS DE SUCESIÓN DEL BOSQUE DE LA RESERVA NATURAL TAPICALACA DEL CANTÓN PALANDA.”** de autoría de **Heidy Janela Jiménez Granda**, egresada de la Carrera de Ingeniería en Manejo y Conservación del Medio Ambiente en la Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional de Loja, previo a la obtención del título de Ingeniero en Manejo y Conservación del Medio Ambiente.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, autorizando a la interesada hacer uso del presente en lo que estime conveniente.

Loja, 10 de enero del 2023



Lic. Rita Isabel Granda Jiménez  
**LICENCIADA EN CIENCIAS DE LA EDUCACIÓN MENCIÓN IDIOMA INGLÉS**

CI: 1103434401  
Celular: 0987074685