

**EFFECTO DE UN CULTIVO DE TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)
EN LA PROLIFERACIÓN DE BACTERIAS HETERÓTROFAS EN EL LAGO
GUAMUEZ, MUNICIPIO DE PASTO**

JAIME ALVARO RIVAS ORTIZ

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERIA EN PRODUCCION ACUICOLA
PASTO, COLOMBIA
2004**

**EFFECTO DE UN CULTIVO DE TRUCHA ARCO IRIS (*Oncorhynchus mykiss*)
EN LA PROLIFERACIÓN DE BACTERIAS HETERÓTROFAS EN EL LAGO
GUAMUEZ, MUNICIPIO DE PASTO**

JAIME ALVARO RIVAS ORTIZ

**Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de
Ingeniero en Producción Acuícola**

**Presidente
ALVARO BURGOS ARCOS
Zoot., Esp.**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE INGENIERIA EN PRODUCCION ACUICOLA
PASTO, COLOMBIA
2004**

“Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado, son responsabilidad exclusiva de sus autores”

Artículo 1º del acuerdo No 324. de octubre 11 de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño

Nota de aceptación :

MARCO ANTONIO IMUES FIGUEROA
Jurado delegado

JAIME RODRIGUEZ
Jurado

ALVARO BURGOS ARCOS
Presidente

San Juan de Pasto, noviembre 17 del 2004

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos a:

Alvaro Burgos Arcos	Zootecnista
Marco Antonio Imués Figueroa	Zootecnista
Jaime E. Rodríguez Sánchez	Ingeniero en Producción Acuícola
Oscar Mejía Santacruz	Economista
Piedad Mejía Santacruz	Secretaria Programa IPA
Alba Lucy Ortega Salas	Egresada Programa IPA

Facultad de Ciencias Pecuarias
Programa de Ingeniería en Producción Acuícola
Universidad de Nariño

DEDICO A:

Olga, mi esposa, mi soporte, mi amor.

A mis padres y a mis hijos

A Lucila, Lismar, Heiber, Marco Fidel, Alvaro; mis maestros dentro y fuera de las aulas.

A Liliana, Jaime, Pacho y Delia mis amigos incondicionales.

A Alvaro Burgos; motor incansable para que este trabajo salga adelante.

A mi universidad de Nariño.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCION	15
1. DEFINICION Y DELIMITACION DEL PROBLEMA	16
2. FORMULACION DEL PROBLEMA	18
3. OBJETIVOS	19
3,1 OBJETIVO GENERAL	19
3,2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	19
4. MARCO TEORICO	20
4,1 GENERALIDADES	20
4,2 NUTRICION DE LAS BACTERIAS	20
4,2,1 Bacterias Heterótrofas y Autótrofas en Acuicultura	21
4,2,1,1 Las bacterias heterótrofas como fuente de nutrición	21
4,2,1,2 Bacterias autótrofas como biofiltros	22
4,3 METABOLISMO BACTERIANO	22
4,3,1 Metabolismo respiratorio	22
4,3,2 Metabolismo fermentativo	23
4,4 BACTERIAS PLANCTONICAS	23
5. DISEÑO METODOLOGICO	25
5,1 LOCALIZACION	25
5,2 EQUIPOS E INSUMOS	25
5,2,1 Elementos para el muestreo	25
5,2,2 Utensilios para el procesamiento de las muestras	25
5,3 METODOLOGIA	26
5,3,1 Recolección de muestras de agua	26
5,3,2 Inoculación y cultivos bacterianos	26
5,3,3 Identificación	27
5,4 VARIABLES EVALUADAS	27
6. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	28
6,1 COLONIAS BACTERIANAS AISLADAS EN CUATRO PUNTOS DIFERENTES, INFLUENCIADOS POR EL CULTIVO INTENSIVO DE TRUCHA ARCO IRIS.	28
6,1,1 Morfología bacteriana	28
6,1,2 Colonias bacterianas aisladas en agar Brolacin	28

6,1,3	Colonias bacterianas aisladas en agar Nutritivo	29
6,1,4	Colonias aisladas en los agares TCBS y EMB	31
6,1,5	Colonias bacterianas aisladas en agar Mac Conkey	32
6,2	IDENTIFICACION DE GENEROS DE BACTERIAS	32
7.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	36
7,1	CONCLUSIONES	36
7,2	RECOMENDACIONES	37
	BIBLIOGRAFIA	37

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Cantidad de colonias aisladas por mL de agua, a diferentes distancias del cultivo de Trucha arco iris.	30
Cuadro 2. Morfología de colonias y Géneros bacterianos aislados en Agar Nutritivo y Brolacin	34
Cuadro 3. Cuantificación de los Géneros bacterianos a diferentes distancias	35
Cuadro 4. Cantidad de colonias bacterianas por medio de cultivo	33

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Colonias aisladas en agar Brolacin y Nutritivo.	29

GLOSARIO

BACILO: denominación de carácter puramente morfológico aplicado en bacteriología a toda bacteria cuya forma es alargada, recordando el aspecto de un bastón pequeño (por oposición al coco).

BACTERIAS: término genérico que cubre el conjunto de microorganismos unicelulares con núcleo provisto de membrana, con cromosoma único, provistos generalmente de una pared exterior capaces de multiplicarse por escisiparidad.

COLONIA BACTERIANA: conjunto de millones de bacterias que forman masas visibles.

INÓCULO: porción mínima de muestra a sembrar en un medio de cultivo.

MEDIO DE CULTIVO: solución líquida, gel semisólido o sólido con nutrientes necesarios para proporcionar a la bacteria los ingredientes requeridos para que produzcan más células como la progenitora.

MESOFILO. Referido a la temperatura de desarrollo bacteriano entre 20 y 42 °C

RESUMEN

El Lago Guamuez, ubicado en el Municipio de Pasto, es una riqueza ecológica reconocida como “Humedal de Importancia Internacional” brinda un escenario para el estudio limnológico. Sin embargo, estudios microbiológicos básicos, que permitan obtener aproximaciones científicas, acerca de los tipos de microorganismos autóctonos, de este cuerpo de agua afectado por un cultivo acuático intensivo, hasta la presente fecha, no se han realizado.

Así, mediante una sencilla metodología, este trabajo identifica algunos géneros bacterianos heterótrofos, viables, capaces de reproducirse en medios de cultivo bacterianos artificiales, que luego de ser aislados, se los clasificó, con criterios fenotípicos seguidos de pruebas bioquímicas, que permitieron caracterizar su metabolismo. El material biológico se recogió en cuatro sitios de muestreo de la laguna, influenciados por un sistema de producción de truchas en jaulas flotantes.

En este trabajo, en Agar Nutritivo, predominaron tres tipos de colores de colonias, cuyas tonalidades variaron entre gris, blanco y amarillo; con 392 UFC.mL^{-1} (Unidades Formadoras de Colonias en un mililitro). El número de colonias aisladas (195 UFC.mL^{-1}) mantuvo una concentración relativamente constante en los puntos de muestreo. En el medio de cultivo Brolacin, las tonalidades predominantes fueron las verdes y la población bacteriana mostró una relación inversamente proporcional entre la concentración bacteriana y la distancia a las jaulas. En los medio Eosina azul de metileno, y Tiosulfato citrato sales biliares sacarosa, no hubo crecimiento bacteriano. Todas las bacterias aisladas son bacilos Gram negativos.

En las pruebas Bioquímicas convencionales los géneros bacterianos predominantes fueron *Aeromonas* sp, *Pseudomonas* sp, Enterobacterias y sin identificar 12%, por cuanto no presentaron un patrón metabólico en las pruebas bioquímicas aplicadas.

La contaminación fecal es muy baja 1% de la población a cero metros para desaparecer a los 80 metros.

El desarrollo de la presente investigación, se constituye en un importante punto de partida para posteriores trabajos de mayor envergadura donde se involucren métodos sensibles para esta clase de estudios como Hibridación molecular, reacción en cadena de la polimerasa, epifluorescencia, entre otros.

ABSTRACT

The Guamuez Lake is an ecological natural resource located en de the city of Pasto, Colombia. It offers a scenario where limnological studies can be performed and is indeed known as an "Wetlands of International Importance". No microbiological research leading to identify the main native micro-organism have been conducted. The waters of the lake are being used to intensive aquatic culture which obviously can affect the native microbiology fact that emphasizes the need to make such a microbiological analysis.

In this way, by using simple methods, this work identifies some viable, heterotrophus bacterium, able to grow in artificial culture medium which after isolation can be classified by using biochemical assays which characterized them metabolically. Biological samples were collected in four different places of the lake under the influence of a trout production system in the so called floating jails.

In this research by using nutritive agar three different colonies where identified by their gray, white an yellow tones; with 392 (Colony Forming Units in one milliliter) CFU.mL⁻¹. The number of isolated colonies was not significantly related to the place where the sample was obtained. In the culture medium called Brolacin all the colonies obtained were green. The percentage of colonies isolated by samples site decreased with the distance as follow 64, 13 an 16% for distances of 0, 40, 80 and 120 respectively with 195 CFU/mL in total. In mediums containing eosin methyl blue, citrate thiosulphate, biliar salts and sacharose was not possible to grow bacterium. All the bacteria obtained were GRAM negative.

In conventional biochemical assay bacteria identified were *Aeromonas* sp., *Pseudomonas* sp. *Enterobaterium* sp. and 12% were not identified because their biochemical pattern was not included in this assay used.

This research is an important starting point for ulterior research where more sensitive methods such as molecular hybridization, polymerase chain reaction, epifluorescence among others, are used in order to obtain more precise results.

INTRODUCCION

El Lago Guamuez, ubicado en el Municipio de Pasto, es una riqueza ecológica reconocida como “Humedal de Importancia Internacional” que brinda un escenario para el estudio limnológico desde diferentes puntos de vista, oportunidad que no puede ni debe ser desaprovechada por la Universidad de Nariño en el momento en que los ojos de la humanidad están puestos en los cuerpos de agua para su defensa y protección.

La producción de conocimiento científico en el campo de la Microbiología, avanza día a día, corroborando que el hombre y los sistemas productivos, ya sean vegetales o animales, terrestres o acuáticos dependen de los microorganismos. Los microbios presentes en un cuerpo de agua cumplen un importante y definitivo papel biológico e interactivo con el nicho ecológico, ejerciendo acciones benéficas para el hombre y demás seres vivos.

Todo esto obliga a intensificar los esfuerzos para el estudio y la investigación de la microecología acuática la que comenzó en Europa en siglo XVII con el descubrimiento del microscopio por Van Leewen-Hoek, el cual, abrió un mundo nuevo al conocimiento de la vida en el agua. Fue Francois Alphonse Forel (1841–1912) el primero en hablar de Limnología razón por la cual se le conoce como el padre de esta ciencia.

El desarrollo de la presente propuesta investigativa, se constituiría en un importante punto de partida para posteriores trabajos de mayor envergadura donde se involucren métodos sensibles para esta clase de estudios como Hibridación molecular, reacción en cadena de la polimerasa, epifluorescencia, entre otros.

1. DEFINICION Y DELIMITACION DEL PROBLEMA

Todos los países del mundo están legislando sobre la protección del medio ambiente tomando el Agua como su epicentro; se encuentra cualquier cantidad de Organismos Gubernamentales y no, encaminados a proteger y hacer proteger el recurso hídrico; no pasa un día en el que no haya un informe nacional o internacional sobre alguna catástrofe ecológica y en la comunicación electrónica los mensajes en pro de la naturaleza tienen prioridad.

Es por eso el interés del hombre en conocer como funciona un cuerpo de agua y los seres vivos que la componen cuando no ha sido perturbado y compararlo con aquellos que reciben los desechos de las actividades agrícolas, industriales y humanas.

En América Latina el primer país que se adentró en la Limnología fue Brasil con Oswaldo Cruz (1893) y desde entonces ha recibido la colaboración de los grandes limnólogos. Después de Brasil son pocos los países latinoamericanos destacados por sus publicaciones limnológicas. En Perú, Argentina y México al crear mayor número de facultades de ciencias del mar e ingenierías sanitarias se incrementó el estudio de la microbiología acuática continental. Pérez Roldan¹

Donato² afirma, que en Colombia los trabajos en aguas dulces no son muchos. A excepción de Joaquín Molano Campuzano (1954) quien presenta el primer trabajo limnológico sobre análisis fisicoquímico del agua en varios ríos y lagunas y Roberto Galán, los demás trabajos son casi todos desarrollados en las dos últimas décadas. Varios grupos de investigadores se están formando en las Universidades: de Antioquia, Nacional en Leticia, Jorge Tadeo Lozano, Javeriana, Pamplona e Instituto de Investigaciones Amazónicas SINCHI, Leticia

Un único estudio de la población bacteriana de un cuerpo de agua por si solo, no suministra mayor información que aquella reportada por un censo poblacional, su importancia radica en la aplicación de esos datos en futuros estudios limnológicos como por ejemplo comportamiento de la flora bacteriana durante un mismo período climático durante varios años; relación entre la incidencia de una enfermedad en los peces y el cambio cualitativo o cuantitativo de la flora

¹ ROLDAN, Gabriel. Fundamentos de Limnología Neotropical. Medellín: Universidad de Antioquia, 1992. p. 27-29.

² DONATO, John; GONZALES, Luz Estela y RODRIGUEZ, Claudia Liliana. Ecología de dos sistemas acuáticos de páramo. Santafé de Bogotá: Guadalupe, 1999. p. 13-16.

bacteriana, detectar a tiempo el inicio de una catástrofe biológica por la alteración brusca y repentina de la flora bacteriana debido a una noxa que corregida a tiempo evitaría esos daños ecológicos que afectarían la región en particular y el castigo moral internacional por ser la Laguna de la Cocha sitio Ramsar³ como: Humedal de Importancia Internacional

Teniendo en cuenta lo anterior, se puede afirmar que, la realización de investigaciones en el campo de la microbiología, en un cuerpo de agua de un contexto como el del Lago Guamuez son necesarias y urgentes, por lo tanto su justificación es evidente, sin olvidar que la línea de investigación en truchas es una prioridad investigativa para el Programa de Ingeniería en Producción acuícola.

Por lo anterior, mediante una sencilla metodología, este trabajo pretende identificar algunos géneros bacterianos heterótrofos, viables, capaces de reproducirse en medios de cultivo artificiales, para luego ser aislados por técnicas microbiológicas convencionales que, permitirán clasificar los microorganismos, con criterios fenotípicos seguidos de pruebas bioquímicas. El material biológico será recogido en cuatro sitios de muestreo de la laguna, influenciados por un sistema de producción de truchas en jaulas flotantes.

³ A Directory of Wetlands of Internacional Importance: Ministerio del Medio Ambiente / Colombia. 14 Nov.2004 <http://www.wetlands.org/reports/dbdirectory.cfm?site_id_622>

2. FORMULACION DEL PROBLEMA

¿Cuál es la conformación de las poblaciones bacterianas heterótrofas que se encuentran a diferente distancia de un cultivo intensivo de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en el Lago Guamuez, municipio de Pasto, Colombia?

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Identificar los géneros de bacterias heterótrofas, capaces de crecer en medios de cultivo bacterianos, encontradas en cuatro puntos de influencia de un cultivo intensivo de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) en el lago Guamuez, municipio de Pasto, Colombia.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✍ Aislar las bacterias heterótrofas, mesófilas y aerobias obtenidas en cuatro puntos diferentes de influencia de un cultivo intensivo de trucha arco iris.
- ✍ Cuantificar por su morfología las colonias bacterianas aisladas.
- ✍ Identificar el género de cada una de las colonias aisladas.
- ✍ Determinar la existencia de contaminación por Enterobacterias.

4. MARCO TEORICO

4.1 GENERALIDADES

Campbell R ⁴ afirma, que hace varios miles de años atrás, el hombre ya sabía de las bondades del agua; en el oriente había anegado terrenos para sembrar arroz, cultiva carpa en canales artificiales. Siglos después mayas y aztecas cultivan peces y plantas acuáticas, se alimentan de larvas de algunos insectos que realizan parte de su ciclo de vida en el agua, los aztecas cultivan Artemia para su alimentación y desde entonces hasta nuestros días los cultivos de vegetales y animales pasaron de ser poco controlados hasta los muy controlados de hoy cuando todo el soporte nutricional es artificial, alcanzando niveles de contaminación, en otras palabras ante la avalancha de nutrientes la tierra no pudo depurarse por si sola y se comenzaron acumular sustancias químicas en el suelo que por lixiviación o directamente llegaron a los cuerpos de agua alterando sus característica fisicoquímicas, lo que repercute en la aniquilación de una microflora y el nacimiento de otra o la formación de comunidades simbióticas con la posibilidad de generarse una tercera comunidad con características completamente desconocidas que pueden o no beneficiar al nicho.

4.2 NUTRICIÓN DE LAS BACTERIAS

De acuerdo a Davis⁵, existen dos tipos de nutrición, autótrofa y heterótrofa. Los organismos autótrofos tienen sistemas capaces de captar y utilizar la energía lumínica, como es el caso de organismos fotosintéticos (fotoautótrofos), y la energía química, en el caso de organismos quimiosintéticos (quimioautótrofos), para transformar moléculas inorgánicas por ejemplo agua, dióxido de carbono, amoníaco, sales minerales, etc. en moléculas orgánicas más complejas como hidratos de carbono, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Las bacterias autótrofas obtienen o forman materia orgánica utilizando como única fuente de carbono el anhídrido carbónico.

Los heterótrofos carecen de esos sistemas, por lo que deben obtener su energía a partir de los hidratos de carbono, lípidos y proteínas previamente elaborados por los autótrofos. Los organismos heterótrofos se nutren tanto de sustancias orgánicas como inorgánicas.

⁴ CAMPBELL, R. Ecología microbiana. 1 Edición. México: Limusa, 1987. p. 71.

⁵ DAVIS, Bernard et al. Tratado de Microbiología. España: Salvat editores, 1983. p. 96-106.

parte del sistema desintegrador que conforma todos los ecosistemas. Otras son parásitos y determinan enfermedades en el hombre, animales y vegetales.

En otras palabras las bacterias autótrofas y heterótrofas existen en una relación complementaria. Las bacterias heterótrofas producen dióxido de carbono como producto final, lo cual provee una fuente de carbono para las autótrofas, las cuales en si crean biomasa que eventualmente será consumida por las heterótrofas.

4.2.1 Bacterias Heterótrofas y Autótrofas en Acuicultura. El mismo autor sostiene que las bacterias heterótrofas pueden sobrevivir a una variedad de condiciones ambientales a diferencia de las autótrofas y se utilizan como componentes prominentes de tratamientos probióticos en acuicultura. Se ha reportado que las bacterias autótrofas pueden sobrevivir semanas sin el ingreso de nutrientes, mientras que las heterótrofas disminuyen en número muy rápidamente sin alimento.

Durante los períodos de stress como por ejemplo la falta de alimento o de oxígeno disuelto bajo, las bacterias autótrofas pueden sobrevivir a través de la inactividad mientras que las heterótrofas forman esporas muy resistentes. Tanto las esporas como las bacterias autótrofas inactivas, son activadas cuando se logran las condiciones ambientales apropiadas.

4.2.1.1 Las bacterias heterótrofas como fuente de nutrición. Los nutrientes provenientes de los alimentos no ingeridos y la excreción de los animales cultivados en cautiverio pueden ser reciclados eficientemente por las bacterias.

Las bacterias heterótrofas son componentes dietarios importantes de animales detritívoros como camarón, tilapia y carpa debido a que estos consumen remanentes de plantas y animales reduciendo de manera secuencial los tamaños de las partículas de tal manera que las bacterias y hongos puedan descomponerlas a sus constituyentes químicos para reciclarlos.

McGraw⁶ afirma, que se puede obtener rendimientos de peces tan altos como 8.000 Kg./Ha/año solamente fertilizando estanques con abono. El abono en si no es nutritivo pero si una fuente de materia orgánica y substrato que permite la proliferación de bacterias heterótrofas y protozoarios. Tasas de 2 a 4 Kg. de abono adicionado a los estanques pueden producir un kilogramo de pez. Casi el 10% de la biomasa de camarón en estanques puede ser provista a través del consumo de flora bacteriana. 1.840 Kg./Ha/semana agregado a estanques pequeños de camarón sembrado a 5-20 camarones/m² puede producir una tasa

⁶ McGRAW, William. "Utilización de bacterias heterotróficas y autotróficas en la Acuicultura". Boletín Nicovita. Enero-Marzo 2003. Vol. 8. 1-3 p.
<<http://www.nicovita.com.pe/pdf/esp/boletines/bole-0303-01.pdf>

promedio de crecimiento de 0.65 a 1.02 gr/semana, sin la adición de alimento suplementario.

4.2.1.2 Bacterias autótrofas como biofiltros. Aunque ambos tipos de bacterias pueden nitrificar iones inorgánicos (NH₃, NO₂, NO₃) las bacterias heterótrofas son menos capaces de conducir la nitrificación en los sistemas acuícolas debido a su dependencia de la materia orgánica como su principal fuente de energía, a pesar de esto puede reducir los niveles de amoníaco tóxico en unas cuantas horas. Sin embargo, a menos que esta excesiva biomasa bacteriana sea consumida, ésta descompondrá y liberará materia orgánica de regreso hacia el ambiente de cultivo.

Los nitrificantes autótrofos crecen mucho más lentamente que los heterótrofos, y generalmente toman semanas para el desarrollo de bacterias nitrificantes en los biofiltros. Sin embargo, al compararse con los heterótrofos, es necesario mucho menos biomasa bacteriana para la misma tasa de nitrificación.

4.3 METABOLISMO BACTERIANO

4.3.1 Metabolismo respiratorio. Brock, citado por Madigan⁷, la respiración es la oxidación de un compuesto orgánico por medio de un aceptor externo de electrones, si este es el O₂ se denomina respiración aerobia; si es otra molécula, respiración anaerobia.

El proceso respiratorio de los heterótrofos se puede subdividir en tres fases:

? La conversión del substrato orgánico en ácido pirúvico y acetil-CoA, quien interviene directamente en el ciclo de Krebs.

? El ciclo de Krebs, en el que el carbono orgánico es convertido en CO₂ y se genera ATP y especialmente poder reductor (NADH/FADH₂)

? La fosforilación oxidativa por la que los Cofactores nucleotídicos son reoxidados y por medio de una cadena transportadora de electrones, se genera ATP.

La ecuación completa para el metabolismo respiratorio aerobio de la glucosa, utilizando la vía de Embden Meyerhof es:



La respiración anaerobia utiliza fundamentalmente las mismas rutas metabólicas que la respiración aeróbica. La diferencia radica en el compuesto que sirve como aceptor terminal de electrones en la cadena transportadora. Dependiendo del potencial redox del aceptor final de electrones la diferencia de potencial será

¹⁷ MADIGAN, Michael; MARTINKO John y PARKER, Jack. Brock, Microbiología de los microorganismos. 8 ed. Madrid: Prentice Hall Iberia, 2000. p. 111-130.

mayor o menor y, por tanto, lo será la energía liberada y el rendimiento energético por mol de sustrato consumido.

4.3.2 Metabolismo fermentativo. Davis ⁸ asegura que la fermentación, sucede cuando un sustrato orgánico actúa como donador de electrones, y un producto del sustrato actúa como aceptor. No existe cambio neto en el estado de oxidación de los productos en relación con la molécula de sustrato inicial: los productos oxidados son contrabalanceados por productos reducidos logrando un equilibrio.

Durante los procesos metabólicos los microorganismos se extraen energía y poder reductor del medio que los rodea y los utiliza para sintetizar sus propios componentes celulares. La energía liberada durante los procesos catabólicos es almacenada, normalmente en forma de ATP que será utilizada para reacciones endergónicas durante los procesos anabólicos. El ATP es particularmente útil como forma de almacenar la energía debido a su posición intermedia entre los compuestos con “enlaces ricos en energía”. El poder reductor generado en los procesos de oxidación que acompañan al catabolismo será utilizado para reducir formas oxidadas de carbono a los estados de oxidación reducidos en los que, normalmente se encuentra en las macromoléculas. En la mayor parte de los procesos de oxidación-reducción biológicos interviene un nucleótido de piridina, el NAD (nicotinamida-adenin-dinucleótido) o el NADP.

4.4 BACTERIAS PLANCTÓNICAS

Margalef ⁹, deduce que las bacterias planctónicas o bacterioplancton son GRAM negativas en su mayoría (80 a 90%) pueden ser móviles y pleomórficas. También en su mayoría no se hallan libres en la columna de agua sino adheridas a partículas generalmente de materia orgánica, este material sólido recibe el nombre de seston que lo componen una parte viva, la bacteria, y otra que murió o que nunca vivió llamada tripton. Para Chocair, J y Albright ¹⁰ y Campbell R, ¹¹ el bacterioplancton puede ser heterótrofo o autótrofo y junto a los protozoarios

⁸ DAVIS. Et al. Op. cit., p. 40-48.

⁹ MARGALEF, Ramón. Ecología. Barcelona: Omega, 1982. p. 650.

¹⁰ CHOCAIR, J. y ALBRIGHT, L. Actividad Heterotrófica de microorganismos de sedimento y agua en Isla Iona, Columbia Británica Canadá. Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. México, Vol. 1, No. 10 mayo. 1983. p. 3-5.
<<http://www.bibilowed.dgsa.unam.mx/cienciasdelmar/instituto/1983-1/articulo151.html>

¹¹ CAMPBELL R, Op. Cit., p. 52-54

heterótrofos que son los nanoflagelados y los ciliados, constituyen el núcleo de las redes tróficas microbianas.

El bacterioplancton heterótrofo se nutre mayormente del carbono que se encuentra en forma de carbono disuelto y de nutrientes orgánicos e inorgánicos como nitrógeno y fósforo. Este carbono disuelto se produce fundamentalmente por dos vías 1- por la excreción directa de los productores primarios y por los protozooplanctónicos ó 2- por la lisis de las células del fitoplancton y bacterioplancton cuando son capturadas e ingeridas por los protozoos heterótrofos. Por lo tanto, el carbono orgánico disuelto fluye de unos microorganismos a otros y va reciclándose, sin embargo no todo el carbono consumido es aprovechado en su totalidad para el crecimiento sino que una gran proporción se gasta en respiración.

Según Chocair ¹² et al, las bacterias heterótrofas exhiben tres funciones en un ecosistema acuático.

✍ Son consumidores de materia orgánica disuelta (DOM) en el medio ambiente, resultando en una autopurificación de compuestos fotosintéticos y alóctonos.

✍ Contribuyen en el reciclaje de substratos inorgánicos para los productos primarios.

✍ Son productores también, en el sentido que son capaces de convertir sustancias orgánicas disueltas en materia particular, y de esta manera ponerla a disposición de los primeros eslabones de la cadena alimentaria.

¹² CHOCAIR, Op. cit., p. 4.

5. DISEÑO METODOLOGICO

5.1 LOCALIZACION

El presente trabajo se realizó en las aguas aledañas a la Unidad de Jaulas Flotantes de la Universidad de Nariño ubicada en la región suroccidental del Lago Guamuez.

Según la base de datos Ramsar ¹³, el Lago Guamuez con su cuenca de 39.000 hectáreas está ubicada a 01°03'N 077°12'W, y 2.749 msnm, al suroriente de la ciudad de San Juan de Pasto, tiene un área de 60 Km² y una profundidad máxima de 70 metros, un índice de pluviosidad de 2.000 a 3.800 mm y temperatura que oscila entre 8 y 12 °C, alberga 300 millones de metros cúbicos de agua, es de origen volcánico para unos, tectónico y glaciario para otros.

5.2 EQUIPOS E INSUMOS

5.2.1 Elementos para el muestreo. En el presente trabajo se utilizó:

- 24 frascos estériles de 100 mililitros de capacidad
- 24 guantes estériles desechables
- 1 termómetro
- 1 nevera de icopor portátil con hielo.
- Libreta para apuntes

5.2.2 Utensilios para el procesamiento de las muestras. Los materiales fueron:

- 1 olla autoclave marca All American
- 1 balanza. Capacidad 0.1 a 311 gramos, marca OHAUSS referencia 95.85
- 1 incubadora bacteriológica marca CSE Clinical Scientific Equip
- 1 cuenta colonias
- 1 microscopio marca Olympus
- 1 estereoscopio marca BOBES Spain
- 1 regleta 1 a 100 mm
- 1 juego de colorantes para GRAM
- 60 mL de peróxido de hidrógeno
- 60 mL de tetrametil p-fenilendiamina
- 2 asas bacteriológicas calibradas (10 ?L)

¹³ A Directory of Wetlands of International Importance Op. cit., p. 1

- 100 ml de azul de metileno
- 100 láminas portaobjetos
- 200 láminas cubreobjetos
- 100 cajas petri
- 200 tubos de ensayo
- 250 gramos de agar nutritivo- 250 gramos de agar Brolacin ó CLED
- 250 gramos de agar Mac Conkey
- 250 gramos de agar Lisina hierro (LIA)
- 250 gramos de agar hierro tres azúcares (TSI)
- 250 gramos de agar citrato de Simmons
- 250 gramos de agar OF de Hugh-Leifson
- 250 gramos de agar sulfuros, indol, motilidad (SIM)
- 250 gramos de agar Manitol
- 250 gramos de agar fenilalanina
- 250 gramos de agar urea
- 250 gramos de agar ornitina
- 250 gramos de agar tiosulfato citrato sales biliares sacarosa (TCBS)

5.3 METODOLOGIA

Los procedimientos se realizaron de acuerdo a las referencias bibliográficas de Elmer Koneman et al ¹⁴.

5.3.1 Recolección de muestras de agua. Las muestras se colectaron cada 45 días durante un período total de 180 días, para un total de 24 muestras por cada sesión, seis frascos por estación de muestreo, durante los meses de abril a septiembre de 2004 en cuatro estaciones ubicadas así: la primera junto a las jaulas flotantes de la estación piscícola INTI YACO de la Universidad de Nariño destinadas a la cría y levante de trucha arco iris (*Oncorhynchus mykiss*), las siguientes a 40 y 80 metros y la última a 120 metros de la primera, alineadas en dirección oriente a occidente. Todos los muestreos se realizaron a 30 centímetros de profundidad.

5.3.2 Inoculación y cultivos bacterianos. Los cultivos bacterianos se procesaron en el laboratorio de la Clínica Fátima del municipio de Pasto. Se sembró un inóculo de 10 ml con asa calibrada sobre superficie de placas de los agares: Brolacin, Mac Conkey, Agar Nutritivo, Eosina azul de metileno (EMB) y agar tiosulfato citrato sales biliares sacarosa (TCBS). Todas las muestras se incubaron a 36°C durante 24 a 48 horas.

5.3.3 Identificación. Las colonias bacterianas aisladas, se identificaron como se dijo anteriormente, siguiendo las directrices de Elmer Koneman y colaboradores.

¹⁴ KONEMAN, Elmer et al. Diagnóstico microbiológico. México: Editorial Médica Panamericana, 1985. p. 152-254.

El esquema básico a seguir con cada una de las colonias bacterianas aisladas es:

- ✍ Descripción de la morfología de las colonias.
- ✍ Codificación de cada una de las colonias descritas en el paso anterior
- ✍ Coloración de GRAM
- ✍ Examen directo.
- ✍ Prueba de la Oxidasa.
- ✍ Prueba de la Catalasa.
- ✍ Inoculación de cada colonia en los agares: Triple sugar iron (TSI), Citrato de Simmons, Lisina hierro, Ornitina, Manitol, SIM, urea, fenilalanina y OF
- ✍ Repique o resiembra de cada una de las colonias de los pasos anteriores a Agar Nutritivo

Al utilizar los anteriores agares se busca determinar lo siguiente: con medio inclinado de TSI corroborar la imagen característica de los organismos no fermentadores (pico alcalino/fondo alcalino) quienes son incapaces de utilizar glucosa por vía fermentativa. Agar citrato para identificar aquellas bacterias que pueden obtener energía por una vía diferente a la fermentación de hidratos de carbono. Medios con los amino ácidos, lisina, ornitina y fenilalanina en busca de enzimas bacterianas con capacidad de deaminar o decarboxilar dichos amino ácidos. Medio de SIM para testar producción de H₂S, movilidad e indol. Caldo de urea para determinar la presencia o no de la enzima ureasa y finalmente medio OF (Hugh y Leifson) para detectar la producción de ácido por degradación oxidativa de la glucosa en aquellas bacterias que lo producen muy débilmente.

El examen directo de una suspensión de la colonia al microscopio permite observar de una manera sensible, específica, rápida y económica la capacidad de una bacteria para moverse.

5.4 Variables evaluadas. Las variables que se evaluaron en el presente trabajo son:

? Número de colonias que crecieron en:

Variable A,	Agar Brolacin	36 °C.
Variable B,	Agar Mac Conkey	36 °C.
Variable C,	Agar nutritivo	36 °C.

? Géneros bacterianos aislados en cada uno de los sitios de muestreo así:

Variable D,	a 0	metros de distancia de las jaulas.
Variable E,	a 40	metros de distancia de las jaulas.
Variable F,	a 80	metros de distancia de las jaulas.
Variable G,	a 120	metros de distancia de las jaulas.

6. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

6.1 COLONIAS BACTERIANAS AISLADAS EN CUATRO PUNTOS DIFERENTES, INFLUENCIADOS POR EL CULTIVO INTENSIVO DE TRUCHA ARCO IRIS

6.1.1 Morfología bacteriana. En el cuadro 1, se observa las colonias de bacterias aisladas en las muestras de agua tomadas a diferentes distancias del cultivo de trucha arco iris.

Se mira que en Agar Nutritivo, predominaron tres tonalidades de colores de colonias, que- variaron entre gris, blanco y amarillo. En este medio, el número total de colonias fue 392 UFC.mL⁻¹ (Unidades Formadoras de Colonias en un mililitro). Además de las tonalidades se destacan las formas planas y convexas y los aspectos de las colonias mas comunes fueron mucoides, cremosas, brillantes y opacas.

Por otra parte en el medio de cultivo Brolacin, las tonalidades predominantes fueron las verdes, además se observo algunas colonias amarillas. El número total de colonias fue 195 UFC.mL⁻¹. Es importante aclarar que este medio de cultivo contiene como indicador de pH, azul de bromotimol, el cual colorea el medio de cultivo y por ende las colonias.

También es oportuno anotar el cambio morfológico que sufre una colonia bacteriana después de una resiembra o repique; lo cual pone en evidencia que la morfología de la colonia no guarda especificidad con el género y especie de una bacteria.

En el medio de cultivo Mac Conkey, únicamente se aisló una colonia por mililitro de color rosado intenso, por el contrario en los agares EMB (Eosina azul de metileno) y TCBS (Tiosulfato citrato sales biliares sacarosa) no hubo crecimiento.

6.1.2 Colonias bacterianas aisladas en agar Brolacin. En la Figura 1, se observa el crecimiento de colonias de bacterias según las distancia en metros al cultivo de peces, y que lograron crecer en este medio de cultivo. Así, a cero metros hay 124 colonias, corresponde al 64% del total de las colonias aisladas; a 40 m se obtuvo 13 colonias, 7 a 80 metros y a 120 metros de distancia crecieron 32 que equivalen al 16%.

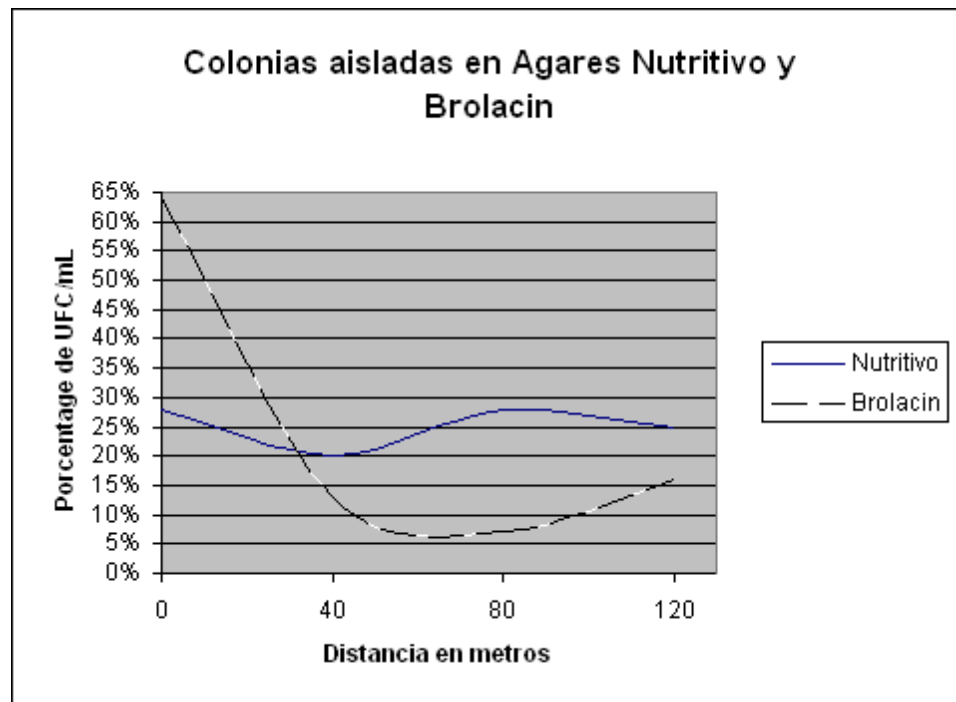
Estos datos indican que existe una relación inversa entre el número de colonias aisladas y la proximidad a la estación de cultivo, en otras palabras, la concentración bacteriana circundante a la estación piscícola es mayor junto a las jaulas que a 120 metros de distancia. Esto se debe a la disponibilidad de sustancias orgánicas e inorgánicas disueltas o en suspensión tales como

metabolitos de los peces, desechos digestivos, alimento no consumido, alta concentración de algas y microalgas.

Influye además en la proliferación bacteriana la mayor concentración de micro partículas en suspensión alrededor de las jaulas y como afirma Margalef ¹⁵, las bacterias heterótrofas (seston) se adhieren a esas partículas (tripton).

6.1.3 Colonias bacterianas aisladas en Agar Nutritivo. En este medio el comportamiento bacteriano es completamente diferente al presentado en Brolacin, La Figura No. 1 lo demuestra. Se observa que a 0 m se aísla 108 colonias, corresponde al 28% de la población, a 40 metros, 77 colonias igual a 20% a 80 metros 109 colonias, 28% y finalmente 98 colonias a 120 metros para un 25%. Esta curva presenta una tendencia homogénea, es decir que en cada punto del muestre el número de colonias bacterianas es constante.

Figura 1 Colonias aisladas en Agar Nutritivo y Brolacin



¹⁵ Margalef, Op. cit., p. 53.

Cuadro 1. Cantidad de colonias aisladas por mL de agua a diferentes distancias del cultivo de Trucha Arco Iris

Medio de Cultivo	Características Morfológicas	0 metros	40 metros	80 metros	120 metros
A	Gris mucoide, brillante, convexa	69	58	59	89
G	Gris con centro verde, acuminadas	29	4		3
A	Subtotal de Tonalidad Gris	98	62	59	92
R	Blanca brillante, plana	4			
	Blanca, translúcida			2	
N	Subtotal de tonalidad Blanca	4	0	2	0
U	Amarillas cremosas, convexa	4	13	1	2
T	Anaranjadas, opacas		2	34	
R	Pardas, brillantes			13	4
I	Subtotal de Tonalidad amarilla	4	15	48	6
T	Café claro, brillante	1			
I	Morado casi negro con brillo metálico	1			
V	Subtotal de Otras	2	0	0	0
O	Total de colonias en A. nutritivo	108	77	109	98
A					
G	azul verdosas planas	8	1	5	22
A	Verdes casi negras, oscurecen el medio	15	3	1	
R	Verde opaca				1
	Verde mucoide	86		5	
B	Verde centro oscuro	6	20	1	9
R	Subtotal de tonalidad Verde	115	24	12	32
O	Amarilla	5	1		
L	Verde semeja un racimo de uvas	2			
A	Verdes con aspecto rugoso	2		1	
C	Verde acuminada		1		
I	Total de Otras	9	2	1	0
N	Total de colonias aisladas en Brolacin	124	26	13	32
AGAR					
	Colonia rosada	1			
MacConkey	Subtotal de colonias rosadas	1	0	0	0
	Total de colonias aisladas en MacConkey	1	0	0	0
Agar EMB	Colonias aisladas por mL	0	40	80	120
	No se observa crecimiento				
	Total de colonias aisladas en EMB	0	0	0	0
AGAR TCBS	Colonias aisladas por mL	0	40	80	120
	No se observa crecimiento				
	Total de colonias aisladas en TCBS	0	0	0	0

6.1.4 Colonias aisladas en los agares TCBS y EMB. Al utilizar agar tiosulfato citrato sales biliares sacarosa (TCBS) selectivo para bacterias de la Familia Vibrionaceae, no se obtuvo ningún crecimiento.

Entre las varias causas para no lograr aislamiento de Vibrios quizá la más importante es la baja o casi nula población de Vibrios en el área de muestreo durante el período climático objeto del presente trabajo, manifestada en los exámenes directos de las muestras en donde no se observó su morfología característica como tampoco en los análisis de los sedimentos obtenidos por centrifugación de las mismas. A lo anterior se le suma el tamaño del inóculo utilizado, 10 mL, volumen que disminuye las probabilidades de recuperación bacteriana.

Lo anterior coincide con las afirmaciones de Canosa y Pinilla¹⁶ cuyos trabajos se realizaron en los embalses de Chuza, Neusa, Tominé y Chingaza. Justifican el no aislamiento de Vibrios sp. a la baja salinidad y temperatura de estos cuerpos de agua muy similares a las registradas en el Lago Guamuez.

Con respecto al comportamiento de las bacterias en agar EMB, selectivo para aislamiento de Enterobacterias, no se logró la captura de las bacterias y posterior crecimiento en este medio. La población tan pequeña, 1%, unida al tamaño del inóculo convierte el aislamiento de enterobacterias en una situación aleatoria.

Todo lo anterior coincide con las afirmaciones de Madigan et al¹⁷, Canosa A. & Pinilla G¹⁸, y Rheinheimer¹⁹, quienes comentan que los Vibrios como las Pseudomonas y Aeromonas entre otros géneros, son las principales bacterias que se encuentran en aguas dulces y mayoritariamente en medios marino y estuarinos.

¹⁶ CANOSA, Amparo y PINILLA, Gabriel. Indicadores bacteriológicos de Eutroficación en los embalses de Chuza, Neusa y Tominé y la Laguna de Chingaza. En: Memorias del Seminario Taller de Investigaciones Limnológicas recientes en Ecosistemas acuáticos tropicales. Santafé de Bogotá: Jorge Tadeo Lozano, 1999. p. 197

¹⁷ MADIGAN, Op. cit., p. 32

¹⁸ CANOSA, Op. cit., p. 197-201

¹⁹ RHEINHEIMER, Gerhard. Microbiología de las aguas. 4ed. Zaragoza, España: Acribia, 1987. p.75

6.1.5 Colonias aisladas en agar Mac Conkey. En este trabajo se encuentra baja población de bacterias fermentadoras de carbohidratos aislándose una colonia por mililitro de Enterobacterias, concretamente del Género Escherichia que corresponde al 0.9% de toda la población. Esta baja concentración demuestra la mínima contaminación fecal que existe alrededor de las jaulas flotantes la que desaparece a los 120 metros. (Cuadros 2 y 3).

Al comparar el nivel de contaminación fecal permitido en piscinas de recreo y natación que es de < 200 coliformes totales.mL⁻¹ definido por Roldan Perez²⁰, podemos concluir que esta agua es apta para consumo humano.

6.2 IDENTIFICACIÓN DE GÉNEROS DE BACTERIAS

Mediante la utilización de las siguientes pruebas metabólicas: siembra en los agares TSI, SIM, citrato, Lisina, urea, manitol, ornitina, OF y fenilalanina, mas las pruebas de Oxidasa, catalasa, coloración de GRAM y examen directo se identifica los géneros bacterianos que se reportan en el Cuadro 2

Como se puede observar en el cuadro 3, la población predominante fue Aeromona sp con presencia del 62% del total de colonias aisladas en los dos medios de cultivos de mayor significancia en esta investigación; a este genero le siguen las Pseudomonas sp con un 22%, Enterobacterias con el 1% y no se logra identificar el 12% de la población que agrupa 9 tipos diferentes de colonias porque su comportamiento metabólico en las pruebas bioquímicas, no permitió clasificarlas en ningún Género bacteriano por lo cual se las catalogó como colonias bacterianas sin determinar (CBSD).

A su vez el comportamiento bacteriano en los dos medios de aislamiento primario, Brolacin y Nutritivo, no es igual y está reflejado en la diferencia numérica de colonias aisladas en el primero, como lo indica la Figura 1. En el se aprecia que en Brolacin crecieron 195 UFC vs. 392 en Nutritivo, además la diversidad bacteriana obtenida en A. Nutritivo fue de 58 UFC.mL⁻¹ (10%) clasificadas como CBSD distribuidas en cuatro colonias morfológicamente diferentes en contraposición a 13 UFC.mL⁻¹ (2%) que pertenecen a cinco tipos de formas de colonias diferentes que crecieron en Brolacin.

Al considerar que todas las muestras fueron sometidas a idénticas condiciones de toma, transporte, siembra e incubación, la diferencia de resultados radica en los medios de cultivo utilizados para el aislamiento primario. El agar nutritivo tiene peptona y extracto de carne para un pH final entre 6.6 y 7.0, a su vez el agar Brolacin tiene además de lo anterior, lactosa, cistina y azul de bromotimol para un

²⁰ ROLDAN, Gabriel. Fundamentos de limnología Op. cit, p. 479

pH después de reconstituido de 7.2 a 7.4. Estas diferencias bioquímicas tienen efecto inhibitor de crecimiento en muchas bacterias y estimulador en otras como queda demostrado en este trabajo, Figura 1.

Es preciso añadir a lo anterior la velocidad de crecimiento de las bacterias, por ejemplo las *Pseudomonas* son las primeras en formar colonias, le siguen las *Aeromonas*, y posiblemente esta velocidad inhiba el crecimiento de otros géneros

Rheinheimer²¹ se refiere a estos fenómenos como dificultades metodológicas que comienzan desde la toma de las muestras, seguidas por alteraciones producidas por los envases, cambio de temperatura y uso de medios de cultivos.

Por otra parte, los modernos estudios de biología celular y molecular de organismos procariontes, han determinado que muchas bacterias producen agentes que inhiben o matan a otras especies estrechamente relacionadas e incluso a cepas diferentes dentro de la misma especie; esos agentes se denominan Bacteriocinas, procesos sintéticos que también se podrían estar presentando en el momento de realizar el aislamiento de colonias bacterianas de esta investigación, este concepto de Bacteriocinas es discutido por Madigan et al ²²

²¹ Rheinheimer, Op cit., p. 2

²² Madigan, Op cit., p. 333.

Cuadro 2. Morfología de colonias y Géneros bacterianos aislados en Agar Nutritivo y Brolacin

	Géneros de bacterias aisladas	Cantidad de UFC.mL⁻¹
En agar nutritivo		
Gris mucoide, brillante, convexas	Aeromona sp	275
Gris con centro verde, acuminada	Pseudomona sp	36
Blanca brillante, plana	Escherichia	4
Blanca, translúcida	Proteus sp	2
Amarillas cremosas, convexa	No determinada	20
Anaranjadas, opacas	No determinada	36
Pardas brillantes	Chromobacterium sp.	17
Café claro, brillante	No determinada	1
Morado casi negro con brillo metálico	No determinada	1
En agar Brolacin		
Azul verdosas, planas	Pseudomona sp.	36
Verdes casi negras, oscurecen el medio a su alrededor	Pseudomona sp.	19
Verde opaca	No determinada	1
Verde mucoide	Aeromona sp	91
Verde centro oscuro	Pseudomona sp.	36
Amarilla	No determinada	6
Verde semeja racimo de uvas	No determinada	2
Verdes con aspecto rugoso	No determinada	3
Verde acuminada	No determinada	1
En Mac Conkey		
Colonia rosada	Escherichia	1

Cuadro 3. Cuantificación de los género bacterianos a diferentes distancias

Géneros bacterianos	Número Total de UFC/mL de agua	0 metros	40 metros	80 metros	120 metros	Porcentaje
Aeromona sp	366	26,4%	9,9%	10,9%	15,1%	62,2%
No determinadas	71	2,6%	2,9%	6,1%	0,5%	12,1%
Pseudomona sp.	127	8,5%	4,8%	1,2%	5,8%	21,6%
Chromobacterium sp.	17	0,0%	0,0%	2,2%	0,7%	2,9%
Escherichia	5	0,9%	0,0%	0,0%	0,0%	0,9%
Proteus sp	2	0,0%	0,0%	0,3%	0,0%	0,3%
Total	588	38,4%	17,6%	20,7%	22,1%	100,0%

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

7.1 CONCLUSIONES

✍ Se aislaron por morfología de la colonia 392 UFC.mL⁻¹ en agar nutritivo; 195 en Brolacin; en agar Mac Conkey una colonia por mililitro y en los medios EMB y TCBS no hubo crecimiento bacteriano.

✍ En agar Brolacin la mayor población bacteriana, 64%, se encuentra a cero metros de la Estación Piscícola de la Universidad de Nariño y desciende a medida que se aleja de la misma hasta alcanzar el 13% a 120 metros de distancia.

✍ En agar nutritivo el comportamiento de la población bacteriana es diferente, en primer lugar la distribución de las bacterias se mantiene constante desde los cero hasta los 120 metros de distancia; en segundo lugar hay un considerable incremento de UFC ubicuas y oligotróficas no identificadas que alcanzan el 10% de toda la población aislada, frente al 2% de Brolacin. Todo esto lleva a concluir que las bacterias son estimuladas o inhibidas por la composición química del medio de cultivo en que hayan sido inoculadas.

✍ La población predominante fue *Aeromona* sp. (62%), seguida por bacterias del género *Pseudomona* sp. con el 22% y bacterias sin identificar el 12%

✍ Desde el punto de vista de contaminación fecal por animales homotermos, del agua que circunda al cultivo de trucha se puede considerar como nula.

7.2 RECOMENDACIONES

- ✍ Al intentar recuperar bacterias de un cuerpo de agua se debe utilizar diversas composiciones de medios de cultivo para evitar sustancias inhibidoras y promover aquellas que estimulen el buen desarrollo bacteriano.
- ✍ Realizar estudios para establecer la relación entre la morfología el género y la especie bacteriana
- ✍ Hacer estudios de Biología molecular para identificar géneros y especies de las bacterias.
- ✍ Efectuar estudios comparativos en otras estaciones piscícolas de la Laguna de la Cocha.



BIBLIOGRAFIA

A Directory of Wetlands of Internacional Importance: Ministerio del Medio Ambiente / Colombia. 14 Nov.2004
<http://www.wetlands.org/reports/dbdirectory.cfm?site_id_622>

CAMPBELL R. Ecología microbiana. México: Limusa, 1987. 268 p.

CANOSA, Amparo y PINILLA, Gabriel. Indicadores bacteriológicos de Eutroficación en los embalses de Chuza, Neusa y Tominé y la Laguna de Chingaza. En: Memorias del Seminario Taller de Investigaciones Limnológicas recientes en Ecosistemas acuáticos tropicales. Santafé de Bogotá: Jorge Tadeo Lozano, 1999. 251 p.

CHOCAIR, J. y ALBRIGHT, L. "Actividad Heterotrófica de microorganismos de sedimento y agua en Isla Iona, Columbia Británica Canadá". Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología. México, Vol. 1, No.10, mayo.1983.
<<http://www.bibilowed.dgsa.unam.mx/cienciasdelmar/instituto/1983-1/articulo151.html>>

DAVIS, Bernard, DULBECCO Renato, EISEN, Herman. GINSBERG Harold. WOOD W. Barry y McCARTY, Maclyan Tratado de Microbiología . 2 ed. España: Salvat editores, 1983. 1559 p.

DONATO, John, GONZALEZ, Luz Estela y RODRIGUEZ, Claudia Liliana. Ecología de dos sistemas acuáticos de páramo. Santafé de Bogotá: Guadalupe, 1999. 165 p.

KONEMAN, Elmer, ALLEN, Stephen D, DOWELL V.R, SOMMERS, Herbert Diagnóstico microbiológico. México: Editorial Médica Panamericana, 1985. 533 p.

MADIGAN, Michael; MARTINKO John y PARKER, Jack. Brock, Microbiología de los microorganismos. 8 ed. Madrid: Prentice Hall, 2000. 986 p.

MARGALEF, Ramón. Ecología. Barcelona: Omega, 1982. 951 p.

McGRAW, William. "Utilización de bacterias heterotróficas y autotróficas en la Acuicultura". Boletín Nicovita. Enero-Marzo 2003. Vol. 8. 3 p.
<<http://www.nicovita.com.pe/pdf/esp/boletines/bole-0303-01.pdf>>

ROLDAN, Gabriel. Estado Actual de la limnología en Colombia: Proyectos y Perspectivas. En: Memorias del Seminario Taller de Investigaciones Limnológicas recientes en Ecosistemas acuáticos tropicales. Santafé de Bogotá. Jorge Tadeo Lozano, 1999. 251 p.

_____. Fundamentos de Limnología Neotropical Medellín: Editorial Universidad de Antioquia, 1992. 529 p.

RHEINHEIMER, Gerhard. Microbiología de las aguas. 4 ed. Zaragoza: Acribia, 1987. 299 p.

