



Publicación Semestral. Vol. 1, No. 1, enero-junio 2022, Ecuador (p. 35-49). Edición continua

TRAZABILIDAD MICROBIOLÓGICA DE ENTEROBACTERIAS EN SITIOS POCO MONITOREADOS Y CONTAMINADOS CON ARSÉNICO PROVENIENTE DE FUENTES NATURALES EN LA PARROQUIA DE TOACASO

Dennys Villegas Pazmiño^{1*}, Tatiana Rueda Santo¹, Jenny Changoluisa Tandalla¹

¹ Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de CAREN, Ingeniería Ambiental, Latacunga, Cotopaxi, Ecuador.

*Dirección para correspondencia: denpa15v@gmail.com

Fecha de Recepción: 08-10-2021

Fecha de Aceptación: 07-12-2021

Fecha de Publicación: 31-01-2022

Resumen

Esta investigación tiene como objetivo establecer la trazabilidad microbiológica de enterobacterias en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales en la parroquia de Toacaso, quebrada Talahuachana. El muestreo de agua para consumo humano y riego se realizó bajo la Norma Técnica Ecuatoriana (NTE) INEN 2169, INEN 2176 e ISO/IEC 17025:2006 y para microorganismos la NTE INEN 2169:2013. El crecimiento de bacterias fue en Agar MacConkey y Agar Nutritivo y por el método de siembra por extensión y estrías respectivamente. Los resultados evidencian que el pH del agua de la quebrada Talahuachana es neutro (6.97-7.1), con temperatura de 6 a 7 °C, baja concentración de sulfatos (64.75-47.32 mg/L) y coliformes fecales (2 NMP/100mL) lo que evidencia el cumplimiento de estos parámetros para el Acuerdo Ministerial 097 – A. Sin embargo, el arsénico supera lo establecido para uso humano y riego. Por otro lado, los cultivos aislados corresponden a Bacilos Gram negativos fermentadores de lactosa (2 a 3 µm), posiblemente pertenecientes a una enterobacteria común, género Escherichia. El crecimiento de enterobacterias y la presencia de arsénico, propone que los microorganismos aislados son tolerantes al arsénico.

Palabras claves: Arsénico, Concentraciones, Enterobacterias, Microorganismos, Trazabilidad microbiana.

IDs Orcid:

Dennys Villegas Pazmiño: <http://orcid.org/0000-0003-1709-6910>

Tatiana Rueda Santo: <http://orcid.org/0000-0002-4002-2242>

Jenny Alexandra Changoluisa: <https://orcid.org/0000-0003-2809-6860>

Artículo científico: Trazabilidad microbiológica de enterobacterias en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales en la parroquia de Toacaso

Publicación Semestral. Vol. 1, No. 1, enero-junio 2022, Ecuador (p. 35-49)

MICROBIOLOGICAL TRACEABILITY OF ENTEROBACTERIA IN SITES POORLY MONITORED AND CONTAMINATED WITH ARSENIC FROM NATURAL SOURCES IN THE PARISH OF TOACASO

Abstract

This research aims to establish the microbiological traceability of enterobacteria in sites poorly monitored and contaminated with arsenic from natural sources in the parish of Toacaso, Talahuachana ravine. The sampling of water for human consumption and irrigation was carried out under the Ecuadorian Technical Standard (NTE) INEN 2169, INEN 2176 and ISO/IEC 17025:2006 and for microorganisms the NTE INEN 2169:2013. The growth of bacteria was in MacConkey Agar and Nutritive Agar and by the method of sowing by extension and stretch marks respectively. The results show that the pH of the water of the Talahuachana stream is neutral (6.97-7.1), with a temperature of 6 to 7 °C, low concentration of sulfates (64.75-47.32 mg / L) and fecal coliforms (2 NMP / 100mL) which shows compliance with these parameters for Ministerial Agreement 097 – A. However, arsenic exceeds what is established for human use and irrigation. On the other hand, the isolated cultures correspond to Gram negative lactose fermenting bacilli (2 to 3 µm), possibly belonging to a common enterobacterium, genus *Escherichia*. The growth of enterobacteria and the presence of arsenic, proposes that the isolated microorganisms are tolerant to arsenic.

Keywords: Arsenic, Concentration, Enterobacteriaceae, Microorganisms, Microbial traceability.

1. INTRODUCCIÓN

La contaminación por arsénico en el agua se ha convertido en uno de los mayores problemas ambientales y representa una grave amenaza para la salud de los ecosistemas y los seres humanos, lo que genera una preocupación generalizada (Yousif et al., 2016; Chaolei et al., 2022). El arsénico presente en el agua de riego provoca su acumulación en el suelo, esto a su vez, en bioacumulación en cultivos (FAO & OMS, 2017). Los cultivos con mayor exposición a esta condición son las hortalizas, debido a su contacto directo con el agua de riego (Ortega-García et al., 2010).

El Arsénico se encuentra presente en el ecosistema de forma natural en aguas subterráneas y superficiales zonas volcánicas (Campaña & Chicaiza, 2020). En estas áreas se puede encontrar altos niveles de arsénico debido a la erosión de los depósitos minerales que contienen arsénico. La contaminación y distribución en zonas bajas se debe a condiciones antropogénicos y procesos naturales, y su problemática radica en su fácil movilidad en el ambiente, sobre todo en el agua (Fonseca Largo et al., 2020; Rangel Montoya et al., 2015).

La mayor parte del Ecuador se caracteriza por el consumo de agua proveniente de fuentes naturales, lo que ocurre en la parroquia de Toacaso, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi, Donde el agua que utilizan los pobladores para consumo humano y agrícola proviene de la quebrada Talahuachana que nace de los Illinizas Sur. Dichas aguas se encuentran contaminadas con arsénico, generando problemas en la salud a los moradores pues el arsénico es considerado un carcinógeno crónico de clase I, su toxicidad puede causar hipo e hiperpigmentación, queratosis, cáncer de pulmón, piel e incluso vejiga urinaria, entre otros (Mazunder, 2008). La Secretaría Nacional del Agua de Ecuador (SENAGUA) reportó concentraciones extremas de As (hasta 980 µg/L) en el agua potable y de riego en múltiples zonas de Toacaso dentro del complejo volcánico Illinizas, en la provincia de Cotopaxi (Tovar, 2020).

Por lo que la Trazabilidad microbiológica de enterobacterias y el análisis de la presencia de arsénico en el agua de la quebrada Talahuachana de la parroquia de Toacaso a una altura 3600 y 3700 msnm permitirá establecer la situación actual del agua de la quebrada y a su vez se podrá a futuro implementar técnicas de biorremediación microbiana (Mateos et al., 2017) que ayuden a mejorar la calidad del recurso hídrico. Utilizando especies de microorganismos que

Artículo científico: Trazabilidad microbiológica de enterobacterias en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales en la parroquia de Toacaso

Publicación Semestral. Vol. 1, No. 1, enero-junio 2022, Ecuador (p. 35-49)

se encuentren dentro del ecosistema acuático de la zona de estudio, con el fin de no alterar el ecosistema natural.

2. METODOLOGÍA

2.1 Área de estudio

El punto de muestreo se encuentra ubicado en el afluente de la quebrada Talahuachana con una longitud de 9.98 km, el cual nace desde las faldas del estratovolcán Illiniza Sur perteneciente a la microcuenca del río Blanco, parroquia Toacaso, cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi. El punto de muestreo se halla en las coordenadas -0.718° de latitud sur y -78.73° de longitud oeste, entre los 3600 a 3700 msnm. La microcuenca del río blanco cuenta con la presencia de tres afluentes: quebrada Agua Amarilla, río Blanco y quebrada Talahuachana. Dentro de esta quebrada se encuentran 11 concesiones para agua con uso para riego y uso doméstico (Figura 1).

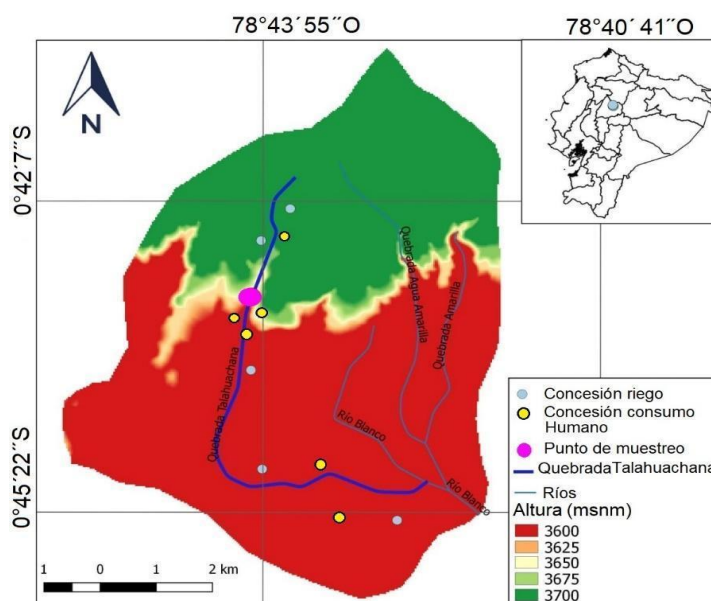


Figura 1. Quebrada de Talahuachana, su altitud, punto de muestreo y distribución de las concesiones

2.2 Muestreo para el análisis de agua de riego y consumo humano

La recolección de las muestras de agua en la quebrada Talahuachana, fue analizada en el laboratorio LANCAS que está acreditado por el Servicio de Acreditación Ecuatoriano (SAE) y bajo los requerimientos establecidos en la Norma NTE INEN 2169, NTE INEN 2176 e ISO/IEC 17025:2006. La muestra llevada al laboratorio fue compuesta, es decir, tomadas en

un mismo punto, pero en diferentes tiempos. Para cada parámetro de calidad del agua se procedió a realizar lo siguiente:

- **Oxígeno disuelto:** Se llenó un recipiente winkler de 300 mL posteriormente se coloca los preservantes: vial 1 (1 mL de sulfato manganoso), vial 2 (1 mL de álcali yoduro) y vial 3 (2 mL de ácido sulfúrico concentrado). La determinación del oxígeno disuelto en el laboratorio fue por el método de volumetría.
- **pH y Sulfatos:** En el caso de los dos parámetros fue necesario llenar un envase plástico de 1000 mL para cada parámetro. Para el pH y sulfato se utilizó el método de electrometría y espectrometría respectivamente.
- **Arsénico y Manganeso:** Para el análisis de estos parámetros se recolectó una muestra en el envase plástico de 250 mL, dejando un pequeño espacio en el cuello del envase. Luego se colocó 5 gotas de ácido nítrico concentrado enviado por el laboratorio. Posteriormente se invierte el frasco tres veces para homogeneizar la muestra y se rotuló. Para el análisis se utilizó el método de espectrometría de absorción atómica de llama.
- **Coliformes fecales:** Para este parámetro fue necesario abrir el frasco plástico esterilizado de 100 mL, sumergirlo en el agua y llenarlo dejando un espacio de aire y por último tapar el frasco lo más pronto posible. Este parámetro fue analizado por el método de análisis microbiológico.

Todas las muestras para los diferentes parámetros se transportaron con hielo hasta el laboratorio.

2.3 Muestreo de agua para cultivos de microorganismos

Para el cultivo y siembra de microorganismos se realizó el muestreo bajo la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2169:2013 para agua, calidad de agua, muestreo, manejo y conservación de muestras. Este muestreo se realizó con un frasco Urintainer esterilizado 90 mL, que se sumergió en el agua y se llenó dejando un espacio de aire. Posteriormente se tapó y se transportó con hielo la muestra. El cultivo de microorganismo se realizó en el laboratorio

Artículo científico: Trazabilidad microbiológica de enterobacterias en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales en la parroquia de Toacaso

Publicación Semestral. Vol. 1, No. 1, enero-junio 2022, Ecuador (p. 35-49)

de la Carrera de Ambiental de la Facultad de CAREN de la Universidad Técnica de Cotopaxi, Ecuador.

2.4 Medios de cultivo

Se utilizaron dos tipos de medios de cultivos para determinar el crecimiento de microorganismos.

Agar MacConkey, debido a que es un medio de cultivo selectivo y diferencial que permite el crecimiento de enterobacterias, como agente inhibidor de los demás microorganismos, con una concentración al 5% m/v (Puruncajas, 2013).

Agar Nutritivo se utilizó debido a que permite el crecimiento exponencial de las bacterias que se van a aislar, ya que este agar tiene los nutrientes adecuados para su desarrollo, con una concentración 3% m/v (Puruncajas, 2013).

2.5 El método para la siembra

Para el medio de cultivo de agar MacConkey se utilizó la siembra por extensión que es un método de distribución uniforme de microorganismos sobre la superficie de una placa de agar. Con la ayuda de un esparcidor estéril, se extiende un pequeño volumen de cultivo microbiano uniformemente sobre la superficie del agar (Cordova et al., 2015).

En el medio de cultivo de agar Nutritivo se utilizó el método por estrías que es usado para aislar cepas puras en una placa Petri a partir de un inóculo o muestra con diferentes especies. La técnica es mediante un asa de siembra previamente esterilizada, rayar la superficie de cultivo de una placa Petri de forma que en cada pasada sea menor el número de células depositado, las últimas pasadas deberán depositar un número tan bajo de células que, una vez incubadas, se formen colonias puras (Olivas, 2011).

La incubación de los medios de cultivos se da a 25 °C por 72 h, para observar la célula viable originaria de una colonia visible resultado de sucesivas divisiones celulares (Murillo & Pullupaxi, 2019).

2.6 Tinción de Gram

En la tinción lo primordial es realizar un frotis de la colonia de microorganismos para lo cual fue necesario colocar una gota de agua destilada en el portaobjetos. Después con el asa nicrom

esterilizada se saca una cantidad mínima de la colonia que se encuentra en la caja Petri, colocando dentro de la gota de agua mientras se realiza movimientos circulares para que la biomasa se mezcle con el agua (Vizcarrondo & Gamboa, 2001). Después se debe fijar la mezcla por calor, por lo tanto, es necesario la utilización del mechero, pasar el portaobjetos por encima de la llama realizando movimientos en zigzag o circulares, levantando constantemente la muestra evitando que se quemé, quedando totalmente seca y por lo tanto fija en el portaobjetos (Vizcarrondo & Gamboa, 2001).

Cada muestra se tiñó con azul de metileno (1%) por un minuto, luego se lavó con agua destilada para eliminar el exceso de colorante y se cubrió con lugol (5%), que actúa como mordiente. Luego de reposar por un minuto y lavar con agua, se decoloró con el alcohol antiséptico por 30 segundos, después se lavó con agua, se tiñó con safranina (1%) por 1 minuto. El exceso de colorante se elimina con agua destilada, dejando secar las láminas a temperatura ambiente para observar en el microscopio (Murillo & Pullupaxi, 2019).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido a que está quebrada tiene 11 concesiones de agua: 5 para consumo humano y 6 de riego y uso agrícola (Figura 1), se procedió a analizar los parámetros con los criterios de calidad de agua.

3.1 Criterio de calidad de agua para consumo humano y riego

Los resultados de los parámetros de la muestra de agua de la quebrada Talahuachana fueron comparados con los límites máximos permisibles del acuerdo Ministerial 097-A, para aguas de consumo humano y uso doméstico (Tabla 1) y calidad de aguas de uso agrícola o de riego (Tabla 2).

Con bases al análisis obtenido por parte del laboratorio de la muestra de agua de la quebrada Talahuachana en comparación con el Acuerdo Ministerial 097-A para consumo humano, podemos evidenciar que en el mes de enero y marzo los parámetros como: pH, sulfatos, coliformes fecales cumplen con los límites máximos permisibles (LMP) establecidos en la ley. Sin embargo, el arsénico se encuentra dentro de los LMP durante el mes de enero, pero en marzo no (Tabla 1). Es decir, existe un incremento de 54 veces.

Artículo científico: Trazabilidad microbiológica de enterobacterias en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales en la parroquia de Toacaso

Publicación Semestral. Vol. 1, No. 1, enero-junio 2022, Ecuador (p. 35-49)

Tabla 1. Criterios de calidad para aguas de consumo humano y uso doméstico en la quebrada Talahuachana

Parámetros	Unidades	Enero	Marzo	Acuerdo Ministerial 097-A
Temperatura	°C	6.00	7.00	----
Arsénico	mg/L	0.03	1.79	0.10
Coliformes fecales	NMP/100mL	2.00	2.00	1000
Manganeso	mg/L	0.67	0,51	----
Oxígeno disuelto	mg/L	5.60	6.56	----
pH	----	6.97	7.10	6.00 – 9.00
Sulfatos	mg/L	64.75	47.32	500.00

En la Tabla 2 se observa que el pH, sulfatos, coliformes fecales, oxígeno disuelto se encuentran dentro de los LMP para aguas de uso agrícola o de riego en los meses de enero y marzo. Pero el manganeso sobrepasa lo indicado por la ley en los dos meses y el arsénico sólo en marzo.

Tabla 2. Criterios de calidad admisibles para aguas de uso agrícola o de riego en la quebrada Talahuachana

Parámetros	Unidades	Enero	Marzo	Acuerdo Ministerial 097-A
Temperatura	°C	6.00	7.00	----
Arsénico	mg/L	0.03	1.79	0.10
Coliformes fecales	NMP/100mL	2.00	2.00	1000
Manganeso	mg/L	0.67	0.51	0.20
Oxígeno disuelto	mg/L	5.60	6.56	3.00
pH	----	6.97	7.10	6.00 – 9.00
Sulfatos	mg/L	64.75	47.32	250.00

El pH para las aguas de la quebrada Talahuachana a una altura de 3623 msnm es pH neutro. El arsénico puede existir en el agua en varias formas orgánicas e inorgánicas. En este caso posiblemente es arsénico V, debido a que este tipo de arsénico predomina en ambientes acuosos, aeróbicos, entre pH neutro (Sugár et al., 2013). Este pH además permite el óptimo crecimiento de las enterobacterias y otras bacterias Gram positivas o negativas (Aguilera, 2010). En el caso de la temperatura del agua oscila entre 6 a 7 °C, considerando que se

encuentra en un clima mesotérmico templado frío. Estas temperaturas bajas retrasan el crecimiento bacteriano y acumulan las partículas de los diferentes metales aumentando sus concentraciones en el agua (Caycedo et al., 2021).

La presencia de sulfatos en el agua de la quebrada es baja, esto es bueno porque el sulfato en altas concentraciones en el agua tiene un efecto laxativo cuando se combina con calcio y magnesio (Rodríguez et al., 2010). De igual manera los coliformes fecales son bajos, esto indica la poca presencia de bacterias que causan enfermedades en el agua, o es o indicio de que el agua puede estar contaminada con de desechos en descomposición u aguas negras (Ramos-Ortega et al., 2008). En caso del oxígeno disuelto en los dos meses está sobre los valores establecidos en el Acuerdo Ministerial 097 – A, estos valores son óptimos para los microorganismos aerobios que necesitan oxígeno para el desarrollo de los procesos metabólicos. Lo contrario pasa con las enterobacterias que son bacterias que crecen mejor en ambientes con escaso oxígeno, pero hay que recalcar que las enterobacterias son anaerobios facultativos, es decir, pueden vivir en ambientes con oxígeno (Bush, 2021).

La presencia de manganeso en el agua en la quebrada es alta, esto provoca el desarrollo de ciertas bacterias que forman depósitos insolubles de estas sales, debido a que se convierten por oxidación, de manganoso en solución al estado mangánico en el precipitado, similar a la del hierro (Vega et al., 2017), esto podría obturar los emisores de los sistemas de riego en Toacaso. Asimismo, el arsénico es alto, según la OMS lo considera perjudicial para el ser humano, cuando se consume agua que tenga una concentración superior a $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (Montoya et al., 2015). Por lo tanto, la concentración de arsénico presente en la quebrada supera lo establecido por la OMS y el Acuerdo Ministerial 097 – A, lo cual es peligroso que sea consumida por el ser humano y utilizado para la agricultura pues a corto y largo plazo puede causar enfermedades crónicas como el cáncer. El cambio brusco existente en la concentración de arsénico por la escorrentía presente en el mes de marzo, posiblemente es porque empieza la época lluviosa por lo cual el agua se filtra en el suelo arrastrando partículas presentes en el mismo como es el arsénico, y llevándolo a la red de drenaje que es la quebrada Talahuanchana.

Artículo científico: Trazabilidad microbiológica de enterobacterias en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales en la parroquia de Toacaso

Publicación Semestral. Vol. 1, No. 1, enero-junio 2022, Ecuador (p. 35-49)

3.2 Cultivo de enterobacterias en Agar MacConkey

En el agar MacConkey a una concentración de 5% m/V a las 72 h evidenció la formación de tres colonias (col-A, col-B y col-C), las mismas que posteriormente fueron aisladas en agar nutritivo. Para la selección de las colonias bacterianas se consideró la distinción de características morfológicas relacionadas al borde, elevación, color, textura, formación del halo y capacidad de fermentación de lactosa.

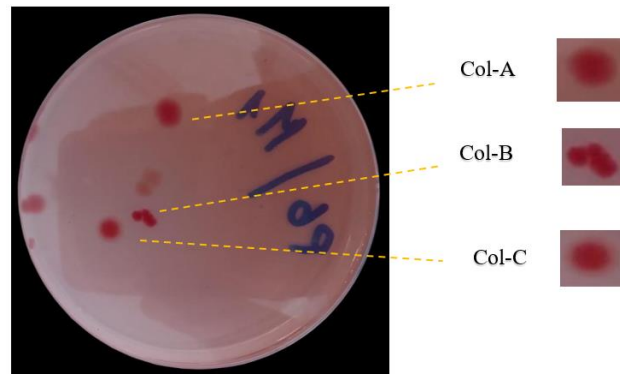


Figura 2. Formación de tres tipos de colonia en agar MacConkey a una concentración 5% m/V, cultivo de 72 h

Las tres colonias seleccionadas del agar MacConkey col-A, col-B y col-C fueron aisladas por el método de estrías en agar nutritivo con el fin de obtener el crecimiento abundante de microorganismos.

3.3 Cultivo directo del agua al agar nutritivo por el método de extensión

Al cultivar directamente el agua de la quebrada Talahuchana en el agar nutritivo por el método de extensión, se distingue innumerables colonias de diversos colores (Figura 3), eligiendo así tres colonias diferentes (col-A2, col-B2 y col-C2), las mismas que presentan características diferentes tanto en color, forma, tamaño, borde y elevación de su colonia.

En el caso de la col A, presenta un color rojo, con forma circular, borde ondulado y elevación convexa. Por otra parte, tenemos la col C que presenta un color amarillo intenso, de forma circular, con borde liso y elevación elevada. Por último, tenemos la col B2 de color pálido, forma circular, borde ondulado y elevación plana.

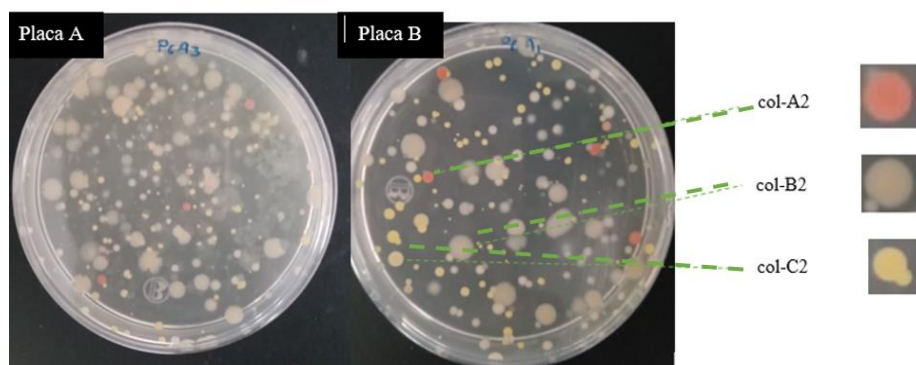


Figura 3. Cultivo directo de agua en agar nutritivo por extensión, concentración 3%*m/V*, cultivo de 72 h

3.4 Identificación de bacterias Gram negativo y positivo

En la Figura 4 se visualiza en el microscopio (lente S100X) el medio de cultivo, en las imágenes 4B y 4C se distingue bacterias de color rojizo, en cambio en la imagen 4A existen microorganismos teñidos de un color rosado. Esto es porque las tres muestras son bacterias de tipo Gram negativo debido a su respuesta frente a la tinción Gram. Además, en la Figura 4B y 4C se visualiza de mejor manera la forma de las bacterias, las cuales corresponden al tipo bacilo y según la escala micrométrica dichas bacterias miden aproximadamente entre 2 a 3 μm . Por otra parte, en la Figura 4A se aprecia con dificultad la forma de las bacterias, pero posiblemente también podría corresponder a la forma baciliar con una medida similar.

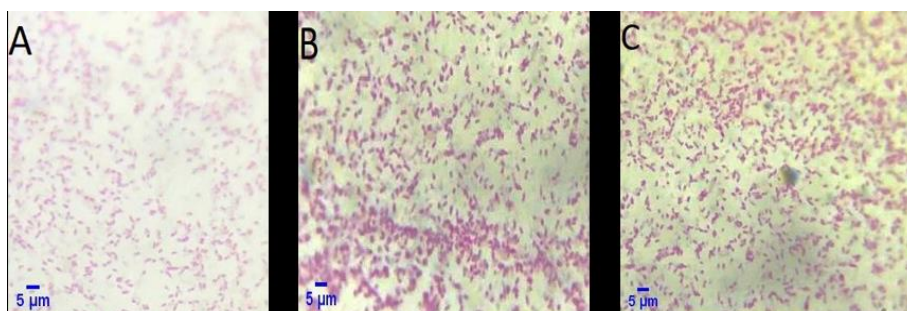


Figura 4. Tinción Gram de bacterias observadas al microscopio en lente S100X. A. Frotis de colonia col-A. B Frotis de colonia col-B y C Frotis de colonia col-C posiblemente bacilos Gram (-)

La Figura 5, en el microscopio (lente S100X) la imagen A2 evidencia la presencia de microorganismos teñidos de un color rosado Gram negativo, en cambio las imágenes B2 y C2 se distingue bacterias pintadas de color morado. Es decir, las dos últimas muestras son bacterias

Artículo científico: Trazabilidad microbiológica de enterobacterias en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales en la parroquia de Toacaso

Publicación Semestral. Vol. 1, No. 1, enero-junio 2022, Ecuador (p. 35-49)

de tipo Gram positivo debido a su respuesta frente a la tinción Gram. Además, en la Figura 5, A2 y B2 se distingue de mejor manera la forma de las bacterias, las cuales corresponden al tipo bacilo y según la escala micrométrica dichas bacterias miden aproximadamente entre 3 a 4 μm . Por otra parte, en la figura 5C2, la imagen no es clara, pero posiblemente son estafilococos.

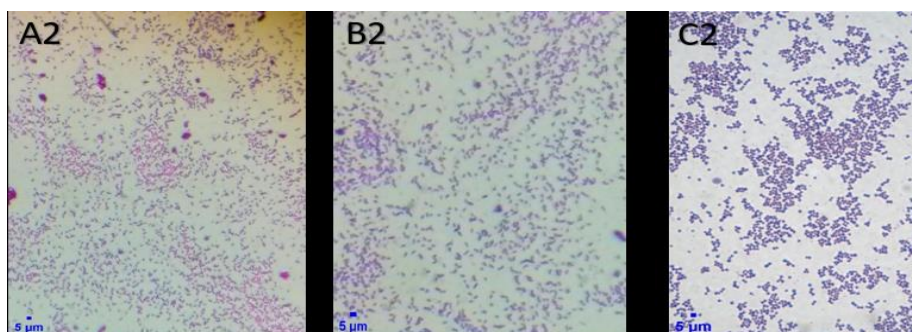


Figura 5. Tinción Gram de bacterias observadas al microscopio en lente S100X. A. Frotis de colonia col-A. B Frotis de colonia col-B2 y C Frotis de colonia col-C2, posiblemente estafilococos Gram (+)

3.5 Relación entre presencia de enterobacterias con concentraciones de arsénico

El análisis de tinción Gram determinó que eran bacterias Gram negativas, con una medida aproximada de 2 a 3 μm (Figura 4), estos tres criterios nos permiten posiblemente definir que las colonias aisladas pertenecen al género *Escherichia*. Dicha suposición es probable porque la cepa *Escherichia* muestra una mejora significativa en la capacidad de acumulación hacia especies de Arsénico orgánicas e inorgánicas en el agua con alta selectividad y afinidad, ya que la célula presenta el potencial de eliminar especies de arsénico orgánico, especialmente el metilado (Yang et al., 2013).

De la misma manera, el cultivo directo de agua en agar nutritivo (Figura 3), evidenció diversas bacterias Gram positivo y Gram negativo (figura 5) y probablemente del género *Pseudomona*. La bibliografía sugiere que son una especie de bacterias calcificadas, que resiste el arsénico y lo transforma a través de un proceso de oxidación. Los investigadores aprovecharon estas propiedades para crear un estanque o biorreactor donde las *Pseudomonas sp.* quedan inmovilizadas en un soporte inerte (Leighton, 2018). Este tipo de bacterias son capaces de tolerar concentraciones altas de arsénico. Por lo tanto, los autores nombrados anteriormente expresan que las enterobacterias específicamente la *Escherichia* y *Pseudomonas*, resiste un hábitat con concentraciones de arsénico como en el caso de nuestra zona de estudio que presenta hasta 1,792 mg/L, existiendo una mayor posibilidad que la colonia obtenida en los resultados sea posiblemente alguna cepa de *Escherichia*.

Este tipo de bacterias se podrían utilizar en un futuro para posibles biorremediaciones de aguas con concentraciones de arsénico, contribuyendo así con el medio ambiente y evitando alterar el ecosistema de la quebrada Talahuachana.

4. CONCLUSIONES

La concentración de arsénico presente en el agua de La quebrada Talahuachana es muy variable de enero a marzo. El pH para las aguas de la quebrada Talahuachana es neutro (6.97-7.1), con temperatura que oscila entre 6 a 7 °C, correspondiente al clima de la zona. La baja concentración de sulfatos (64.75-47.32 mg/L) y coliformes fecales (2 NMP/100mL) evidencia el cumplimiento de estos criterios tanto para uso humano y riego. Sin embargo, el arsénico supera lo establecido por el Acuerdo Ministerial 097 – A, lo cual es peligroso que sea consumida por el ser humano y utilizado para la agricultura

La relación entre las enterobacterias y la presencia de arsénico, propone que los microorganismos aislados son tolerantes al arsénico en el agua de la quebrada, ya que los cultivos presentaron crecimiento. La caracterización y trazabilidad microbiológica sugiere que los cultivos aislados corresponden a Bacilos Gram negativos fermentadores de lactosa, de aproximadamente 2 a 3 µm, por lo cual se podría suponer que las bacterias presentes en estos cultivos pertenecen al género *Escherichia*, el cual es ampliamente conocido como una enterobacteria común y recientemente se ha identificado su potencialidad como posible biorremediador en tecnologías de remoción de contaminantes en tratamiento de agua residual.

5. REFERENCIAS

- Bush, K., & Fisher, J. F. (2011). Epidemiological expansion, structural studies, and clinical challenges of new β -lactamases from gram-negative bacteria. *Annual review of microbiology*, 65(1), 455-478. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090110-102911>
- Campana Pallasco, E. A., & Moreno Chicaiza, E. L. (2020). *Evaluación del sistema islas flotantes artificiales (ifa) en el tratamiento de aguas contaminadas por arsénico en la captación del proyecto de riego chilla grande* [Tesis de grado, Universidad Técnica de Cotopaxi] Dspace. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6775>
- Caycedo Lozano, L., Ramírez, L. C. C., & Suárez, D. M. T. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova*, 19(36), 49-94. <https://doi.org/10.22490/24629448.5293>

Artículo científico: Trazabilidad microbiológica de enterobacterias en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales en la parroquia de Toacaso

Publicación Semestral. Vol. 1, No. 1, enero-junio 2022, Ecuador (p. 35-49)

- FAO, & OMS. (2017). *Programa conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias Comisión del Codex Alimentarius, Río de Janeiro, Brasil*. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-10/Documento_Codex%20Alimentarius.pdf
- Fonseca Largo, K. M., Ruiz Depablos, J. L., Espitia Sarmiento, E. F., Campaña Pallasco, E. A., & Moreno Chicaiza, E. L. (2020). Phytoremediation of arsenic-contaminated waters by artificial floating island: literature review. *Revista De La Facultad De Agronomía De La Universidad Del Zulia*, 38(1), 199-215. <https://www.produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/34740>
- Leighton, P. (2018, 19 de Enero). *Chile: con bacterias eliminan todo el arsénico del agua*. SciDevNet. <https://www.scidev.net/americas-latina/news/chile-con-bacterias-eliminan-todo-el-arsenico-del-agua/>
- Mateos, L., Villadangos, A., Rubia, A., Mourenza, A., Pascual, L., Letek, M., . . . Messens, J. (2017). The Arsenic Detoxification System in Corynebacteria. *En Advances in Applied Microbiology*, 99, 103-137. doi:<https://doi.org/10.1016/bs.aams.2017.01.001>
- Mazumder, D. G. (2008). Chronic arsenic toxicity & human health. *Indian Journal of Medical Research*, 128(4), 436-447. http://hydratechnm.org/documents/arsenic/dngm_chronic_arsenic_toxicity_and_human_health.pdf
- Murillo Gallardo, E. L., & Pullupaxi Chiluisa, L. S. (2019). *Aislamiento e Identificación de Microorganismos Fermentadores de una Bebida Ancestral fermentada (chicha) a partir de Chonta (bactris gasipaes hbk)* [Tesis de grado, Universidad Técnica de Cotopaxi] Dspace. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/6145>
- Olivas, E. (2011, 29 de Julio). Academia de Microbiología y Parasitología DPTO. *Ciencias Químicas Biológicas*. <https://bivir.uacj.mx/Reserva/Documentos/rva2011297.pdf>
- Ortega García, J., Lugo Sepúlveda, R. E., & Espinoza Ojeda, E. (2010). Análisis de arsénico en papa usando un arsenómetro portátil. *Invurnus*, 5(1), 28-33. https://www.researchgate.net/publication/274075068_Analisis_de_Arsenico_en_Papa_usando_un_Arsenometro_Portatil_Analysis_of_Arsenic_in_Potato_using_Portable_Arsenometer
- Chaolei, Y. U. A. N., Qi, L. I., Zhaoyang, S. U. N., Zhang, W., Jiangrong, C. H. E. N., Zheng, C. H. E. N., ... & Hongwen, S. U. N. (2023). Chemical oxidation of arsenic in the environment and its application in remediation: A mini review. *Pedosphere*, 33(1), 185-193. <https://doi.org/10.1016/j.pedsph.2022.06.033>
- Córdova Vinueza, L. S. (2015). *Evaluación del comportamiento de microorganismos eficientes autóctonos (EMA) y levaduras fermentadoras (Saccharomyces cerevisiae) en la fabricación del biofertilizante Bokashi* [Tesis, Universidad Técnica de Ambato] Dspace. <http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/12942>
- Puruncajas Viera, L. J. (2013). *Identificación de bacterias benéficas mediante cultivos microbiológicos para el tratamiento de aguas residuales en el sector la calzada (humedal) del cantón Saquisilí, provincia de Cotopaxi, 2013*. [Tesis de grado, Universidad Técnica de Cotopaxi] Dspace. <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/2713>
- Ramos-Ortega, L. I. N. A., Vidal, L. A., Vilardey, S., & SAAVEDRA-DÍAZ, L. I. N. A. (2008). Análisis de la contaminación microbiológica (coliformes totales y fecales) en la Bahía de Santa Marta, Caribe colombiano. *Acta Biológica Colombiana*, 13(3), 85-96. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2008000300007&lng=en
- Rangel Montoya, E. A., Montañez Hernández, L. E., Luévanos Escareño, M. P., & Balagurusamy, N. (2015). Impacto del arsénico en el ambiente y su transformación por microorganismos. *Terra Latinoamericana*, 33(2), 103-118. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-57792015000200103&lng=es&tlng=es

- Rodríguez, I. A., Silva, R. P., & Reyes, A. M. (2010). Determinación de sulfato por el método turbidimétrico en aguas y aguas residuales. Validación del método. *Revista cubana de química*, 22(3), 39-44. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=443543720007>
- Sugár, É., Tatár, E., Záray, G., & Mihucz, V. G. (2013). Field separation-based speciation analysis of inorganic arsenic in public well water in Hungary. *Microchemical Journal*, 107, 131-135. doi:<https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.05.025>
- Tovar, C. (2020). *Estudio de las anomalías de arsénico en las fuentes de agua de la parroquia Toacaso, aledañas al complejo volcánico los Ilinizas*. EPN <https://biblioteca.epn.edu.ec/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=90286>
- Vega, A., Zárate, G., Yáñez, P., Gonzalez, S., & León, R. (27 de Septiembre de 2017). Determinación de hierro y manganeso en el agua subterránea del municipio de Apan, Hidalgo, México. *Revista arbitrada de divulgación científica de la Universidad Tecnológica de León* 5(1). http://reaxon.utleon.edu.mx/Art_Determinacion_de_hierro_y_manganeso_en_el_agua_subterranea_de_l_municipio_de_Apan_Hidalgo_Mexico.html
- Vizcarrondo, M., & Gutierrez, S. (2008). Morfología y Tinción de los Microorganismos. *Universidad Central de Venezuela*, 64-85. http://www.ucv.ve/fileadmin/user_upload/facultad_farmacia/catedraMicro/10_Morfolog%C3%ADa_y_Tinci%C3%B3n.pdf
- Yang, T., Liu, J.-W., & Gu, C. (2013), 27 de Marzo). *Expression of arsenic regulatory protein in Escherichia coli for selective accumulation of methylated arsenic species*. NHI: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23484908/>
- Yousif, A. M., Zaid, O. F., & Ibrahim, I. A. (2016). Fast and selective adsorption of As (V) on prepared modified cellulose containing Cu (II) moieties. *Arabian Journal of Chemistry*, 9(5), 607-615. doi:<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2015.02.004>

Artículo científico: Trazabilidad microbiológica de enterobacterias en sitios poco monitoreados y contaminados con arsénico proveniente de fuentes naturales en la parroquia de Toacaso

Publicación Semestral. Vol. 1, No. 1, enero-junio 2022, Ecuador (p. 35-49)