



**MINISTERIO DE DEFENSA NACIONAL**  
**INSTITUTO ANTARTICO ECUATORIANO**  
**GUAYAQUIL**

**INFORME DE TRABAJOS DE CAMPO EN LAS**  
**EXPEDICIONES A LA ANTARTIDA**

**Expedición: XVI Expedición**

**Nombre del proyecto: Contribución al conocimiento de la  
diversidad de hongos marinos (Phylum Ascomycota) de la  
Antártida**

**Lugar: Isla Greenwich (Ensenada de Guayaquil y Bahía  
Chile), Isla Dee.**

**Participante: Nancy Saltos Rosero**

**(07/03/2012)**

FUENTE : DVD 2  
EXPEDICION XVI  
ENTREGADO POR : José Olmedo

---

## INFORME DE CAMPO

**NOMBRE DEL PROYECTO:** CONTRIBUCIÓN AL CONOCIMIENTO DE LA DIVERSIDAD DE LOS HONGOS MARINOS DE LA ANTÁRTIDA (PHYLUM ASCOMYCOTA)

**INVESTIGADORA:** NANCY SALTOS ROSERO

**1. ANTECEDENTES DEL PROYECTO/COMPONENTE.-** (si el proyecto es continuativo, explicar los aspectos a ser investigados en el actual trabajo de campo)

El continente Antártico presenta un rango de condiciones climáticas extremas y constituye uno de los medioambientes más severos de la Tierra. Constituye una de las áreas idóneas para la búsqueda de organismos adaptados a bajas temperaturas. Los organismos que viven aquí (psicrófilos y psicrotolerantes), presentan adaptaciones en sus sistemas enzimáticos, en sus membranas y por tanto en sus genes, lo que representan un gran potencial biotecnológico (Kostadinova, 2009).

Durante las dos últimas décadas, ha existido un gran interés por estudiar a los microorganismos adaptados a climas fríos, en especial a los psicrófilos, el principal motivo es que son una fuente potencial de extremo-enzimas (Rusell, 2006; Margesin & Schinner, 1994) con variadas aplicaciones biotecnológicas en la salud, industria, agricultura y como fuentes de nuevas enzimas, razón por la cual han llamado la atención de la comunidad científica (Margesin & Schinner, 1999).

Por ejemplo, algunos procesos industriales que se desarrollan bajo condiciones de baja temperatura necesitan de biocatalizadores que sean capaces de permanecer activos en dichas circunstancias (Gómez & Steiner, 2004). Adicionalmente, estos microorganismos son considerados fuentes potenciales de componentes antimicrobianos, actuando como agentes terapéuticos o biocontroladores (Margesin & Schinner, 1999; Singh, *et al.*, 2004).

En las regiones Ártica y Antártica la investigación ha sido principalmente orientada en la presencia de bacterias, archaeas y algas psicrófilas. Reportes científicos recientes muestran una presencia esporádica de diferentes hongos en la capa permafrost, suelo y hielo (Sonjak, 2006). Comparados con los bacteriólogos, los micólogos aún están en su infancia, y esto es

debido al desconocimiento de las funciones fúngicas y el lento crecimiento de estos microorganismos.

En la Antártida continental se han reportado cerca de 190 especies de micromicetos, y probablemente la diversidad microfúngica en la Antártida marítima es mucho más alta, debido a sus condiciones ambientales relativamente menos hostiles (Seckbach, 1999). El laboratorio de Hongos Antártico de la Universidad de Malasia ha analizado más de 200 cepas fúngicas antárticas como mesófilas, psicrotróficas y psicrofilas (Aisyah, 2008).

Durante el desarrollo de la presente investigación se obtendrán datos de utilidad para el desarrollo de la biosprospección, mediante la identificación y caracterización de especies de ascomicetos, en la primera etapa del proyecto se establecieron las estaciones de muestreo en los sitios de interés como son: la zona intermareal, en donde se colectaron muestras de arena de la parte alta y baja, el fondo marino para la extracción de sedimentos, y la columna de agua. Además se colocará un colector con paneles de madera (pino y balsa).

Así mismo se establecieron diferentes métodos de muestreo, procesamiento y almacenamiento de las muestras colectadas para posteriormente definir el método más adecuado.

## **2. OBJETIVO GENERAL DEL PROYECTO/CUMPLIMIENTO**

- Aislar e identificar hongos marinos de la Antártida, para establecer el primer banco de cepas fúngicas marinas de la Antártida en el Ecuador, como base para aplicaciones biotecnológicas futuras.

## **3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL PROYECTO /CUMPLIMIENTOS**

- Determinar las estaciones de muestreo en la Antártida así como su ubicación geográfica exacta.
- Establecer el mejor método de muestreo y sustrato de hongos marinos de la Antártida.

## **4. HIPÓTESIS DEL PROYECTO/COMPONENTE.-**

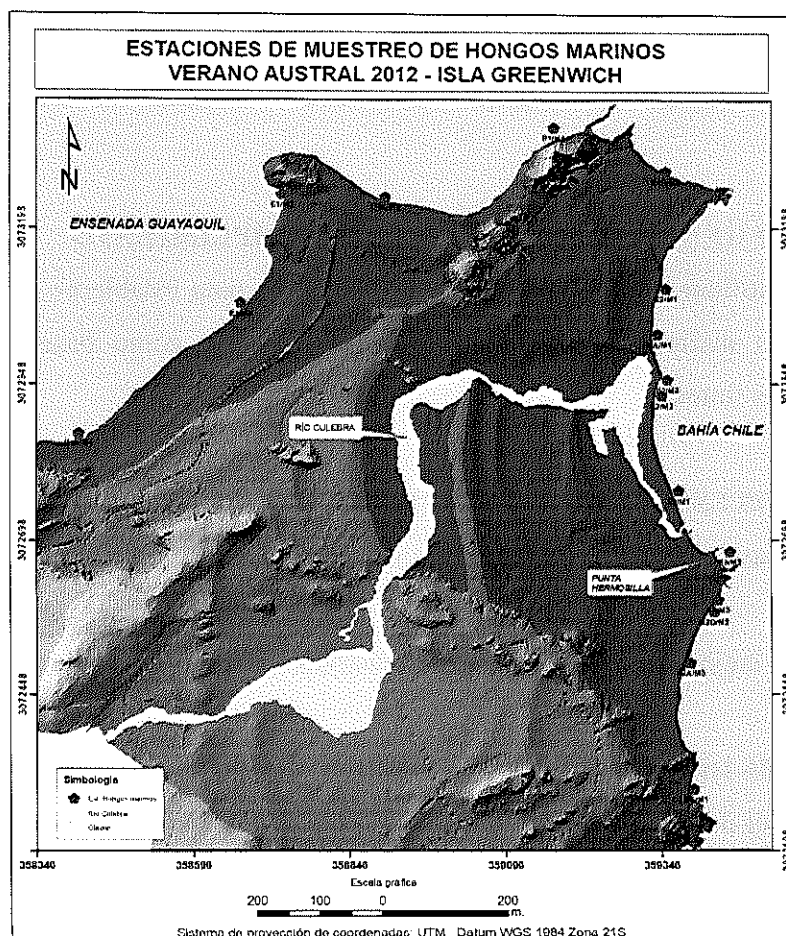
$H_0$ : Mediante el desarrollo de métodos de muestreo, aislamiento e identificación de hongos marinos del continente Antártico, no es posible establecer un banco de cepas fúngicas marinas.

H<sub>4</sub>: Mediante el desarrollo de métodos de muestreo, aislamiento e identificación de hongos marinos del continente Antártico, es posible establecer un banco de cepas fúngicas marinas.

**5. ÁREA DE ESTUDIO.- (determinar donde se efectuó el trabajo, incluyendo coordenadas geográficas, planos o levantamientos)**

El área de muestreo comprende la ensenada de Guayaquil y Bahía Chile, localizadas en la isla Greenwich la cual forma parte del conjunto de Islas Shetland del Sur, ubicadas en la región conocida como Antártida Marítima. Se establecieron tres grandes estaciones de muestreo tomando como referencia los sectores en los que se encuentra dividida la zona: Sector A, B y C, así la Estación uno (E1) fue ubicada dentro del Sector A, la Estación dos (E2) en el Sector B y la Estación tres (E3) en o cerca del Sector C (Figura 1).

**Figura 1.** Estaciones de muestreo en la isla Greenwich.



## 6. CRONOGRAMA DEL TRABAJO DE CAMPO EFECTUADO

**Tabla 1.** Cronograma de actividades.

FECHA	ACTIVIDADES	OBSERVACIONES
22/02/2012	Llegada a la estación, y reconocimiento del área de estudio.	
23/02/2012	Colecta de muestras de suelo de la zona intermareal en la Estación 1.	
24/02/2012	Colecta de muestras de suelo de la zona intermareal en la Estación 2.	
25/02/2012	Colecta de muestras de suelo de la zona intermareal en la isla Dee.	
26/02/2012	Colecta de muestras de suelo de la zona intermareal en la Estación 3.	
27/02/2012	Colecta de muestras de suelo con draga en la ensenada de Guayaquil.	No se pudo coleccionar muestras en todas las estaciones debido al fondo rocoso.
28/02/2012	Procesamiento de datos.	El mal tiempo no permitió continuar con los muestreos.
29/02/2012	Colecta de muestras de agua en las estaciones 1, 2 y 3.	
01/02/2012	Ranchera, Procesamiento de datos.	
02/02/2012	Elaboración de colectores de hongos marinos.	
03/02/2012	Elaboración de informe de actividades.	
04/02/2012	Colecta de muestras de suelo en las estaciones 1, 2 y 3.	
05/02/2012	Exposición del trabajo de campo. Entrega de un colector a los miembros de la Base Naval Arturo Prat.	
06/02/2012	Entrega del reporte de trabajo de campo.	

**(se debe describir un resumen de las actividades efectuadas)**

Durante la primera etapa las actividades consistieron esencialmente en el establecimiento de estaciones de muestreo, colecta de muestras y estandarización de protocolos de almacenamiento.

## 7. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO DE CAMPO / METODOLOGÍA PARA LA OBTENCIÓN DE LOS DATOS (explicar el uso de equipos, procedimientos, registro, métodos utilizados durante la presente expedición)

Para el aislamiento de hongos marinos se recolectaron muestras de suelo, sedimento marino y colectores con paneles de madera.

### **Muestras de suelo**

Las muestras de suelo fueron colectadas tanto de la zona intermareal como del fondo marino. En cada estación de la zona intermareal se colectaron tres muestras de la parte alta de la zona intermareal y tres muestras de la parte baja, durante la bajamar.

La toma de muestra se realizó con una espátula procurando tomar los granos más finos, se pesaron hasta 150 g en una balanza. Las muestras fueron depositadas en fundas con cierre hermético (Figura 2) y almacenadas a 0°C, hasta su procesamiento.

**Figura 2.** Colecta de arena en la parte baja de la zona intermareal.



Las muestras de sedimento marino, se obtuvieron mediante una draga (Figura 3). El exceso de agua fue retirado de la draga y las muestras fueron depositadas en fundas con cierre hermético y almacenadas a 0°C, hasta su procesamiento. Nueve muestras más fueron colectadas en la zona intermareal y almacenadas a 4 °C para realizar una comparación de técnicas de almacenamiento.

**Figura 3.** Colecta de muestras de suelo marino con draga.



### **Muestras de Agua**

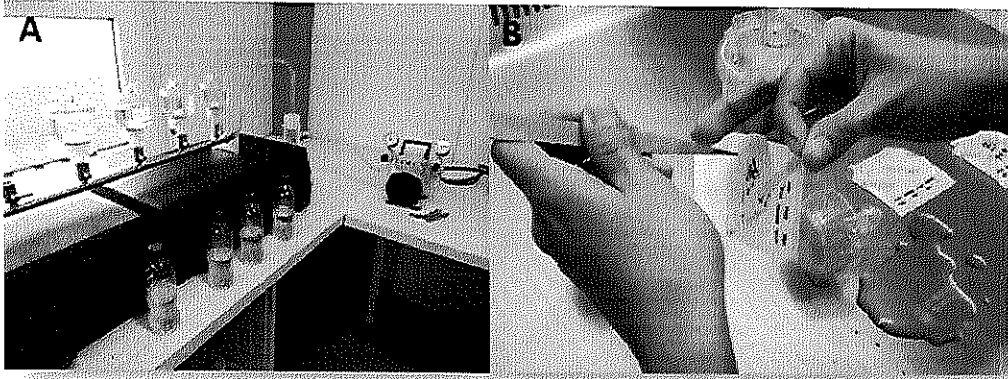
Durante la marea alta se colectaron 500 mL de agua de mar de la superficie con botellas plásticas (Figura 4).

**Figura 4.** Colecta de muestras de agua.

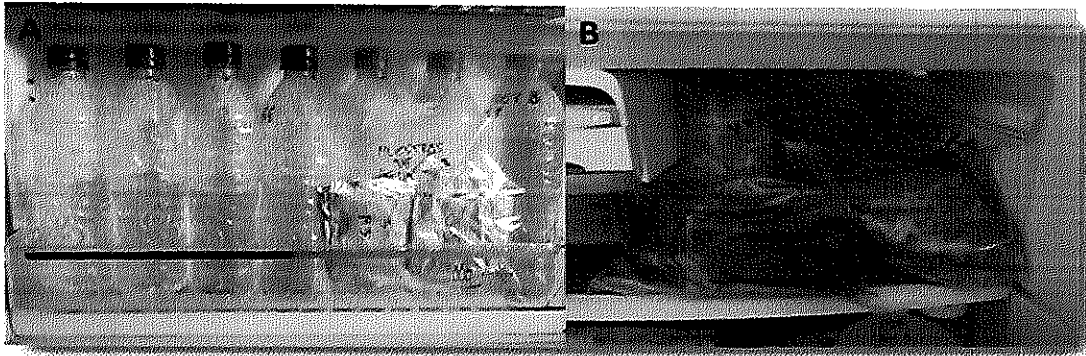


Bajo condiciones asépticas se filtraron 250 mL de cada muestra en filtros de  $0,45\ \mu\text{m}$  (Figura 5), los filtros fueron depositados en sus empaques originales, envueltos en papel aluminio estéril y almacenados a  $4\ ^\circ\text{C}$ . De la misma manera los restantes 250 mL fueron almacenados a  $4\ ^\circ\text{C}$ .

**Figura 5.** Filtración del agua de mar en filtros de 0,45  $\mu\text{m}$ .



**Figura 6.** A) Almacenamiento de muestras de agua y filtros a 4 °C. B) Almacenamiento de muestras de suelo a 0 °C.

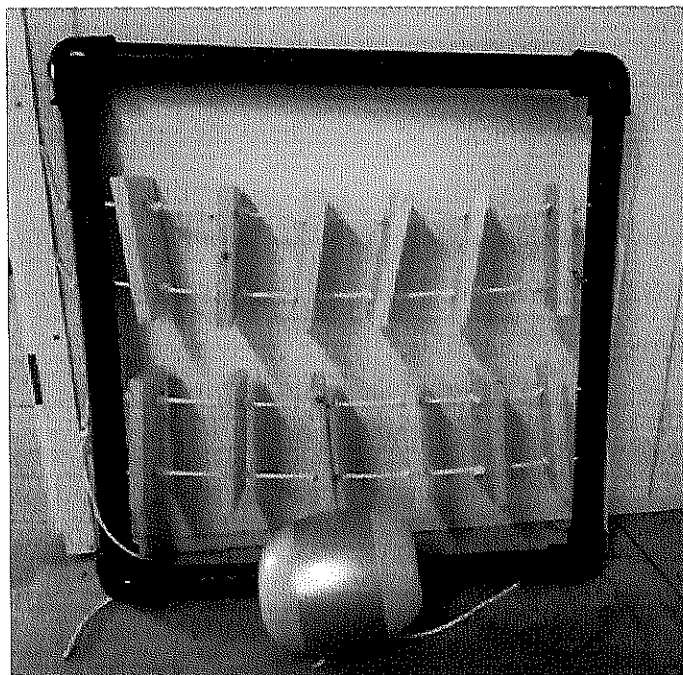


### **Colectores (paneles de madera)**

Un colector será colocado en Bahía Chile a dos metros de profundidad en posición vertical cuando el hielo se haya derretido al culminar el invierno, con la colaboración de los miembros de la Base Naval Arturo Prat, por lo tanto las coordenadas geográficas de la ubicación de los colectores será incluida en un informe posterior.



**Figura 7.** Colector de hongos marinos elaborado con paneles de madera de pino y balsa.



**8.- DATOS OBTENIDOS** (Incluir en la tabla del anexo los datos/parámetros medidos y/o muestras recopiladas con las respectivas coordenadas geográficas en UTM y latitud y longitud, georreferenciadas).

**ANEXO 1 - TABLA DE DATOS.xlsx**

**9.- TRABAJOS PENDIENTES RELACIONADOS CON EL PROYECTO** (Describir los trabajos que son necesarios efectuar luego de terminada la expedición, incluyendo fechas, para terminar el análisis de los muestreos efectuados y posterior publicación de resultados)

### **ASLAMIENTO DE ASCOMICETOS MARINOS**

**Marzo – Junio**

Para todas las técnicas de aislamiento se emplearán tres medios de cultivo Agar Saboraud Dextrosa (SAB), Agar Extracto de Malta (MEA) y Agar Almidón (AA) preparados con agua de mar y suplementados con penicilina y sulfato de estreptomicina (250+250 mg).

Todas las muestras se incubarán en temperatura templada a 10°C, tropical a 28°C y polar a 4°C.

#### **Muestras de suelo**

**Dilución.-** Se suspenderá 1 g de suelo en 50 mL de agua de mar estéril, se harán diluciones ( $10^{-1}$  hasta  $10^{-7}$ ), de cada dilución se inocularán 100 µL en los medios de cultivo ya mencionados.

**Inoculación directa del suelo en medio sólido.-** En la cámara de flujo laminar se pesarán 200-300 mg de suelo y se añadirán 20 mL de medio de cultivo sin solidificar y se agitará hasta su homogenización con el medio.

**Cebos orgánicos.-** En fundas con cierre hermético se colocarán 50 g de suelo junto con los cebos durante tres meses, luego de dicho periodo se trasladará los cebos a medio nutritivo.

#### **Muestras de agua**

**Siembra directa.-** Alícuotas de 200 µL serán colocadas directamente sobre el medio de cultivo y se incubarán a las temperaturas ya mencionadas.

**Filtración.-** Alícuotas de 10 mL se filtrarán al vacío a través de filtros de celulosa de 0,45 µm, los filtros se colocarán sobre el medio de cultivo.

A medida que se produzca la germinación de las esporas las colonias serán aisladas

### **CARACTERIZACIÓN ENZIMÁTICA**

#### **Junio - Agosto**

Se evaluará la actividad enzimática con las siguientes pruebas:

Lacasa, Amilasa, Proteasa, Lipasa, Proteasa y Celulasa.

### **IDENTIFICACIÓN DE CEPAS**

#### **Julio – Enero**

Se realizarán placas permanentes de las estructuras de reproducción, cómo soporte de la identificación y caracterización morfológica.

Las cepas serán identificadas morfológicamente mediante claves taxonómicas y molecularmente mediante la extracción de ADN genómico, amplificación de la región ITS del ADN ribosomal y secuenciación de los amplicones.

## 10.- CONCLUSIONES

Hasta iniciar el aislamiento de cepas no es posible concluir si las técnicas de colecta y almacenamiento han sido las más adecuadas. En el caso de las muestras de arena aún está por definirse si el tamaño del grano de arena encontrado en algunas playas es adecuado como sustrato para los ascomicetos marinos, y si la congelación de las muestras afecta directamente en la viabilidad de las ascosporas.

## 11. RECOMENDACIONES

- Se recomienda iniciar el aislamiento de cepas fúngicas durante la estadía en la Estación Pedro Vicente Maldonado para evitar la pérdida de diversidad de ascomicetos durante el traslado de las muestras al Ecuador.
- Probar otras técnicas de muestreo para el aislamiento de micromicetos lignícolas variando los tiempos de exposición al agua de mar.
- Colectar y procesar muestras de diferentes sustratos como macro algas, plumas, huesos y madera a la deriva para complementar la primera etapa de la presente investigación.

## 12. BIBLIOGRAFIA

- Aisyah, S. Biodiversity of Soil Microfungi in Polar Ecosystem. Institute of Biological Sciences – University Malaya, 2008.
- Gómez, J. & Steiner, W. The Biocatalytic Potential of Extremophiles and Extremozymes. *Food Technol. Biotechnology*. Vol. 42. 2004. 223-235.
- Kostadinova, N. *et al.*, 2009. Isolation and Identification of filamentous fungi from Island Livingston, Antarctica. The Stephan Angeloff Institute of Microbiology – Bulgarian Academy of Sciences. Bulgaria.
- Margesin, R., & Schinner, F. Properties of cold-adapted microorganisms and their potential role in biotechnology. *Journal of Biotechnology*. Vol. 33. 1994. 1-14.
- Margesin R., & Schinner F. *Biotechnological Applications of Cold-Adapted Organisms*. Springer Verlag, Berlin, 1999. 338 p.
- Russell, N. Antarctic micro-organisms: coming in from the cold. *Culture*. Imperial College London, UK. Vol. 27 No. 2. 2006. 1-4.

- Seckbach, J. Enigmatic microorganisms and life in extreme environments. Springer. 223-336, 1999.
- Singh, S., Puja, G., and Bhat, D., Psychrophilic fungi from Schirmacher Oasis, East Antarctica. *Current Science*. Vol. 90. 2004. 1388-1392.
- Sonjak, S. and Gunde-Cimerman, N. Fungal biodiversity in Antarctic environments. Census of Antarctic Marine Life (CAML). Microbes Workshop – Abstracts, 2006.

**13. Fecha:** 07/03/2012

**ANEXOS** Incluir la entrega de un CD archivo digital con los datos medidos georeferenciados y fotos en formato original.

**Nota.-** El reporte deberá ser presentado en formato digital y deberá ser entregado antes de finalizar la estadía en la Antártida.