

# Microbiología y Patología

## Metodologías de estudio de microorganismos

UNIDAD TEMÁTICA N ° 7:

### *Métodos de estudio de microorganismos*

Evaluación Global de las Poblaciones Microbianas y de grupos funcionales. Evaluación de actividades microbianas. Reconocimiento de microorganismos por técnicas genéticas y moleculares.

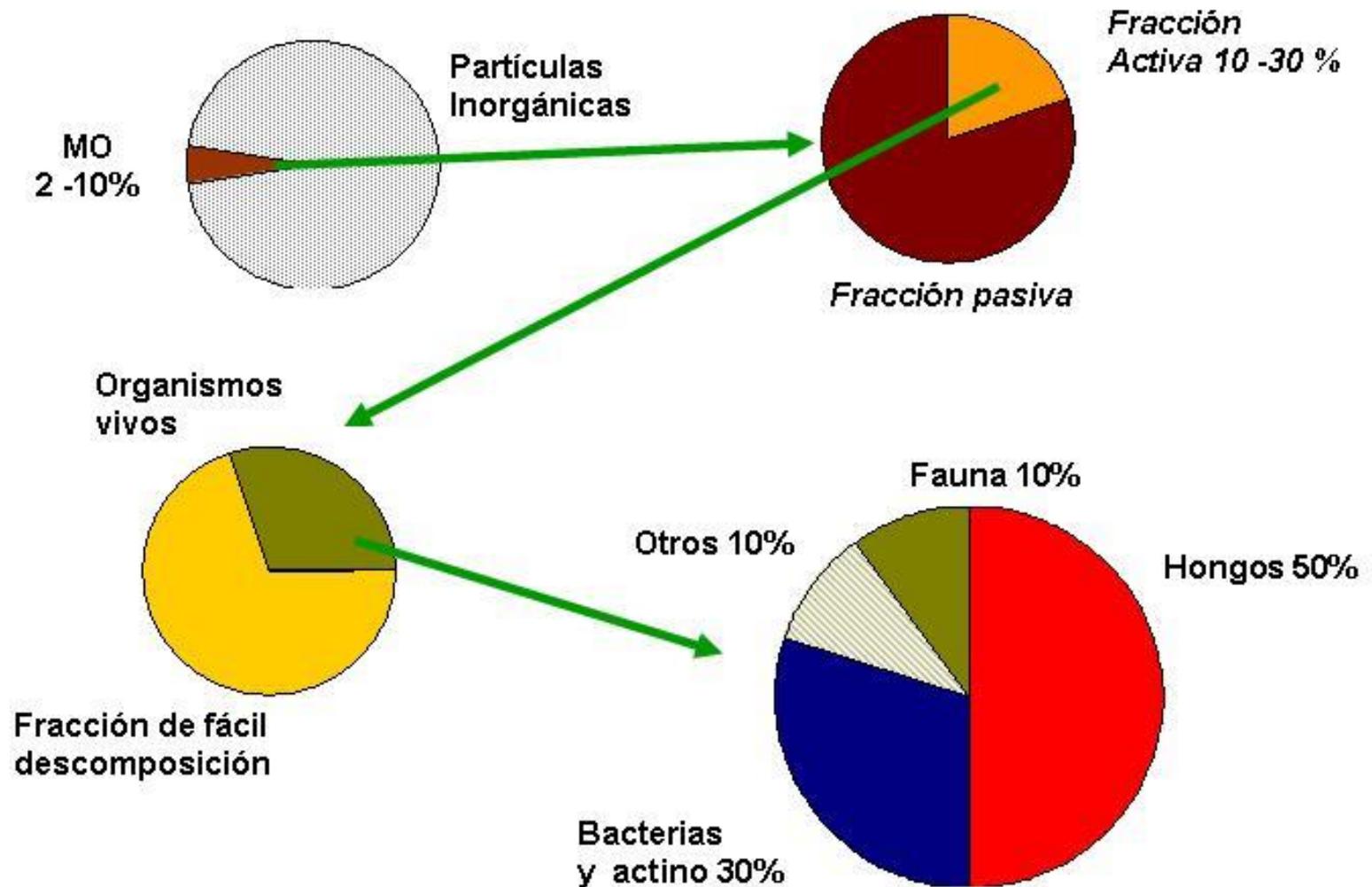
### *Cuantificación de microorganismos en aguas*

Planificación de muestreos en agua: representatividad y validez. Estrategia de muestreo. Recolección y almacenamiento de muestras. Análisis microbiológico del agua.

# Número estimado de microorganismos del suelo (por gramos de suelo)

- Bacterias  $3 \cdot 10^6$  a  $5 \cdot 10^8$ 
  - Actinomicetes*  $1 \cdot 10^6$  a  $2 \cdot 10^7$
- Hongos  $5 \cdot 10^3$  a  $1 \cdot 10^6$ 
  - Levaduras*  $1 \cdot 10^3$  a  $1 \cdot 10^5$
- Algas  $1 \cdot 10^3$  a  $5 \cdot 10^5$
- Protozoos  $1 \cdot 10^3$  a  $5 \cdot 10^5$
- Además existen gran número de virus.

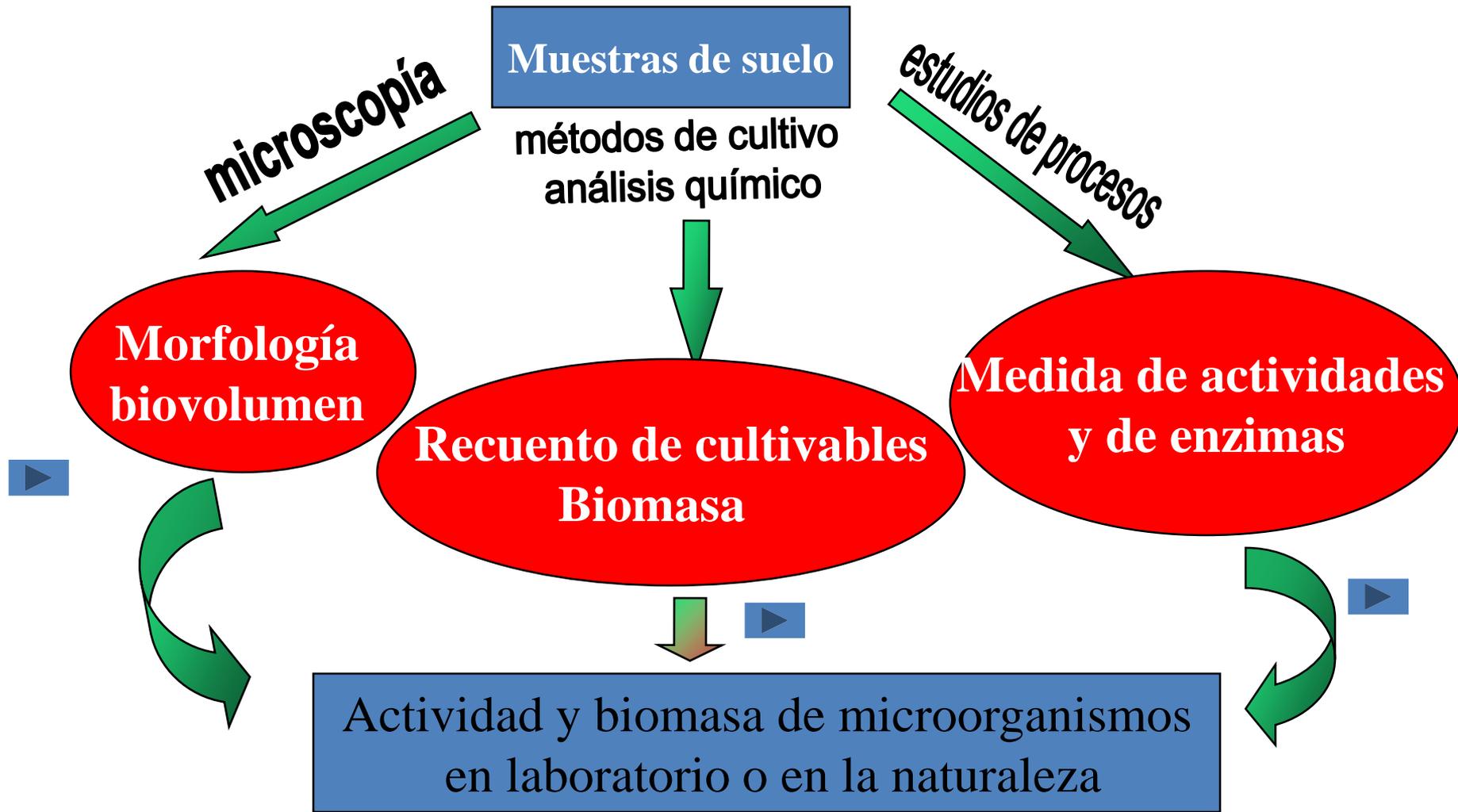
## Proporciones de organismos vivos que constituyen la biomasa microbiana del suelo



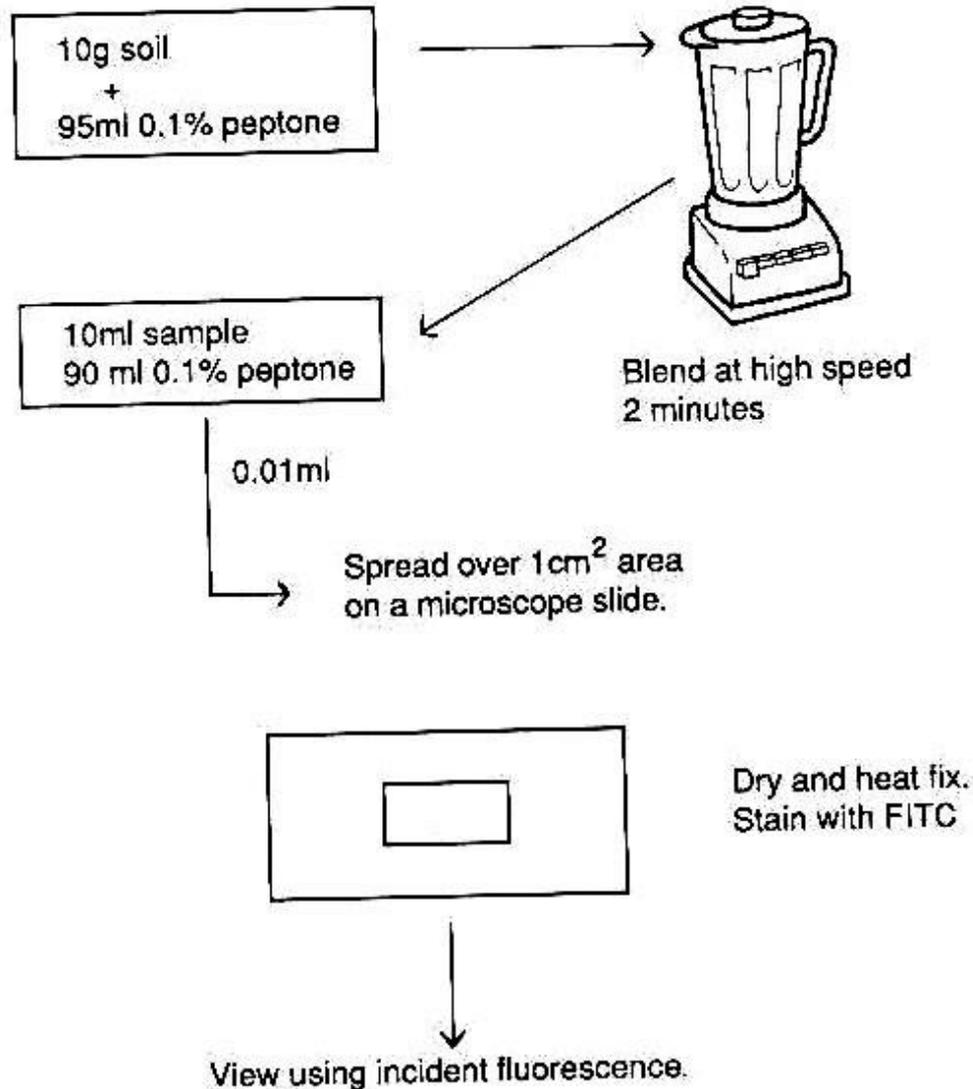
# Grupos microbianos de mayor importancia

- **Bacterias**
  - Actinomicetes
  - Cianobacterias
- **Hongos**

# Formas de evaluar las poblaciones microbianas



# Microscopía directa



# Recuento microscópico directo

## – Cámaras de recuento

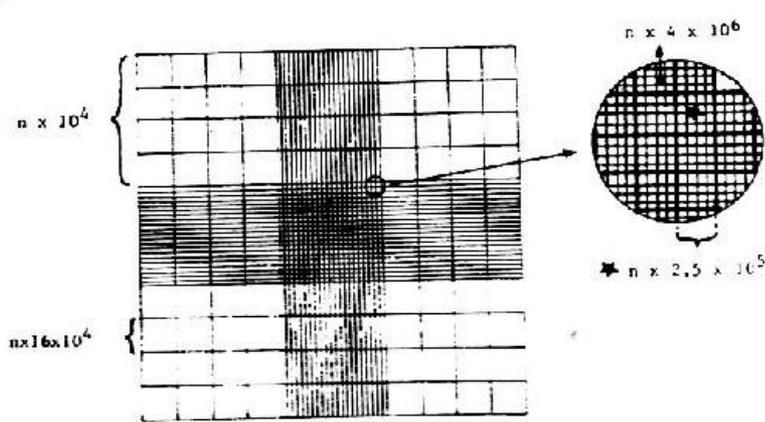


Fig. 2 Cámara de Neubauer y sus factores de conversión

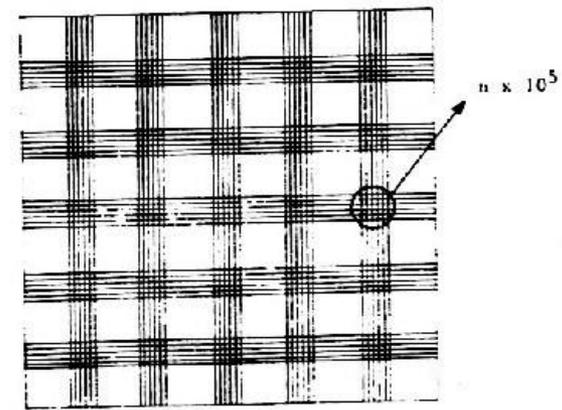
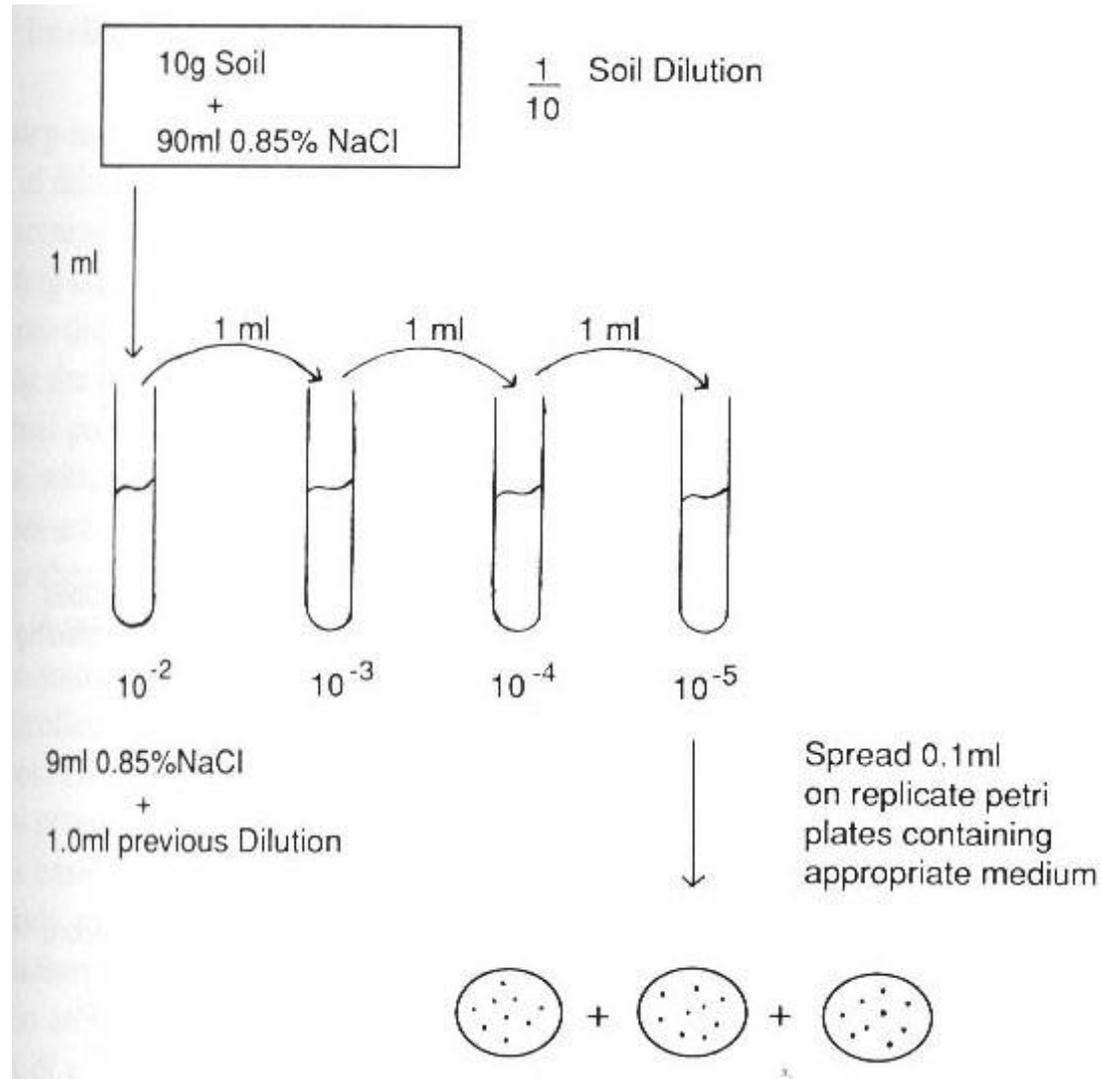


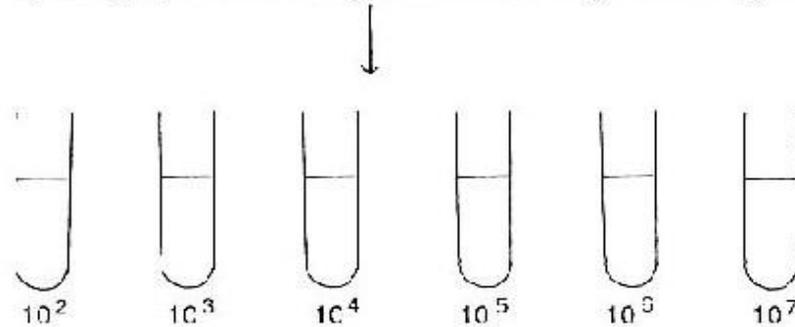
Fig. 3 Cámara de Malassez y sus factores de conversión

# Recuento en placas de suspensiones de suelo

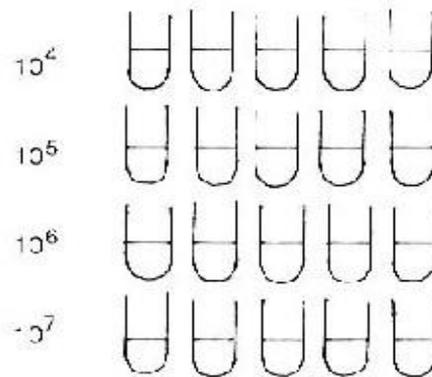


# Recuento en tubos

Prepare Appropriate Soil Sample Dilutions as Diagramed in Fig. 2.5



For each dilution, inoculate 5 tubes of appropriate medium by transferring 1 ml of dilution



After incubation, record number of tubes of media in which microbes of interest have grown

Calculation: Compare results to prepared MPN statistical tables

# Método de Biomasa microbiana

## Soil Fumigation:

250g Soil  
in 400ml  
Beakers

→  
replicated  
samples



Fumigate 18 - 24  
hours

remove  
CHCl<sub>3</sub>

Add 1g fresh  
soil

↓  
replicated unfumigate  
controls

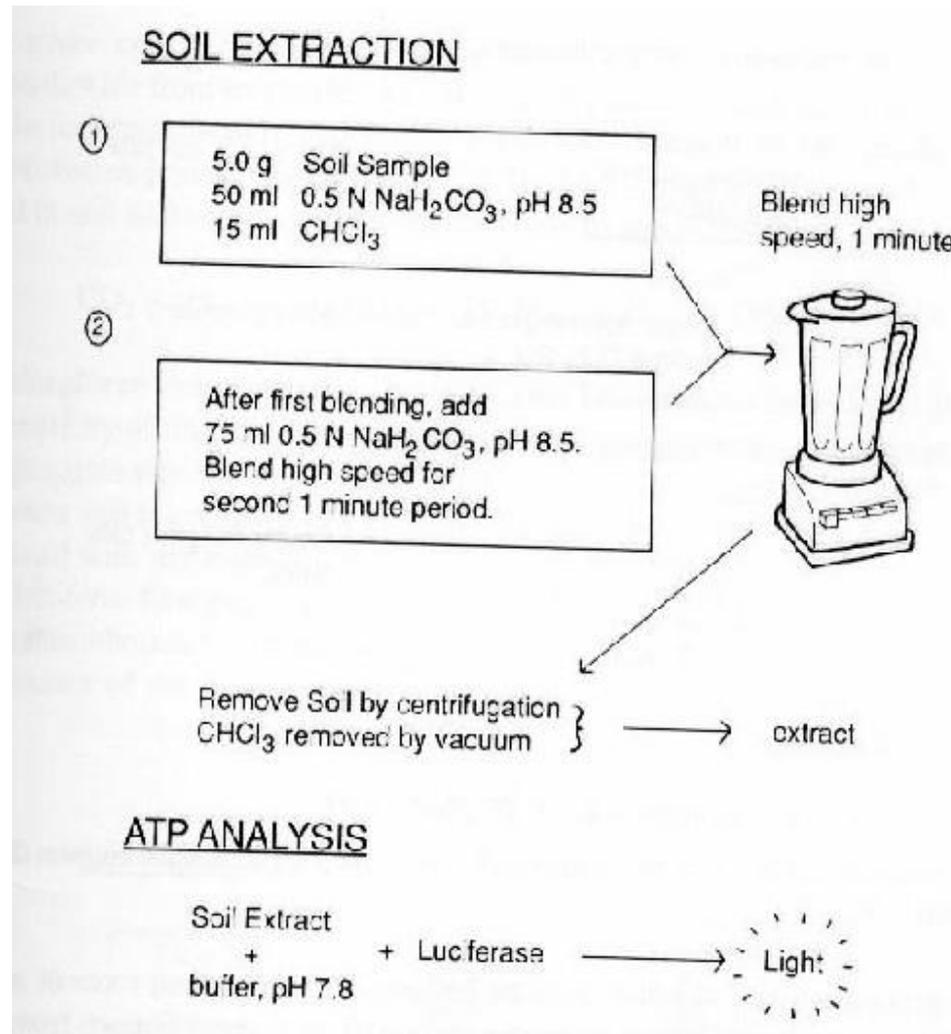
- Incubate soils 10 days at 25°C.
- Collect CO<sub>2</sub> evolved in 1N NaOH.
- Quantify CO<sub>2</sub> by titration.

## Calculation:

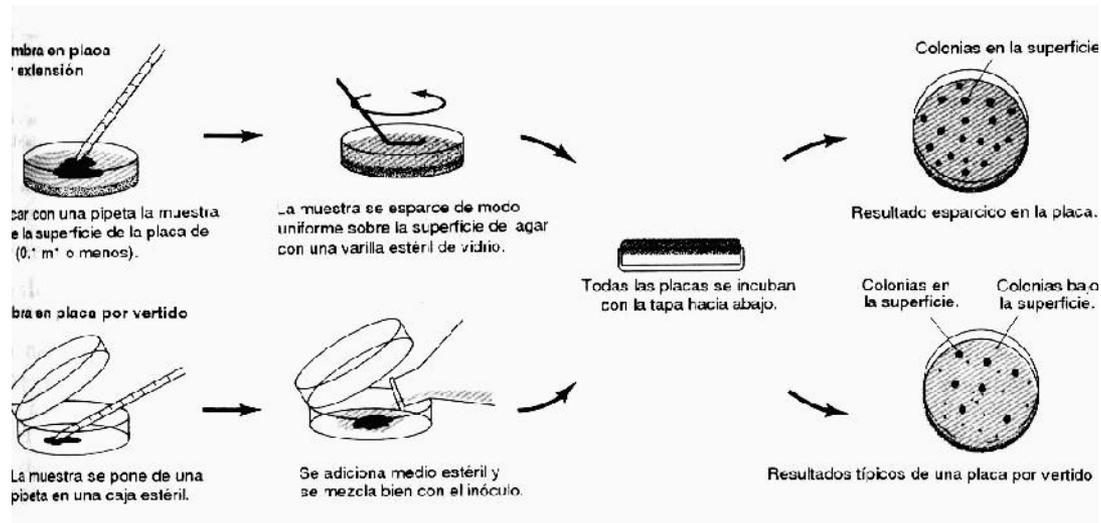
$$\text{Microbial Biomass} = \frac{\text{CO}_2^* \text{ fumigated Soil} - \text{CO}_2^* \text{ control}}{K}$$

\* CO<sub>2</sub> contained in a beaker with NO soil subtracted from these values.

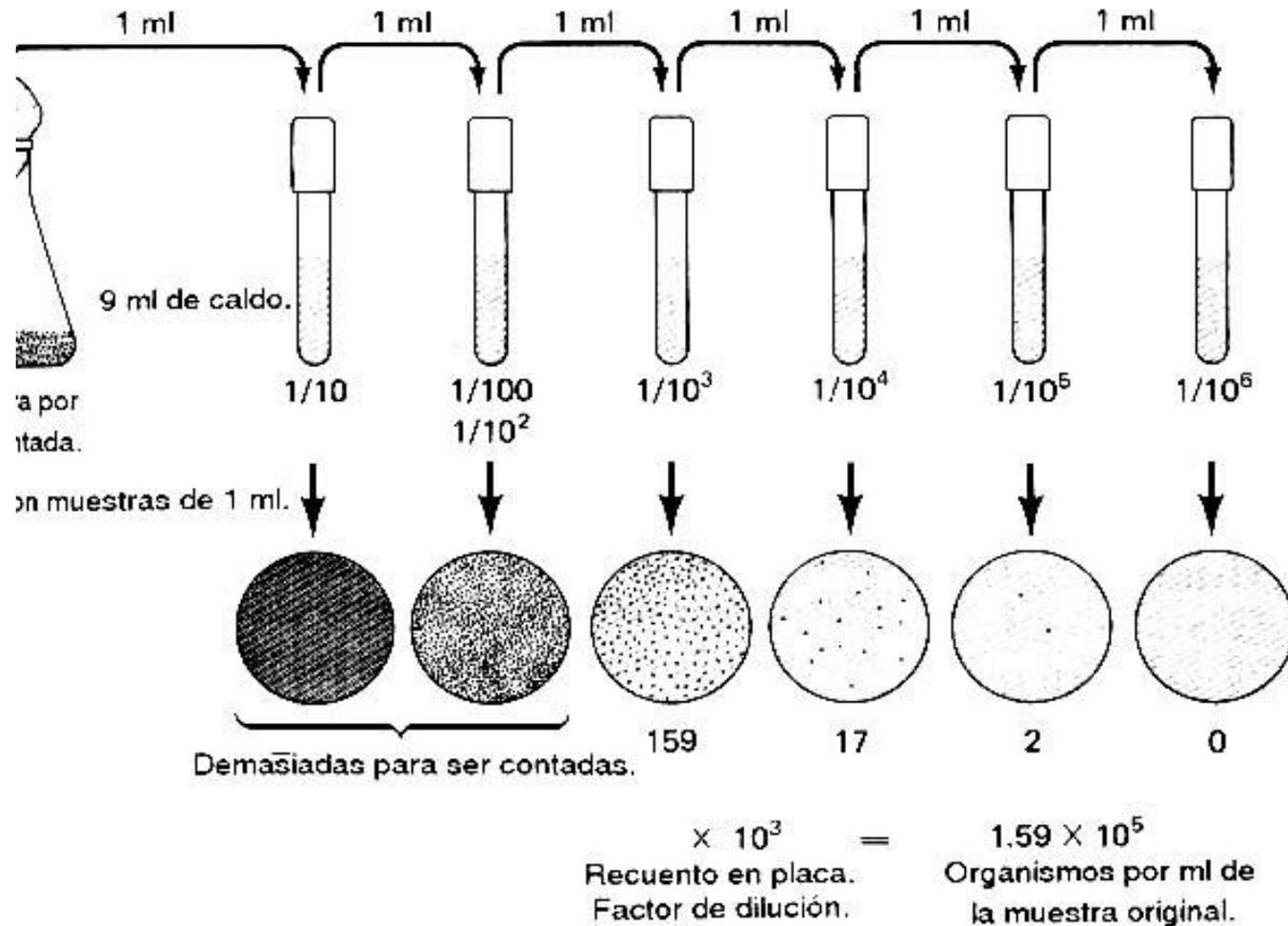
# Método de medición de ATP



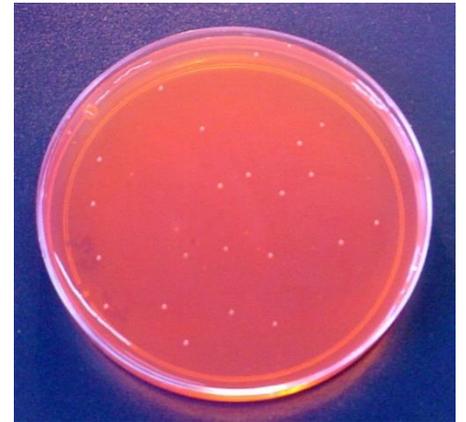
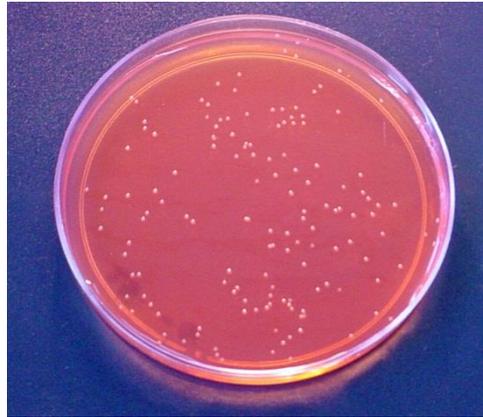
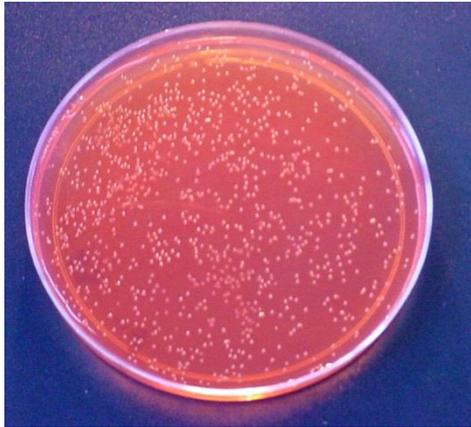
# Siembra en placas para el recuento de viables (Métodos de placa extendida y vertida o incluida)



# Preparación de diluciones para el recuento en placas



# Placas de tres diluciones recuento de rizobios



# Microbiología y Patología

## Metodologías de estudio de microorganismos

UNIDAD TEMÁTICA N ° 7:

### ***Métodos de estudio de microorganismos***

Evaluación Global de las Poblaciones Microbianas y de grupos funcionales. Evaluación de actividades microbianas. Reconocimiento de microorganismos por técnicas genéticas y moleculares.

### ***Cuantificación de microorganismos en aguas***

Planificación de muestreos en agua: representatividad y validez. Estrategia de muestreo. Recolección y almacenamiento de muestras. Análisis microbiológico del agua.

# Medición del crecimiento

## Otros métodos de medición

Medición de ATP

Recuento electrónico

# PLANIFICACIÓN DEL MUESTREO. Estrategia del muestreo:

## Conocer el lugar de muestreo



antecedentes y muestreos exploratorios.



- limitar el sistema a estudiar (fotografías aéreas, mapas, inventario del uso presente y futuro del agua)
- ubicar donde están las entradas y salidas de bacterias

## Frecuencia del muestreo



quincenales o mensuales, etc. cada país tiene establecido mas o menos con qué frecuencias se deben realizar

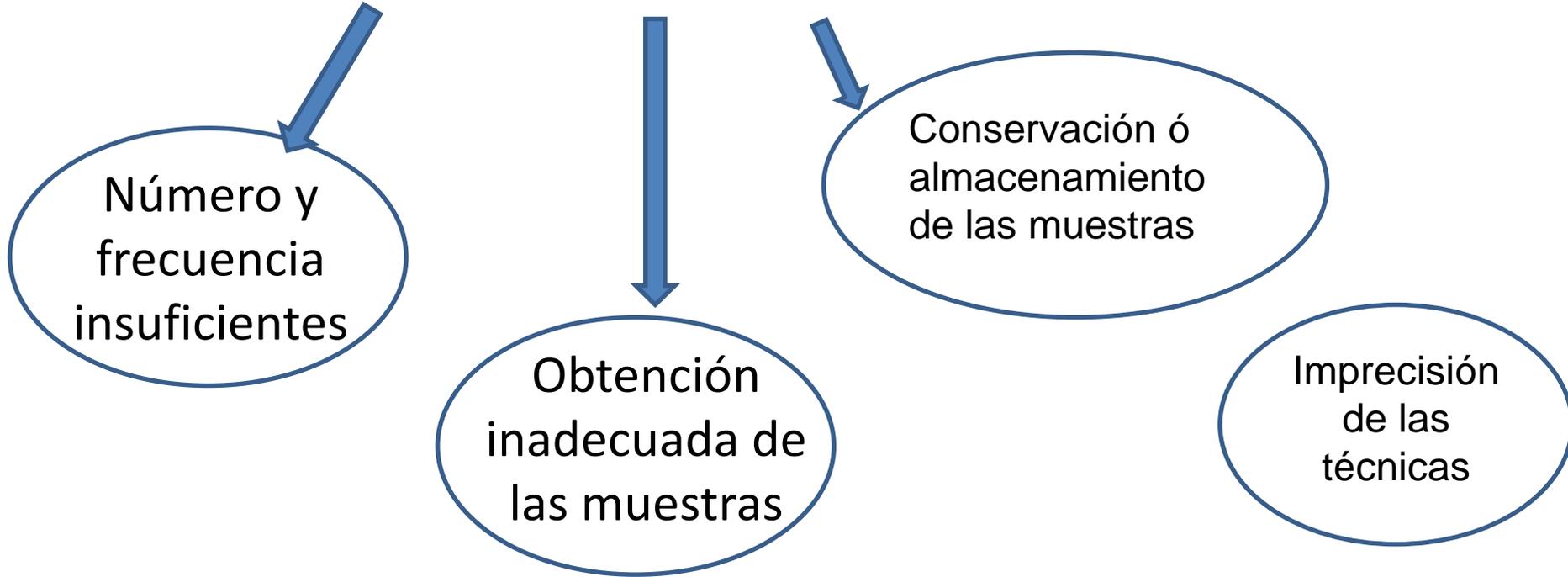
## Tipo de muestreo

→ **no intensivo** (en el espacio: ej. un solo lugar y en frecuencia: ej. 1 vez por mes).y a largo plazo (ej. 3 años);

→ **espacialmente intensivo**: (ej. 90 puntos de muestreo) y **de corto plazo** (en una situación climática: lluviosa, seca, etc.)

→ **intensivo y detallado**: se lo realiza por más de un año. Se lo utiliza para “causa y efecto” ej. muestreo antes y después de una lluvia.

# OBTENCIÓN DE MUESTRAS REPRESENTATIVAS Y VÁLIDAS



# Variaciones espaciales microbianas

## **Longitudinales**

es la variación en la distribución de bacterias en el curso del río

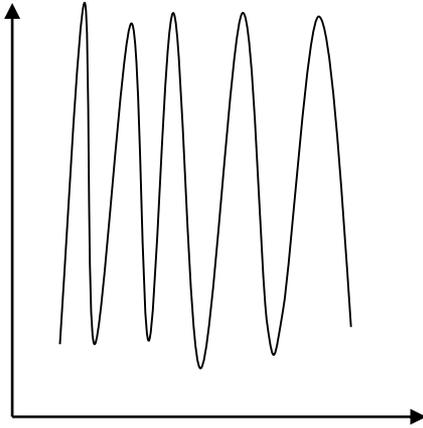
## **Transversales**

son variaciones en profundidad

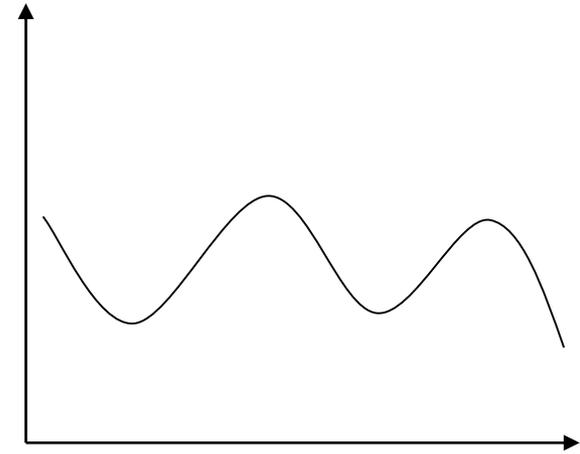
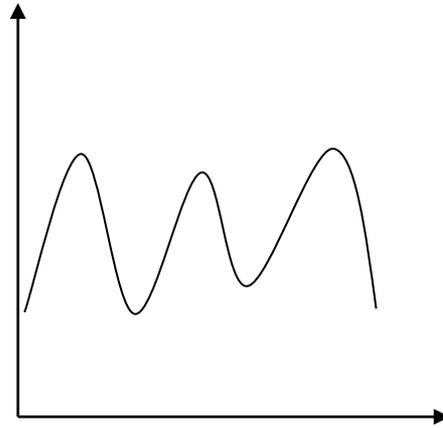
## **Temporales**

se dan en las distintas épocas del año. Ej. verano vs. otoño, tanto en el agua como en el sedimento. También existen variaciones semanales, mensuales, horarias, etc.

# Causas de las fluctuaciones



Muestreo cerca de la fuente de residuos



Muestreo lejano a la fuente de residuos

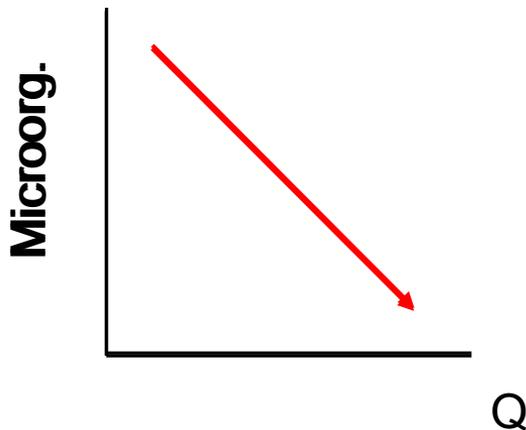
**El Coeficiente de Variación generalmente aumenta a medida que se restringe el grupo taxonómico estudiado. Ej. gram(-): CV= 9%      E.coli: CV= 20%**

# Contaminaciones microbianas

## Fuentes Puntuales de contaminación



Cuando el indicador no aumenta con el caudal (Q).



## Fuentes No Puntuales o Dispersas de contaminación



cuando el indicador aumenta con el Q.

