

Universidad Nacional Abierta y a Distancia
Vicerrectoría Académica y de Investigación

Guía de aprendizaje para el desarrollo del componente práctico del curso

Microbiología Ambiental 358010

1. Información general del componente práctico.

Tabla 1. *Información general del componente práctico*

Aspecto	Descripción
1. Estrategia metodológica	Aprendizaje Basado en Tareas
2. Tipología de curso	Metodológico
3. Momento de la evaluación	Intermedio
4. Puntaje de la actividad	120
5. Número de actividades del componente registradas en esta guía	2
6. Horas de trabajo independiente del estudiante	5
7. Horas de acompañamiento docente	12
8. Tipo de práctica formativa	De Laboratorio

2. Con estas actividades de componente práctico se espera que los estudiantes logren y evidencien el siguiente resultado de aprendizaje:

Resultado de aprendizaje 3: Generar una propuesta de solución a problemáticas ambientales identificadas en su territorio teniendo en cuenta la observación y análisis de microorganismos en el laboratorio.

3. Descripción general de la(s) actividad(es) del componente práctico.

Tabla 2. *Información actividad 1*

Aspecto	Descripción
1. Escenarios de componente práctico	Físico
2. Tipo de actividad	Independiente
3. Número de actividad	1
4. La actividad inicia el:	lunes, 17 de febrero de 2025
5. La actividad finaliza el:	domingo, 11 de mayo de 2025

Los recursos con los que debe contar para el desarrollo de la actividad son los siguientes:

- Guía de componente practico
- Anexo 1 formato informe de laboratorio

Prelaboratorio

- Se realizará exploración por parte del estudiante en el simulador VR labs para adquirir destrezas en el manejo de microscopio.

Materiales que deben llevar los estudiantes

- Cinco gramos de azúcar (un cubo o unidades para cafetería).
- Levadura de pan (un sobre comercial).
- Muestra de suelo 10 g aproximadamente.
- Cascara de fruta con presencia de Moho.
- Marcador de vidrio (sharpie).

Elementos personales de Bioseguridad

- Bata blanca manga larga
- Gorro o cofia para el cabello
- Guantes desechables de nitrilo (al menos dos pares)
- Tapabocas

Materiales y reactivos que debe suministrar el docente

- Microscopio óptico
- Cajas de Petri
- Láminas porta objetos
- Láminas cubre objetos
- Tubos tapa rosca de 16x150 mm
- Frascos Schoot o Erlenmeyer de 250 ml
- Incubadora
- Solución salina al 0.85%
- Kit coloración de gran
- Azul de lactofenol
- Agar nutritivo
- Agar PDA

Referentes bibliográficos para lectura

- Luna Fontalvo, J. A. (2020). *Métodos analíticos de microbiología general y aplicada*: (ed.). Editorial Unimagdalena. <https://elibro-net.bibliotecavirtual.unad.edu.co/es/ereader/unad/128443?page=30>
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Stahl, D. A., Martinko, J. M.(2015). *Brock. Biología de los microorganismos*. Pearson Educación. Pp 700-716. <https://www-ebooks7-24-com.bibliotecavirtual.unad.edu.co/?il=5285>
- Pedroza-Rodriguez, A. M. (2024). *Microbiología Ambiental - De la teoría a la práctica ; Environmental Microbiology - From theory to practice*. Editorial Pontificia Universidad Javeriana. <https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/68186>
- Rabelo Florez, R. A. (2023). Bacterias y hongos utilizados en la biodegradación de hidrocarburos: Una Revisión de literatura y Análisis Bibliométrico. *Revista EIA*, 20(39), 1-35. <https://doi-org.bibliotecavirtual.unad.edu.co/10.24050/reia.v20i39.1622>

- Zapata, E. (2020). Revisión de microorganismos capaces de degradar cianuro presente en aguas residuales industriales . *Agricolae & Habitat*, 3(1), 1-17.
<https://doi.org/10.22490/26653176.3885>
- Chiriví, J. S. (2018). *¿Cómo solucionar una problemática ambiental con microorganismos?*. [Objeto_virtual_de_Informacion_OVI]. Repositorio Institucional UNAD. <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/23516>

La actividad consiste en:

Actividad 1. Primer encuentro in situ

- Asistir a la primera sesión práctica de laboratorio de acuerdo al lugar, fecha y hora pre-establecidos en la inscripción realizada a través del OIL.
- Llevar impreso el protocolo de práctica, donde podrán anotar los experimentos realizados y los posteriores resultados.
- Observar video sobre bioseguridad que será proyectado por el por el tutor
- Presentar cuestionario corto (quíz) sobre bioseguridad (preparado por el tutor asignado).
- El tutor asignado distribuirá a los estudiantes en grupos dependiendo de la disponibilidad de material y asistentes al encuentro.

1.1 Observación de Levaduras.

Materiales que debe aportar el estudiante: Levadura de pan.

Materiales que debe aportar el laboratorio: incubadora a 37 grados, balanza o gramera, láminas portaobjetos, Erlenmeyer de 100 ml, Asa redonda, Azul de metileno, Microscopio óptico.

- Disolver 2.5 g de azúcar de mesa y aproximadamente 5 g de levadura de pan en 20 ml de agua destilada (Nota: Puede preparar una disolución única para todo el grupo de laboratorio).
- Incube la disolución anterior a 37 °C por 15 min.

- Tome una muestra de esta disolución y dispóngala sobre un portaobjetos. Puede asistirse de un asa bacteriológica de punta redonda estéril o un agitador de vidrio estéril.
- Adicione una gota de azul de metileno, deje actuar por 3 min y disponga un cubreobjetos sobre esta muestra (Nota: Puede limpiar el exceso con la asistencia de papel toalla, si se evidencia alrededor del cubreobjetos).
- Observe en el microscopio utilizando los 3 objetivos: 4x, 10x, 40x. Dibuje y señale estructuras celulares (gemas, pared y núcleo) en el protocolo de informe denominado como anexo 1.

1.2 Aislamiento de Hongos y Bacterias en el suelo.

Materiales que debe aportar el estudiante: Muestra de suelo.

Materiales que debe aportar el laboratorio: Cajas de petri, Tubos Tapa rosca 16x150 mm, Frasco schott o erlenmeyer de 250 ml, pipeta de vidrio de 10 ml, Rastrillos, pipeta de vidrio de 1 ml, pipeteador, Agar PDA, Agar nutritivo, Balanza o gramera.

Una de las técnicas cuantitativas más utilizadas en laboratorio para aislamiento y conteo de microorganismos se realiza por medio de diluciones seriadas en base 10, donde a partir de una muestra, se diluye hasta una concentración más diluida, para posteriormente inocular sobre un medio de cultivo específico y poder cuantificar la población de microorganismos presentes en la muestra.

- Pese 10 g de suelo y mézclelos con 90 ml de solución salina estéril al 0.85%. Agite hasta disolver el suelo, esta solución se marcará como la dilución 10^{-1}

- Tome 1 ml y mézclelo en un tubo con 9 ml de solución salina estéril.

Nota: Esta corresponderá a la dilución 10^{-2} .

- Repita el paso anterior utilizando la dilución 10^{-2} como partida para preparar la dilución 10^{-3} . Realice el mismo procedimiento hasta obtener la dilución 10^{-6} .

Nota: siempre utilice una pipeta de vidrio y tenga presente el volumen o alícuota a utilizar y agite gentilmente antes de tomar la respectiva muestra desde cada tubo.

- Una vez tenga las diluciones realizadas, tome 0.1 ml de la dilución 10^{-6} y dispéñselas sobre el medio de cada caja de Petri con agar nutritivo (AN) para bacterias y Agar PDA para hongos. Realice un duplicado para cada medio y dilución.
- Utilizando la misma pipeta, tome 0.1 ml de la dilución 10^{-4} y dispéñselas en una caja de Petri con AN y PDA. Realice un duplicado.
 - Utilizando la misma pipeta, tome 0.1 ml de la dilución 10^{-2} y dispéñselas en una caja de Petri con agar nutritivo. Realice un duplicado.
- Realice una siembra masiva sobre el medio con ayuda de un rastrillo, disperse cada gota homogéneamente sobre la superficie completa del medio de cultivo. Asista esta labor con un rastrillo de plástico estéril para todas las cajas de Petri utilizadas. **Nota: disperse primero aquellos montajes correspondientes a la dilución mayor.**
- Primero las dos cajas de 10^{-6} , luego las dos de 10^{-4} y finalmente las dos de 10^{-2} .
- Marque las tapas de las cajas de Petri e incube a 37 °C por 2 días para el caso de Bacterias en Agar nutritivo y a 25°C para el caso de Hongos en Agar PDA.

Nota: el docente a cargo o el técnico de laboratorio se encargará de retirarlas de la incubadora y dejarlas en refrigeración hasta la segunda sesión.

1.3. Aislamiento de Hongos a partir de una muestra de fruta.

Materiales que debe aportar el estudiante: Fruta con presencia de Moho, bisturí o cuchilla.

Materiales que debe aportar el laboratorio: incubadora a 25 grados, Caja de petri con agar PDA, Asa recta o aguja de disección.

- Escoger la muestra que lleva el estudiante a la práctica, observando la presencia macroscópica de moho.
- Con la ayuda de un bisturí y cerca del mechero, tomar un trozo de aproximadamente 1 cm x 1cm de la fruta que los estudiantes hayan

llevado a la práctica, el trozo debe contener parte de tejido con presencia del moho.

- Colocar la muestra obtenida anteriormente sobre una caja de Petri con agar PDA, dejar caer el trozo en la mitad, permitiendo el contacto directo de la muestra con el medio de cultivo.
- Tapar y marcar la caja con el nombre del estudiante o grupo de estudiantes e incubar a una temperatura de 25 ° Celsius por 5 días, utilice una incubadora de 18- 25 °C, por el contrario, si se encuentra en un clima cálido, dejarlas en un lugar fresco y seco que conserve dicha temperatura).

Actividad 2. Segundo encuentro in situ

- Asistir a la segunda sesión práctica de laboratorio de acuerdo con el lugar, fecha y hora pre-establecidos en la inscripción.
- llevar el protocolo de práctica para anotar los resultados producto de los montajes realizados en el primer encuentro.

2.1. Recuento de Bacterias y Hongos en una muestra de suelo.

- Realice el conteo de unidades formadoras de colonia (UFC) y repórtelos en el protocolo de acuerdo con la explicación brindada por el tutor, recuerde que debe tener en cuenta las cajas donde haya entre 30 y 300 UFC para el caso de bacterias y entre 20 y 200 para el caso de hongos.
- Una vez cuente con los recuentos por cada una de las diluciones sembradas en los medios proceda a realizar los cálculos para hallar el resultado como se observa en el siguiente ejemplo:

$UFC/g = N^{\circ}$ de colonias por caja (entre 30 y 300 para bacterias y entre 20 y 200 para hongos) x inverso de la dilución x 10 (factor de corrección). Los resultados deberán expresarse en dos cifras significativas, si es necesario debe correr la coma (,) y aumentar o disminuir el exponencial según sea el caso. (notación científica). No olvidar sacar promedio por duplicado. Ej: Dilución 10^{-2} caja 1 210 caja 2

198, el promedio sería 204, ahora, el cálculo es: $204 \times 10^2 \times 10 = 2.0 \times 10^{-6}$, si corremos la coma a la derecha 20×10^{-5} UFC/g

Informe sus resultados al grupo de clase y en el protocolo de laboratorio.

2.2. Tinción de Gram.

Materiales que debe aportar el laboratorio: Láminas portaobjetos, láminas cubreobjetos, kit de Gram, aceite de inmersión.

- De los recuentos anteriores, escoja una colonia de bacteria, la que más le llame la atención y quiera identificar su morfología microscópicamente.
- Con ayuda de un asa redonda, cerca del mechero tome una pequeña muestra de la colonia.
- Sobre una lámina portaobjetos, dispense una pequeña gota de agua y homogenice la muestra, luego realice un extendido sobre la lámina portaobjetos y deje secar a temperatura ambiente.
- Una vez el frotis o extendido estén secos, proceda a fijar con calor la muestra, realizando entre 3 y 4 pases rápidos sobre la llama del mechero.
- Cubra la muestra con cristal violeta y deje actuar por 1 minuto. Elimine el exceso y lave con agua suavemente, sólo para retirar.
 - Aplique lugol a la muestra y deje actuar por 1 minuto. Elimine el exceso y lave con agua.
 - Adicione alcohol acetona y deje actuar por 30 segundos. Elimine el exceso y lave con agua.
 - Finalmente cubra con fuscina o safranina y deje actuar por 1 minuto. Elimine el exceso y lave con agua.

2.3. Observación microscópica de bacterias.

Materiales que debe aportar el laboratorio: Microscopio óptico, láminas portaobjetos, aceite de inmersión.

- Encienda el microscopio óptico y siga las instrucciones del tutor.
- Ubique la lámina portaobjetos, adicione una gota de aceite de inmersión y utilizando el objetivo de 100x, proceda a enfocar.
- Dibuje y señale las estructuras celulares que observa, (forma de cocos o bacilos y tipo de tinción que tomaron, si son grampositivos o gramnegativos). Proceda a realizar los dibujos y resultados en el protocolo de práctica.

2.4. Observación microscópica de Hongos.

Materiales que debe aportar el laboratorio: Microscopio óptico, láminas portaobjetos, láminas cubreobjetos, Azul de lactofenol, Asas rectas o aguja de disección.

- Revise el crecimiento micelial observado alrededor de la muestra colocada en el centro de la caja de petri. Si no obtuvo crecimiento puede utilizar las cajas de los recuentos correspondientes a hongos en PDA.
- Tome una lámina portaobjetos y agregue una gota de azul de lactofenol, con ayuda de un asa recta o aguja de disección, arrastre un poco del micelio del hongo y dispóngalo sobre el reactivo.
- Disgregue la muestra intentando separar las hifas sobre la lámina.
- Coloque sobre la muestra una lámina cubre objetos y proceda a revisar en el microscopio utilizando los siguientes objetivos: 4x, 10x y 40x.
- Dibuje y señale las estructuras celulares (hifa, septo y estructuras reproductivas como conidias y conidióforos) en el protocolo anexo de laboratorio.

Evidencias de trabajo independiente:

Las evidencias de trabajo independiente para entregar son:

- Asistir a las dos sesiones de laboratorio programadas.
- Realizar el quiz orientado por el tutor en el primer encuentro.
- Entregar el protocolo de práctica de acuerdo a las indicaciones del tutor.

Evidencias de trabajo grupal:

En esta actividad no se requieren evidencias de trabajo grupal:

4. Lineamientos generales para la elaboración de las evidencias

Para evidencias elaboradas **de forma independiente**, tenga en cuenta las siguientes orientaciones:

El estudiante debe asistir a las dos sesiones de práctica obligatoriamente.

Todos los integrantes del grupo deben participar con sus aportes en el desarrollo de la actividad.

En cada grupo deben elegir un solo integrante que se encargará de entregar el producto solicitado en el entorno o escenario que haya señalado el docente.

Antes de entregar el producto solicitado deben revisar que cumpla con todos los requerimientos que se señalaron en esta guía de actividades de componente práctico.

Solo se deben incluir como autores del producto entregado, a los integrantes del grupo que hayan participado con aportes durante el tiempo destinado para la actividad.

Tenga en cuenta que todos los productos escritos independientes o grupales deben cumplir con las normas de ortografía y con las condiciones de presentación que se hayan definido.

En cuanto al uso de referencias considere que el producto de esta actividad debe cumplir con las normas Elija un elemento.

5. Situaciones de orden académico

Considere que en el acuerdo 029 del 13 de diciembre de 2013, artículo 99, se considera como faltas que atentan contra el orden académico,

entre otras, las siguientes: literal e) "El plagiar, es decir, presentar como de su propia autoría la totalidad o parte de una obra, trabajo, documento o invención realizado por otra persona. Implica también el uso de citas o referencias faltas, o proponer citas donde no haya coincidencia entre ella y la referencia" y literal f) "El reproducir, o copiar con fines de lucro, materiales educativos o resultados de productos de investigación, que cuentan con derechos intelectuales reservados para la Universidad."

Las sanciones académicas a las que se enfrentará el estudiante son las siguientes:

- a) En los casos de fraude académico demostrado en el trabajo académico o evaluación respectiva, la calificación que se impondrá será de cero puntos sin perjuicio de la sanción disciplinaria correspondiente.
- b) En los casos relacionados con plagio demostrado en el trabajo académico cualquiera sea su naturaleza, la calificación que se impondrá será de cero puntos, sin perjuicio de la sanción disciplinaria correspondiente.