
Aislamiento de hongos filamentosos en suelos de Cerro Canajagua provincia de Los Santos y su potencial uso como biocontroladores

Emily Espino^{1*}, July Concepción^{2*}, Alexis de la Cruz^{3*}

^{1,2}Estudiantes de Recursos Naturales, Universidad Católica Santa María La Antigua

³Profesor de Microbiología, Universidad Católica Santa María La Antigua

*Autor para Correspondencia. E-mail: alexisdela@gmail.com

Recibido: 19 de febrero de 2020

Aceptado: 23 de marzo de 2020

Resumen

Los hongos del suelo desempeñan funciones en los procesos de descomposición que mineralizan y reciclan nutrientes de plantas. En el suelo, los hongos interactúan con una compleja comunidad microbiana que incluye: bacterias, actinomicetos (actino bacterias) y pequeños invertebrados. Los hongos son una parte importante de la cadena alimenticia en el suelo, principalmente para la mesofauna que habita en el suelo (Bonkowski et al., 2000). Esta evaluación consistió en recolectar muestras de suelo, hojas y troncos en distintas áreas de la provincia de Los Santos, aislando hongos para el uso como control biológico contra microorganismos como Garrapatas de perro (*Rhipicephalus sanguineus*) y Gorgojos (*Curculionidae*), la mayor ocurrencia de aislamiento fue de *Aspergillus* spp con un 55%, siendo efectivos en 415 de infectividad sobre *Rhipicephalus sanguineus* (garrapatas). Se concluye que hay una gran diversidad de hongos para control biológico.

Palabras Clave: Hongos Filamentosos, Cerro Canajagua, Controlador biológico.

Abstract

Soil fungi play roles in decomposition processes that mineralize and recycle plant nutrients. In the soil, fungi interact with a complex microbial community that includes: bacteria, actinomycetes (actinobacterias) and small invertebrates. Fungi are an important part of the food chain in the soil, mainly for mesofauna living in the soil (Bonkowski et al., 2000). This evaluation consisted in collecting soil samples, leaves and logs in different areas of the province of Los Santos, isolating fungi for use as biological control against microorganisms such as dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) and weevils (*Curculionidae*), It is concluded that there is a great diversity of fungi for biological control.

Keywords: Filament fungi, Cerro Canajagua, Biological controller.

1 Introducción

Los Hongos filamentosos están formados por una serie de ramas tubulares llamadas hifas, el conjunto de las cuales forman el micelio. Se reproducen por la formación de esporas, las cuales pueden ser pigmentadas y le dan el color al hongo.

Se caracterizan por presentar crecimiento rápido, tener reservorios naturales en el suelo, plantas, animales y vegetales muertos, crecen a temperaturas de 25 – 30°C y sus esporas o conidios son transportados por el aire, son normalmente inhalados y presentan gran resistencia en el medio ambiente.

La mayoría de los hongos filamentosos de interés clínico y vegetal, tienen una fase de reproducción sexual (telomorfa), pero es su forma asexual (Anamorfa) la que casi siempre produce las enfermedades y es observada en las muestras, (Makron Books, 1997).

Control biológico. Es un método de control de plagas, enfermedades y malezas que consiste en utilizar organismos vivos con objeto de controlar las poblaciones de otro organismo. Posee muchas ventajas entre las que se pueden destacar, la resistencia de las plagas al control biológico. (Sanidad vegetal. Colectivo de autores, 1992).

Las mayores abundancias de hongos se hallan en las capas u horizontes superficiales del suelo, donde el microclima, ambiente y disponibilidad de recursos nutricionales son favorables para el desarrollo y crecimiento de hongos (Lavelle & Spain 2001), pero escasos a causa de la compactación de los suelos, agricultura convencional y aplicación de sustancias químicas (Coyne 2000).

Los hongos del suelo de regiones áridas, semiáridas, hasta en regiones tropicales no han sido estudiados ampliamente (Christensen 1969, Flanagan 1981, Domsch et al. 1980).

En zonas áridas son característicos los hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* (Flanagan 1981) *Penicillium* es abundante en temperaturas y climas fríos, mientras *Aspergillus* predominan en climas templados, sin embargo, todos los hongos son regulados por la cantidad y calidad del sustrato (Paul 2007).

El Objetivo de esta investigación fue aislar hongos de suelo, para ser usado como controladores biológicos.

2 Materiales y Métodos

2.1 Áreas de Estudios

Las áreas del estudio se localizaron en Cerro Canajagua, Provincia de Los Santos, República de Panamá, ubicado geográficamente entre las coordenadas 7°37'18" N 80°25'31" W / 7.62165, -80.42538

La caracterización, tiene aproximadamente 830Mts sobre el nivel del suelo natural, con una vegetación de más de 47,000 hectáreas, tierras privadas semi protegidas, con una variedad de árboles nativos y flores.

Palmira, ubicado geográficamente entre las coordenadas 7°40'40" N 80°21'00" W

Nuario, ubicado geográficamente entre las coordenadas 7.5333°N 80.3333°W

El Oro, ubicado geográficamente entre las coordenadas

Flor Amarilla, ubicado geográficamente entre las coordenadas 7°40'0" N 80°23'0W

2.2 Toma de muestra en campo

Nos dirigimos hacia los 5 lugares de muestreo, donde colectamos diferentes tipos de hojas, troncos y suelo. En total se recolectaron 16 muestras. colocamos cada tipo en un sobre, rotulamos por tipo de muestra y lugar, las muestras de suelo se añadieron en bolsas ziploc. Se almacenaron en el laboratorio para luego ser procesadas.

2.3 Procesamiento de las muestras en el laboratorio

Para empezar el proceso se recortaron 5 cuadros por cada muestra, pasaron a ser desinfectados bajo el orden de vasos químicos que contenían agua con cloro+agua+alcohol+agua, se dejaron secar por 10 minutos. Se preparó el medio de cultivo con *Difco Sabouraud*, colocándolo luego en el auto clave para que se solidificara. Se procedió a llenar los platos Petri hasta la mitad dejando enfriar, sembrar los 5 cuadros de hojas por cada muestra que fueron extendidas sobre la superficie de los medios de cultivo papa dextrosa agar (PDA), rotular según su procedencia, las incubamos por 7 días a una temperatura de 30° C. Para el cultivo de muestras de suelo colocar 4 tubos de ensayo en gradilla, poner 10ml de agua destilada en cada uno, preparamos el medio en los platos Petri, pesamos 0.1g de cada muestra en la cámara de bioseguridad con un isopo recolectamos la muestra, colocamos en cada plato e incubar por 7 días a 30° C.

Al pasar los 7 días observamos el crecimiento de cada muestra, posteriormente de acuerdo al color, forma, con un aza bacteriológica se hizo el repique a un medio definitivo (PDA) e incubadas por 7 días a 30°.

2.4 Descripción macro y microscópicas.

Las características macroscópicas de las UFC s se describieron según Watanabe (2010), fueron descritos a los siete días después de la incubación por el anverso y re-verso que presentaban las UFC s en caja Petri, por Anverso, de acuerdo a las características del cultivo como: i) color de la superficie y contorno de la colonia, ii) textura, iii) color del pigmento exudado y iv) forma de la colonia y del margen, Reverso, de acuerdo i) al color de la parte interior, media y borde de la colonia, ii) superficie interior y iii) exterior de la colonia Para observaciones preliminares del hongo filamentosos al microscopio, se empleó la técnica de la cinta pegante (Díaz et al. 1999), que consiste en extraer fragmentos de la colonia presionando suavemente el lado pegante de la cinta sobre el micelio aéreo del hongo y poner la cinta sobre porta objetos con una gota de **azul de metileno** y observar al microscopio las características morfológicas del micelio y órganos reproductivos con aumentos de 40X para su identificación taxonómica de género.

La identificación de géneros de hongos filamentosos fue realizada con la técnica de micro cultivo (Díaz et al. 1999), posteriormente se observó al microscopio las estructuras de los hongos filamentosos, se fotografió el micelio y estructuras reproductivas, las fotografías fueron comparadas con descripciones originales. La identificación taxonómica presumible de los géneros de hongos

filamentosos fue tomando en cuenta las características microscópicas, luego se comparó con la literatura de claves taxonómicas de Barnett & Hunter 1998, Kirk et al. 2008, Watanabe 2010, Samson et al. 2014. Aquellas No identificados fueron denominados como cepas notipificadas.

Procedimos al enfrentamiento Entomopatígeno con garrapata (*Rhipicephalus sanguineus*) y Gorgojos (*Curculionidae*) con las esporas de cada hongo aislado, se incubaron por 7 días a 30° C. Luego a través del microscopio se observó cual tipo de hongos resulto ser agente patógeno con los diferentes organismos.

3 Aislamiento e Identificación

Capacidad Entomopatógica

Los hongos una vez aislado e identificados fueron diluidos en agua destilada estéril e inóculos de esporas se colocaron en tubo de ensayos, en cada tubo se colocó un espécimen de garrapata (*Rhipicephalus sanguineus*) y Gorgojos (*Curculionidae*), se aislaron en tubos vacíos a una temperatura de 30° por 7 días, se procedió a observar si se presentaba signos de ataque o infección por hongos.

4 Resultados y Discusión

| Especie | Cantidad de Muestra | Ubicación |
|------------------------|---------------------|-----------------|
| Aguacate | 8 | El Oro |
| Mango | 7 | El Oro |
| Troncos de limón | 7 | Palmira |
| Naranjilla | 10 | Palmira |
| Guácimo | 10 | Nuario |
| Naranjilla | 10 | Nuario |
| Hoja de tallo | 8 | Flor Amarilla |
| Hojarasca | 9 | Cerro Canajagua |
| Pino | 4 | Cerro Canajagua |
| Hojas con vellosidades | 3 | Cerro Canajagua |
| Desconocido | 4 | Cerro Canajagua |
| Suelos | Muestra | |
| El Oro | 1 | El Oro |
| Nuario | 1 | Nuario |
| Palmira | 1 | Palmira |
| Flor Amarilla | 1 | Flor Amarilla |
| Cerro Canajagua | 1 | Cerro Canajagua |

Tabla 1. Control de la cantidad de muestras tomadas en las diferentes ubicaciones para el proyecto.

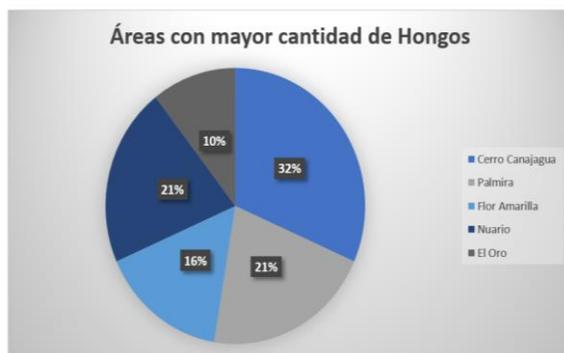


Figura 1. Áreas con mayor cantidad de hongos.

El Área que mayor porcentaje de hongos fue el Cerro Canajagua con un 32%, luego Nuario y Palmira que se detectó un 21% de hongos, en Flor Amarilla un 16% y El Oro con solo 10% de afectación por hongos filamentosos.

Antagónica

| Ubicación | Tipo de hongo | Tipo de insectos |
|---------------------|----------------|------------------|
| 1. El oro | Aspergillus | No reaccionó |
| 1.2 El oro | Rhizopous | Gorgojo |
| 2.2 Nuario | Aspergillus | Garrapatas |
| 3.2 Cerro Canajagua | Geotrichum | Garrapatas |
| 5. Cerro Canajagua | Aspergillus | Garrapatas |
| 5.1 Cerro Canajagua | Metarhizium | Garrapatas |
| 5.2 Cerro Canajagua | Penicillium | Gorgojos |
| 6.1 Flor Amarilla | Aspergillus | Garrapatas |
| 6.2 Flor Amarilla | Aspergillus | Gorgojos |
| 7. Palmira | Aspergillus | No reaccionó |
| 7.1 Palmira | fusarium | Garrapatas |
| 7.2 Palmira | Aspergillus | No reacciono |
| 8.1 Cerro Canajagua | Aspergillus | Garrapatas |
| 9.1 Cerro Canajagua | Aspergillus | No reaccionó |
| 11.1 Nuario | Aspergillus | Gorgojo |
| 11.2 Nuario | Cholelutrichum | No reaccionó |
| Suelo Flor Amarilla | Cholelutrichum | gorgojos |
| Suelo Nuario | Metarhizium | Gorgojos |
| Suelo El Oro | Penicillum | Gorgojos |
| Suelo Canajagua | Aspergillus | Gorgojos |

Tabla 2. Prevalencia de hongos según su ubicación

Podemos observar que el hongo que prevaleció el *Aspergillus* con un 55%, *Metarhizium* 10%, *Penicillium* 10%, *Cholelutrichum* 10%, *Rhizopous* 5%, *Fusarium* 5% y *Geotrichum* 5%.

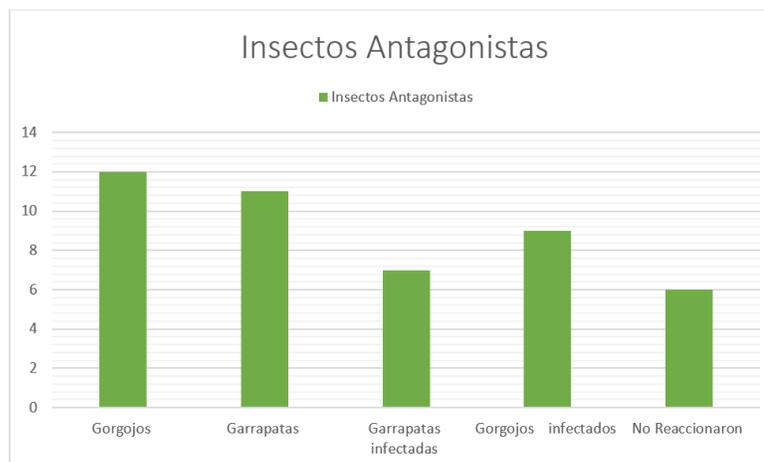


Figura 2. Cantidad de insectos y su infección

Se colocaron a enfrentar 10 *Rhipicephalus sanguineus* y 13 *Curculionidae*

La cantidad de *Rhipicephalus sanguineus* infectadas por hongos fue de un 41%, Infección de hongos en *Curculionidae* fue de 32%, No se observó reacción en un 27%.

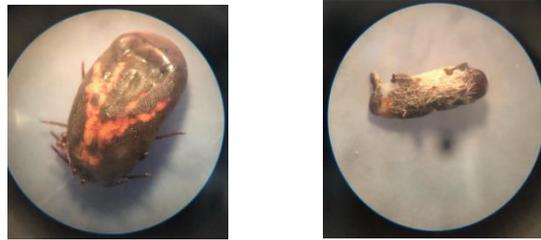


Figura3. *Rhipicephalus sanguineus* y *Curculionidae* infectados por hongos.

De 11 tubos con *Rhipicephalus sanguineus* fueron atacadas 7 de ellas con *Aspergillus* y de 12 tubos con *Curculionidae* se infectaron 9 con diferentes hongos como *Rhizopus*, *Metarhizium*, *Penicillium* entre otros.



Figura 4. Desarrollo Macroscópico de las colonias de hongos filamentosos

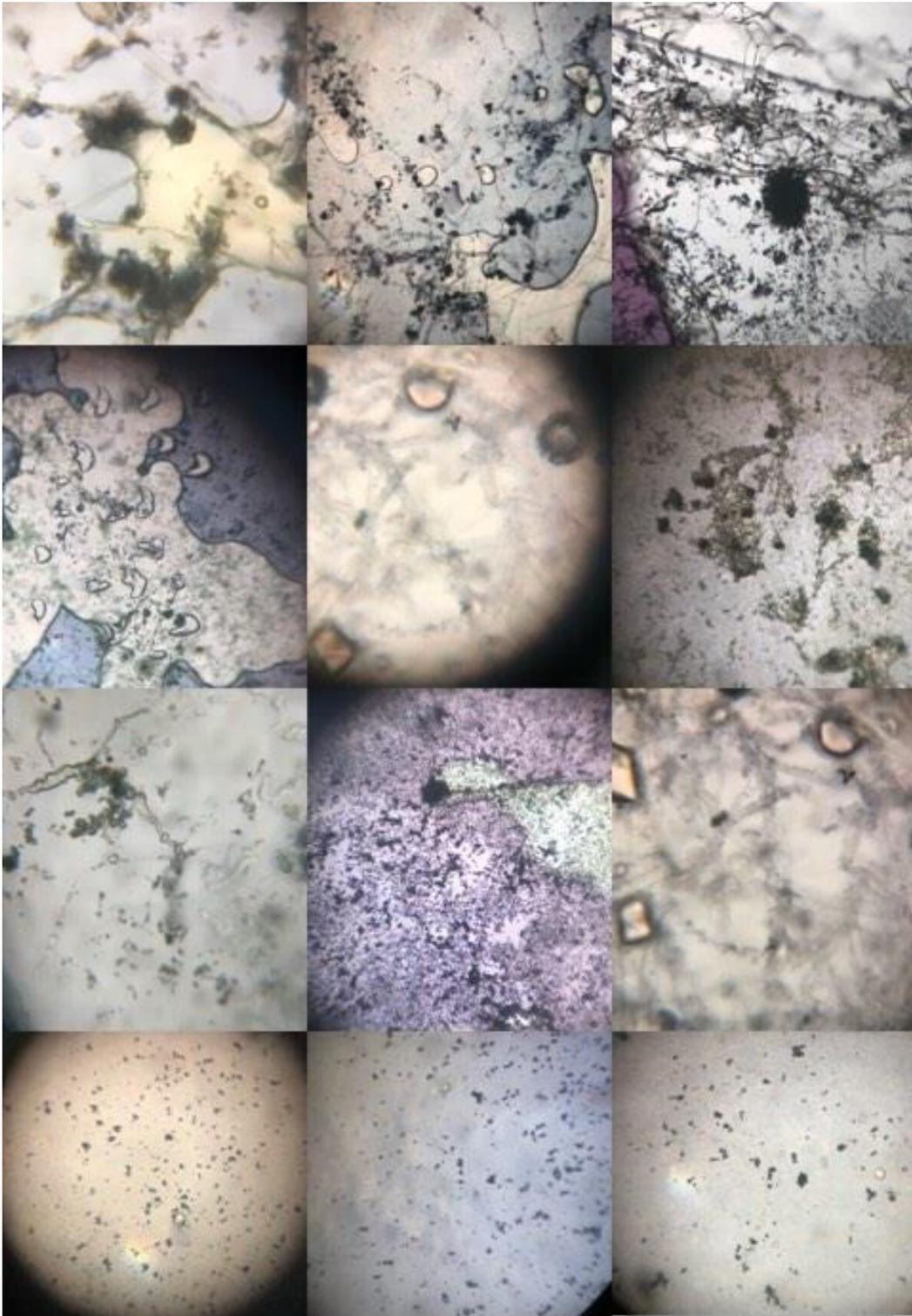


Figura 5. Observaciones microscópicas a 40X de las colonias de hongos filamentosos

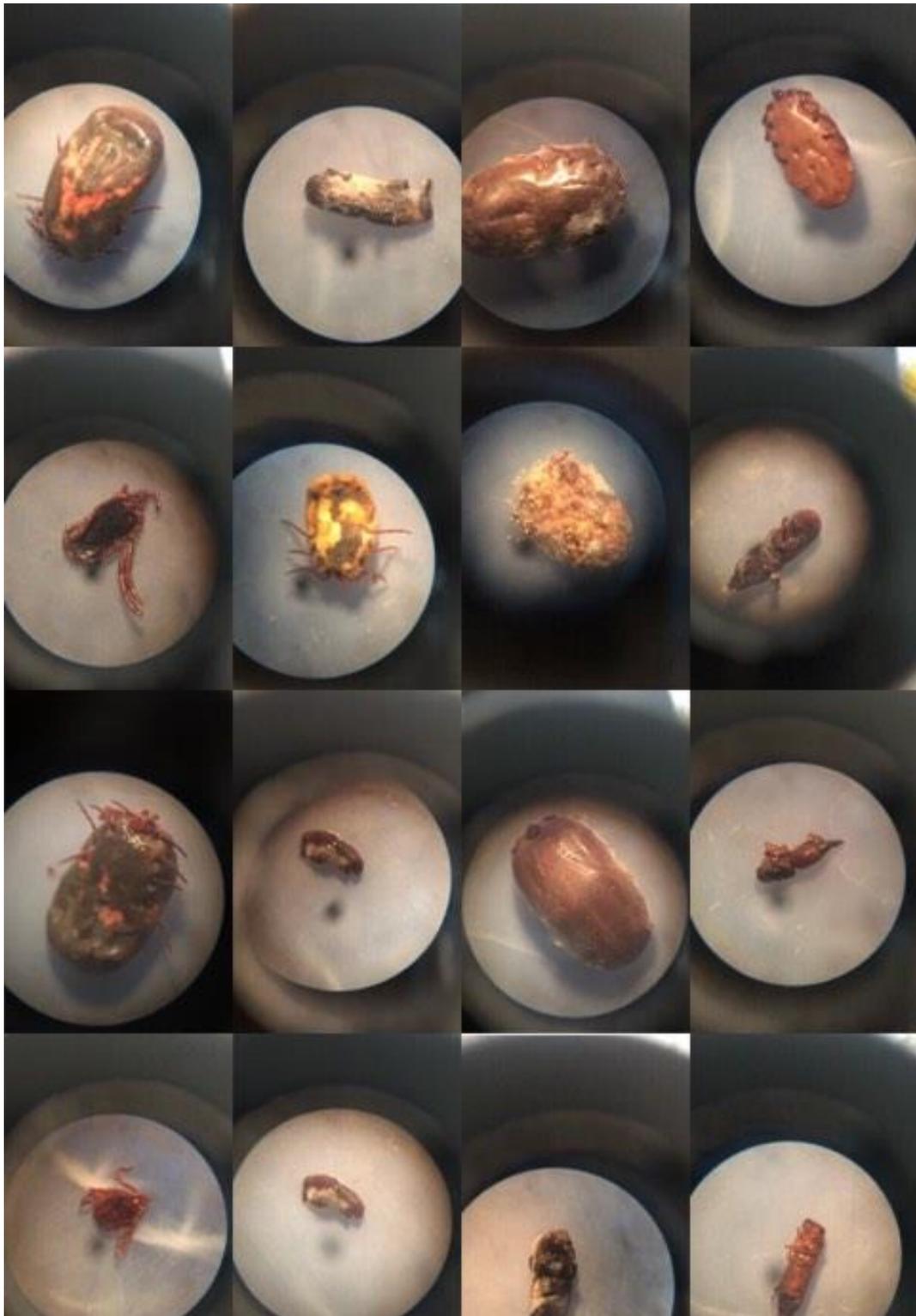


Figura 6. Observaciones microscópicas Entomopatógica

5 Conclusiones

- Se concluye que se determinó una gran cantidad de hongos en las 5 ubicaciones de muestreo.
- Entre todos los hongos aislados el más dominante fue el *Aspergillus*.
- Las *Rhipicephalus sanguineus* resultaron ser más infectadas con *Aspergillus*.
- El sitio más afectado con presencia de hongos fue el Cerro Canajagua.

6 Agradecimientos

Primeramente, darle gracias a Dios todopoderoso por mantenernos con salud, motivación y dedicación para llevar a cabo este proyecto.

Al Ministerio de Salud por permitirnos desarrollar la fase experimental del proyecto en el Laboratorio de Calidad de Agua en la Villa De Los Santos.

7 Bibliografía

- 1- Lavelle P, Spain AV. Soil ecology. Dordrecht, NL. Kluwer Academic Publishers. 2001. p. 654. (Lavelle & Spain 2001)
- 2- PELCZAR, M.J. et al. Microbiología, conceitos e aplicações. Son Paulo, (Makron Books, 1997)
- 3- Coyne M. Microbiología del Suelo: Un Enfoque Exploratorio. Ed. Paraninfo. España. 2000. p. 416. (Coyne 2000).
- 4- Flanagan PW. Fungal taxa, physiological groups and biomass: a comparison between ecosystems. In The fungal community, D. T. Wicklow, and G. C. Carroll (eds.). Marcell Dekker, Nueva York. 1981. p. 569-592. (Christensen 1969, Flanagan 1981, Domsch et al. 1980)
- 5- Paul EA. Soil Microbiology, Ecology, and Biochemistry. 3rd ed. Burlington, US. AP. 2007. p.514. (Paul 2007)
- 6- (Sanidad vegetal. Colectivo de autores, 1992).
- 7- Folgueras, Maryluz. 2008. Microbiología General. Conferencia a estudiantes de Tercer Año de Ingeniería Agropecuaria en el Centro Universitario Municipal (CUM), Santo Domingo, Villa Clara, Cuba, 14 p.
- 8- Pelczar, M. J. Y R. D. 1966. Reid. Microbiología. Ediciones del Castillo S. A. Madrid, España 64 pp.
- 9- GarcíaR. (1993). Edit. Microbiología Pecuaria. Tomo I-II.
- 10- Roque, Eugenio. FUNDAMENTOS DE PARASITOLOGÍA Y ENFERMEDADES PARASITARIAS EN LOS ANIMALES DOMÉSTICOS. Universidad Agraria de La Habana. Editorial Pueblo y Educación. 2016.