

Determination and Comparison of Microfungi in Soil in a Premontane Wet Forest in Dagua, Valle del Cauca

Paola A. Mendoza A.
Universidad del Valle

Celina Torres G.
Universidad del Valle

Received: May 4, 2016

Accepted: December 13, 2016

Pag. 27-35

Abstract

The aim of this study was to know the variations in fungal microbiota as well as to compare diversity, richness and abundance of soil filamentous fungi in two areas, disturbed and non-disturbed tropical wet soils (premontane-wet) in the municipality of Dagua, Valle del Cauca. Different genera of micro-fungi were identified and the diversity (Simpson), abundance and richness were calculated. 30 samples were taken during twelve months (15 in non-disturbed and 15 in disturbed tropical wet soils). For the isolation procedure four dilutions were used (10^{-2} – 10^{-5}) and seeded in PDA. For the identification, the samples were observed using an optic microscope.

The study found 17 genera for each area (disturbed and non-disturbed) and 27 morphotypes for both areas. The ANOVA analysis found no significant differences in diversity ($p=0.88$), abundance ($p=0.28$) and richness ($p=1.47$). Unique species were found in each area, such as, *Botriotrichum* morphotype, which was only found in the disturbed area. Likewise, *Penicillium* sp2, *Mortierella* sp1 and *Colletotrichum* sp were only observed in the non-disturbed area considering these morphospecies as being native from bh-PM.

Keywords: biodiversity, *Botriotrichum*, soil filamentous fungi, soil microbiology.

Determinación y comparación de microhongos del suelo de un bosque húmedo premontano en Dagua, Valle del Cauca

Resumen

Con el propósito de conocer las variaciones en la microbiota fúngica, al perturbar un terreno, se comparó la diversidad, abundancia y riqueza de hongos filamentosos del suelo en dos situaciones (bosque intervenido y bosque no intervenido) en un bosque húmedo premontano (bh-PM), en el municipio de Dagua, Valle del Cauca. Se determinaron los microhongos presentes y se calculó la diversidad (Simpson), la abundancia y la riqueza. Se tomaron 30 muestras (15 en el área intervenida y 15 en el área no intervenida) durante doce meses. Para el proceso de aislamiento, se utilizaron diluciones, desde 10^{-2} hasta 10^{-5} y se sembraron en PDA. Para la identificación, las muestras se montaron y se observaron en microscopio óptico.

Se identificaron 17 géneros en cada zona (Intervenida y no intervenida) con 27 morfotipos para ambas áreas. Se realizó una ANOVA factorial en donde no se encontraron diferencias significativas en diversidad ($p=0.88$), abundancia ($p=0.28$) y riqueza ($p=0.47$). Se hallaron especies únicas en cada área como el morfotipo *Botriotrichum* sp. el cual solo se encontró en el área intervenida. Así mismo, *Penicillium* sp2., *Mortierella* sp1 y *Colletotrichum* sp. se observaron únicamente en el área no intervenida, considerando estas Morfoespecies como propias del bh-PM.

Palabras clave: biodiversidad, *Botriotrichum*, hongos filamentosos de suelo, microbiología del suelo.

1 Introducción

Los hongos aportan más del 50% de la biomasa en el suelo y son los organismos más dominantes en la microbiota debido a la extensa longitud del diámetro de sus filamentos y la amplia red que predomina en el lecho, en descomposición, en los estratos orgánicos de suelos boscosos o selváticos. De igual manera, su dominancia se debe a que poseen un amplio rango de funciones, incluyendo su papel como simbioses, patógenos de plantas y animales y oligótrofos y a que resisten condiciones de pH entre 2.0-9.0, con un óptimo entre 5.0-6.0^(1,2); sin embargo, su rol más importante en el suelo, desde el punto de vista ecológico, es la descomposición de la materia orgánica desde los azúcares simples y aminoácidos hasta polímeros muy resistentes como la lignina y complejos de ácidos húmicos del suelo en ambientes ácidos, ya que poseen alta tolerancia comparado con las bacterias heterótrofas⁽³⁾.

Los microorganismos y sus actividades no se encuentran a lo largo de todo el perfil del suelo, se concentran únicamente en ciertos nichos o manchas hospederas tales como la rizósfera, tracto digestivo de algunos animales, cerca de sustratos orgánicos e inorgánicos disponibles. Conocer la diversidad, abundancia y riqueza de la microbiota fúngica permite determinar si hay variaciones en estos aspectos en un bosque intervenido, comparado con un bosque no intervenido^(4,5).

Las características ecológicas más importantes de los hongos pueden ser resumidas como sugiere Harley⁽⁶⁾: 1) habilidad para alterar su ambiente vía la producción de enzimas extracelulares y la excreción de productos finales de su metabolismo (nutrimentos, inhibidores y antibióticos); 2) Su gran superficie de área más la estructura hifal, las cuales les permiten un crecimiento expandido y rápido, los capacita para la penetración de sustratos, tales como hojarasca y madera; 3) La habilidad de los hongos septados de formar fusiones hifales que les permiten producir redes de hifas y su heterocariósis (con mayor posibilidad para incrementar la variabilidad genética); 4) La habilidad de acumular nutrientes en su talo; 5) El hecho de que actúan como fuente de nutrientes para otros organismos, ya sea indirectamente por la producción de productos metabólicos solubles o directamente cuando la hifa es consumida por microartrópodos.

En esta investigación se determinó la diversidad, abundancia y riqueza en la microbiota fúngica de dos áreas de bosque, estando uno intervenido por el hombre y el otro no; se determinó el impacto que tiene o no el área intervenida y qué tan diferentes son estas dos áreas entre sí. Así mismo, se aislaron e identificaron los hongos filamentosos hallados como componentes microbiológicos del ecosistema de bh-PM.

2 Materiales y métodos

El estudio se realizó en el municipio de Dagua, Valle del Cauca, en la parcelación Monterrico en un bh- PM. Se tomó el pH del suelo, la temperatura ambiente, la humedad relativa y la altura del terreno antes de iniciar la toma de muestras.

Se evaluaron dos áreas en la misma parcelación (intervenido y no intervenido). El área intervenida se encontró con cultivos de cítricos, plantas medicinales y aromáticas. De

cada área se visitaron tres (3) zonas y por cada una se tomaron cinco (5) muestras de 0.5 Kg del horizonte A, a una profundidad de 20 cm y muestreos cada 1.5 mts. Las muestras se conservaron a una temperatura de 11°C. (Figura 1).



Figura 1. Bosquejo de la zona de muestreo.

Las muestras tomadas en campo se procesaron mediante diluciones en placa en superficie desde 10^{-2} hasta 10^{-5} en medio de cultivo PDA (Figura 2). Se realizaron cinco (5) repeticiones por dilución. Los hongos que crecieron en el medio se caracterizaron mediante microscopio óptico con ayuda de claves de Gilman ⁽⁷⁾ y Watanabe ⁽⁸⁾.

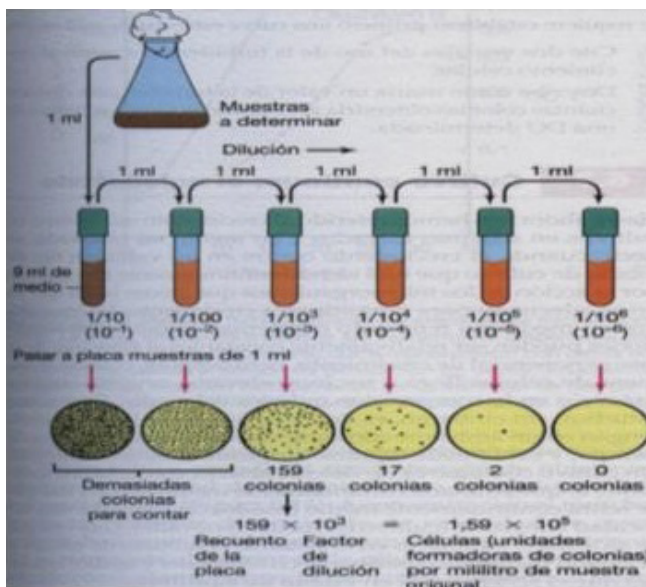


Figura 2. Método de dilución en placa.

2.1 Análisis estadístico

Con el programa STATISTICA 7 se realizó una prueba de ANOVA factorial para comparar las áreas y determinar si hubo diferencias significativas en diversidad, riqueza y abundancia entre la microbiota fúngica de ambos suelos.

3 Resultados

El pH registrado fue de 5.6 (área intervenida) y 5.4 (área no intervenida). La temperatura y la humedad relativa registrada fueron de 31°C y 70% en el área intervenida y 30°C y 72% en la no intervenida.

Se obtuvieron 17 géneros por cada área de muestreo, determinando 27 morfotipos y cinco (5) especies. Los morfotipos *Penicillium* sp2. y *Colletotrichum* sp. se presentaron en el área no intervenida en la zona 6 y *Mortierella* sp1 se presentó únicamente en las zonas 4 y 5, siendo este género representativo y único de áreas no intervenidas. *Botryotrichum* sp. sólo se presentó en el área intervenida.

3.1 Riqueza de especies

El área intervenida que registró mayor riqueza de géneros fue la zona 1 con 14 géneros y 18 morfotipos. En el área no intervenida, fue la zona 6 también con 14 géneros y 19 morfotipos (Tabla 1).

Tabla 1. Géneros y morfotipos en las diferentes zonas de muestreo.

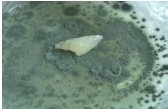
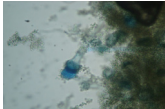
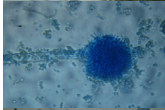
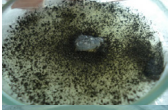
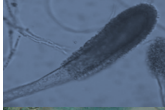
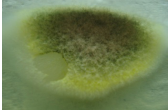
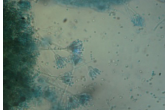
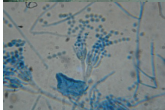
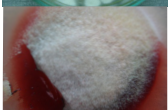
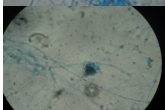
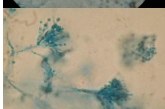
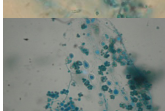
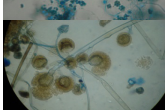
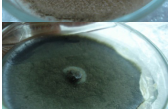
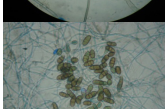
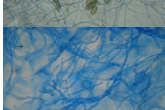
	Área	No. de Géneros	No. de Morfotipos
Intervenido	Zona 1	14	18
	Zona 2	9	16
	Zona 3	11	16
No intervenido	Zona 4	11	16
	Zona 5	11	17
	Zona 6	14	19

3.2 Abundancia de especies

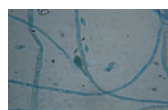
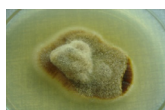
Las especies más representativas en el área intervenida fueron *A. niger* con 178 unidades formadoras de colonia (ufc/g) y *A. fumigatus* con 154 ufc/g. En menor proporción están *A. flavus* con 92 ufc/g, *Fusarium* sp1 58 ufc/g y *Fusarium* sp2. 48 ufc/g como los más representativos en el área intervenida.

Para el área no intervenida, las especies más representativas fueron *A. fumigatus* con 174 ufc/g, *A. niger* con 134 ufc/g, *A. flavus* con 119 ufc/g, *Fusarium* sp1 con 42 ufc/g y *Paecilomyces* sp. con 57 ufc/g (Tabla 2).

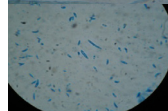
Tabla 2. Géneros y especies caracterizadas.

Especie	Características	
	Macro	Micro
<i>Aspergillus fumigatus</i>		
<i>Aspergillus flavus</i>		
<i>Aspergillus niger</i>		
<i>Aspergillus sp1.</i>		
<i>Penicillium sp1.</i>		
<i>Penicillium sp2.</i>		
<i>Penicillium sp3.</i>		
<i>Penicillium sp4.</i>		
<i>Trichoderma</i>		
<i>Mucor</i>		
<i>Curvularia</i>		
<i>Pythium</i>		

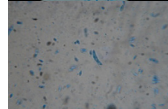
Botryotrichum



Fusarium sp1.



Fusarium sp2.



Fusarium roseum



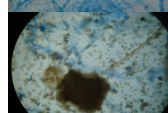
Cladosporium



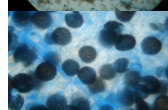
Verticillium



Rhizopus



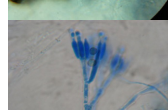
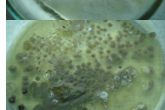
Periconia



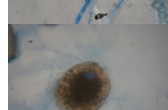
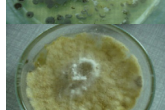
Pestalotia



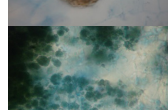
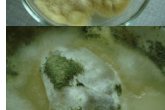
Paecilomyces



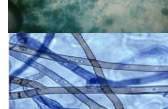
Mortierella sp1.

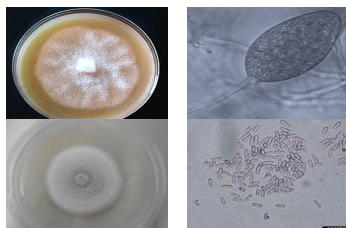


Mortierella sp2.



Rhizoctonia



*Phytophthora**Colletotrichum*

3.3 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizó el programa STATISTICA 7 y se realizó ANOVA multifactorial para la diversidad (Simpson), abundancia y riqueza de especies. Al hacer el análisis estadístico, no se detectaron diferencias significativas en diversidad ($p=0.88$), abundancia ($p=0.28$) y riqueza ($p=0.47$). Sin embargo, se puede evidenciar una pequeña diferencia que hace referencia a una disparidad entre zonas.

4 Discusión

Las condiciones de temperatura, humedad relativa y pH del bosque h-pm son adecuadas para el crecimiento óptimo de los hongos filamentosos. Además, estas condiciones ambientales favorecen su crecimiento por la ausencia de competencia microbiana para la toma de nutrientes del suelo, convirtiéndolos en la mayor población responsable de la transformación bioquímica en este hábitat ⁽⁹⁾.

Los géneros más representativos en todo el bosque húmedo-premontano fueron *Aspergillus* y *Fusarium*; el primero se considera saprofito facultativo. Este hongo es ubicuo por su capacidad para crecer en un rango amplio de temperatura y sobre sustratos con alta humedad relativa ⁽¹⁰⁾. Estas condiciones ambientales incrementaron en un 70% el crecimiento de *Aspergillus*, lo cual facilitó la colonización y dominancia de este género sobre los demás. *Fusarium*, es un hongo saprofito, abundante en suelos templados, puede ser patógeno facultativo, capaz de sobrevivir en el agua y suelo, alimentándose de materiales en descomposición. Su abundancia (9.7%) se debe a que poseen macro y microconidias que facilitan su reproducción y rápida dispersión ⁽¹¹⁾.

Penicillium, a pesar de que no es el género más abundante, presentó un mayor número de morfotipos, lo cual indica un gran acople y desarrollo del género a este tipo de suelo. Este hongo es considerado como saprofito facultativo, además de ser un moho muy común que se desarrolla sobre gran cantidad de sustratos. Además, es un género que no se afecta por la incidencia de la luz y esporula fácilmente en la oscuridad, confiriéndole ventajas sobre otros microorganismos ⁽¹⁰⁾.

Muchas de los taxones aisladas de suelo en esta investigación coinciden con las reportadas por Gualdrón ⁽¹²⁾ y Chitiva *et al.* ⁽¹³⁾: *A. flavus*, *A. fumigatus*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Mucor*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Trichoderma*.

Estos resultados permiten inferir que los géneros y las especies mencionadas son hongos propios de los ecosistemas de bosques húmedos-premontanos. Las diferencias

que se presentan entre los géneros encontrados en este estudio y los trabajos realizados anteriormente pueden explicarse, según Gualdrón ⁽¹²⁾, ya que la carga microbiana en el mismo bosque varía de acuerdo con la vegetación y el tipo de suelo, esto permite deducir también que así como la microbiota varía en el mismo bosque húmedo-premontano, varía también según el bosque estudiado

Al hacer un ANOVA factorial se observó que no hubo diferencias significativas en cuanto a riqueza, abundancia y diversidad, esto se debe, posiblemente, al tiempo de conversión de las tierras intervenidas; es decir, que los agroquímicos usados en las zonas utilizadas en la siembra de cítricos, plantas aromáticas y medicinales, los cuales fueron aplicados por mucho tiempo, pero en el último año fueron sustituidos por insumos biológicos, ayudaron a la reestructuración del mismo. Esto también se ve reflejado en el pH, ya que para ambos terrenos, el valor no es significativo, dando ambientes similares en ambas zonas. La presencia de especies raras como *Botryotrichum* en el área intervenida y *Colletotrichum* en el área no intervenida demuestran que la recuperación del suelo es diferente para cada área y se consideran como propias del bh- PM.

Trichoderma no fue determinante en el muestreo, ya que la cantidad no fue muy significativa, pero es importante resaltarlo debido su papel como biotransformador. Es utilizado por sus efectos benéficos para la agricultura y otras ramas afines, debido a su notable capacidad antagónica y degradante de agrotóxicos ⁽¹⁴⁾. Ayuda a controlar satisfactoriamente numerosas especies de hongos fitopatógenos y participa activamente en la recuperación del terreno intervenido.

Agradecimientos. Los autores agradecen a la Universidad del Valle, Departamento de Biología, Sección Botánica, al Laboratorio de Biología y al personal de la Parcelación Monterrico por permitirnos desarrollar el trabajo en sus instalaciones.

Referencias bibliográficas

1. Moeno Z. Correlación de la tasa de crecimiento radial y la tasa de crecimiento específico de hongos filamentosos aislados de la planta *Espeletia barclayana*. Tesis Microbiología Industrial. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá; 2000.
2. Parkinson D, Coleman DC. Microbial communities, activity and biomass. *Agriculture Ecosystems & Environment*. 1991; 34(1-4): 3-33.
3. Bezael L, Hadar Y, Cerniglia C. Enzymatic mechanisms involved in phenanthrene degradation by the white-rot fungus *Pleurotus ostreatus*. *Applied & Environmental microbiology*. 1997; 63: 2495-2501.
4. England L, Lee H, Trevors J. Bacterial Survival in Soil: Effect of Clays and Protozoa. *Soil Biology and Biochemistry*. 1993; 25(5): 525-531.
5. Hassink J. Effect of Soil Texture on The Size of The Microbial Biomass and on the amount of C and N Mineralized Per Unit of Microbial Biomass in Dutch Grassland Soils. *Soil Biology and Biochemistry*. 1994; 26(11): 1573-1581.

6. Harley JL. Fungi in ecosystems. *Journal of Animal Ecology*. 1972; 41(1): 1-16.
7. Gilman J. Manual de los hongos del suelo, Segunda Edición. México D.F., México: Continental S.A; 1963. 200-537.
8. Watanabe T. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi. Morphologies of cultured fungi and key to species. Boca Ratón, Estados Unidos: Lewis Publisher; 1994. pp 41-250.
9. Hättenschwiler S, Tiunov A, Scheu S. Biodiversity and Litter Decomposition in Terrestrial Ecosystems. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics*. 2005; 36: 191-218.
10. Correa N. Caracterización y diagnóstico de microorganismos fúngicos asociados a semillas de arazá (*Eugenia stipitata*) de la Amazonia colombiana. Tesis de pregrado. Universidad del Valle, Cali. Colombia; 2007.
11. Rodríguez MC, Torres LM, Tello JC, Blanco A, Palo EJ. Caracterización de las poblaciones de *Fusarium* Link de suelos de dehesas de Badajoz. *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*. 2001; 27: 433-437.
12. Gualdron C, Suarez AL, Valencia H. Hongos del suelo aislados de dos zonas de vegetación natural del Páramo de Chisacá, Colombia. *Caldasia*. 1997; 19(1-2): 235-245.
13. Chitiva A, Torrenegra R, Cabrera C, Díaz N, Pineda V. Contribución al estudio de microhongos filamentosos en los ecosistemas Páramo de Guasca y El Tablazo: Estudio preliminar de mohos de páramos colombianos. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana; 2007. URL http://www.javeriana.edu.co/gifuj/hongos %20ecosistemas_%20paramo.pdf.
14. Paez O, Bernaza G, Acosta M. Uso agrícola del *Trichoderma*. Instituto de Investigaciones de sanidad vegetal. La Habana. Cuba; 2006.

Dirección de los autores

Paola A. Mendoza A.

Departamento de Biología, Universidad del Valle, Cali - Colombia
 paolaandreamendoza7@gmail.com

Celina Torres G.

Departamento de Biología, Universidad del Valle, Cali - Colombia
 celina.torres@correounivalle.edu.co