

00377



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Facultad de Ciencias

**“DIVERSIDAD Y ABUNDANCIA DE LOS HONGOS  
MICROSCÓPICOS DEL SUELO DE UN TINTAL DE  
TABASCO, MÉXICO”**

## TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)**

P R E S E N T A

JOSÉ EDMUNDO ROSIQUE GIL

DIRECTOR DE TESIS: DR. JOAQUÍN CIFUENTES BLANCO

MÉXICO, D. F.

AGOSTO, 2004





Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

# POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS COORDINACIÓN



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MEXICO

Ing. Leopoldo Silva Gutiérrez  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 8 de diciembre del 2003, se acordó poner a su consideración el siguiente jurado para el examen de grado de Maestría en Ciencias Biológicas (Biología Ambiental) del alumno(a) **Rosique Gil José Edmundo**, con número de cuenta 501093673 con la tesis titulada: "**Diversidad y abundancia de los hongos microscópicos del suelo de un tinal de Tabasco**", bajo la dirección del(a) **Dr. Joaquín Cifuentes Blanco**

|             |   |
|-------------|---|
| Presidente: | Dr. Teófilo Herrera Suárez                |
| Vocal:      | Dr. Miguel Ulloa Sosa                     |
| Secretario: | Dr. Joaquín Cifuentes Blanco              |
| Suplente:   | Dra. María del Carmen González Villaseñor |
| Suplente:   | Dra. Gabriela Heredia Abarca              |

Sin otro particular, quedo de usted.

Atentamente  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F. a, 10 de agosto del 2004

Dr. Juan José Morrone Lupi  
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del interesado

Este trabajo fue realizado gracias al apoyo del programa de becas de Posgrado de CONACYT y DGEP y del proyecto DGAPA IN-206901.

El Comité Tutorial que dirigió y evaluó este trabajo durante los dos años que duró su realización estuvo integrado por:

Dr. Joaquín Cifuentes Blanco  
Dr. Miguel Ulloa Sosa  
Dra. Gabriela Heredia Abarca



**Quiero dedicar esta tesis a:**

**Marcela y Fernanda**

*Telperion y Laurelin* de mis días (God only knows what I can feel without you)

**Mis padres, Yolanda y José Gabriel**  
por todo el apoyo que me han dado para lograr mis objetivos

## Agradecimientos

Al Dr. Joaquín Cifuentes Blanco por abrirme las puertas de su laboratorio y proporcionarme todas las herramientas necesarias para llevar a cabo este trabajo, además de su amistad y consejos.

A la M. en C. Guadalupe Vidal por permitirme aprender un poco de su gran conocimiento sin el cual hubiera sido imposible terminar este trabajo, y sobre todo, por la paciencia.

A la Dra. Margarita Villegas por su amistad, sus consejos y la ayuda que me proporcionó en mi primera aventura en la enseñanza de la Micología.

A la Familia Hernández Cappello por abrirme las puertas de su casa: Lalo, Ursula, Olmo y en especial a Silvia por su apoyo, sus consejos, sus regaños, su confianza; sin ti no hubiera llegado donde estoy, este logro es tuyo también.

A todos los miembros (profesores y alumnos) del Herbario FCME de la Facultad de Ciencias con los que conviví durante la realización de este trabajo y que me ayudaron en todo, me ofrecieron su amistad y de los cuales aprendí mucho (sin orden de importancia, más bien de memoria): Mariana, Sigfrido, Ricardo, Violeta, José Luis Lilia, Alfonso, Felipe, Magdalena, Queta, Chayo, Michael. Espero no olvidar a alguien.

A todas esas personas que con su música y sus letras me han permitido ver la vida de una manera diferente.

## RESUMEN

Se tomaron dos muestras de suelo de un tinal localizado en las afueras de la ciudad de Villahermosa, Tabasco. Las muestras se tomaron en Mayo de 2002 (considerada época de seca) y en Octubre de 2002 (considerada época de lluvias). Las muestras fueron procesadas por dos técnicas para aislar los hongos microscópicos presentes en ellas: lavado de suelo y dilución de suelo. El aislamiento de los hongos se hizo en cajas de Petri con agar extracto de Malta. Se tomaron datos cualitativos y cuantitativos de los hongos microscópicos que crecieron en el medio de cultivo. Los datos cuantitativos fueron sometidos a las siguientes pruebas estadísticas: prueba de signos ordenados de Wilcoxon, prueba de Friedman y prueba de correlación de Spearman. Además se calculó la riqueza, abundancia, frecuencia, frecuencia de aparición, diversidad y dominancia de los géneros y especies identificados. La diversidad se calculó a través de los siguientes índices: índice de Shannon, índice de Simpson, índice  $\alpha$  de Fisher e índice de Berger-Parker. La dominancia de las especies identificadas se determinó a través de la prueba de asociación de Olmstead-Tukey. Se identificaron 61 especie, en 27 géneros. La mayoría de los taxa identificados (53) pertenecen al Orden Moniliales de la Clase Hyphomycetes; 4 taxa corresponden al Orden Mucorales de la Clase Zygomycetes. El Orden Melanconiales y el Orden Sphaeropsidales de la Clase Coelomycetes estuvieron representados por 1 taxa cada uno, al igual que el Orden Xylariales y el Orden Eurotiales de la Clase Euascomycetes. *Penicillium* (23%), *Trichoderma* (15%), *Aspergillus* (10%), *Paecilomyces* (5%) y *Fusarium* (5%) fueron los géneros con mayor representación dentro de las especies identificadas. *Aspergillus japonicus* y *Trichoderma aff. citrinoviride* representaron el 38% de los aislamientos con la técnica de lavado de suelo en el muestreo de Mayo. *Penicillium canescens* y *Penicillium citrinum* representaron el 22% de los aislamientos con la técnica de dilución de suelo en el muestreo de Mayo. *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Aspergillus japonicus* y *Penicillium citrinum* tuvieron valores de frecuencia mayores a 0.1000 en el muestreo de Mayo. *Aspergillus niger*, *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus japonicus* y *Penicillium canescens* representaron el 70% de los aislamientos con la técnica de lavado de suelo en el muestreo de Octubre. *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Chrysosporium* sp1 y *Penicillium pinophilum* representaron el 32% de los aislamientos con la técnica de dilución de suelo en el muestreo de Octubre. *Aspergillus niger*, *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Trichoderma harzianum* y *Aspergillus japonicus* tuvieron valores de frecuencia mayores a 0.1000 en el muestreo de Octubre. En el muestreo de Mayo *Trichoderma harzianum*, *Cunninghamella elegans* y *Rhizomucor pusillus* mostraron un coeficiente de correlación positivo con el pH, significativo a  $p < 0.05$ . En el muestreo de Octubre se observaron coeficientes de correlación significativos para *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Penicillium glabrum* y *Penicillium citrinum* con los valores de materia orgánica. En el caso de las dos primeras especies, la relación fue negativa, mientras que *P. citrinum* estuvo relacionado positivamente con la materia orgánica. Todos los índices de diversidad calculados fueron mayores para los resultados obtenidos a partir de la técnica de dilución de suelo en ambos muestreos.

## ABSTRACT

Two soil samples were taken from a tinal near Villahermosa, Tabasco, México. The samples were taken in May (dry season) and October (rain season) 2002. The samples were processed by two techniques for the isolation of microfungi: soil washing and soil dilution. Extract Malt agar was used as culture medium. Qualitative and quantitative data were taken and used in statistic analysis (Wilcoxon sign test, Friedman test and correlation Spearman test) and ecological analysis (richness, abundance, frequency, diversity and dominance. The diversity indexes used were: Shannon index, Simpson index,  $\alpha$  Fisher index and Berger-Parker index. Dominance was calculated by Olmstead-Tukey association test. 61 species from 27 genera were identified. Order Moniliales was represented by 53 taxa, Order Mucorales by 4 taxa, Orders Melanconiales, Sphaeropsidales, Xylariales and Eurotiales were represented by 1 taxa each one. *Penicillium* (23%), *Trichoderma* (15%), *Aspergillus* (10%), *Paecilomyces* (5%) and *Fusarium* (5%) were the most represented genera. *Aspergillus japonicus* y *Trichoderma aff. citrinoviride* represented 38% of the isolates from soil washing in May sample. *Penicillium canescens* y *Penicillium citrinum* represented 22% of the isolates from soil dilution in May simple. *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Aspergillus japonicus* y *Penicillium citrinum* show frequency values of 0.1000 in May sample. *Aspergillus niger*, *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus japonicus* and *Penicillium canescens* represented 70% of the isolates from soil washing in October sample. *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Chrysosporium* sp1 and *Penicillium pinophilum* represented 32% of the isolates from soil dilution in October simple. *Aspergillus niger*, *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Trichoderma harzianum* and *Aspergillus japonicus* show frequency values of 0.1000 in October sample. *Trichoderma harzianum*, *Cunninghamella elegans* and *Rhizomucor pusillus* show a positive correlation with pH in May sample. *Trichoderma aff. Citrinoviride* and *Penicillium glabrum* show a negative correlation with organic matter in October sample, *Penicillium citrinum* shows a positive correlation with organic matter in October sample. All the diversity indexes were highest in soil dilution than soil washing.

|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>1.1 DIVERSIDAD FÚNGICA .....</b>  | <b>1</b>  |
| <b>1.2 ORGANISMOS DEL SUELO.....</b>   | <b>3</b>  |
| 1.2.1 LOS HONGOS DEL SUELO.....  | 4         |
| <b>1.3. LOS HONGOS EN LOS ECOSISTEMAS.....</b>                                     | <b>5</b>  |
| 1.3.1 FACTORES QUE AFECTAN LA DIVERSIDAD Y LA DISTRIBUCIÓN DE LOS HONGOS DEL SUELO | 7         |
| 1.3.1.1 Factores bióticos.....   | 7         |
| 1.3.1.2 Factores ambientales.....  | 8         |
| 1.3.1.2.1 Temperatura .....  | 8         |
| 1.3.1.2.2 Humedad .....  | 9         |
| 1.3.1.2.3 El pH.....   | 10        |
| 1.3.1.2.4 Compuestos químicos .....  | 10        |
| 1.3.1.2.5 Aireación.....   | 11        |
| 1.3.1.2.6 Profundidad y estructura del suelo.....                                  | 12        |
| 1.3.1.2.7 Manejo del suelo.....  | 12        |
| 1.3.2 DISTRIBUCIÓN TEMPORAL Y ESPACIAL DE LOS HONGOS DEL SUELO .....               | 13        |
| 1.3.3 DOMINANCIA .....   | 13        |
| <b>1.4 MÉTODOS DE ESTUDIO DE LOS HONGOS DEL SUELO.....</b>                         | <b>17</b> |
| 1.4.1 TÉCNICAS DE OBSERVACIÓN DIRECTA .....  | 17        |
| 1.4.1.1 Secciones de suelo.....  | 17        |
| 1.4.1.2 Tinción de suelo.....  | 18        |
| 1.4.1.3 Técnica del portaobjetos o del enterramiento .....                         | 18        |
| 1.4.1.4 Cajas de observación .....   | 18        |
| 1.4.2 TÉCNICAS DE AISLAMIENTO DIRECTO.....   | 19        |
| 1.4.3 TÉCNICAS DE AISLAMIENTO INDIRECTO.....                                       | 20        |
| 1.4.3.1 Dilución de suelo .....  | 20        |
| 1.4.3.2 Suelo en placa.....  | 21        |
| 1.4.3.3 Lavado de suelo .....  | 21        |
| 1.4.4 TÉCNICAS MOLECULARES.....  | 23        |
| 1.4.5 TÉCNICAS DE MEDICIÓN DE BIOMASA.....   | 23        |
| 1.4.5.1 Técnicas fisiológicas.....   | 24        |
| 1.4.5.2 Técnicas químicas .....  | 24        |
| <b>2. ANTECEDENTES .....</b>   | <b>25</b> |
| <b>3. OBJETIVOS.....</b>   | <b>31</b> |
| 3.1 OBJETIVO GENERAL .....   | 31        |
| 3.2 OBJETIVOS PARTICULARES .....   | 31        |
| <b>4. MATERIALES Y MÉTODO .....</b>  | <b>32</b> |
| 4.1. ÁREA DE ESTUDIO.....  | 32        |
| 4.1.1 DESCRIPCIÓN DEL SITIO DE MUESTREO .....                                      | 32        |
| 4.1.2 COMUNIDAD VEGETAL .....  | 32        |
| 4.1.3 CLIMA .....  | 35        |

|  |           |
|--|-----------|
| 4.1.4 SUELO .....                                      | 36        |
| <b>4.2 MUESTREO .....</b>                              | <b>36</b> |
| 4.2.1 DISEÑO DE MUESTREO .....                         | 36        |
| 4.2.2 TOMA DE MUESTRAS .....                           | 36        |
| 4.2.3 PROCESAMIENTO DE MUESTRA .....                   | 37        |
| 4.2.3.1 Dilución de suelo .....                        | 38        |
| 4.2.3.2 Lavado de suelo .....                          | 38        |
| 4.2.4 AISLAMIENTO DE LAS COLONIAS .....                | 39        |
| 4.2.5 DETERMINACIÓN .....                              | 40        |
| <b>4.3 ANÁLISIS DE DATOS .....</b>                     | <b>40</b> |
| 4.3.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....                       | 40        |
| 4.3.1.1 Prueba de signos ordenados de Wilcoxon .....   | 40        |
| 4.3.1.2 Prueba de Friedman .....                       | 41        |
| 4.3.1.2 Prueba de correlación de Spearman .....        | 41        |
| 4.3.2 ANÁLISIS ECOLÓGICO .....                         | 41        |
| 4.3.2.1 Riqueza .....                                  | 41        |
| 4.3.2.2 Abundancia .....                               | 41        |
| 4.3.2.3 Frecuencia .....                               | 42        |
| 4.3.2.4 Frecuencia de aparición .....                  | 42        |
| 4.3.2.5 Diversidad .....                               | 42        |
| 4.3.2.5.1 Índice de Shannon .....                      | 43        |
| 4.3.2.5.2 Índice de Simpson .....                      | 43        |
| 4.3.2.5.3 Índice $\alpha$ de Fisher .....              | 43        |
| 4.3.2.5.4 Índice de Berger-Parker .....                | 44        |
| 4.3.2.6 Dominancia .....                               | 44        |
| 4.3.2.6.1 Prueba de asociación de Olmstead-Tukey ..... | 44        |
| <br>   |           |
| <b>5. RESULTADOS .....</b>                             | <b>46</b> |
| <br>   |           |
| <b>5.1 MUESTREO 1 .....</b>                            | <b>46</b> |
| 5.1.1 ANÁLISIS DEL SUELO .....                         | 46        |
| 5.1.2 MICROBIOTA .....                                 | 47        |
| 5.1.2.1 Lavado de suelo .....                          | 48        |
| 5.1.2.2 Dilución de suelo .....                        | 54        |
| 5.1.2.3 Número de aislamientos .....                   | 58        |
| <b>5.2 MUESTREO 2 .....</b>                            | <b>62</b> |
| 5.2.1 ANÁLISIS DEL SUELO .....                         | 62        |
| 5.2.2 MICROBIOTA .....                                 | 62        |
| 5.2.2.1 Lavado de suelo .....                          | 63        |
| 5.2.2.2 Dilución de suelo .....                        | 67        |
| 5.2.2.3 Número de aislamientos .....                   | 75        |
| <b>5.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....</b>                  | <b>75</b> |
| <b>5.4 COMPARACIÓN DE LAS TÉCNICAS .....</b>           | <b>77</b> |
| 5.4.1 LAVADO DE SUELO .....                            | 77        |
| 5.4.2 DILUCIÓN DE SUELO .....                          | 78        |
| <b>5.5 ÍNDICES DE DIVERSIDAD .....</b>                 | <b>79</b> |
| <b>5.6 DOMINANCIA .....</b>                            | <b>79</b> |
| <br>   |           |
| <b>6. DISCUSIÓN .....</b>                              | <b>86</b> |

|   |            |
|---|------------|
| <b>6.1 RIQUEZA .....</b>  | <b>86</b>  |
| <b>6.2 MUESTREO 1 .....</b>                                       | <b>87</b>  |
| 6.2.1 RIQUEZA Y ABUNDANCIA DE GÉNEROS .....                       | 87         |
| 6.2.2 ABUNDANCIA DE ESPECIES .....                                | 90         |
| 6.2.3 FRECUENCIA DE APARICIÓN .....                               | 93         |
| 6.2.4. NÚMERO DE AISLAMIENTOS Y CONCENTRACIÓN DE PROPÁGULOS ..... | 94         |
| <b>6.3 MUESTREO 2 .....</b>                                       | <b>94</b>  |
| 6.3.1 RIQUEZA Y ABUNDANCIA DE GÉNEROS .....                       | 94         |
| 6.3.2 ABUNDANCIA DE ESPECIES .....                                | 95         |
| 6.3.3 FRECUENCIA DE APARICIÓN .....                               | 98         |
| 6.3.4 NÚMERO DE AISLAMIENTOS Y CONCENTRACIÓN DE PROPÁGULOS .....  | 98         |
| 6.3.5 FRECUENCIA .....  | 98         |
| <b>6.4 ÍNDICES DE DIVERSIDAD .....</b>                            | <b>101</b> |
| 6.4.1 ÍNDICE $\alpha$ DE FISHER E ÍNDICE DE SHANNON .....         | 101        |
| 6.4.2 ÍNDICE DE SIMPSON E ÍNDICE DE BERGER-PARKER .....           | 102        |
| <br>  |            |
| <b>7. CONCLUSIONES.....</b>                                       | <b>105</b> |
| <br>  |            |
| <b>8. BIBLIOGRAFÍA.....</b>                                       | <b>106</b> |
| <br>  |            |
| <b>9. ANEXO A.....</b>  | <b>111</b> |
| <br>  |            |
| <b>10. ANEXO B.....</b>   | <b>113</b> |



## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 DIVERSIDAD FÚNGICA

Los hongos son un grupo de organismos muy diverso, que incluye desde levaduras unicelulares hasta hongos macroscópicos con grandes esporomas; todos ellos son organismos heterótrofos que están adaptados fisiológica y morfológicamente a un modo de vida donde todos los nutrientes requeridos son absorbidos como material soluble a partir de los substratos en los cuales se desarrollan.

Se han descrito 1.5 millones de especies en todo el mundo (Anónimo, 1998); los hongos son considerados el grupo taxonómico más abundante después de los 8 millones de especies de insectos estimadas (Heywood, 1995 en Hawksworth, 2002). Se han reportado 72,065 especies de hongos distribuidas en 11 phyla y 7,745 géneros (Hawksworth *et al.*, 1995), las cuales representan el 4.8% del 1.5 millón de especies de hongos estimado por Hawksworth (1991, 2001).

Guzmán (1998) estimó para México un total de 200,000 especies de hongos de las cuales se conocen 6,510 (3.5% del total estimado), de éstas, 4,600 son hongos macroscópicos; mientras que 1,910 especies (29.3% de las reportadas) son hongos microscópicos, de las cuales 140 especies son saprobias que se encuentran en el suelo y en otros substratos. Si se mantienen las proporciones, de las 200,000 especies de hongos estimadas para México 60,000 de ellas serían hongos microscópicos.

Se consideran hongos microscópicos a todos aquellos que producen esporomas menores a 1 mm de diámetro (Gams, 1992), y muchos grupos taxonómicos como los quitridiomicetes, los zigomicetes, la mayoría de los ascomicetes y todos los hongos mitospóricos son considerados hongos microscópicos (Rossman, 1997), lo que los hace el grupo más numeroso de los hongos estimándose una relación 30:1 con respecto a los hongos macroscópicos (Hyde y Hawksworth, 1997).

A pesar de esta última relación, tanto a nivel mundial como en México, el estudio de la diversidad fúngica se ha enfocado principalmente a los hongos

macroscópicos (Guzmán, 1970; Cifuentes, 1996), mientras que el estudio de los hongos microscópicos saprobios ha sido menor (Heredia, 1999).

De igual manera, los estudios se han restringido principalmente a regiones templadas de América y Europa; y en México al centro del país, abarcando principalmente bosques de pino, encino (Cifuentes *et al.*, 1985) y en menor grado bosque mesófilo (Heredia y Reyes-Estebanez, 1999), mientras que las regiones tropicales del sur y sureste del país han sido poco estudiadas (Heredia y Mercado-Sierra, 1998; Del Olmo, 2003), a pesar de que se estima que en las regiones tropicales se concentra la mayor diversidad del planeta. Esto, junto con el rápido deterioro de los bosques tropicales hace importante el estudio de los hongos en regiones tropicales.

La mayoría de los hongos microscópicos se caracterizan por desarrollarse en una gran cantidad de sustratos por lo que no dependen de un recurso específico ya que pueden utilizar una gran variedad de fuentes de carbono orgánico. La mayoría son celulolíticos y muy pocos pueden descomponer lignina. Crecen rápidamente y sus ciclos reproductivos son cortos ya que los sustratos donde crecen generalmente son transitorios. Explotan ambientes perturbados por cambios físicos o por la incorporación de materia orgánica, donde la competencia es baja. Una proporción significativa de su biomasa es invertida en la formación de esporas y estructuras de resistencia como clamidosporas y esclerocios. Su capacidad reproductiva, relativamente limitada, es compensada por la gran cantidad de recursos que son capaces de colonizar. Frecuentemente presentan una tolerancia alta a condiciones desfavorables pero son competidores pobres (Warcup, 1971; Dix y Webster, 1995).

La mayoría de los hongos macroscópicos tienen una distribución restringida y dependen altamente de un recurso específico. Típicamente tienen una mayor variedad de actividad química y metabolizan una gran variedad de fuentes de carbono orgánico, incluyendo lignina. Crecen lentamente y destinan una gran proporción de su energía a la producción de esporomas y esporas para asegurar que al menos algunas alcancen sitios adecuados para la colonización. Generalmente su reproducción es estacional y coincide con condiciones que



permitan su establecimiento exitoso. Son altamente competidores y antagonistas (Gams, 1992; Dix y Webster, 1995).

## **1.2 ORGANISMOS DEL SUELO**

El suelo es un hábitat complejo que contiene una comunidad diversa de microorganismos (Parkinson, 1994).

Los hongos se encuentran entre los organismos más numerosos con una longitud hifal media de 140 m por g de peso seco de suelo y entre los que aportan mayor cantidad de biomasa al sistema del suelo con 0.050 mg de carbono por g de peso seco de suelo (Berg *et al.*, 1998).

Las bacterias son un grupo importante de organismos del suelo. Son de los organismos más numerosos ( $2.40 \times 10^9$  bacterias por g de peso seco) y los que representan la mayor cantidad de biomasa entre los microorganismos del suelo (0.338 mg de carbono por g de peso seco de suelo) (Berg *et al.*, 1998). Las bacterias son en gran parte responsables del ciclamiento y transformación de carbono, nitrógeno, fósforo, hierro y azufre en el suelo por lo que tienen una fuerte interacción con los hongos al competir por nutrientes y algunas veces por las cavidades con oxígeno (Griffin, 1972).

Los actinomicetos son organismos numerosos en el suelo y están ampliamente distribuidos, varían de  $10^5$  a  $10^8$  por g de suelo. Intervienen en procesos como la descomposición de algunos de los compuestos resistentes de tejidos vegetales y animales, la formación de humus y en la regulación de la composición de la comunidad del suelo a través de actividad antagónica (Alexander, 1980).

Las algas se encuentran en concentraciones de 300 a  $3,000 \times 10^{-3}$  células por g de suelo. En general, son más abundantes sobre la superficie del suelo o muy cerca de ella. Una de las principales funciones de las algas es la generación de materia orgánica a partir de sustancias inorgánicas. En arrozales las algas, vivas o muertas, pueden actuar como fertilizantes; mientras que en zonas áridas pueden representar una fuente importante de materia orgánica. Otra función

importante se da en los desiertos donde forman costras que ayudan a conservar el suelo de la erosión (Lund, 1971; Alexander, 1980).

La fauna edáfica contiene protozoarios, nemátodos y lumbrícidos. Sin embargo, los invertebrados más abundantes son los protozoarios. Presentan valores de 10,000 a 100,000 células por g de suelo. Su papel principal dentro del suelo es regular el tamaño de la comunidad bacteriana a través del cual afectan indirectamente el ciclo orgánico (Stout y Heal, 1971; Alexander, 1980).

Los nemátodos son otro componente importante de la fauna edáfica, se encuentran en concentraciones de 5 a  $10 \times 10^6$  individuos por  $m^2$  de suelo. Su papel en el ambiente del suelo está relacionado con la producción primaria al alimentarse de plantas y algas, con la descomposición primaria al alimentarse de microorganismos y con la regulación de las poblaciones de otros organismos por medio de la depredación (Nielsen, 1971).

Los lumbrícidos son el grupo más importante de la fauna edáfica, su biomasa varía de 100 a 250 g por metro cuadrado de suelo; participan en procesos como la alteración del estado físico y químico del ambiente, la translocación de hojarasca, la dispersión de propágulos fúngicos y el consumo de tejido fúngico (Satchell, 1971).

### **1.2.1 Los hongos del suelo**

En la mayoría de los suelos, los hongos son el principal componente de la microbiota del suelo con una longitud hifal media de 140 m por gramo de peso seco de suelo y entre los que aportan mayor cantidad de biomasa al sistema del suelo con 0.050 mg de carbono por g de peso seco de suelo (Berg *et al.*, 1998).

Los hongos del suelo pueden ser: saprobios, simbiontes y parásitos. La mayoría son saprobios, solo unos cuantos son parásitos y muchos son oportunistas que causan enfermedades a plantas, animales y al hombre. Los hongos saprobios contrastan con los simbiontes y los parásitos en que son más independientes de sus hospederos, sean éstos plantas o animales. Aunque hay un continuo desde las especies saprobias hasta los patógenos menores (Salt, 1979 en Gams, 1992).

Warcup (1971) considera como *hongos del suelo* a un ensamble heterogéneo de hongos que se pueden aislar del suelo, o que han sido observados de alguna forma en el suelo. Mientras que Subramanian y Wasser (2001) consideran que un hongo microscópico habitante verdadero del suelo permanece como saprobio todo su ciclo de vida creciendo activamente sobre materia orgánica en descomposición y no desarrolla una fase parasítica; aunque otros hongos microscópicos presentes pueden no ser capaces de colonizar el material orgánico no vivo pero sus esporas pueden sobrevivir en el suelo en estados inactivos.

Aunque la diversidad de especies de las comunidades de hongos del suelo están relacionadas con la diversidad de especies de las comunidades vegetales, la riqueza de especies de la comunidad de hongos es desconocida y tal vez indeterminable (Christensen, 1981), esto es atribuido a una extensa diferenciación de nichos (Frankland, 1981).

En las comunidades de hongos del suelo, no se sabe realmente cuando las curvas de acumulación se nivelan; al hacer más aislamientos se encuentran más especies (Christensen, 1981, 1989; Bills, 1995) y aunque después de un cierto número de aislamientos se pueden reconocer especies cuantitativamente comunes, las especies infrecuentes pueden no estar representadas, lo que ha llevado al concepto de una micoflora constante, característica y cosmopolita (Christensen, 1981).

### **1.3. LOS HONGOS EN LOS ECOSISTEMAS**

Los hongos pueden ser esenciales para la supervivencia de otros organismos a diferentes niveles de organización.

A nivel poblacional, el caso de los hongos que forman asociaciones mutualistas es bien representado por los hongos que forman micorrizas con aproximadamente el 90% de las especies de plantas (Allen *et al.*, 1997).

A nivel de ecosistema los hongos desempeñan papeles importantes en muchos procesos del suelo como la descomposición de materia orgánica, la mineralización de elementos como nitrógeno, fósforo y potasio, promoción de la

agregación del suelo, almacenamiento de elementos en contra de la lixiviación y la detoxificación del suelo entre otros (Tabla 1).

La mineralización de los elementos presentes en el suelo es de importancia vital para las poblaciones vegetales ya que las raíces de las plantas generalmente no son permeables a las moléculas orgánicas, por lo que los elementos esenciales para mantener la producción primaria deben estar presentes en el suelo en una forma inorgánica para que puedan ser utilizados (Rodríguez-Fábregas, 1984).

Como miembros de la comunidad del suelo, los hongos están en constante interacción con los miembros de la comunidad vegetal. Ciertos cambios en la estructura de las comunidades vegetales pueden ser resultado de la influencia de la composición de la comunidad del suelo. A su vez, la estructura de la comunidad vegetal es importante para el desarrollo de las comunidades del suelo y de la rizosfera (Watkinson, 1998).

Además, los hongos intervienen en cadenas de alimentación complejas a nivel basal donde son el alimento clave de nemátodos y colémbolos (Hawksworth, 2002).

La presencia de microorganismos sobre las partículas de suelo algunas veces lleva a la producción de películas orgánicas que alteran de tal manera el ángulo de contacto del agua que avanza por el suelo que, en casos extremos, los suelos se vuelven repelentes al agua (Bond, 1964 en Griffin, 1972). Es probable que las zonas estériles que se observan entre los anillos de brujas y otros tipos de anillos que se forman en pastizales sean atribuibles a las superficies hidrofóbicas de hifas y partículas adyacentes (Toohey *et al.*, 1965; Griffin, 1972).

Tabla 1. Principales funciones de los hongos en los ecosistemas (Tomado de Christensen, 1989).

- 
1. *Descomposición de materia orgánica.*
  2. *Liberación de elementos.*
  3. *Retención de elementos en contra de la lixiviación.*
  4. *Facilitación del transporte de elementos esenciales y agua del suelo a las raíces vegetales.*
  5. *Posible facilitación del movimiento planta a planta de elementos esenciales y carbohidratos.*
  6. *Alteración en las tasas de movimiento de agua e iones a través de las partes aéreas de la planta.*
  7. *Acumulación de materiales tóxicos.*
  8. *Modificación de la permeabilidad y promoción de la agregación.*
  9. *Modificación del intercambio iónico y la capacidad de retención de agua del suelo.*
  10. *Detoxificación del suelo.*
  11. *Síntesis de sustancias húmicas.*
  12. *Participación en cadenas de alimentación saprobióticas.*
  13. *Inducción de simbiosis parásitas.*
  14. *Inducción de simbiosis mutualistas.*
  15. *Predación.*
  16. *Producción de compuestos bioquímicos ambientales.*
  17. *Mejoramiento de la germinación de las semillas a través de la erosión de la cubierta de estas.*
  18. *Cultivo para enzimas o alimento.*
  19. *Promoción y alteración del desarrollo del nicho.*
  20. *Intemperismo primario.*
- 

### **1.3.1 Factores que afectan la diversidad y la distribución de los hongos del suelo**

La diversidad y la distribución de los hongos del suelo están influenciadas por un complejo de factores que pueden ser de caracteres bióticos y ambientales.

#### **1.3.1.1 Factores bióticos**

Entre los factores bióticos se puede mencionar a la diversidad de especies vegetales que soporta el suelo (Brown, 1958; Christensen y Whittingham, 1965). En algunas comunidades templadas relativamente homogéneas, la diversidad de especies fúngicas puede exceder la diversidad de plantas vasculares de 4 a 20 veces (Bisby, 1943 en Christensen, 1981; Novak y Whittingham, 1968).

Aunque Orpurt y Curtis (1957) mencionan que la influencia ejercida por la vegetación es más bien indirecta, a través de los sistemas radiculares y los restos

vegetales, que producen diferencias en el ambiente del suelo de un sitio a otro. Otro factor importante es la actividad antibiótica y alelopática de algunas especies de hongos y plantas, respectivamente (Bazzaz, 1975; Christensen, 1981).

Dobbs y Hinson (1953 en Warcup, 1971) observaron una amplia inhibición de las esporas de hongos en las capas orgánicas del suelo que, sin embargo, podían germinar en agua destilada; por ejemplo, encontraron que la inhibición de la germinación de esporas de *Penicillium frequentans* disminuía con la profundidad y que coincidía con la región de actividad biológica del suelo.

Griffin (1962 en Warcup, 1971) encontró que tanto los hongos que producen sustancias antagónicas como aquellos que no las producen, inducen un efecto fungistático en el suelo y considera que el efecto fungistático de los suelos naturales puede resultar en parte de las actividades saprobias generales de la micobiota del suelo.

#### 1.3.1.2 Factores ambientales

De los factores ambientales más importantes que influyen en la distribución de los hongos del suelo se puede mencionar la temperatura, la humedad, el pH, la producción de compuestos químicos y el manejo del suelo.

##### 1.3.1.2.1 Temperatura

La mayoría de los hongos son mesófilos con temperaturas óptimas de crecimiento entre los 20 y 25°C, aunque existen especies termotolerantes y termófilas que tienen temperaturas de crecimiento óptimas de hasta 45°C, y especies psicotolerantes y psicrófilas que son más activas a temperaturas cercanas a los 5°C (Dix y Webster, 1995).

Waid (1960 en Warcup, 1971) indicó que la actividad de los micelios sobre una gasa de nylon enterrada era menor en invierno que en verano. De igual manera, *Trichoderma viride* no es activa en el suelo a bajas temperaturas (Griffiths y Siddiqi, 1961 en Warcup 1971).



Por otro lado, a temperaturas altas, siempre y cuando el agua no sea limitante, se da el crecimiento de hongos termotolerantes como algunas especies de *Chaetomium* y *Aspergillus fumigatus* (Warcup, 1971).

En suelos expuestos a la insolación intensa los miembros de los Dematiaceae y los Sphaeropsidales, los cuales poseen hifas pigmentadas, son los hongos predominantes (Gochenaour y Backus, 1967).

Bunt y Rovira (1955 en Griffin, 1972) encontraron que tanto en suelos subantárticos como en suelos subtropicales la actividad metabólica de los organismos presentes aumentaba al aumentar la temperatura de 10° a 37°C pero que disminuía de 37° a 50°C.

Burges y Griffin (1967 en Griffin, 1972) observaron que la colonización de *Gibberella zeae*, *Fusarium culmorum* y *Cochliobolus sativus* incrementaba al disminuir la temperatura dentro de un rango de 10 a 30°C y no mostraba relación alguna con la tasa de crecimiento lineal.

#### **1.3.1.2.2 Humedad**

Orpurt y Curtis (1957) mencionan que el factor que más influye en la distribución de los hongos del suelo es la humedad relativa del suelo. Observaron que suelos con contenido de humedad entre 20 y 40% presentaban poblaciones más grandes de hongos, mientras que el número de hongos caía rápidamente en aquellos suelos con contenido de humedad más alto.

Cuando el contenido de agua de un suelo cae por debajo del punto de marchitamiento o llega a ser suficientemente grande como para impedir la aireación del suelo, hay una gran reducción en el crecimiento activo de las hifas de los hongos (Warcup, 1971).

A potenciales hídricos menores a -145 bar, la microbiota activa consiste casi exclusivamente de especies de *Aspergillus* y *Penicillium*. Es notable que las especies capaces de crecer en el suelo a potenciales tan bajos como -300 bar fueran aparentemente prevalentes tanto en suelos de pastura y en bosques de lluvia como en desiertos (Griffin, 1972).

Por otro lado, Pentland (1967 en Griffin, 1972) observó que los microhábitats pueden ser más variables en suelos más secos que en los húmedos ya que hay menos movimiento de productos solubles en agua en los suelos más secos.

#### **1.3.1.2.3 El pH**

La mayoría de los hongos prefieren condiciones ácidas (entre 5 y 6) para su crecimiento pero pueden tolerar un amplio rango de valores de pH que pueden ser, por ejemplo, de 2.0 a 9.0 para *Fusarium oxysporum*, de 1.5 a 9.8 para *Aspergillus niger* y de 2.5 a 9.5 para *Trichoderma koningii* (Dix y Webster, 1995).

Las tasas de respiración endógena en los hongos son poco afectadas por el pH del medio externo en un rango de 5 a 8 debido a que las células fúngicas están bien amortiguadas, con poca variación del pH interno a pesar de los cambios en el pH externo (Cochrane, 1958 en Griffin, 1972). No obstante, la respiración exógena y el crecimiento son afectados por cambios en el pH externo (Griffin, 1972).

Bisby y colaboradores (1933) observaron que, en suelos de pantano, el número más bajo de especies de hongos se encontraba en suelos con pH bajo.

Warcup (1951) estudiando la micobiota de varios suelos de pastizales naturales, que variaban en pH de ligeramente alcalinos a altamente ácidos, encontró que tanto el número de aislamientos como el número de especies de hongos eran mayores en suelos ácidos. Algunas especies, como *Penicillium nigricans*, fueron comunes en todos los suelos otras como *Humicola grisea* y *P. rugulosum* estuvieron limitados al suelo más alcalino, mientras que *P. terlikowskii* estuvo limitada a los suelos más ácidos. De igual manera, *Mortierella isabellina*, *Mucor ramannianus* y *Trichoderma viride* son más comunes en suelos ácidos mientras que *Absidia glauca* y *Mortierella alpina* son más comunes en suelos alcalinos.

#### **1.3.1.2.4 Compuestos químicos**

Muchos compuestos químicos volátiles biológicamente activos asociados con la descomposición de residuos vegetales afectan a los hongos del suelo de diferentes maneras; en concentraciones bajas aumentan la respiración microbiana



y en concentraciones altas se vuelven inhibidores como en el caso de *Verticillium dahliae* y *Sclerotium rolfsii* (Griffin, 1972).

#### 1.3.1.2.5 Aireación

La aireación tiene una gran influencia sobre la actividad de los hongos en el suelo. Griffin (1972) observó que había un crecimiento mayor de *Curvularia* sp. en sistemas donde la mayoría de los espacios vacíos estaban llenos de aire que en los sistemas saturados con agua. Esto fue atribuido a la restricción en el intercambio gaseoso entre las hifas y la atmósfera causada por la presencia de la capa de agua.

Griffin (1968 en Griffin, 1972) observó que la influencia del oxígeno en el suelo sobre la actividad de los organismos que habitan ese medio se explica por las interrelaciones entre la toma, la concentración y la difusión de dicho gas.

La mayoría de los hongos del suelo crecen bien a niveles de oxígeno inferiores y de dióxido de carbono mayores que aquellos del aire (Dix y Webster, 1995). Incluso, al evaluar la germinación de esporas o la tasa de crecimiento lineal se ha observado que los hongos del suelo son relativamente insensibles a reducciones, incluso severas, en la concentración de oxígeno (Griffin, 1972).

Pueden presentarse casos donde no hay germinación de esporas ni formación de peritecios en ausencia de dióxido de carbono, como el de *Chaetomium globosum* (Buston *et al.*, 1966).

Algunas especies de *Fusarium* muestran una respuesta más compleja donde el aumento en el dióxido de carbono produce un aumento en la germinación de clamidosporas, la tasa de crecimiento hifal y la esporulación mientras que restringe la formación de clamidosporas (Griffin, 1972). *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Trichoderma viride* y algunas especies de *Penicillium* y *Mucor* son anaerobios facultativos (Tabak y Cooke, 1968; Curtis, 1969 en Dix y Webster, 1995).

Aunque en la mayoría de los hongos las tasas de crecimiento se reducen a la mitad a concentraciones de dióxido de carbono del 10% (Dix y Webster, 1995). Este efecto inhibitor probablemente es debido a la formación de iones bicarbonato

en solución que afectan el metabolismo fúngico más que al dióxido de carbono de la atmósfera (Cantino, 1966 en Dix y Webster, 1995).

#### **1.3.1.2.6 Profundidad y estructura del suelo**

Se ha observado que el contenido micelial (Godeas, 1983) así como la frecuencia de aislamientos (Bissett y Parkinson, 1979a), la distribución de algunas especies (Bissett y Parkinson, 1979 a y b) y la diversidad de especies (Martínez y Ramírez, 1979) disminuyen con la profundidad en un mismo perfil de suelo.

Söderström (1975) al estudiar la distribución vertical de los hongos microscópicos en un suelo de picea, observó que especies del mismo género se comportaban de manera diferente. *Mortierella ramanniana* era más común en las capas L y F, mientras que *M. vinacea* y *M. nana*, entre otras, eran más comunes en los horizontes A y B. De igual manera, *Penicillium brevi-compactum* fue común en las capas superiores del suelo, mientras que *P. daleae* fue extremadamente común en los horizontes más profundos.

Nilsson y colaboradores (1992) observaron que la composición de especies de hongos cambia con la profundidad en suelos de pantanos, dicho cambio fue más pronunciado en los dos sitios estudiados con mayor humedad.

El tamaño de los poros del suelo es un factor que afecta el desarrollo de los esporomas de los hongos microscópicos del suelo; Kubiena (1938 en Warcup, 1971) observó que había una reducción de dichas estructuras con la disminución del tamaño del poro. Mientras que Warcup (1971) observó que los esporangióforos de *Rhizopus* formados en los poros más pequeños estaban enrollados y en forma de resorte.

#### **1.3.1.2.7 Manejo del suelo**

Kwasna y colaboradores (2000) observaron una disminución del número de hongos y del número de especies en un suelo tratado con aserrín de pino.

Por otro lado, la germinación de las esporas de hongos en el suelo puede ser estimulada por diversos factores como los exudados de raíces, la adición materia orgánica y de residuos vegetales así como azúcar, harinas y melaza al suelo (Warcup 1971).

### **1.3.2 Distribución temporal y espacial de los hongos del suelo**

Varios estudios han demostrado que las comunidades de hongos del suelo presentan variación estacional (England y Rice, 1957 en Clarke y Christensen, 1981; Bissett y Parkinson, 1979a; Betucci *et al.*, 1990) cualitativa y cuantitativamente. Por ejemplo, Widden (1986a) observó que *Geomyces pannorus*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *P. marquandii*, *Penicillium purpurogenum*, *Trichoderma koningii*, *T. polysporum*, *Botryotrichum piluliferum*, *Chrysosporium verrucosum* y *Exophiala* sp. se asociaron a muestras de meses fríos; mientras que *Fusarium solani*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium thomii* y *Staphylotrichum coccosporum* tendieron a asociarse con los meses más cálidos.

En general, las comunidades de hongos de invierno y primavera tienden a diferir de las de verano y otoño, que tienden a ser similares (Bissett y Parkinson, 1979b).

Esta variación estacional se debe a cambios en la temperatura y la humedad, siendo esta última el factor limitante durante la primavera y la temperatura durante el otoño (Bissett y Parkinson, 1979c).

Sewell (1959c en Griffin, 1972) observó que la actividad micelial de *Trichoderma viride* se reduce en invierno.

### **1.3.3 Dominancia**

Hay dos escuelas entre los micólogos con respecto al carácter de la microbiota del suelo. La primera mantiene que la distribución de las especies es más o menos casual o sin mostrar patrones, mientras que la segunda escuela afirma que hay diferencias evidentes de una localidad a otra dependiendo del ambiente del suelo (Orpurt y Curtis, 1957).

Según Stenton (1953) las diferencias entre las microbiotas de dos sitios eran cuantitativas más que cualitativas.

Basándose en la presencia mundial de una gran cantidad de especies de hongos habitantes del suelo, algunos autores han concluido que esencialmente no hay barreras geográficas para la distribución fúngica (Baker y Meeker, 1972 en States, 1981).

Cooke (1975 en States, 1981) concluyó que más que ser cosmopolita en sentido amplio de la palabra, los hongos presentan una distribución dentro de áreas geográficas particulares ampliamente separadas. Por otro lado, Griffin (1972) critica la suposición que la micobiota del suelo sea dominada claramente por factores ambientales que actúan a nivel macroscópico o incluso geográfico y sugiere que las diferencias pueden ser atribuibles al efecto directo de variables físicas como la temperatura.

Peyronel y colaboradores (1956 en Griffin, 1972) dividieron la micoflora taxonómicamente en ocho grupos: Phycomycetes; Melanconiales y Mycelia Sterilia; Tuberculariaceae y Stilbellaceae; *Aspergillus*; *Penicillium*; Dematiaceae; Ascomicetes y Sphaeropsidales; y el resto de los Moniliales. Relacionaron las especies que se consideran características de cada grupo con ciertos factores ambientales y obtuvieron la siguiente relación: Phycomycetes con latitudes altas, húmedas y frías; Tuberculariaceae y Stilbellaceae con contenido elevado de materia orgánica; *Aspergillus* con latitudes bajas, áridas y calientes; *Penicillium* con latitudes mayores y menos xerotérmicas que *Aspergillus*.

Thorton (1956 en Christensen, 1981) concluyó que en suelos relativamente no perturbados, un pequeño número de especies de hongos habitantes del suelo asumen la dominancia como resultado de condiciones particulares favorables.

Un hongo microscópico habitante verdadero del suelo permanece como saprobio durante todo su ciclo de vida mientras crece activamente sobre materia orgánica descomponible sin desarrollar una fase parasítica (Subramanian y Wasser, 2001), aunque es probable que la mayoría de las especies de hongos en algún momento de su ciclo de vida estén asociadas al suelo (Bridge y Spooner, 2001).

Christensen (1981 y 1989) comparó, a través de un coeficiente de similitud, 33 estudios sobre hongos microscópicos del suelo utilizando las 30 especies cuantitativamente más comunes de cada estudio. A partir de estos datos observó que diferentes tipos de ecosistemas presentan comunidades de hongos diferentes y que, a su vez, ecosistemas similares presentan comunidades de hongos

semejantes, algo que ya había sido observado por Bissett y Parkinson (1979 a y b).

De igual manera, a partir de estos resultados observó que hay una correspondencia entre la composición de especies en la comunidad de hongos del suelo y el tipo de vegetación y agrupó a las especies de hongos prevalentes para cada tipo de vegetación (Tabla 2).

Christensen (1981) concluyó, a partir de su análisis, que diferentes ensambles de hongos microscópicos son característicos para suelos de desiertos, pastizales, bosques decíduos, bosques de coníferas, breñales y tundras, aunque pueden entremezclarse. Ya que la mayoría de las especies comunes parecen ser pandémicas se presentan ensambles similares en regiones geográficas ampliamente separadas, esto es, que vegetaciones taxonómicamente diferentes pero ecológicamente similares soportan comunidades de hongos similares.

Por otro lado, tanto Tresner y colaboradores (1954) como Orpurt y Curtis (1957) observaron que hay una serie de combinaciones de especies que cambian progresivamente a lo largo de un gradiente de vegetación, lo que da un peso considerable al concepto de micobiotas distintivas en los suelos de áreas de vegetación diferentes.

Tabla 2. Hongos asociados con diferentes tipos de vegetación (Tomada de Christensen, 1981).

| Desiertos                      | Desiertos-Pastizales                | Pastizales                            | Bosques  |
|--------------------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|--|
| <i>Aspergillus alliaceus</i>   | <i>Alternaria sp.</i>               | <i>Acremonium sp.</i>                 | <i>Absidia cylindrospora</i>                           |
| <i>Aspergillus niger</i>       | <i>Arthrinium sp.</i>               | <i>Aspergillus candidus</i>           | <i>Chalara sp.</i>                                     |
| <i>Aspergillus niveus</i>      | <i>Aspergillus fumigatus</i>        | <i>Aspergillus flavipes</i>           | <i>Chloridium chlamydosporum</i>                       |
| <i>Chaetomium sp.</i>          | <i>Aspergillus terreus</i>          | <i>Acrostalagmus sp.</i>              | <i>Cryptococcus sp.</i>                                |
| <i>Discosia sp.</i>            | <i>Cladosporium cladosporioides</i> | <i>Coniothyrium sp.</i>               | <i>Geotrichum candidum</i>                             |
| <i>Fusarium acuminatum</i>     | <i>Torula sp.</i>                   | <i>Doratomyces sp.</i>                | <i>Gliocladium roseum</i>                              |
| <i>Fusarium semitectum</i>     |                                     | <i>Fusarium avenaceum</i>             | <i>Histoplasma sp.</i>                                 |
| <i>Hormiscium sp.</i>          |                                     | <i>Fusarium culmorum</i>              | <i>Mortierella macrocystis</i>                         |
| <i>Penicillium decumbens</i>   |                                     | <i>Fusarium moniliforme/oxysporum</i> | <i>Mortierella nana</i>                                |
| <i>Penicillium chrysogenum</i> |                                     | <i>Fusarium nivale</i>                | <i>Mortierella vinacea</i>                             |
| <i>Stachybotrys sp.</i>        |                                     | <i>Fusarium sambucinum</i>            | <i>Mucor ambiguus</i>                                  |
| <i>Trimmatotroma sp.</i>       |                                     | <i>Fusarium solani</i>                | <i>Mucor silvaticus</i>                                |
| <i>Ulocladium sp.</i>          |                                     | <i>Gonytrichum macrocladum</i>        | <i>Oidiodendron flavum</i>                             |
|                                |                                     | <i>Humicola sp.</i>                   | <i>Oidiodendron maius/tenuissimum/griseum</i>          |
|                                |                                     | <i>Idriella lunata</i>                | <i>Oidiodendron periconioides</i>                      |
|                                |                                     | <i>Mortierella gracilis</i>           | <i>Oidiodendron citrinum</i>                           |
|                                |                                     | <i>Mortierella alpina</i>             | <i>Oidiodendron echinulatum/cereale/chlamydosporum</i> |
|                                |                                     | <i>Myrothecium sp.</i>                | <i>P. godlewskii</i>                                   |
|                                |                                     | <i>P. stoloniferum</i>                | <i>Paecilomyces carneus</i>                            |
|                                |                                     | <i>Papulaspora sp.</i>                | <i>Penicillium diversum</i>                            |
|                                |                                     | <i>Penicillium lilacinum</i>          | <i>Penicillium herquei</i>                             |
|                                |                                     | <i>Penicillium restrictum</i>         | <i>Penicillium kapuscinskii</i>                        |
|                                |                                     | <i>Pyrenochaeta sp.</i>               | <i>Penicillium montaneense</i>                         |
|                                |                                     | <i>Stemphylium sp.</i>                | <i>Penicillium multicolor</i>                          |
|                                |                                     | <i>Zygorhynchus moelleri</i>          | <i>Penicillium nalgiovensis</i>                        |
|                                |                                     |                                       | <i>Penicillium ochro-chloron</i>                       |
|                                |                                     |                                       | <i>Penicillium odoratum</i>                            |
|                                |                                     |                                       | <i>Penicillium palitans</i>                            |
|                                |                                     |                                       | <i>Penicillium paxillii</i>                            |
|                                |                                     |                                       | <i>Penicillium pinetorum</i>                           |
|                                |                                     |                                       | <i>Penicillium radulatum</i>                           |
|                                |                                     |                                       | <i>Penicillium rolfsii</i>                             |
|                                |                                     |                                       | <i>Penicillium steckii</i>                             |
|                                |                                     |                                       | <i>Penicillium terlikowskii</i>                        |
|                                |                                     |                                       | <i>Penicillium thomii</i>                              |
|                                |                                     |                                       | <i>Penicillium variabile</i>                           |
|                                |                                     |                                       | <i>Phialophora sp.</i>                                 |
|                                |                                     |                                       | <i>Sporotrichum/Sporothrix</i>                         |
|                                |                                     |                                       | <i>Thysanophora sp.</i>                                |
|                                |                                     |                                       | <i>Tolyptocladium/Pachybasium sp.</i>                  |
|                                |                                     |                                       | <i>Torulomyces lagena</i>                              |
|                                |                                     |                                       | <i>Torulopsis aeria</i>                                |
|                                |                                     |                                       | <i>Trichoderma sp. (blanca)</i>                        |



| Bosques-Breñales              | Breñales                    | Tundra                    | Sin relación                      | Pastizales-Bosques              |
|-------------------------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|
| <i>Mortierella isabellina</i> | <i>Absidia orchidis</i>     | <i>Chrysosporium sp.</i>  | <i>Aureobasidium pullulans</i>    | <i>Absidia glauca</i>           |
| <i>Mortierella pavispora</i>  | <i>Penicillium adametzi</i> | <i>Cylindrocarpon sp.</i> | <i>Beauveria sp.</i>              | <i>Mortierella</i>              |
| <i>Mortierella ramanniana</i> | <i>Penicillium</i>          | <i>Trichocladium sp.</i>  | <i>Cladosporium herbarum</i>      | <i>minutissima</i>              |
| <i>Penicillium</i>            | <i>fellutanum</i>           |                           | <i>Penicillium canescens</i>      | <i>Mucor hiemalis</i>           |
| <i>brevicomactum</i>          | <i>Penicillium melinii</i>  |                           | <i>Penicillium cyclopium</i>      | <i>Paecilomyces</i>             |
| <i>Penicillium spinulosum</i> | <i>Penicillium</i>          |                           | <i>Penicillium frequentans</i>    | <i>marquandii</i>               |
|                               | <i>namyslowskii</i>         |                           | <i>Penicillium raistrickii</i>    | <i>Penicillium funiculosum</i>  |
|                               |                             |                           | <i>Penicillium simplicissimum</i> | <i>Penicillium janthinellum</i> |
|                               |                             |                           | <i>Phoma sp.</i>                  | <i>Penicillium miczynskii</i>   |
|                               |                             |                           | <i>Trichoderma sp. (verde)</i>    | <i>Penicillium nigricans</i>    |
|                               |                             |                           |                                   | <i>Penicillium soppi</i>        |

## 1.4 MÉTODOS DE ESTUDIO DE LOS HONGOS DEL SUELO

La principal dificultad para el estudio de los hongos microscópicos en hábitats naturales se origina de las dimensiones de sus cuerpos vegetativos. Sus hifas miden de 2 a 4  $\mu$ m de diámetro (Kjoller y Struwe, 1982) y penetran los substratos en los que crecen.

Los hongos no pueden ser identificados por caracteres vegetativos, excepto en sentido amplio, por lo que es necesario obtener sus cuerpos reproductivos. Otro problema considerable en los estudios cualitativos y cuantitativos es que los hongos existen en el suelo en una gran variedad de estados morfológicos y fisiológicos: hifas activas, hifas muertas y varios tipos de esporas y estructuras de resistencia como esclerocios (Parkinson, 1994); por lo que un objetivo primario en su estudio es el poder diferenciar entre estos estados.

Las técnicas para estudiar a los hongos del suelo pueden dividirse en 4 categorías amplias: observación directa, técnicas de aislamiento, técnicas moleculares y técnicas de medición de biomasa.

### 1.4.1 Técnicas de observación directa

#### 1.4.1.1 Secciones de suelo

Las técnicas consisten en observar secciones delgadas de muestras no perturbadas de suelo, incluidas en diferentes materiales como plástico termolábil, agar, gelatina o resinas sintéticas (Warcup, 1971).

Estas técnicas se utilizan para el estudio de los microorganismos en sus relaciones naturales con la estructura del suelo, aunque las técnicas que implican desecación antes de la inclusión producen cambios en la textura de aquellas

láminas de suelo en las que está concentrada gran parte de la actividad orgánica (Haarlov y Weis-Fogh, 1955 en Warcup, 1971).

#### *1.4.1.2 Tinción de suelo*

Esta técnica consiste en teñir suspensiones de suelo en gelatina o agar. Permite ver y contar los organismos, pero su relación con la estructura del suelo en general se pierde (Warcup, 1971).

#### *1.4.1.3 Técnica del portaobjetos o del enterramiento*

Esta técnica es conocida también como los portaobjetos de Rossi-Cholodny. Consiste en presionar un portaobjetos limpio contra una superficie de suelo recientemente expuesta, de tal manera que las partículas de suelo y las colonias microbianas se adhieran al portaobjetos. Una modificación de la técnica consiste en enterrar portaobjetos en el suelo durante períodos diversos, e incluso otros objetos como mallas de nylon. En el primer caso se indica la presencia de hongos en el momento de examinar un suelo, mientras que en el último se proporciona un substrato para el crecimiento de los hongos después de que el suelo ha sido alterado (Warcup, 1971).

La principal desventaja de esta técnica es que, al enterrar cualquier objeto en el suelo se perturba el ambiente, lo que hace que hongos que comúnmente crecen lentamente o no crecen al utilizar otras técnicas, parezcan como hongos comunes.

#### *1.4.1.4 Cajas de observación*

Esta técnica consiste en incorporar portaobjetos a la parte lateral de una caja que contiene suelo en el que pueden crecer plantas, lo que permite un examen microscópico a gran aumento con luz reflejada.

Esta técnica, igual que las demás técnicas de observación directa utilizando microscopía, proporciona información sobre la localización y la forma de los hongos en el suelo, permite que todas las estructuras puedan ser contadas, que se pueda observar la morfología y medir las dimensiones además de que se



puedan observar las relaciones espaciales entre los hongos y otras partículas del suelo como existen en el ambiente natural (Frederick, 1965).

Estas técnicas han mostrado que muchos hongos requieren los espacios no saturados en el suelo para poder esporular (Kubiena y Renn, 1935 en Gams, 1992).

Pero como todas las técnicas de observación directa, tiene el defecto de que la mayoría del micelio que se ve en el suelo o sobre portaobjetos carece de fructificaciones, lo que impide su identificación (Warcup, 1971). Algunas otras limitaciones son la dificultad para distinguir entre células vivas y muertas, la dificultad para medir organismos filamentosos y la dificultad de obtener muestras representativas ya que se utilizan cantidades de suelo muy pequeñas (Frederick, 1965).

Frankland (1982 en Gams, 1992) encontró que hasta un 50% de las hifas observadas directamente eran estériles o pertenecían a basidiomicetos; por lo que la técnica no permite diferenciar entre hongos microscópicos y macroscópicos.

Las técnicas de observación directa solamente dan una idea de la microbiota del suelo y son más adecuadas para observar esporulación (Gams, 1992).

Las técnicas de aislamiento pueden producir estimaciones más acertadas del grado verdadero de un hongo en un recurso (Kirby *et al.*, 1990).

#### **1.4.2 Técnicas de aislamiento directo**

Estas técnicas consisten en aislar los hongos tomándolos directamente del sustrato, principalmente en forma de hifas vegetativas.

Warcup diseñó una técnica que consiste en tomar las hifas directamente de la muestra de suelo con unas agujas muy finas ya que observó que muchas hifas están asociadas a partículas grandes de suelo que son eliminadas en técnicas como la de dilución (Parkinson *et al.*, 1971).

La técnica es tediosa, ocupa mucho tiempo y es poco práctica si se necesitan procesar muchas muestras de suelo, además de que se necesita mucha pericia para tomar las hifas sin dañarlas. La técnica es selectiva a hifas de diámetro grande, hifas que no se fragmentan fácilmente e hifas de color oscuro.

### **1.4.3 Técnicas de aislamiento indirecto**

Si las hifas no pueden ser aisladas directamente del suelo o de la materia orgánica, deben ser inducidas a crecer como colonias visibles sobre medio de cultivo. Por lo tanto, la elección de los medios apropiados para estos estudios es de gran importancia.

Durante un tiempo, el objetivo de los estudios de los hongos del suelo fue desarrollar un medio no selectivo que permitiera el aislamiento de cualquier hongo presente en el suelo. Esto ha dado paso al método más realista de usar un medio (o un grupo de medios) que permitan el aislamiento del número máximo de especies de hongos a partir de una muestra de suelo. Probablemente el uso de una amplia variedad de condiciones de aislamiento sería un método más eficiente para un estudio completo de la diversidad fúngica (Bills, 1995), aunque algunas veces esto no es viable debido al personal requerido y al tiempo necesario.

#### **1.4.3.1 Dilución de suelo**

Una de las técnicas de aislamiento más usadas para estudiar a los hongos del suelo es la técnica de *dilución de suelo* la cual consiste en hacer una solución con un peso conocido de suelo en un volumen conocido de agua estéril y a partir de ella hacer diluciones progresivas hasta llegar a la dilución deseada a partir de las cuales se hace la inoculación del medio de cultivo.

Es una técnica sencilla y produce resultados aparentemente cuantitativos que pueden ser sometidos a análisis estadísticos. La principal desventaja de esta técnica es que la mayoría de los aislamientos obtenidos se originan de esporas y no de hifas activas, además de que favorece el desarrollo de hongos que crecen rápidamente y que producen gran cantidad de esporas y subestima a especies de crecimiento lento (Warcup, 1971).

Las unidades formadoras de colonias se consideran como individuos aunque la técnica no permite saber si las colonias se forman de lo que originalmente podrían haber sido una hifa, un esporangio o un conidióforo (Gams, 1992). Por lo que los datos obtenidos usando esta técnica, expresados como número de hongos por unidad de peso del suelo, en realidad dan una indicación

del número de esporas presentes en las muestras de suelo y no están relacionados con la cantidad de micelio activo, reflejando eventos diferentes en el crecimiento de los hongos (Kjoller y Struwe, 1982).

#### 1.4.3.2 *Suelo en placa*

Una alternativa para obtener una idea general de la comunidad del suelo es la técnica de *suelo en placa*, diseñada por Warcup (1950). Esta técnica consiste en dispersar pequeños trozos de suelo sobre la base de una caja de Petri y cubrirla con un medio de agar de amplio espectro, con esto se evita la pérdida de inóculo que ocurre en la dilución (Frankland, 1990).

Es una técnica rápida y sencilla que da una idea de la variación a pequeña escala en la microbiota del suelo además de dar una imagen general promedio de un volumen de suelo grande aunque el espectro de hongos aislados es el mismo que el obtenido a partir de la dilución de suelo (Gams, 1992).

#### 1.4.3.3 *Lavado de suelo*

Una de las técnicas que permite conocer información más detallada sobre los hongos microscópicos del suelo es el *lavado de suelo* (Parkinson y Williams, 1961 en Parkinson *et al.*, 1971). Esta técnica consiste en lavar las muestras de suelo a través de un juego de filtros y coleccionar las diferentes partículas orgánicas e inorgánicas en una serie de tamices graduados a partir de los cuales se hace la inoculación del medio de cultivo utilizando las partículas individuales o una solución con las partículas retenidas en el tamiz.

Lo que se busca al hacer los lavados es eliminar la mayor cantidad de propágulos que están unidos débilmente a las partículas de suelo, dejando solamente aquellos que están asociados íntimamente con las partículas. Con esto se logra la eliminación de la mayoría de las esporas de hongos comunes en el suelo y se incrementa la posibilidad de aislar formas presentes como micelio, especies que crecen lentamente y aquellas que se encuentran dentro de las partículas orgánicas (Parkinson *et al.*, 1971).

Con esta técnica se logra hacer la separación de diferentes tipos y tamaños de partículas, las cuales pueden ser consideradas como unidades discretas; el tamaño pequeño de las partículas permite tener una relación colonia-partícula igual o similar a 1, lo que permite obtener datos de frecuencia más exactos (Baath, 1988) y con esto se puede hacer un análisis más detallado del comportamiento de los hongos y se puede indicar el microhábitat de una especie por su distribución entre los diferentes tipos de partículas del suelo (Frankland, 1990).

La eficiencia de la técnica de lavado de suelo está relacionada con la naturaleza física del suelo en estudio (Parkinson, 1994). Williams (1965 en Parkinson *et al.*, 1971) estudió este aspecto y demostró que el suelo arenoso se lava más eficientemente que los suelos con alto contenido de arcilla o humus.

Los métodos de aislamiento hasta ahora mencionados proporcionan listas de especies que se presentan en una comunidad fúngica. El número de especies es el primero y más antiguo concepto de la diversidad de especies, y se le denomina riqueza de especies (Krebs, 1978); es el método más crudo para cuantificar la proporción de componentes individuales de la flora fúngica y el resultado con frecuencia depende más de la intensidad del trabajo y de la experiencia del investigador que de la diversidad de la población. La mayoría de los análisis se detienen cuando la curva que relaciona el número de especies con el número de aislamientos todavía está subiendo (Christensen, 1981). Por lo tanto, las especies con una abundancia baja tienen poca probabilidad de ser detectadas (Gams, 1992).

Las estimaciones de frecuencia de aparición, derivadas de datos tales como número de cajas de aislamiento o unidades de recurso, con frecuencia son necesarios para propósitos comparativos simples, y a veces pueden expresarse sobre la base de un área o volumen. También se pueden obtener índices de diversidad de especies a partir de la riqueza de especies (número de especies) y de la abundancia (número de individuos por especie) por análisis matemático (Magurran, 1988).

Gochenaur y Whittingham (1967 en Griffin, 1972) mostraron que se requieren no menos de 500 aislamientos para tener un muestreo adecuado utilizando la técnica de dilución de suelo.

#### **1.4.4 Técnicas moleculares**

Uno de los principales problemas al estudiar los hongos del suelo es que solo el 17% de los hongos conocidos puede crecer en cultivo (Hawksworth, 1991); aunque algunos hongos del suelo puedan crecer en cultivo en muchos casos las estructuras de resistencia no producen cuerpos fructíferos, por lo que en ocasiones sólo se tiene disponible micelio vegetativo, lo que hace difícil la identificación de los hongos. Esto ha llevado a la aplicación de técnicas moleculares en la identificación de hongos (Bruns *et al.*, 1992). Estas técnicas se basan en la utilización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Aunque la utilización de la PCR para procesar muestras de suelo puede tener problemas debido a la gran cantidad de compuestos presentes (ácido húmico, taninos y compuestos asociados a la lignina) que pueden interferir con la reacción e inhibir la amplificación, el desarrollo y optimización de los métodos de extracción de ADN puede resolver ese problema (Bridge y Spooner, 2001).

Los métodos para estudiar hongos en situaciones ecológicas deben combinar procedimientos de observación directa con técnicas de aislamiento, y se debe hacer el esfuerzo para distinguir aquellos hongos que están presentes como micelio vegetativo activo de aquellos que están presentes como esporas en latencia.

#### **1.4.5 Técnicas de medición de biomasa**

La biomasa microbiana del suelo es un componente importante de la materia orgánica del suelo que regula la transformación y el almacenamiento de nutrientes.

Las estimaciones más precisas de la biomasa total son aquellas obtenidas de la medición de la longitud hifal en preparaciones delgadas de suelo u hojarasca. Las longitudes hifales son convertidas a volumen y masa permitiendo

hacer comparaciones entre diferentes suelos y entre diferentes grupos de organismos presentes en ellos (Parkinson *et al.*, 1971).

Se asume que las hifas son cilindros perfectos, y se tienen que usar factores para diámetro, contenido de humedad y densidad relativa de las hifas (Frankland, 1990) aunque las condiciones pueden cambiar mucho de un lugar a otro o dependiendo de las condiciones de crecimiento y la edad del micelio (Newell y Statzell-Tallman, 1982 en Frankland, 1990) lo que lleva a generalizaciones que pueden resultar erróneas.

#### 1.4.5.1 Técnicas fisiológicas

La técnica de *incubación por fumigación con cloroformo* (CFI) (Jenkinson, 1966 en Horwath y Paul, 1994) consiste en medir la cantidad de C y N a partir de la diferencia en la cantidad de CO<sub>2</sub> y NH<sub>4</sub><sup>+</sup> extraíble entre muestras de suelo fumigadas y no fumigadas.

Esta técnica se basa en el hecho de que en una muestra de suelo fumigado la tasa de respiración es mayor que la tasa de respiración de un suelo no fumigado, esto es debido a la descomposición y a la mineralización de compuestos nitrogenados de componentes microbianos lisados (Horwath y Paul, 1994).

La técnica de *respiración inducida de substrato* (SIR) fue introducida por Anderson y Domsch (1978 en Horwath y Paul, 1994) para estimar rápidamente la cantidad de C contenido en microorganismos vivos activos en muestras de suelo. Se basa en el cálculo de la biomasa a través de la medición de la tasa de respiración de CO<sub>2</sub> después de la adición de una fuente de C o energía que puede ser glucosa, sales minerales, extracto de levadura entre otros.

#### 1.4.5.2 Técnicas químicas

Estas técnicas se basan en la extracción de compuestos únicos para determinar el tamaño de la biomasa; algunos de los compuestos utilizados son ATP, ácidos nucleicos, ácido murámico, quitina, fósforo de lípidos y ergosterol (Horwath y Paul, 1994).



En la técnica de *extracción por fumigación con cloroformo* (CFE) los constituyentes microbianos liberados por la fumigación pueden ser extraídos y usados para determinar el tamaño de la biomasa del suelo. La CFE está correlacionada con el N y el C de biomasa de la misma manera que lo está la CFI (Gallardo y Schlesinger, 1990 en Horwath y Paul, 1994). El cálculo de la biomasa se hace obteniendo la diferencia entre el C y el N de biomasa del suelo fumigado y de un suelo no fumigado.

## 2. ANTECEDENTES

Adamentz (1886 en Watanabe, 1994) es considerado generalmente como el pionero en el estudio de los hongos del suelo a través de sus intentos por aislar e identificar hongos de las capas superiores del suelo. Aisló y nombró 11 especies de hongos incluyendo *Aspergillus glaucus*, *Penicillium glaucus* y *Mucor stolonifer*.

Un estudio más detallado fue realizado por Oudemans y Koning (1902 en Warcup, 1971) que inocularon placas de agar o gelatina con suspensiones acuosas que obtenían pulverizando fragmentos de materia orgánica extraídos del suelo. Identificaron 45 especies de hongos.

Posteriormente, otros trabajos fueron los de Hagem (1907, 1910 en Watanabe, 1994) que aisló 16 especies de Mucorales en Suiza, incluyendo 8 especies nuevas y Dale (1912, 1914 en Warcup, 1971) que aisló alrededor de 100 hongos de diferentes tipos de suelos en Inglaterra.

Jensen (1912 en Watanabe, 1994) estudió la micobiota de varios suelos en Estados Unidos y fue el primero en intentar una síntesis de los datos sobre la micobiota del suelo; agrupó a los hongos del suelo en saprótrofos obligados (los más abundantes) y parásitos facultativos.

La mayoría de las primeras investigaciones caen dentro de una de estas 3 clases: estudios puramente sistemáticos, investigaciones fisiológicas o bioquímicas y estudios cuantitativos que implicaban las estimaciones numéricas de las micobiotas de los suelos (Warcup, 1971).

En esta primera fase de la micología del suelo, se sabía que el suelo contenía una variedad amplia de hongos, y que las especies más comunes

pertenecen a géneros como *Aspergillus*, *Botrytis*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Penicillium* y *Trichoderma*.

Waksman (1916 en Watanabe, 1994) observó a partir de un examen de una variedad de datos de aislamiento de diferentes partes del mundo que especies de *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium* y *Trichoderma* estaban presentes en todos los suelos investigados. A partir de su estudio encontró que los géneros más comunes eran: *Penicillium*, *Mucor*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Cephalosporium*, *Rhizopus*, *Zygorhynchus*, *Acrostalagmus*, *Alternaria*, *Verticillium*.

Bisby y colaboradores (1936) confirmaron la ocurrencia de una micobiota característica del suelo en la cual, además de los géneros ya mencionados, eran comunes *Mortierella*, *Cylindrocarpon* y *Monotospora*. Así se desarrolló el concepto de una micobiota cosmopolita básica capaz de crecer en el suelo bajo condiciones normales y apropiadas y que pueden ser aisladas regularmente del suelo. Junto a estas especies se encontrarían otras con propiedades fisiológicas especializadas, que por lo tanto, tienen una distribución más compleja y no eran aislados regularmente.

Estas ideas proporcionaron la base para el concepto de habitantes del suelo (especies regularmente aisladas) y de invasores del suelo (especies exóticas) que son atribuidos a Waksman.

En 1928, Thom reconoció 4 clases funcionales de hongos del suelo: 1) especies que no crecen activamente pero existen en el suelo como esporas, esclerocios o formas de resistencia; 2) especies locales u ocasionalmente activas y significativas; 3) especies patógenas de plantas capaces de tener una existencia saprobia prolongada y activa en el suelo; 4) especies endémicas del suelo.

Después, Thom y Morrow (1937 en Parkinson y Waid, 1960) sugirieron que los hongos del suelo podían dividirse en dos grupos amplios: organismos relacionados con la descomposición primaria de residuos orgánicos y organismos capaces de utilizar los productos solubles de la descomposición de materia orgánica y materia orgánica suspendida en la solución del suelo; aunque especies individuales pueden pertenecer a ambos grupos.



Burges (1939 en Parkinson y Waid, 1960) sugirió un agrupamiento provisional de los hongos presentes en el suelo, el cual involucraba a parásitos de raíces, parásitos casuales y hongos micorrizicos, parásitos facultativos y saprobios primarios, y los verdaderos hongos del suelo (comprendiendo hongos del tipo del azúcar y aquellos del tipo del humus).

Durante este período (1916-1939) se encontró que la micobiota del suelo variaba con el tipo de suelo, el tratamiento del suelo, la cubierta vegetal y la profundidad del suelo.

Timonin (1936) encontró que el número de hongos disminuía con la profundidad del suelo.

Hasta la década de los 50's los estudios de los hongos del suelo se limitaron a describir las especies aisladas. A partir de la década de los 60's se iniciaron estudios donde además de identificar y describir las especies aisladas se consideraba a los hongos como integrantes del grupo de los descomponedores. De esta manera los estudios se volvieron tanto cualitativos como cuantitativos, teniendo en cuenta los diferentes tipos de ecosistemas, de suelos y épocas del año.

Bissett y Parkinson (1979 a, b y c) estudiaron la distribución de los hongos, la estructura de la comunidad fúngica y las relaciones funcionales entre los hongos del suelo y el ambiente en suelos alpinos. Encontraron que la frecuencia de ocurrencia de la mayoría de los taxa estaba relacionada inversamente con la profundidad del suelo. También observaron que los cambios en la composición de la micobiota estaban relacionados con cambios en la humedad y la temperatura de los suelos.

Wacha y Tiffany (1979) hicieron un estudio cualitativo y cuantitativo de los hongos microscópicos aislados de campos bajo diferentes regímenes de arado. *Trichoderma*, *Fusarium*, *Penicillium*, *Gliocladium* y *Rhizopus* fueron los taxa aislados con mayor frecuencia.

En 1983 Godeas hizo un estudio sobre los hongos del suelo de dos bosques de *Nothofagus nombeyi*. Encontró que el contenido miceliar disminuía

con la profundidad. Los géneros aislados con mayor frecuencia fueron *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mortierella*, *Mucor* y un micelio estéril.

Nordgren y colaboradores (1985) estudiaron la composición de especies en suelos de bosques de coníferas de Suecia contaminados con metales pesados. Aislaron 120 taxa y encontraron que la frecuencia de aislamiento de hongos comunes en suelos de bosques de coníferas como *Penicillium spinulosum*, *P. montaneense*, *P. brevicompactum*, *Oidiodendron cf. tenuissimum*, *O. cf. echinulatum* y *O. maius* disminuía cerca de la fuente de contaminación de metales pesados. Mientras que otros hongos menos comunes o raros incrementaron como: *Paecilomyces farinosus*, *Geomyces pannorum*, *Chalara constricta*, *C. longipes* y formas estériles.

Abou-Heilah (1985) estudió los hongos del suelo en dos zonas boscosas de Arabia Saudita. Identificó 103 especies pertenecientes a 53 géneros. Los géneros aislados con mayor frecuencia fueron *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Dreschlera*, *Ulocladium*, *Torula*, *Humicola*, *Alternaria* y *Helminthosporium*.

Widden (1986a) analizó datos de hongos microscópicos aislados de suelos de Canadá. Encontró que un grupo de taxa formaba una comunidad de invierno mientras que otro grupo se asociaba en meses más cálidos. *Geomyces pannorum*, *Paecilomyces fumosoroseus*, *P. marquandii*, *Penicillium purpurogenum*, *Trichoderma koningii*, *T. polysporum*, *Botryotrichum piluliferum*, *Chrysosporium verrucosum* y *Exophiala sp.* estuvieron asociados a muestras de meses fríos; mientras que *Fusarium solani*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium thomii* y *Staphylotrichum coccosporum* tendieron a asociarse con los meses más cálidos.

En 1988 Agarwal y Chauhan hicieron un estudio de los hongos del suelo de Chandpata donde aislaron 66 especies de hongos de las cuales *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Curvularia lunata*, *Fusarium solani*, *Humicola fuscoatra* y *Trichoderma glaucum* mostraron una gran amplitud ecológica. También encontraron una marcada diferencia en la distribución de los hongos en las diferentes estaciones del año.

Persiani y colaboradores (1998) estudiaron la variación en la diversidad de hongos aislados de suelos. Observaron un cambio intra e interanual en la diversidad de especies debido a la perturbación. Identificaron especies con comportamiento generalista y especies con comportamiento especialista.

Donnison y colaboradores (2000) evaluaron el efecto de la intensificación en el manejo del suelo en el tamaño, la actividad y la estructura de las comunidades microbianas. Encontraron una reducción en la biomasa fúngica como resultado de la intensificación en el manejo. Los géneros comúnmente aislados fueron *Fusarium*, *Mucor*, *Absidia*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Acremonium*, *Zygorhynchus*, *Phoma* y *Paecilomyces*.

En México se conoce poco acerca de los hongos del suelo y se han realizado estudios durante los últimos 20 años.

Céspedes y Castillo (1982) aislaron Quitridiomycetes y Oomicetes del suelo de 4 estados de la república mexicana. Reportaron 18 especies, 15 de las cuales se registraron por primera vez en México.

En 1984, Campos y Ferrera-Castro estudiaron los efectos de cenizas volcánicas sobre los hongos del suelo.

Piñón Flores (1984) realizó un estudio de la composición y estructura de las comunidades fúngicas de tres suelos en Oaxaca. Determinó que las diferencias entre los sitios fueron la causa principal en la variación de la comunidad fúngica del suelo. *Phialophora richadsiae*, *Verticillium psalliotae* y *Penicillium sp.*, respectivamente, fueron las especies más aisladas de los tres sitios estudiados.

En 1984, Rodríguez Fábregas hizo un estudio sobre las comunidades fúngicas de suelos del volcán Popocateptl. Encontró que las diferencias entre los sitios son la causa principal de las variaciones en la composición de las comunidades fúngicas del suelo. Las especies que aisló con más frecuencia pertenecen a los géneros *Penicillium* y *Oidiodendron*.

Samaniego (1987) hizo un estudio sobre los hongos del suelo de noguerales. Aisló 115 taxa y calculó el Valor Índice de Importancia (Vii) para cada taxa. *Acremonium furcatum*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus puniceus*,

*Penicillium rolfsii*, *P. sp.*, *Neosartoria fischeri* y *Alternaria alternata* fueron los taxa con Vii mayor.

En 1990 (a y b), Rodríguez y colaboradores, y Bettucci y colaboradores hicieron un estudio de la composición, la distribución vertical y la variación estacional de las comunidades fúngicas de suelos del volcán Popocatepetl a lo largo de un gradiente altitudinal. Encontraron que *Penicillium nigricans*, *Oidiodendron periconioides* y *O. echinulatum* fueron las especies más abundantes. El número de especies identificadas, así como el número de aislamientos disminuyó con la profundidad. La abundancia total de los hongos del suelo no fue estable en cada uno de los sitios de las tres estaciones.

González y colaboradores (1998) realizaron un estudio sobre los micromicetos de tres playas costeras de Veracruz. Identificaron 52 especies (12 marinas y 40 terrestres); 15 especies pertenecieron a los ascomicetos, 34 a los hifomicetos, 2 a los blastomicetos y una a los coelomicetos. Encontraron que la distribución de la abundancia mostró pocas especies con valores altos o bajos y la mayoría de especies con valores medios.

Heredía (1999) hizo un listado de especies de hongos microscópicos presentes en el suelo de un bosque mesófilo de montaña. Heredia y colaboradores (2000, 2001) y Bills y colaboradores (2001) han hecho la mayor contribución al conocimiento de los hongos microscópicos del suelo y de hojarasca en México, al describir nuevas especies de diferentes grupos de Hyphomycetes.

Del Olmo (2003) realizó un estudio sobre los hongos del suelo de una plantación de plátano en el estado de Tabasco. Identificó 39 especies pertenecientes a 12 géneros de hongos mitospóricos.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

- Contribuir al conocimiento de los hongos microscópicos del suelo de México.

#### **3.2 OBJETIVOS PARTICULARES**

- Determinar la abundancia, la frecuencia y la diversidad de los hongos microscópicos aislados del suelo de un tinal con énfasis en los hongos mitospóricos saprobios siguiendo las técnicas de lavado de suelo y de dilución de suelo.
- Comparar los resultados obtenidos con las técnicas de aislamiento utilizadas mediante la aplicación de análisis estadísticos.
- Comparar los resultados obtenidos para los dos muestreos estacionales (seca y lluvias).

## 4. MATERIALES Y MÉTODO

### 4.1. Área de estudio

#### 4.1.1 Descripción del sitio de muestreo

El sitio de muestreo se encuentra dentro de las instalaciones de la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco que se ubican al Oeste de la Ciudad de Villahermosa, Tabasco; en el kilómetro 0.5 de la carretera 180 (Costera del Golfo, tramo Villahermosa-Cárdenas) y la intersección con la carretera a Bosques de Saloya, en el Municipio del Centro (figura 1).

El sitio de muestreo se localiza entre las coordenadas 17°59'26" y 17°59'71" de latitud Norte y los 92°58'16" y 92°58'37" de longitud Oeste.

La División Académica de Ciencias Biológicas consta de 23 hectáreas, de las cuales 10 corresponden al Jardín Botánico y las restantes 13 al área de infraestructura y áreas verdes.

#### 4.1.2 Comunidad vegetal

El sitio de muestreo tiene una extensión de una hectárea dentro del área de estudio y es conocido como tinal.

Los tintales son considerados selvas bajas subcaducifolias caracterizadas por la presencia, y frecuente dominio, de *Haematoxylon campechianum* L. Esta selva constituye uno de los tipos de vegetación más característicos de los ak'alche' o bajos arbolados; los cuales se forman en hondonadas amplias, con suelo plano y profundo, donde, debido a deficiencias de drenaje, se acumulan periódicamente las aguas de lluvia, pero sin que la inundación sea permanente (Miranda, 1958).

La distribución de los bajos arbolados coincide aproximadamente con la de la selva alta subperennifolia y con fases de transición a la perennifolia; por lo que están restringidos al centro y sur de Campeche, norte de Petén, norte de Belice y casi todo Quintana Roo. No obstante, pueden encontrarse tintales en el sureste de Tabasco y norte de Chiapas (Miranda, 1958).



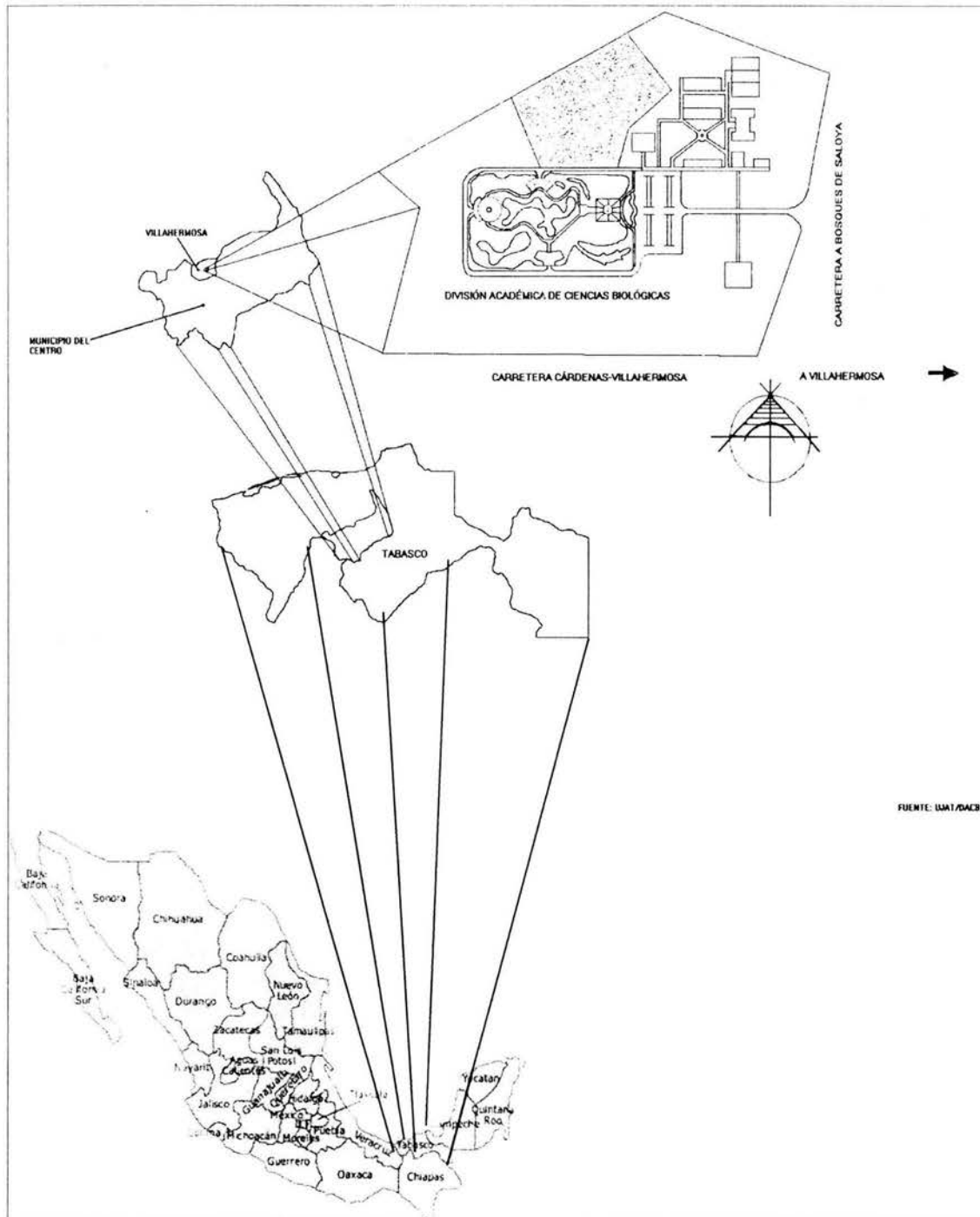


Figura 1. Mapa del área de estudio.

Los tintales típicos se encuentran en el centro y sur de Campeche, norte de Petén y oeste de Quintana Roo, donde no son extensos. En estos casos el palo de tinte no es dominante y tiende a mezclarse con otras especies que se vuelven dominantes. En otros casos, los tintales pueden formar zonas de transición a la selva subperennifolia y a veces a la sabana. También se encuentran tintales en planicies costeras donde ocupan los bajos que se forman por la deposición de cieno; en estos casos, los tintales forman una fase de transición a los manglares (Miranda, 1958).

En la periferia del sitio de estudio además de *Haematoxylon campechianum* se encuentran las siguientes especies: *Salix chilensis* (sauce llorón), *Achras zapota* (zapote), *Byrsonima crassifolia* (nanze), *Metopium brownei* (cheechen negro), *Chrysophyllum mexicanum* (chike'), *Tabebuia rosea* (macuili), *Gliricidia sepium* (cocoíte), *Cecropia obtusifolia* (guárumo), *Guazuma ulmifolia* (guácimo), *Roystonea dunlapiana* (palma real).

*Haematoxylon campechianum* L. Leguminosae Caesalpinioideae, es conocido comúnmente como palo de tinte, tinto o palo de Campeche. Es un árbol perennifolio que llega a medir 15 m de altura y diámetro a la altura del pecho de 80 cm, copa redondeada con las ramas ascendentes y torcidas. Su corteza externa es escamosa en piezas pequeñas cuadradas o longitudinales, de color pardo grisáceo a pardo amarillento. La corteza interna es de color pardo rojizo que pasa a pardo oscuro, quebradiza, de sabor muy amarga, con un grosor total de 2 a 8 mm. Ramas jóvenes de color pardo grisáceo a moreno, frecuentemente con una espina de 1-1.5 cm de largo en la inserción de cada hoja, a veces ligeramente fisuradas. Hojas dispuestas en espiral y aglomeradas, de 3 a 10 cm de largo, cuneiformes, con el margen entero, ápice truncado a profundamente emarginado, base cuneada a redondeada; de color verde limón brillante en la haz y verde pálido en el envés, glabros; con numerosos nervaduras finas y paralelas. Flores de 5 a 7 mm de largo, en racimos axilares y terminales hasta de 10 centímetros de largo; sépalos pardo rojizo de 4 a 5 mm de largo, elípticos u oblongos; pétalos amarillos de hasta 7 mm de largo, oblanceolados. Sus frutos son producidos en una vaina aplanada de 3 a 6 cm de largo y 6 a 15 mm de ancho, de color pardo

amarillento, membranosa, que contiene 1 ó 2 semillas aplanadas, morenas, de hasta 1 cm de largo (Pennington y Sarukhán, 1998).

En el siglo XVI los españoles lo exportaron a Europa como madera preciosa, al igual que la caoba americana o el cedro. La madera produce una sustancia de color rojo oscuro, la hematoxilina, usada para elaborar un tinte púrpura (West *et al.*, 1985).

#### 4.1.3 Clima

El municipio del Centro, donde se localiza el sitio de muestreo, presenta un clima tipo Am(f): cálido húmedo con lluvias en verano, según la clasificación de Köppen modificada por García. Con temperaturas máximas y mínimas anuales de 40°C y 20°C respectivamente, con temperatura media anual de 26°C. La precipitación promedio anual es de 1500 a 3000 milímetros (Contreras Martínez, 1994).

En el Golfo de México se pueden diferenciar 3 estaciones: seca, lluvias de verano y lluvias de invierno o “nortes”. La principal influencia de esta estacionalidad sobre el sitio de estudio es la condición de anegación debido a la cantidad de agua acumulada, por lo que en este estudio se consideró adecuado dividir un ciclo anual en dos épocas: de seca y de lluvias.

La figura 2 muestra los promedios de precipitación total mensual (1969-1999) y la temperatura media mensual para el municipio del Centro, Tabasco.

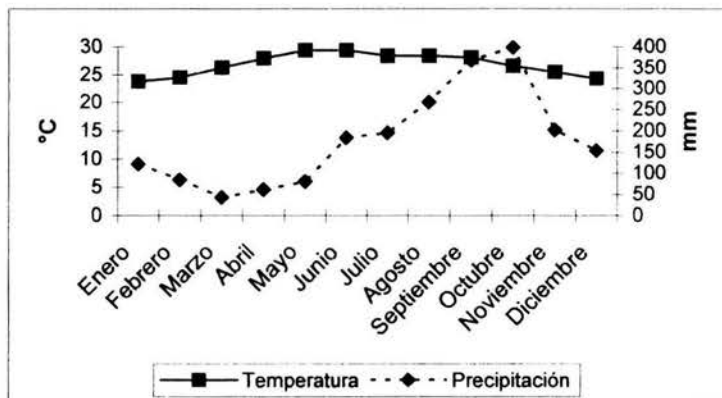


Figura 2. Promedios de precipitación total mensual (1969-1999) y temperatura media mensual (1969-1999) para el municipio del Centro, Tabasco (Fuente: INEGI)

#### 4.1.4 Suelo

Según Palma y Cisneros (1996) el sitio de muestreo corresponde a un gleysol mólico, de acuerdo con Molina (1995) el terreno sobre el cual está situada el área de estudio es Acrisol plíntico + Gleysol éutrico + Fluvisol gléyico con textura media. Estos tipos de suelos se originan a partir de partículas agregadas y depositadas por la acción de lluvias e inundaciones periódicas, y debido a esto los suelos pierden nutrientes y se vuelven ácidos. Debajo de la superficie se forma un horizonte arcilloso que ocasiona drenaje lento y sobre el cual pueden acumularse nutrientes y materia orgánica.

Molina (1995) determinó el perfil del suelo como sigue:

- 0 a 9 cm: migajón arenoso
- 9 a 25 cm: migajón arcillo-arenoso
- 25 a 70 cm: arcilla
- 70 a 110 cm: migajón arcillo-limoso

## 4.2 Muestreo

### 4.2.1 Diseño de muestreo

Ya que el suelo es considerado un ambiente muy heterogéneo en sus condiciones fisicoquímicas (Wollumm, 1994) y con el objetivo de cubrir las variaciones biológicas debidas a esta heterogeneidad se decidió trazar un transecto fijo de 25 metros el cual se dividió a su vez en 5 estaciones de muestreo a 5 metros de distancia cada una.

Se tomaron dos muestras: una en el mes de mayo del 2002 y la otra en noviembre del 2002; siendo considerado el mes de mayo como parte de la época de seca y el mes de noviembre como representativo de la época de lluvias. Esto con el fin de cubrir un ciclo anual de seca y lluvias (Fig. 2).

### 4.2.2 Toma de muestras

En cada estación de muestreo fueron retirados los restos vegetales presentes (hojas, ramas, troncos, hojarasca) con el fin de evitar la contaminación por especies de hongos características de ese sustrato.

Se tomaron aproximadamente 25 g de la capa superficial del suelo (5-10 cm de profundidad) (Subramanian y Wasser, 2001) con una pala de mano esterilizada, flameada con un mechero de alcohol.

Las muestras de suelo de cada estación fueron almacenadas por separado en bolsas de polipapel (esterilizadas previamente en autoclave) que fueron selladas, etiquetadas y mantenidas en refrigeración ( $\pm 5^{\circ}\text{C}$ ) durante su transportación y hasta el momento del procesamiento (Mier *et al.*, 2002). El tiempo que las muestras se mantuvieron en refrigeración fue no mayor de 48 horas.

Además se tomaron 10 g de suelo de cada estación de muestreo para realizar análisis de pH, materia orgánica y textura del suelo. Estos análisis fueron hechos en el Laboratorio de Edafología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Una vez en el laboratorio, las muestras de suelo se dejaron secar a temperatura ambiente hasta que estuvo completamente seca, proceso que duró de 1 a 2 semanas; después de esto se pulverizó el suelo seco y se eliminaron los fragmentos de suelo más grandes y los restos vegetales presentes en la muestra.

#### **4.2.3 Procesamiento de muestra**

Se determinó utilizar una técnica de aislamiento con medios de cultivo semisintéticos generales debido a la facilidad de manejo de la muestra procesada en el laboratorio.

Aunque la utilización de medios de cultivo generales ricos en nutrientes, permite el crecimiento de una gran cantidad de especies, puede haber un sesgo hacia hongos que tengan la capacidad de explotar rápidamente sustancias simples y que crecen rápidamente, enmascarando a especies con requerimientos más específicos o de crecimiento lento (Parkinson, 1994).

Para resolver este problema y conocer la riqueza de especies presentes en un suelo lo más acertadamente posible, se ha recomendado utilizar diferentes técnicas de aislamiento (Gams, 1992).

Las técnicas elegidas para el aislamiento de los hongos del suelo fueron: dilución de suelo y lavado de suelo.

#### 4.2.3.1 Dilución de suelo

La técnica de dilución de suelo consiste en hacer una solución inicial con 1 gr de la muestra de suelo en un tubo de ensaye que contenía 10 ml de una solución estéril de Tween 80 al 0.05%.

A partir de esta solución se hacen diluciones sucesivas transfiriendo alícuotas de 1 ml a otros tubos de ensaye con 9 ml de agua destilada estéril; para obtener una solución homogénea se utilizó un vórtex para agitar los tubos antes de tomar cada alícuota. La transferencia de las alícuotas se hizo con una micropipeta.

Se hicieron 5 diluciones sucesivas (1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000, 1:100,000) hasta obtener una concentración final de  $1 \times 10^{-5}$ . La inoculación de las cajas de Petri se hizo esparciendo 1 ml de la dilución final en la superficie del medio de cultivo.

Las cajas fueron rotadas y con el fin de que el líquido se distribuyera homogéneamente sobre la superficie se utilizó un rodillo de vidrio, con esto se buscaba que las colonias se desarrollaran sobre toda la superficie del agar y no se concentraran en una parte de esta.

Esta técnica ha sido criticada debido a que favorece el aislamiento de especies presentes principalmente en forma de esporas y que pueden no haberse originado en el sitio de donde son aisladas (Frankland, 1990). Este problema es resuelto en parte utilizando una dilución muy pequeña con lo cual se busca eliminar al máximo las esporas presentes en la muestra de suelo. En este estudio se utilizó una dilución de  $1 \times 10^{-5}$ .

#### 4.2.3.2 Lavado de suelo

La técnica de lavado de suelo consiste en lavar 1 gr de suelo a través de un juego de tamices a través del cual se hace circular una corriente de agua con la ayuda de una bomba de vacío, con el fin de eliminar la mayor cantidad de esporas posible y de partículas minerales que conforman el suelo.

En los tamices se colocaron dos mallas con tamaño de poro de 210 y 105  $\mu$ m. Con las partículas retenidas en la malla de 105  $\mu$ m se hizo una suspensión



en un tubo de ensaye que contenía 10 ml de agua estéril (Baath, 1988; Parkinson, 1994).

La suspensión hecha a partir de las partículas retenidas en la malla de 105 mm fue sometida a 5 lavados adicionales. Estos lavados consistieron en agitar los tubos de ensaye con un vórtex y dejar precipitar las partículas; después se decantó el sobrenadante y se volvió a agregar agua destilada para resuspender las partículas. El proceso se repitió 5 veces.

A partir de la quinta resuspensión se hicieron las inoculaciones de las cajas de Petri agitando los tubos de ensaye con un vórtex y esparciendo 1 ml de la suspensión en la superficie del medio de cultivo; las cajas fueron rotadas y con el fin de que el líquido se distribuyera homogéneamente sobre la superficie se utilizó un rodillo de vidrio, con esto se buscaba que las colonias se desarrollaran sobre toda la superficie del agar y no se concentraran en una parte de esta.

Uno de los aspectos más importantes en el estudio de los hongos del suelo es poder diferenciar entre aquellas especies presentes como propágulos de resistencia y aquellas otras presentes como micelio activo (Warcup, 1951). Esta técnica permite el aislamiento de hongos presentes principalmente en forma de micelio asociado a las partículas de materia orgánica del suelo.

#### **4.2.4 Aislamiento de las colonias**

Las cajas de Petri utilizadas contenían agar extracto de malta (EMA) como medio de aislamiento, al cual se le adicionó estreptomycin (0.030 gr/l) para evitar el crecimiento de bacterias.

Se inocularon 5 cajas por cada estación de muestreo, sumando 25 cajas de Petri para cada técnica y un total de 50 cajas de Petri para cada muestreo.

Las cajas de Petri fueron incubadas a 25°C por un período de 20 días. Durante este tiempo las cajas fueron observadas bajo un microscopio estereoscópico a partir del tercer día después de la inoculación y se aislaron las colonias morfológicamente diferentes y se contabilizó el número de colonias morfológicamente similares con el fin de calcular los datos de frecuencia y abundancia.

Los aislamientos de las colonias que se desarrollaron se hicieron en cajas de Petri con EMA las cuales fueron incubadas a 25°C por un período de 5 a 10 días, dependiendo del caso, hasta que desarrollara alguna estructura que permitiera su determinación a nivel de género. Para esto se utilizaron claves generales como von Arx (1970), Barron (1983), Domsch y colaboradores (1993), Barnett y Hunter (1998). Las estructuras fueron observadas al hacer preparaciones con medios de montaje como alcohol polivinílico y alcohol al 70%, y colorantes como el azul de algodón.

#### **4.2.5 Determinación**

Una vez que los aislamientos fueron determinados a nivel de género se procedió a hacer la determinación a nivel de especie, para lo cual las colonias aisladas fueron transferidas a los medios de cultivo adecuados y sometidos a las condiciones sugeridas para su identificación en la literatura especializada.

Se hicieron descripciones de las características macro y micromorfológicas de los aislamientos obtenidos tomando en cuenta características como textura, color y diámetro de la colonia, presencia de micelio aéreo o inmerso, presencia de exudados o pigmentos, distribución del área de conidiación en la superficie del agar, tamaño de hifas, tamaño y textura de los conidióforos, tamaño y forma de las células conidiógenas, tamaño y textura de los conidos, presencia y tamaño de clamidosporas, entre otras.

Una vez identificados los aislamientos, fueron transferidos a tubos de ensaye con agar extracto de malta y depositados en el cepario de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional Autónoma de México.

### **4.3 ANÁLISIS DE DATOS**

#### **4.3.1 Análisis estadístico**

##### *4.3.1.1 Prueba de signos ordenados de Wilcoxon*

La prueba de signos ordenados de Wilcoxon (Zar, 1984), la cual es una prueba no paramétrica para pruebas pareadas, se aplicó para comparar y conocer

si existen diferencias significativas entre el número de aislamientos en cada una de las diferentes técnicas y entre el número de aislamientos en cada muestreo.

#### 4.3.1.2 Prueba de Friedman

La prueba de Friedman (Zar, 1984) es un análisis de varianza no paramétrica para bloques aleatorizados y se aplicó con el fin de conocer si existen diferencias significativas entre número total de aislamientos por cada estación de muestreo.

#### 4.3.1.2 Prueba de correlación de Spearman

Para determinar si había relación entre el número de aislamientos por cada especie con los parámetros edafológicos (pH y materia orgánica) se aplicó una prueba de correlación no paramétrica de Spearman (Zar, 1994).

Los análisis estadísticos se hicieron utilizando el programa SPSS 10.0 para Windows.

### 4.3.2 Análisis ecológico

#### 4.3.2.1 Riqueza

La riqueza fue considerada como el número de especies aisladas con cada técnica y en cada muestreo (Gams, 1992).

#### 4.3.2.2 Abundancia

La abundancia (algunas veces llamada densidad) se define como la presencia cuantitativa de una especie particular en un solo análisis (Gams, 1992). En el caso particular de este estudio, la abundancia estaría representada por el número de aislamientos de una especie con cada una de las técnicas en cada muestreo.

Abundancia =  $\frac{\text{número de aislamientos de la especie } i \text{ hechos con la técnica } n}{\text{número total de aislamientos hechos con la técnica } n}$

#### 4.3.2.3 Frecuencia

La frecuencia se definió como la proporción con la que una especie particular es encontrada entre varios análisis temporal o espacialmente separados (Gams, 1992); en este estudio estaría representada por el número de aislamientos de una especie con las dos técnicas utilizadas en cada muestreo.

$$\text{Frecuencia} = \frac{\text{número de aislamientos de una especie hechos con las técnicas } n \text{ y } m}{\text{número total de aislamientos hechos en el muestreo}} \times 100$$

#### 4.3.2.4 Frecuencia de aparición

Para conocer la variación espacial de las especies a lo largo del transecto, se calculó la frecuencia de aparición (Clarke y Christensen, 1981) para cada estación de muestreo de las 20 especies más abundantes en cada período de muestreo, de la siguiente manera

$$\text{Frecuencia de aparición} = \frac{\text{número de cajas en las que aparece la especie}}{\text{número de cajas inoculadas en cada estación de muestreo}} \times 100$$

las frecuencias de aparición de 20 a 40% se consideraron bajas, de 60% se consideraron medias y de 80 y 100% se consideraron altas.

#### 4.3.2.5 Diversidad

La diversidad de la población fúngica puede ser evaluada a dos niveles, a) simplemente registrando el número de especies recuperadas en función del número de aislamientos, y b) por la relación de las diferencias de abundancia (Gams, 1992).

Un conocimiento más profundo de las comunidades fúngicas sólo es posible cuando se conoce la importancia relativa de los hongos identificados (Kjoller y Struwe, 1982). Para este propósito se utilizaron los siguientes índices: índice de Shannon, índice de Simpson, índice  $\alpha$  de Fisher, índice  $d$  de Berger-Parker.

Se eligieron los índices de Shannon y Simpson para motivos de comparación con otros estudios ya que son los índices más utilizados; los índices de Fisher y Berger-Parker se eligieron para cubrir diferentes aspectos de los datos ecológicos como riqueza y dominancia, además de ser un primer intento de su utilización en trabajos micológicos.

El cálculo de los índices de diversidad se hizo utilizando el programa Biodiversity Pro version 2.

#### 4.3.2.5.1 *Índice de Shannon*

El índice de Shannon es definido como:

$$H = -(\sum p_i)(\log_2 p_i)$$

donde  $p_i$  es la proporción del total de la muestra que corresponde a la especie  $i$ ; esto es, la frecuencia de cada especie. Este índice tiene una habilidad discriminante moderada, una sensibilidad al tamaño de muestra moderada y está orientado hacia la riqueza de especies (Magurran, 1988).

#### 4.3.2.5.2 *Índice de Simpson*

El índice de Simpson da la probabilidad de que dos individuos cualesquiera que sean tomados al azar de una comunidad infinitamente grande, pertenecerán a dos especies diferentes como

$$D = \sum p_i^2$$

Este índice tiene una habilidad discriminante moderada, una sensibilidad al tamaño de muestra baja y está orientado a la dominancia (Magurran, 1988).

#### 4.3.2.5.3 *Índice $\alpha$ de Fisher*

El índice  $\alpha$  de Fisher se deriva del modelo de las series logarítmicas, el cual representó el primer intento por describir matemáticamente la relación entre el

número de especies y el número de individuos en esas especies (Magurran, 1988). Se obtiene de la ecuación

$$\alpha = \frac{N(1 - X)}{X}$$

donde N es el número total de individuos y X se estima a partir de la solución iterativa de

$$S/N = (1 - X)/X [- \ln (1 - X)]$$

El índice de Fisher tiene una buena habilidad discriminante, una sensibilidad al tamaño de muestra baja y está orientado a la riqueza de especies (Magurran, 1988).

#### 4.3.2.5.4 Índice de Berger-Parker

El índice d de Berger-Parker es una sencilla medida de dominancia; expresa la importancia proporcional de las especies más abundantes

$$d = N_{\max}/N$$

donde Nmax es el número de individuos en la especie más abundante y N es el número total de especies. Tiene una pobre habilidad discriminante, su sensibilidad al tamaño de muestra es baja y esta orientado hacia la dominancia (Magurran, 1988).

#### 4.3.2.6 Dominancia

##### 4.3.2.6.1 Prueba de asociación de Olmstead-Tukey

Con el fin de conocer las especies dominantes en cada una de las estaciones y en cada una de las técnicas utilizadas, se aplicó la prueba de asociación de Olmstead-Tukey o análisis bidimensional (Sokal y Rohlf, 1981). Esta prueba permite determinar la existencia de correlación entre las abundancias de



los organismos en función de la frecuencia presentada por los mismos. Esta determinación es cualitativa ya que no proporciona la magnitud de la asociación.

Se elaboró un diagrama de dispersión del porcentaje de frecuencia vs logaritmo natural de la abundancia de las especies, este diagrama es dividido en cuatro cuadrantes al trazar la mediana de ambos factores, a partir de esta gráfica podemos determinar a las especies dominantes (densidad y frecuencia de aparición altas con respecto a las medianas), a las especies constantes (densidad baja y frecuencia de aparición alta), a las especies ocasionales (densidad alta y frecuencia de aparición baja) y a las especies raras (densidad y frecuencia de aparición bajas con respecto a las medianas).

## 5. RESULTADOS

Se identificaron 61 especie, en 27 géneros (Anexo A; figura 3 y 4). La mayoría de los taxa identificados (53) pertenecen al Orden Moniliales de la Clase Hyphomycetes; 4 taxa corresponden al Orden Mucorales de la Clase Zygomycetes. El Orden Melanconiales y el Orden Sphaeropsidales de la Clase Coelomycetes estuvieron representados por 1 taxa cada uno, al igual que el Orden Xylariales y el Orden Eurotiales de la Clase Euascomycetes.

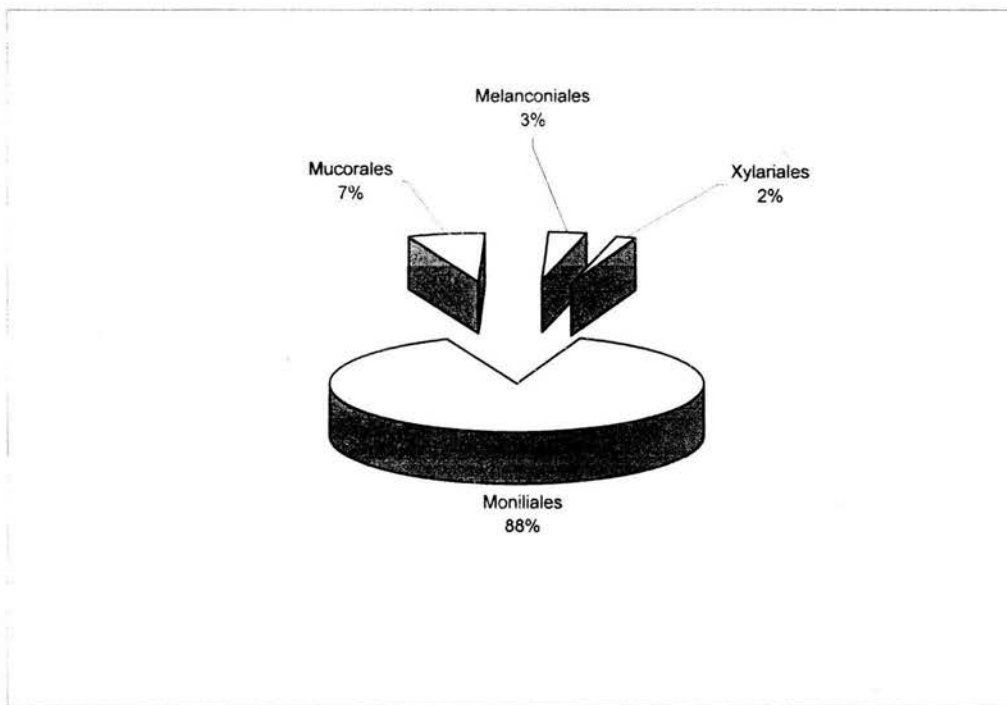


Figura 3. Ordenes representados por las especies identificadas.

### 5.1 Muestreo 1 (Mayo 2002)

#### 5.1.1 Análisis del suelo

La tabla 3 muestra los valores obtenidos para los análisis de pH, contenido de materia orgánica y textura. El contenido de humedad en este muestreo fue de 3.9%.

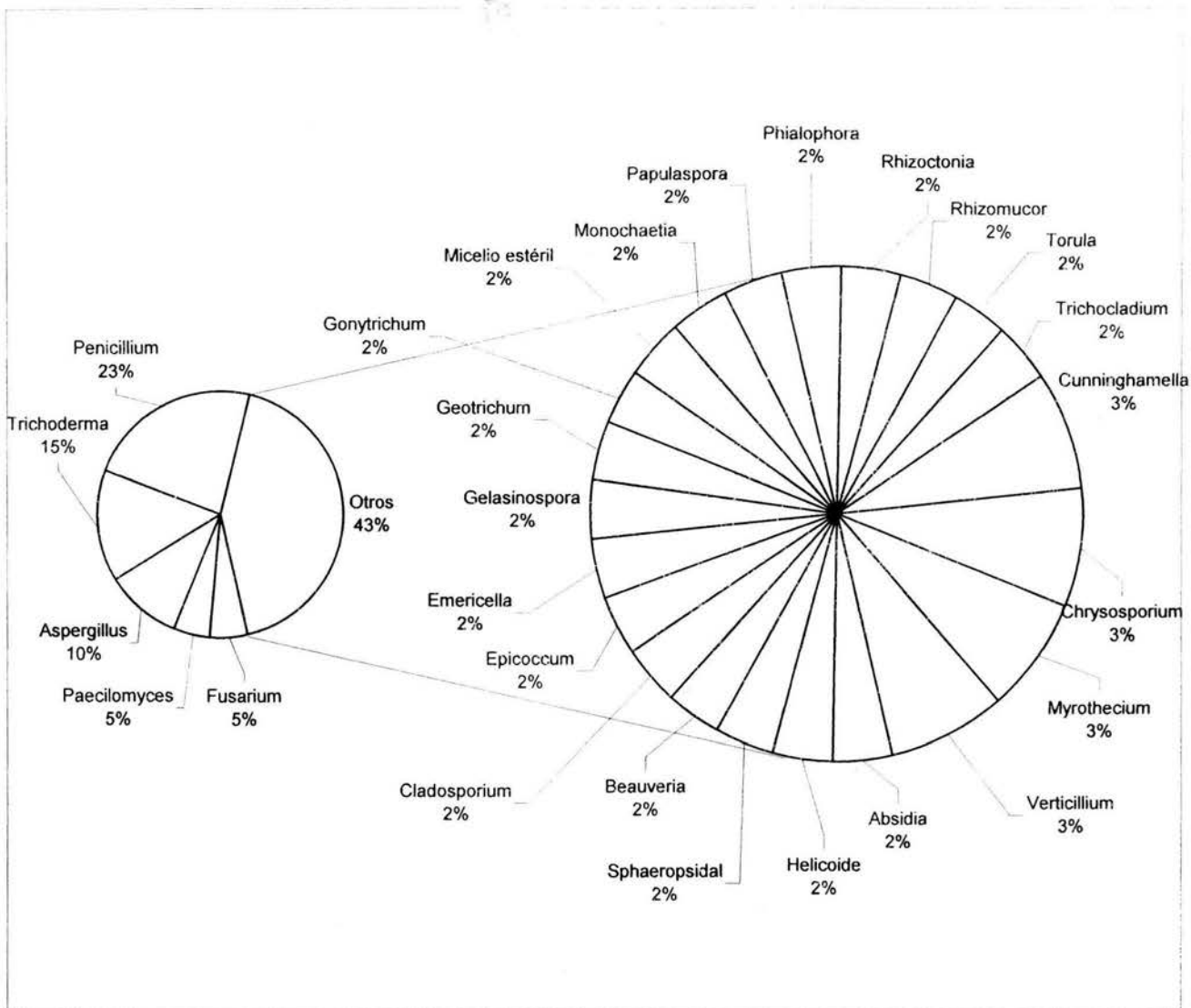


Figura 4. Géneros representados por las especies identificadas.

Tabla 3. Resultados del análisis de la muestra de suelo de Mayo 2002.

| Parámetro            | Estación 1                            | Estación 2 | Estación 3 | Estación 4 | Estación 5 |
|----------------------|---------------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| pH                   | 7.02                                  | 7.05       | 7.03       | 7.01       | 7.01       |
| Materia orgánica (%) | 5.46                                  | 5.40       | 5.43       | 5.45       | 5.40       |
| Textura (%)          | 52.8 arena<br>33.2 limo<br>14 arcilla |            |            |            |            |

### 5.1.2 Micobiota

Se cuantificó un total de 547 unidades formadoras de colonias (UFC). Se hicieron 232 aislamientos (figura 5), 131 del lavado de suelo y 101 de las

diluciones de suelo. Estos aislamientos correspondieron a 69 taxa, 36 del lavado de suelo y 33 de las diluciones de suelo.

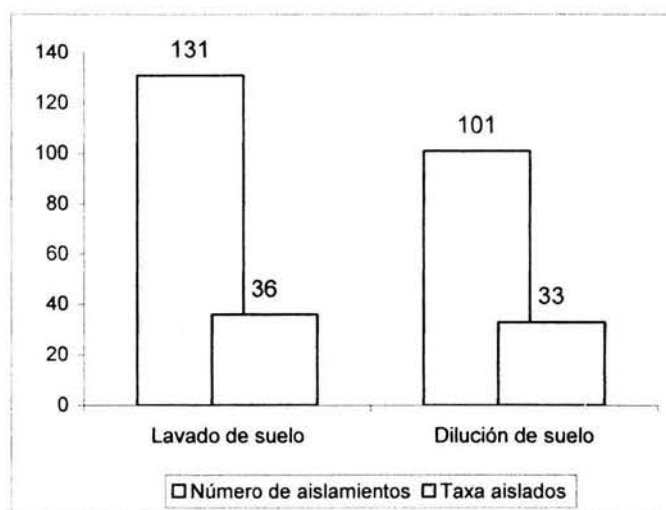


Figura 5. Número de aislamientos y taxa identificados en el muestreo de Mayo 2002.

#### 5.1.2.1 Lavado de suelo

A partir del lavado de suelo se aislaron 34 especies pertenecientes a 16 géneros. En la tabla 4 y figura 6 se muestran los géneros aislados, la riqueza y abundancia de cada uno de ellos.

Tabla 4. Riqueza y abundancia de los géneros aislados con la técnica de lavado de suelo a partir de la muestra de Mayo 2002.

| Género                   | Riqueza | Abundancia |
|--------------------------|---------|------------|
| <i>Trichoderma spp</i>   | 9       | 0.3267     |
| <i>Aspergillus spp</i>   | 3       | 0.2244     |
| <i>Penicillium spp</i>   | 6       | 0.1870     |
| <i>Fusarium spp</i>      | 2       | 0.0898     |
| <i>Paecilomyces spp</i>  | 3       | 0.0524     |
| <i>Chrysosporium sp</i>  | 1       | 0.0474     |
| <i>Cunninghamella sp</i> | 1       | 0.0200     |
| <i>Verticillium sp</i>   | 1       | 0.0150     |
| <i>Cladosporium sp</i>   | 1       | 0.0125     |
| <i>Monochaetia sp</i>    | 1       | 0.0100     |
| <i>Gonytrichum sp</i>    | 1       | 0.0025     |
| <i>Myrothecium sp</i>    | 1       | 0.0025     |
| <i>Trichocladium sp</i>  | 1       | 0.0025     |
| <i>Gelasinospora sp</i>  | 1       | 0.0025     |
| <i>Epicoccum sp</i>      | 1       | 0.0025     |
| <i>Emericella sp</i>     | 1       | 0.0025     |

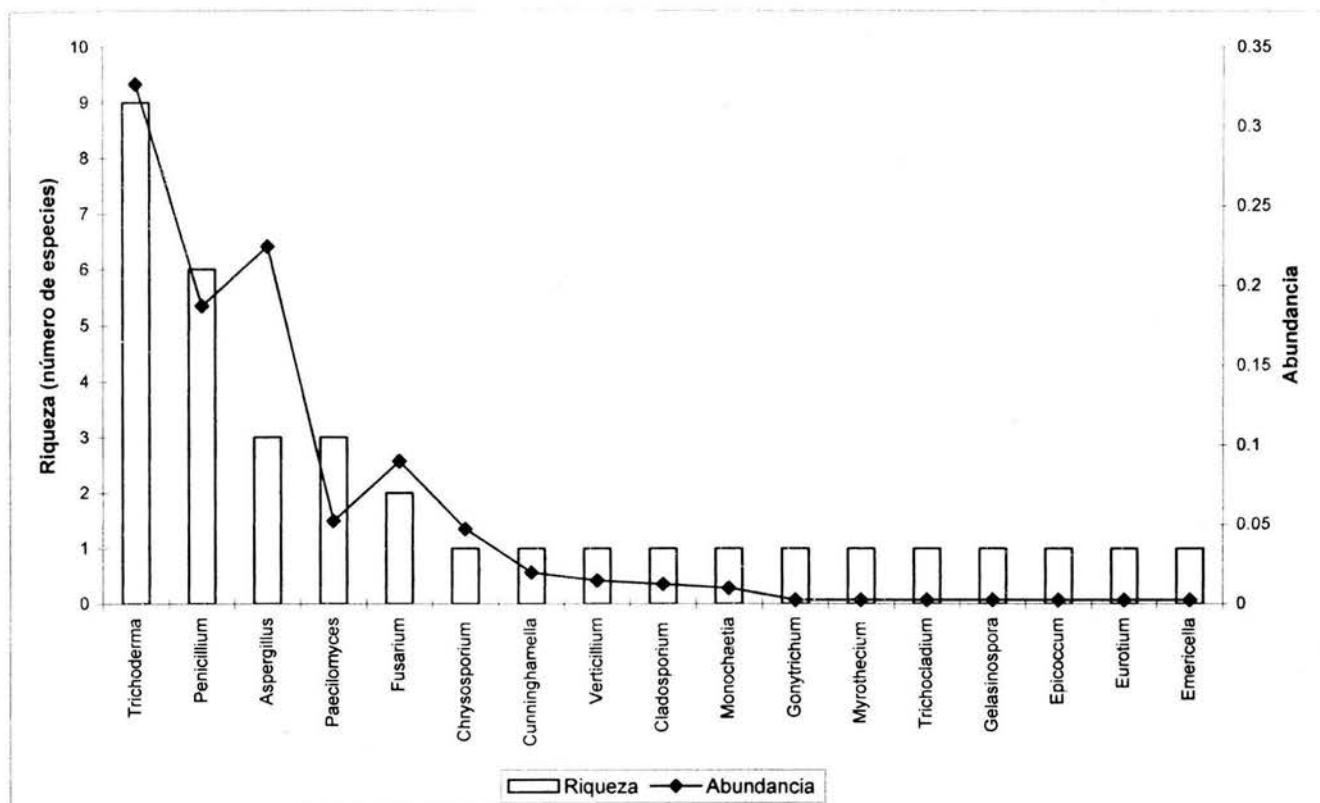


Figura 6. Riqueza y abundancia de los géneros identificados con la técnica de lavado de suelo en el muestreo de Mayo 2002.

El género más rico fue *Trichoderma* con nueve especies, le siguió *Penicillium* con seis especies, *Aspergillus* y *Paecilomyces* con tres especies, *Fusarium* con dos especies y los géneros restantes con una especie: *Chrysosporium*, *Cunninghamella*, *Verticillium*, *Cladosporium*, *Monochaetia*, *Gonytrichum*, *Myrothecium*, *Trichocladium*, *Gelasinospora*, *Epicoccum*, y *Emericella*.

*Trichoderma* también fue el género más abundante (0.3267), seguido de *Aspergillus* (0.2244), *Penicillium* (0.1870), *Fusarium* (0.0898), *Paecilomyces* (0.0524), *Chrysosporium* (0.0474), *Cunninghamella* (0.0200), *Verticillium* (0.0150), *Cladosporium* (0.0125), *Monochaetia* (0.0100) y *Gonytrichum*, *Myrothecium*, *Trichocladium*, *Gelasinospora*, *Epicoccum* y *Emericella* (0.0025). Cabe destacar que *Aspergillus* tuvo una abundancia mucho mayor que *Penicillium*, a pesar de tener una riqueza menor.

Las especies con abundancias mayores a 0.0500 (tabla 5 y figura 7) fueron *Aspergillus japonicus* (0.2045), *Trichoderma aff. citrinoviride* (0.1845), *Penicillium citrinum* (0.0998), *Trichoderma harzianum* (0.0673), *Fusarium tabacinum* (0.0673) y *Penicillium canescens* (0.0623). Las abundancias del resto de las especies se muestra en la tabla 3.

La tabla 6 muestra la frecuencia de aparición en cada una de las cinco estaciones de muestreo, de las especies aisladas con la técnica de lavado de suelo. Solo *Aspergillus japonicus*, *Trichoderma harzianum* y *Fusarium tabacinum* estuvieron presentes en todas las estaciones de muestreo. *A. japonicus* presentó frecuencias altas (100 y 80%) en 4 de las estaciones y solo en una (estación 3) tuvo frecuencia baja (40 y 20%); por su parte *T. harzianum* presentó frecuencias medias (60%) en dos estaciones (2 y 3) y frecuencias bajas en 3 estaciones (1, 4 y 5). *F. tabacinum* presentó frecuencias altas en una sola estación (1), frecuencias medias en dos estaciones (2 y 4) y frecuencias bajas en las dos estaciones restantes (3 y 5).

*Trichoderma aff. citrinoviride*, *Penicillium citrinum*, y *Paecilomyces farinosus* se presentaron en cuatro de las cinco estaciones de muestreo. *T. aff. citrinoviride* tuvo frecuencias altas en tres de las estaciones donde se presentó (estaciones 1, 2 y 4) y frecuencias media en una estación (5). *P. citrinum* tuvo frecuencias altas en dos de las estaciones (2 y 4) y frecuencias medias en las otras dos (1 y 3). *P. farinosus* presentó frecuencias medias en una sola estación donde se registró (estación 3) y frecuencias bajas en las otras tres estaciones (2, 4 y 5).

*Penicillium canescens*, *Chrysosporium sp1*, *Trichoderma aggr. koningii*, *Fusarium moniliforme*, *Cunninghamella elegans*, *Aspergillus parasiticus*, *Verticillium lecanii*, *Trichoderma parceramosus* y *Trichoderma longibrachiatum* se registraron en 3 de las cinco estaciones de muestreo. Si bien todas estas especies presentaron frecuencias de aparición medias y bajas en su mayoría, *P. canescens*, *Chrysosporium sp1* y *Aspergillus parasiticus* presentaron frecuencias altas en una estación (4, 1 y 2, respectivamente).

El resto de las especies (tabla 6) se presentaron en una o dos estaciones con frecuencias de aparición medias y bajas.



Tabla 5. Abundancias de las especies aisladas con la técnica de lavado de suelo a partir de la muestra de Mayo 2002.

| Especie                               | Abundancia |
|---------------------------------------|------------|
| <i>Aspergillus japonicus</i>          | 0.2045     |
| <i>Trichoderma aff. citrinoviride</i> | 0.1845     |
| <i>Penicillium citrinum</i>           | 0.0998     |
| <i>Trichoderma harzianum</i>          | 0.0673     |
| <i>Fusarium tabacinum</i>             | 0.0673     |
| <i>Penicillium canescens</i>          | 0.0623     |
| <i>Chrysosporium sp1</i>              | 0.0474     |
| <i>Trichoderma aggr. koningii</i>     | 0.0249     |
| <i>Paecilomyces farinosus</i>         | 0.0249     |
| <i>Fusarium moniliforme</i>           | 0.0224     |
| <i>Cunninghamella elegans</i>         | 0.0200     |
| <i>Paecilomyces marquandii</i>        | 0.0175     |
| <i>Aspergillus parasiticus</i>        | 0.0175     |
| <i>Verticillium lecanii</i>           | 0.0150     |
| <i>Trichoderma piluliferum</i>        | 0.0150     |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i>   | 0.0125     |
| <i>Trichoderma parceramosus</i>       | 0.0125     |
| <i>Paecilomyces carneus</i>           | 0.0100     |
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i>    | 0.0100     |
| <i>Monochaetia karstenii</i>          | 0.0100     |
| <i>Penicillium decumbens</i>          | 0.0075     |
| <i>Penicillium pinophilum</i>         | 0.0075     |
| <i>Penicillium variable</i>           | 0.0075     |
| <i>Trichoderma viride</i>             | 0.0075     |
| <i>Penicillium aff. citrinum</i>      | 0.0025     |
| <i>Trichoderma aff. harzianum</i>     | 0.0025     |
| <i>Aspergillus candidus</i>           | 0.0025     |
| <i>Trichoderma crassum</i>            | 0.0025     |
| <i>Gonytrichum macrocladum</i>        | 0.0025     |
| <i>Myrothecium sp1</i>                | 0.0025     |
| <i>Emericella nidulans</i>            | 0.0025     |
| <i>Trichocladium canadense</i>        | 0.0025     |
| <i>Gelasinospora tetrasperma</i>      | 0.0025     |

Figura 7. Abundancia de las especies identificadas con la técnica de lavado de suelo en el muestreo de Mayo 2002.



Tabla 6. Frecuencia de aparición de las especies aisladas con la técnica de lavado de suelo a partir de la muestra de Mayo 2002 en cada una de las cinco estaciones de muestreo.

| Espece                                | Estación 1 | Estación 2 | Estación 3 | Estación 4 | Estación 5 |
|---------------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <i>Aspergillus japonicus</i>          | 100        | 100        | 40         | 100        | 100        |
| <i>Trichoderma aff. citrinoviride</i> | 100        | 100        | 0          | 80         | 60         |
| <i>Penicillium citrinum</i>           | 60         | 100        | 60         | 80         | 0          |
| <i>Trichoderma harzianum</i>          | 40         | 60         | 60         | 40         | 40         |
| <i>Fusarium tabacinum</i>             | 80         | 60         | 20         | 60         | 40         |
| <i>Penicillium canescens</i>          | 0          | 20         | 0          | 100        | 60         |
| <i>Chrysosporium sp1</i>              | 100        | 40         | 0          | 20         | 0          |
| <i>Trichoderma aggr. koningii</i>     | 0          | 20         | 0          | 60         | 20         |
| <i>Paecilomyces farinosus</i>         | 0          | 20         | 60         | 20         | 20         |
| <i>Fusarium moniliforme</i>           | 0          | 20         | 60         | 20         | 0          |
| <i>Cunninghamella elegans</i>         | 20         | 40         | 0          | 20         | 0          |
| <i>Paecilomyces marquandii</i>        | 0          | 0          | 20         | 40         | 0          |
| <i>Aspergillus parasiticus</i>        | 0          | 80         | 20         | 20         | 0          |
| <i>Verticillium lecanii</i>           | 20         | 20         | 0          | 20         | 0          |
| <i>Trichoderma piluliferum</i>        | 0          | 40         | 0          | 40         | 0          |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i>   | 0          | 0          | 20         | 40         | 0          |
| <i>Trichoderma parceramosus</i>       | 0          | 40         | 0          | 20         | 20         |
| <i>Paecilomyces carneus</i>           | 0          | 0          | 20         | 20         | 0          |
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i>    | 0          | 20         | 20         | 20         | 0          |
| <i>Monochaetia karstenii</i>          | 0          | 0          | 20         | 60         | 0          |
| <i>Penicillium decumbens</i>          | 0          | 0          | 0          | 0          | 40         |
| <i>Penicillium pinophilum</i>         | 0          | 20         | 20         | 0          | 0          |
| <i>Penicillium variabile</i>          | 0          | 0          | 0          | 0          | 60         |
| <i>Trichoderma viride</i>             | 0          | 40         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Penicillium aff. citrinum</i>      | 0          | 20         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Trichoderma aff. harzianum</i>     | 0          | 20         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Trichocladium canadense</i>        | 0          | 0          | 0          | 20         | 0          |
| <i>Aspergillus candidus</i>           | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |
| <i>Trichoderma crassum</i>            | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |
| <i>Gonytrichum macrocladum</i>        | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |
| <i>Epicoccum sp1</i>                  | 0          | 0          | 0          | 20         | 0          |
| <i>Myrothecium sp1</i>                | 0          | 20         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Emericella nidulans</i>            | 0          | 0          | 0          | 20         | 0          |
| <i>Gelasinospora tetrasperma</i>      | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |

### 5.1.2.2 Dilución de suelo

A partir de la dilución de suelo se aislaron 29 especies pertenecientes a 15 géneros. En la tabla 7 y la figura 8 se muestran los géneros aislados, la riqueza y abundancia de cada uno de ellos.

Tabla 7. Riqueza y abundancia de los géneros aislados con la técnica de dilución de suelo a partir de la muestra de Mayo 2002.

| Género                    | Riqueza | Abundancia |
|---------------------------|---------|------------|
| <i>Penicillium spp</i>    | 8       | 0.4178     |
| <i>Trichoderma spp</i>    | 2       | 0.1233     |
| <i>Cladosporium sp</i>    | 1       | 0.0822     |
| <i>Paecilomyces spp</i>   | 3       | 0.0753     |
| <i>Cunninghamella spp</i> | 2       | 0.0616     |
| <i>Micelio estéril sp</i> | 1       | 0.0616     |
| <i>Aspergillus spp</i>    | 3       | 0.0548     |
| <i>Verticillium spp</i>   | 2       | 0.0411     |
| <i>Fusarium sp</i>        | 1       | 0.0205     |
| <i>Rhizomucor sp</i>      | 1       | 0.0205     |
| <i>Helicoide sp</i>       | 1       | 0.0137     |
| <i>Chrysosporium sp</i>   | 1       | 0.0068     |
| <i>Myrothecium sp</i>     | 1       | 0.0068     |
| <i>Rhizoctonia sp</i>     | 1       | 0.0068     |
| <i>Epicoccum sp</i>       | 1       | 0.0068     |

El género más rico fue *Penicillium* con ocho especies, le siguieron *Paecilomyces* y *Aspergillus* cada uno con tres especies, *Trichoderma*, *Cunninghamella* y *Verticillium* con dos especies, y *Cladosporium*, *Micelio estéril*, *Fusarium*, *Rhizomucor*, *Helicoide*, *Chrysosporium*, *Myrothecium*, *Rhizoctonia* y *Epicoccum* con una especie.

*Penicillium* fue el género más abundante (0.4178), seguido de *Trichoderma* (0.1233), *Cladosporium* (0.0822), *Paecilomyces* (0.0753), *Cunninghamella* (0.0616), *Micelio estéril* (0.0616), *Aspergillus* (0.0548), *Verticillium* (0.0411), *Fusarium* y *Rhizomucor* que presentaron la misma abundancia (0.0205), siguió *Helicoide* (0.0137) y finalmente *Chrysosporium*, *Myrothecium*, *Rhizoctonia* y *Epicoccum* (0.0068).

Las especies con abundancias mayores a 0.0500 (tabla 8 y figura 9) fueron *Penicillium canescens* y *Penicillium citrinum* (0.1164), *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Cladosporium cladosporioides* y *Penicillium fellutanum* (0.0822),

Micelio estéril (0.0616), *Penicillium pinophilum* (0.0548). El resto de las especies aisladas y sus abundancias se muestra en la tabla 6.

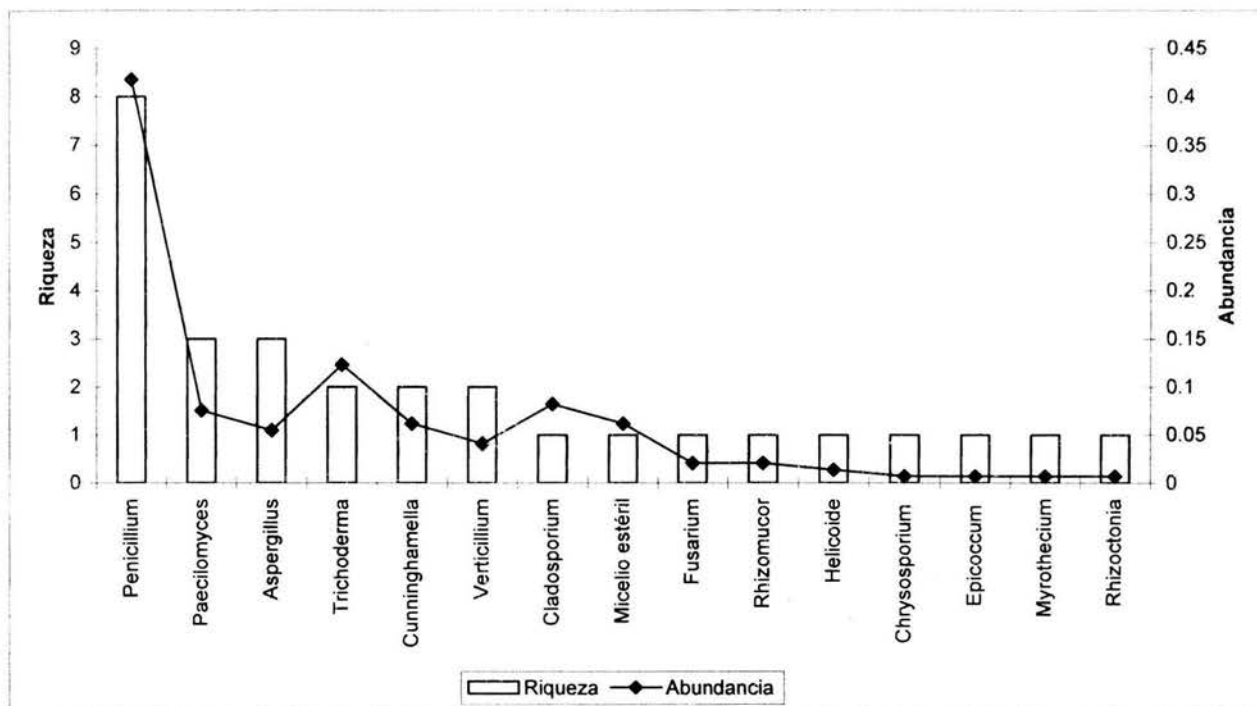


Figura 8. Riqueza y abundancia de los géneros identificados con la técnica de dilución de suelo en el muestreo de Mayo 2002.

La tabla 9 muestra la frecuencia de aparición en cada una de las cinco estaciones de muestreo de las especies aisladas con la técnica de dilución de suelo. Solo *Cladosporium cladosporioides* estuvo presente en las cinco estaciones de muestreo aunque sus frecuencias fueron bajas en todas ellas.

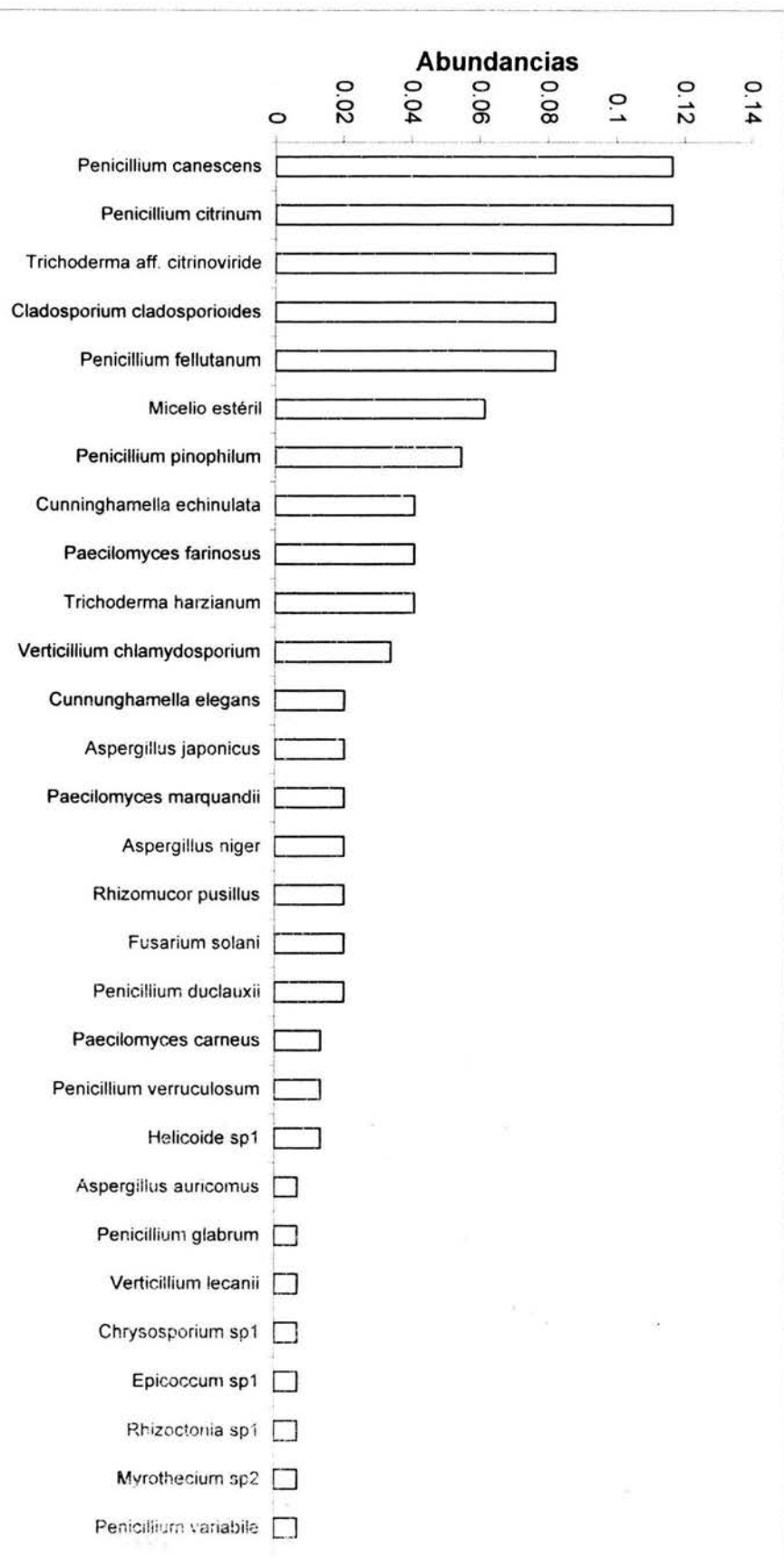
*Penicillium citrinum* y *Trichoderma aff. citrinoviride* fueron las únicas especies que se registraron en cuatro de las cinco estaciones de muestreo. *Penicillium citrinum* presentó frecuencias de aparición altas (estación 1), medias (estación 4) y bajas (estaciones 3 y 5). Mientras que *Trichoderma aff. citrinoviride* presentó frecuencias de aparición bajas en las cuatro estaciones (1, 2, 4 y 5) en que fue registrada.

Tabla 8. Abundancias de las especies aisladas con la técnica de dilución de suelo a partir de la muestra de Mayo 2002.

| <i>Especie</i>                        | Abundancia |
|---------------------------------------|------------|
| <i>Penicillium canescens</i>          | 0.1164     |
| <i>Penicillium citrinum</i>           | 0.1164     |
| <i>Trichoderma aff. citrinoviride</i> | 0.0822     |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i>   | 0.0822     |
| <i>Penicillium fellutanum</i>         | 0.0822     |
| Micelio estéril                       | 0.0616     |
| <i>Penicillium pinophilum</i>         | 0.0548     |
| <i>Cunninghamella echinulata</i>      | 0.0411     |
| <i>Paecilomyces farinosus</i>         | 0.0411     |
| <i>Trichoderma harzianum</i>          | 0.0411     |
| <i>Verticillium chlamydosporium</i>   | 0.0342     |
| <i>Cunninghamella elegans</i>         | 0.0205     |
| <i>Aspergillus japonicus</i>          | 0.0205     |
| <i>Paecilomyces marquandii</i>        | 0.0205     |
| <i>Aspergillus niger</i>              | 0.0205     |
| <i>Rhizomucor pusillus</i>            | 0.0205     |
| <i>Fusarium solani</i>                | 0.0205     |
| <i>Penicillium duclauxii</i>          | 0.0205     |
| <i>Paecilomyces carneus</i>           | 0.0137     |
| <i>Penicillium verruculosum</i>       | 0.0137     |
| <i>Helicoide sp1</i>                  | 0.0137     |
| <i>Aspergillus auricomus</i>          | 0.0068     |
| <i>Penicillium glabrum</i>            | 0.0068     |
| <i>Verticillium lecanii</i>           | 0.0068     |
| <i>Chrysosporium sp1</i>              | 0.0068     |
| <i>Epicoccum sp1</i>                  | 0.0068     |
| <i>Rhizoctonia sp1</i>                | 0.0068     |
| <i>Myrothecium sp2</i>                | 0.0068     |
| <i>Penicillium variabile</i>          | 0.0068     |

*Penicillium canescens* y *Trichoderma harzianum* se registraron en tres de las cinco estaciones de muestro. *Penicillium canescens* presentó frecuencias de aparición altas solo en una de las estaciones donde se presentó (estación 5) y frecuencias bajas en las otras dos estaciones (estaciones 2 y 3). Por su parte *Trichoderma harzianum* presentó frecuencias medias en una estación de muestreo (estación 1) y bajas en las dos estaciones restantes (estaciones 2 y 4).

Figura 9. Abundancia de las especies identificadas con la técnica de dilución de suelo en el muestreo de Mayo 2002.





El resto de las especies (tabla 9) fueron registradas en una o dos de las cinco estaciones de muestro. Todas presentaron frecuencias de aparición medias y bajas con la excepción de Micelio estéril que presentó una frecuencia de aparición alta en una de las estaciones donde se registró (estación 1).

La tabla 10 y figura 10 muestra la frecuencia de todas las especies aisladas en el muestreo de Mayo 2002 utilizando las dos técnicas.

*Trichoderma aff. cirtinoviride* fue la especie más frecuente (0.1572), y también fue de las tres especies más abundantes en las dos técnicas. Le siguió *Aspegillus japonicus* (0.1554) que en la técnica de levado de suelo fue la más abundante aunque en la técnica de dilución no estuvo entre las diez especies más abundantes. *Penicillium citrinum* fue la tercer especie con mayor frecuencia (0.1024), esta especie estuvo dentro de las tres especies más abundantes con las dos técnicas de muestreo. Las demás especies tuvieron una frecuencia menor a 0.1000.

#### 5.1.2.3 Número de aislamientos

El número promedio de aislamientos obtenidos por estación de muestreo con la técnica de lavado de suelo varió de 8.2 a 31.6 UFC. Mientras que la concentración promedio de propágulos obtenidos con la técnica de dilución de suelo varió de 38,000 a 72,000 por estación de muestreo (figura 11).

El mayor promedio de aislamientos y la concentración más alta se dieron en la estación 2 (31.6 y 72,000, respectivamente). Mientras que el menor promedio de aislamientos se observó en la estación 5 (8.2), y la concentración más baja se dio en la estación 3 (38,000).

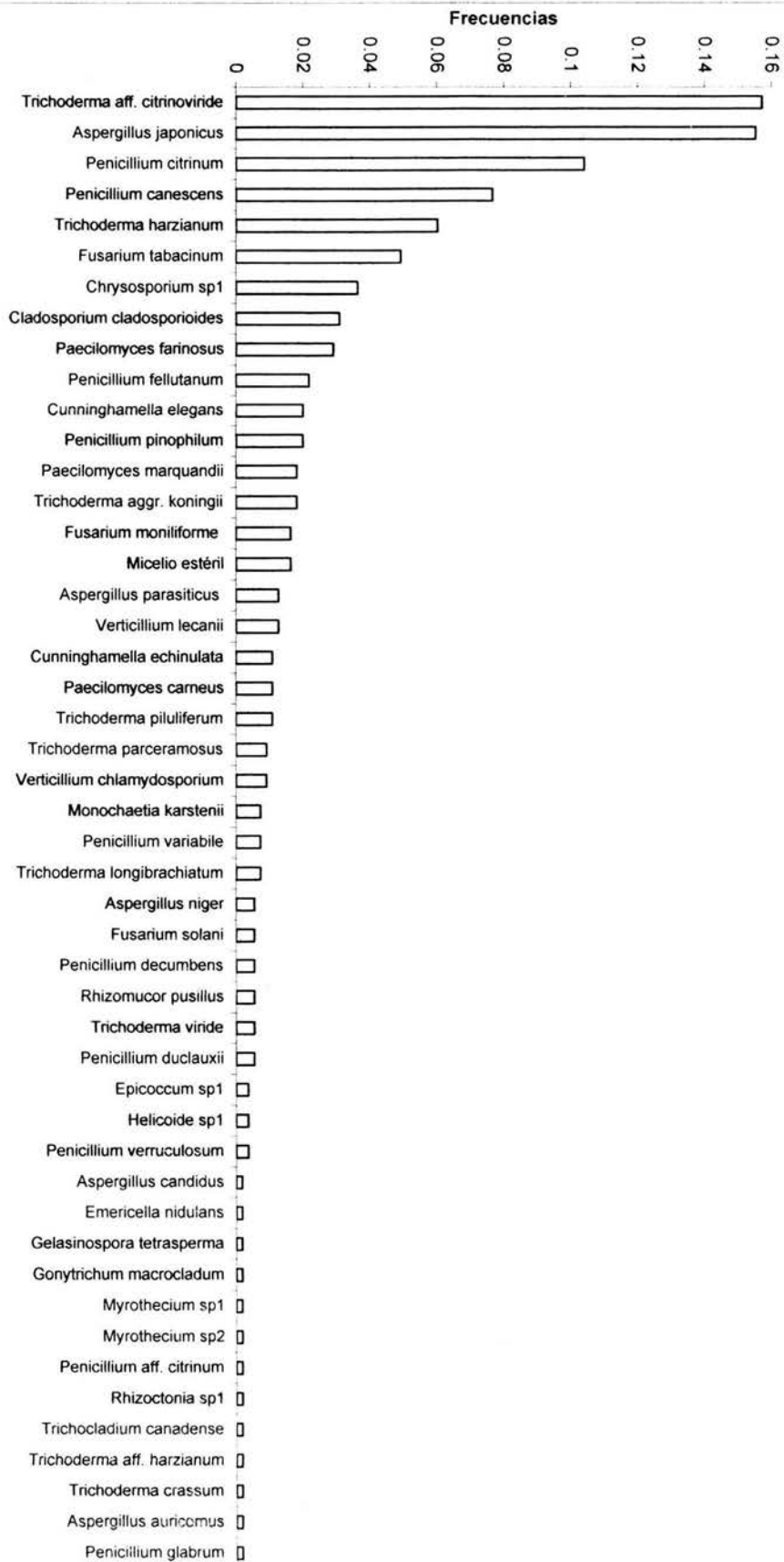
Tabla 9. Frecuencia de aparición de las especies aisladas con la técnica de dilución de suelo a partir de la muestra de Mayo 2002 en cada una de las cinco estaciones de muestreo.

| Especie                             | Estación 1 | Estación 2 | Estación 3 | Estación 4 | Estación 5 |
|-------------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <i>Penicillium canescens</i>        | 0          | 20         | 40         | 0          | 100        |
| <i>Penicillium citrinum</i>         | 80         | 0          | 20         | 60         | 40         |
| <i>Trichoderma aff. citrinovide</i> | 40         | 40         | 0          | 20         | 40         |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i> | 20         | 40         | 40         | 40         | 20         |
| <i>Penicillium fellutanum</i>       | 40         | 0          | 0          | 0          | 0          |
| Micelio estéril                     | 100        | 0          | 0          | 40         | 0          |
| <i>Penicillium pinophilum</i>       | 40         | 40         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Cunninghamella echinulata</i>    | 0          | 0          | 0          | 0          | 60         |
| <i>Paecilomyces farinosus</i>       | 40         | 60         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Trichoderma harzianum</i>        | 60         | 40         | 0          | 20         | 0          |
| <i>Verticillium chlamyosporium</i>  | 0          | 0          | 0          | 60         | 0          |
| <i>Cunninghamella elegans</i>       | 0          | 20         | 20         | 0          | 0          |
| <i>Aspergillus japonicus</i>        | 0          | 0          | 0          | 0          | 40         |
| <i>Paecilomyces marquandii</i>      | 0          | 0          | 0          | 20         | 40         |
| <i>Aspergillus niger</i>            | 0          | 0          | 0          | 20         | 40         |
| <i>Rhizomucor pusillus</i>          | 0          | 20         | 20         | 0          | 0          |
| <i>Fusarium solani</i>              | 40         | 20         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Penicillium duclauxii</i>        | 0          | 40         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Paecilomyces carneus</i>         | 0          | 0          | 0          | 40         | 0          |
| <i>Penicillium verruculosum</i>     | 0          | 0          | 40         | 0          | 0          |
| <i>Helicoide sp1</i>                | 40         | 0          | 0          | 0          | 0          |
| <i>Aspergillus auricomus</i>        | 40         | 0          | 0          | 0          | 0          |
| <i>Penicillium glabrum</i>          | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |
| <i>Verticillium lecanii</i>         | 0          | 0          | 0          | 0          | 20         |
| <i>Chrysosporium sp1</i>            | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |
| <i>Epicoccum sp1</i>                | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |
| <i>Rhizoctonia sp1</i>              | 20         | 0          | 0          | 0          | 0          |
| <i>Myrothecium sp2</i>              | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |
| <i>Penicillium variabile</i>        | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |

Tabla 10. Frecuencia de las especies aisladas en el muestreo de Mayo 2002 a partir de las dos técnicas.

| Espece                                | Frecuencia |
|---------------------------------------|------------|
| <i>Trichoderma aff. citrinoviride</i> | 0.1572     |
| <i>Aspergillus japonicus</i>          | 0.1554     |
| <i>Penicillium citrinum</i>           | 0.1042     |
| <i>Penicillium canescens</i>          | 0.0768     |
| <i>Trichoderma harzianum</i>          | 0.0603     |
| <i>Fusarium tabacinum</i>             | 0.0494     |
| <i>Chrysosporium sp1</i>              | 0.0366     |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i>   | 0.0311     |
| <i>Penicillium farinosus</i>          | 0.0293     |
| <i>Penicillium fellutanum</i>         | 0.0219     |
| <i>Cunninghamella elegans</i>         | 0.0201     |
| <i>Penicillium pinophilum</i>         | 0.0201     |
| <i>Paecilomyces marquandii</i>        | 0.0183     |
| <i>Trichoderma aggr. koningii</i>     | 0.0183     |
| <i>Fusarium moniliforme</i>           | 0.0165     |
| Micelio estéril                       | 0.0165     |
| <i>Aspergillus parasiticus</i>        | 0.0128     |
| <i>Verticillium lecanii</i>           | 0.0128     |
| <i>Cunninghamella echinulata</i>      | 0.0110     |
| <i>Paecilomyces carneus</i>           | 0.0110     |
| <i>Trichoderma piluliferum</i>        | 0.0110     |
| <i>Trichoderma parceramosus</i>       | 0.0091     |
| <i>Verticillium chlamydosporium</i>   | 0.0091     |
| <i>Penicillium variable</i>           | 0.0073     |
| <i>Monochaetia karstenii</i>          | 0.0073     |
| <i>Trichoderma longibrachiatum</i>    | 0.0073     |
| <i>Aspergillus niger</i>              | 0.0055     |
| <i>Fusarium solani</i>                | 0.0055     |
| <i>Penicillium decumbens</i>          | 0.0055     |
| <i>Rhizomucor pusillus</i>            | 0.0055     |
| <i>Trichoderma viride</i>             | 0.0055     |
| <i>Penicillium duclauxii</i>          | 0.0055     |
| <i>Epicoccum sp1</i>                  | 0.0037     |
| <i>Helicoide sp1</i>                  | 0.0037     |
| <i>Penicillium verruculosum</i>       | 0.0037     |
| <i>Aspergillus auricomus</i>          | 0.0018     |
| <i>Gelasinospora tetrasperma</i>      | 0.0018     |
| <i>Aspergillus candidus</i>           | 0.0018     |
| <i>Emericella nidulans</i>            | 0.0018     |
| <i>Gonytrichum macrocladum</i>        | 0.0018     |
| <i>Myrothecium sp1</i>                | 0.0018     |
| <i>Myrothecium sp2</i>                | 0.0018     |
| <i>Penicillium aff. citrinum</i>      | 0.0018     |
| <i>Penicillium glabrum</i>            | 0.0018     |
| <i>Rhizoctonia sp1</i>                | 0.0018     |
| <i>Trichocladium canadense</i>        | 0.0018     |
| <i>Trichoderma aff. harzianum</i>     | 0.0018     |
| <i>Trichoderma crassum</i>            | 0.0018     |

Figura 10. Frecuencia de las especies identificadas en el muestreo de Mayo 2002 a partir de las dos técnicas.



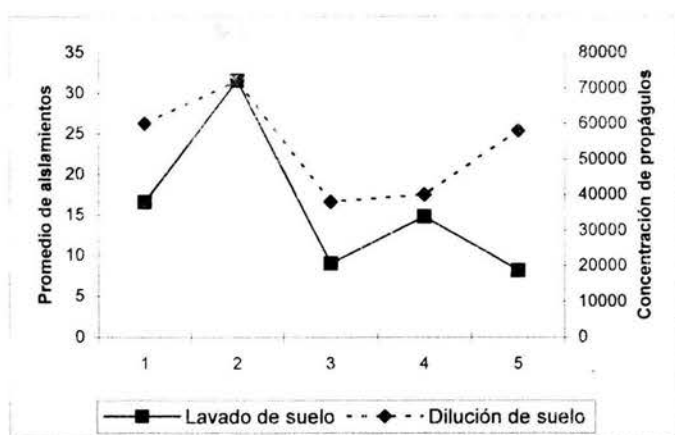


Figura 11. Promedio de aislamientos y concentración de propágulos cuantificados a partir de la muestra de Mayo 2002 con las dos técnicas de muestreo.

## 5.2 Muestreo 2 (Octubre 2002)

### 5.2.1 Análisis del suelo

La tabla 11 muestra los valores obtenidos para los análisis de pH, contenido de materia orgánica y textura. El contenido de humedad en este muestreo fue de 6%.

Tabla 11. Resultados del análisis de la muestra de suelo de Mayo 2002.

| Parámetro            | Estación     | Estación | Estación | Estación | Estación |
|----------------------|--------------|----------|----------|----------|----------|
|                      | 1            | 2        | 3        | 4        | 5        |
| pH                   | 7.2          | 7.1      | 7.1      | 7.1      | 7.2      |
| Materia orgánica (%) | 6.40         | 6.40     | 6.45     | 6.43     | 6.40     |
| Textura (%)          | 32 arena     |          |          |          |          |
|                      | 39.6 limo    |          |          |          |          |
|                      | 28.4 arcilla |          |          |          |          |

### 5.2.2 Micobiota

Se cuantificó un total de 435 UFC. Se hicieron 126 aislamientos (figura 12), 53 del lavado de suelo y 73 de las diluciones de suelo. Estos aislamientos correspondieron a 58 taxa, 22 del lavado de suelo y 35 de las diluciones de suelo.

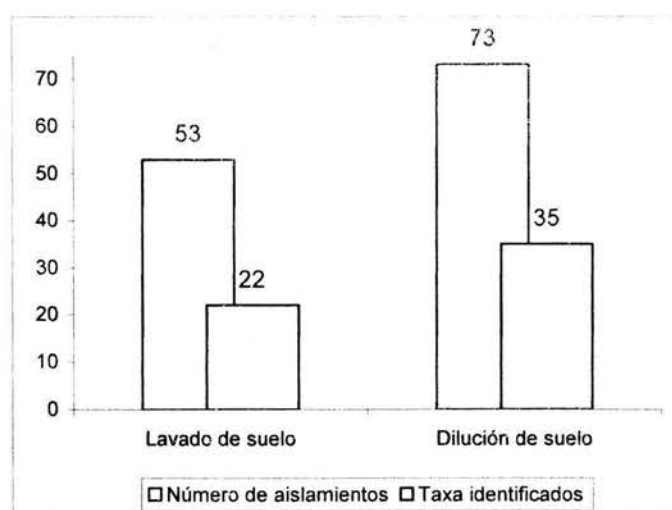


Figura 12. Número de aislamientos y taxa identificados en el muestreo de Octubre de 2002.

#### 5.2.2.1 Lavado de suelo

A partir del lavado de suelo se aislaron 20 especies pertenecientes a 11 géneros. En la tabla 12 y figura 13 se muestran los géneros aislados y la riqueza y abundancia de cada uno de ellos.

Tabla 12. Riqueza y abundancia de los géneros aislados con la técnica de lavado de suelo a partir de la muestra de Octubre 2002.

| Género                   | Riqueza | Abundancia |
|--------------------------|---------|------------|
| <i>Aspergillus spp</i>   | 3       | 0.4142     |
| <i>Trichoderma spp</i>   | 5       | 0.4110     |
| <i>Penicillium spp</i>   | 4       | 0.1100     |
| <i>Cunninghamella sp</i> | 1       | 0.0227     |
| <i>Paecilomyces sp</i>   | 1       | 0.0129     |
| <i>Chrysosporium sp</i>  | 1       | 0.0097     |
| <i>Cladosporium sp</i>   | 1       | 0.0065     |
| <i>Absidia sp</i>        | 1       | 0.0032     |
| <i>Fusarium sp</i>       | 1       | 0.0032     |
| <i>Geotrichum sp</i>     | 1       | 0.0032     |
| <i>Gonytrichum sp</i>    | 1       | 0.0032     |

El género más rico fue *Trichoderma* (5 especies), seguido de *Penicillium* (4 especies) y *Aspergillus* (3 especies); los demás géneros registrados (*Cunninghamella*, *Paecilomyces*, *Chrysosporium*, *Cladosporium*, *Absidia*, *Fusarium*, *Geotrichum* y *Gonytrichum*) sólo presentaron 1 especie

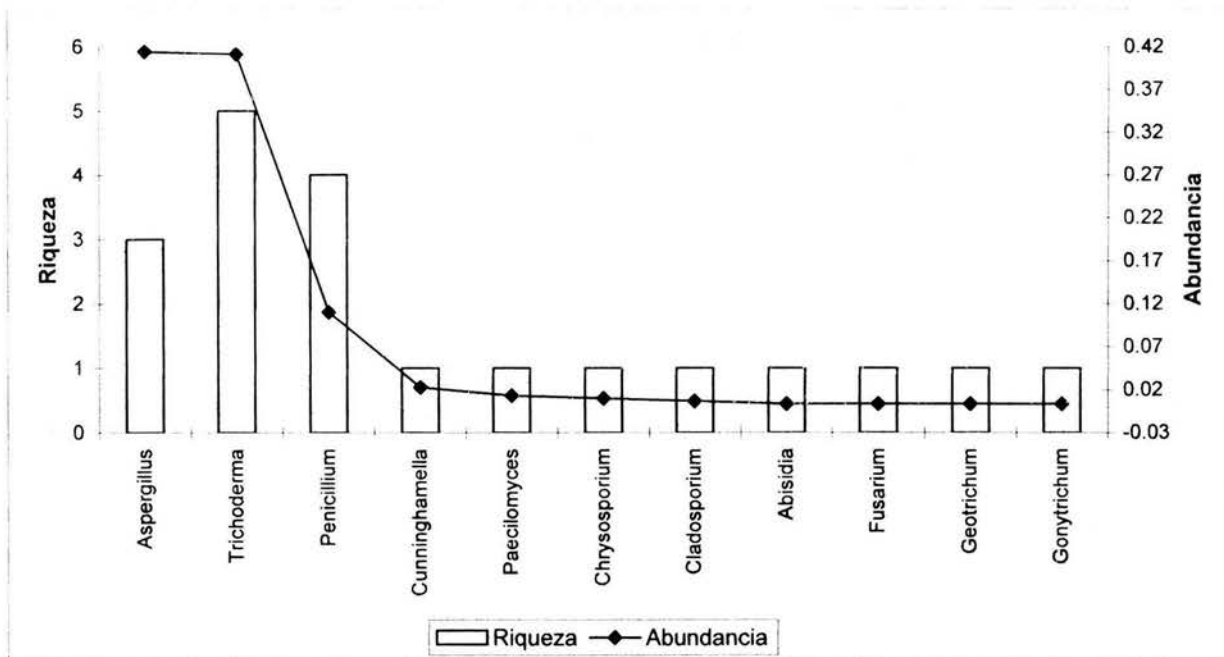


Figura 13. Riqueza y abundancia de los géneros identificados con la técnica de lavado de suelo en el muestreo de Octubre 2002.

Los géneros con mayor riqueza también fueron los más abundantes, aunque cambió el orden: *Aspergillus* (0.4142), *Trichoderma* (0.4110) y *Penicillium* (0.1100). *Cunninghamella*, *Paecilomyces*, *Chrysosporium* y *Cladosporium* tuvieron la misma riqueza (1 especie) pero presentaron diferente abundancia: 0.0227, 0.0129, 0.0097 y 0.0065 respectivamente. *Aspergillus* fue el género más abundante aunque tuvo una riqueza menor que *Trichoderma* y *Penicillium*.

Los géneros restantes (*Absidia*, *Fusarium*, *Geotrichum* y *Gonytrichum*) presentaron la misma riqueza (1 especie) y la misma abundancia (0.0032).

Las especies con abundancia mayor a 0.0500 (tabla 11 y figura 14) fueron *Aspergillus niger* (0.2751), *Trichoderma aff. citrinoviride* (0.1812), *Trichoderma harzianum* (0.1683), *Aspergillus japonicus* (0.1294) y *Penicillium canescens* (0.1003). El resto de las especies aisladas y sus abundancias se muestra en la tabla 13.

La tabla 14 muestra la frecuencia de aparición de las especies aisladas en cada una de las cinco estaciones de muestreo con la técnica de lavado de suelo. *Aspergillus niger*, *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Trichoderma harzianum* y



*Aspergillus japonicus* fueron registradas en las cinco estaciones de muestro presentando frecuencias de aparición altas y medias en todas ella con la excepción de *Aspergillus niger* que presentó una frecuencia de aparición baja en la estación 5.

*Penicillium canescens* fue la única especie que se registró en tres de las cinco estaciones de muestreo; en la estación 1 la frecuencia de aparición fue media, en la estación 3 fue baja y en la 4 fue alta.

*Trichoderma aggr. aureoviride*, *Cunninghamella elegans*, *Paecilomyces farinosus*, *Aspergillus wentii*, *Chrysosporium sp1*, *Trichoderma viride*, *Penicillium brevicompactum*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium citrinum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Trichoderma crassum*, *Absidia cylindrospora*, *Gonytrichum macrocladum*, *Penicillium variable* y *Fusarium moniliforme* se registraron en una o dos de las cinco estaciones de muestreo; todas ellas presentaron frecuencias de aparición bajas con la excepción de *Cunninghamella elegans* que presentó una frecuencia de aparición media en la estación 2.

Tabla 13. Abundancias de las especies aisladas con la técnica de lavado de suelo a partir de la muestra de Octubre 2002.

| Especie                               | Abundancia |
|---------------------------------------|------------|
| <i>Aspergillus niger</i>              | 0.2751     |
| <i>Trichoderma aff. citrinoviride</i> | 0.1812     |
| <i>Trichoderma harzianum</i>          | 0.1683     |
| <i>Aspergillus japonicus</i>          | 0.1294     |
| <i>Penicillium canescens</i>          | 0.1003     |
| <i>Trichoderma aggr. aureoviride</i>  | 0.0485     |
| <i>Cunninghamella elegans</i>         | 0.0227     |
| <i>Paecilomyces farinosus</i>         | 0.0129     |
| <i>Aspergillus wentii</i>             | 0.0097     |
| <i>Chrysosporium sp1</i>              | 0.0097     |
| <i>Trichoderma viride</i>             | 0.0097     |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i>   | 0.0065     |
| <i>Penicillium brevicompactum</i>     | 0.0032     |
| <i>Geotrichum candidum</i>            | 0.0032     |
| <i>Penicillium citrinum</i>           | 0.0032     |
| <i>Trichoderma crassum</i>            | 0.0032     |
| <i>Absidia cylindrospora</i>          | 0.0032     |
| <i>Gonytrichum macrocladum</i>        | 0.0032     |
| <i>Penicillium variable</i>           | 0.0032     |
| <i>Fusarium moniliforme</i>           | 0.0032     |

Figura 14. Abundancia de las especies aisladas con la técnica de lavado de suelo en el muestreo de Octubre de 2002.

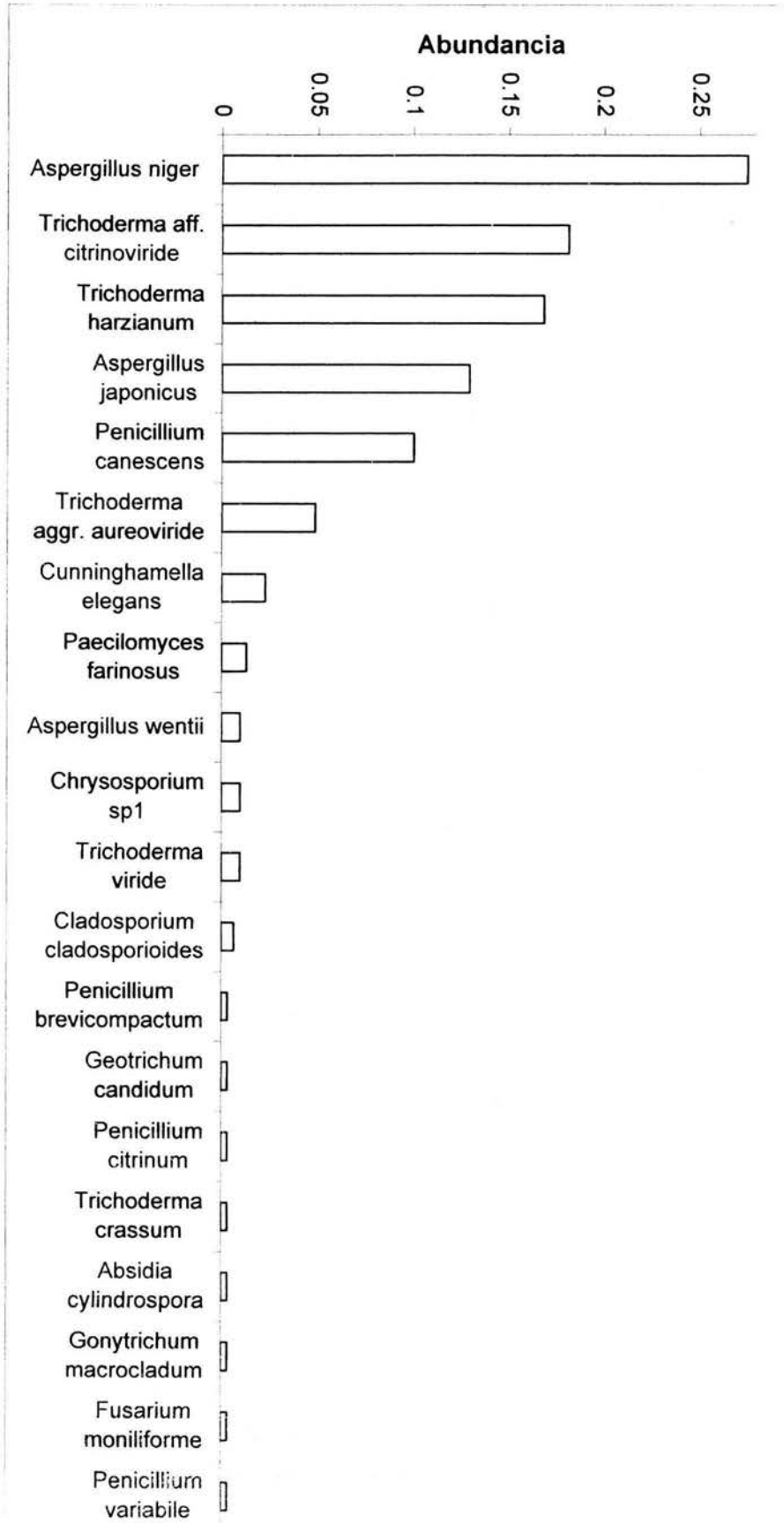


Tabla 14. Frecuencia de aparición de las 20 especies más abundantes aisladas con la técnica de lavado de suelo a partir de la muestra de Octubre 2002 en cada una de las cinco estaciones de muestreo.

| Especie                               | Estación 1 | Estación 2 | Estación 3 | Estación 4 | Estación 5 |
|---------------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <i>Aspergillus niger</i>              | 80         | 60         | 100        | 100        | 40         |
| <i>Trichoderma aff. citrinoviride</i> | 100        | 80         | 80         | 80         | 60         |
| <i>Trichoderma harzianum</i>          | 60         | 100        | 100        | 80         | 80         |
| <i>Aspergillus japonicus</i>          | 60         | 100        | 80         | 80         | 100        |
| <i>Penicillium canescens</i>          | 60         | 0          | 20         | 80         | 0          |
| <i>Trichoderma aggr. aureoviride</i>  | 40         | 20         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Cunninghamella elegans</i>         | 0          | 60         | 0          | 0          | 40         |
| <i>Paecilomyces farinosus</i>         | 0          | 0          | 0          | 20         | 0          |
| <i>Aspergillus wentii</i>             | 0          | 0          | 0          | 0          | 20         |
| <i>Chrysosporium sp1</i>              | 0          | 40         | 20         | 0          | 0          |
| <i>Trichoderma viride</i>             | 0          | 40         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Penicillium brevicompactum</i>     | 0          | 0          | 0          | 20         | 0          |
| <i>Geotrichum candidum</i>            | 0          | 0          | 0          | 20         | 0          |
| <i>Penicillium citrinum</i>           | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i>   | 20         | 0          | 0          | 0          | 0          |
| <i>Trichoderma crassum</i>            | 0          | 0          | 0          | 0          | 20         |
| <i>Absidia cylindrospora</i>          | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |
| <i>Gonytrichum macrocladum</i>        | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |
| <i>Penicillium variabile</i>          | 0          | 0          | 0          | 0          | 20         |
| <i>Fusarium moniliforme</i>           | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |

#### 5.2.2.2 Dilución de suelo

A partir de la dilución de suelo se aislaron 35 especies pertenecientes a 17 géneros. En la tabla 15 y la figura 15 se muestran los géneros aislados, la riqueza y abundancia de cada uno de ellos.

El género más rico fue *Penicillium* con 10 especies, el doble de las especies registradas para el siguiente género más rico, *Trichoderma*. *Chrysosporium*, *Myrothecium*, *Paecilomyces* y *Verticillium* fueron los siguientes en riqueza (2 especies) y el resto, *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Papulaspora*, *Phialophora*, *Beauveria*, Micelio estéril, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Rhizomucor*, *Sphaeropsis* y *Torula*, presentaron 1 especie.

Los géneros con mayor riqueza fueron también los más abundantes: *Penicillium* (0.3254) y *Trichoderma* (0.1825). Seguidos de *Chrysosporium* (0.1111), *Myrothecium* (0.1032), *Aspergillus* (0.0556), *Geotrichum*, *Paecilomyces*, *Papulaspora* y *Verticillium* que presentaron la misma abundancia (0.0317),

*Phialophora* (0.0238), *Beauveria* y Micelio estéril (0.0159), y *Cladosporium*, *Fusarium*, *Rhizomucor*, *Sphaeropsidal* y *Torula* (0.0079).

Tabla 15. Riqueza y abundancia de los géneros aislados con la técnica de dilución de suelo a partir de la muestra de Octubre 2002.

| Género               | Riqueza | Abundancia |
|----------------------|---------|------------|
| <i>Penicillium</i>   | 10      | 0.3254     |
| <i>Trichoderma</i>   | 5       | 0.1825     |
| <i>Chrysosporium</i> | 2       | 0.1111     |
| <i>Myrothecium</i>   | 2       | 0.1032     |
| <i>Aspergillus</i>   | 1       | 0.0556     |
| <i>Geotrichum</i>    | 1       | 0.0317     |
| <i>Paecilomyces</i>  | 2       | 0.0317     |
| <i>Papulaspora</i>   | 1       | 0.0317     |
| <i>Verticillium</i>  | 2       | 0.0317     |
| <i>Phialophora</i>   | 1       | 0.0238     |
| <i>Beauveria</i>     | 1       | 0.0159     |
| Micelio estéril      | 1       | 0.0159     |
| <i>Cladosporium</i>  | 1       | 0.0079     |
| <i>Fusarium</i>      | 1       | 0.0079     |
| <i>Rhizomucor</i>    | 1       | 0.0079     |
| <i>Sphaeropsidal</i> | 1       | 0.0079     |
| <i>Torula</i>        | 1       | 0.0079     |

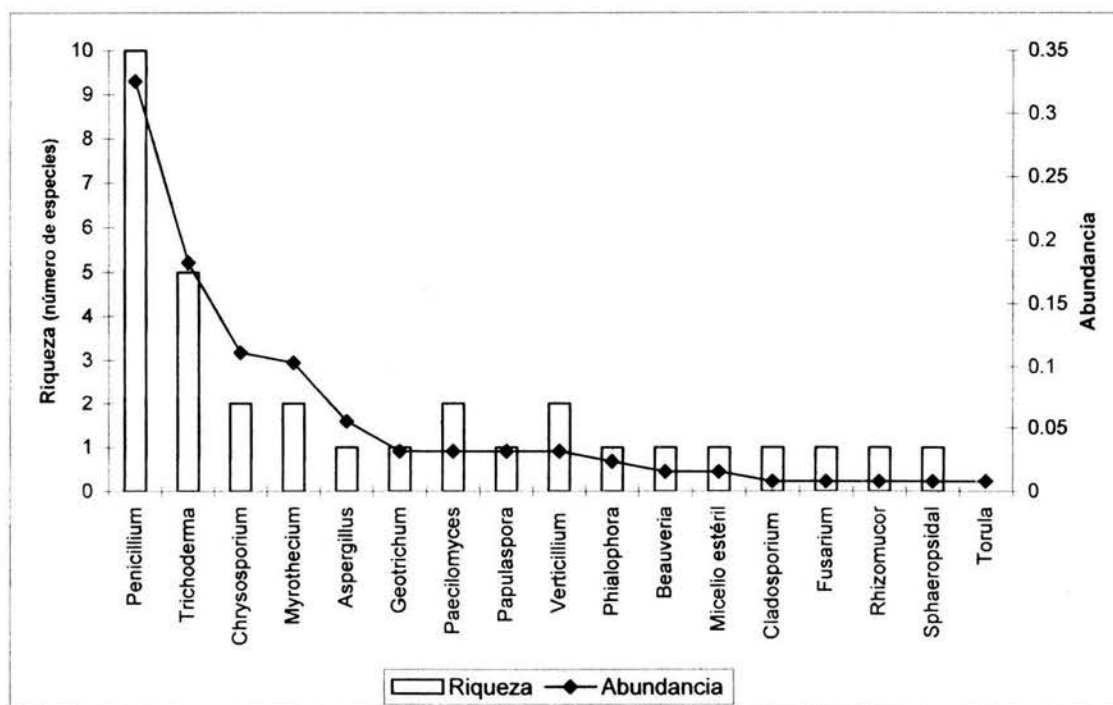


Figura 15. Riqueza y abundancia de los géneros aislados con la técnica de dilución de suelo en el muestreo de Octubre 2002.

Las especies con abundancia mayor a 0.0500 (tabla 14 y figura 16) fueron *Trichoderma aff. citrinoviride* (0.1349), *Chrysosporium sp1* (0.1111), *Penicillium pinophilum* (0.0873), *Myrothecium sp2* (0.0873), *Penicillium duclauxii* (0.0635) y *Aspergillus japonicus* (0.0556). El resto de las especies aisladas y sus abundancias se muestra en la tabla 16.

La tabla 17 muestra la frecuencia de aparición de las especies aisladas en cada una de las cinco estaciones de muestreo con la técnica de dilución de suelo.

Ninguna especie registrada se presentó en las cinco estaciones de muestreo. *Chrysosporium sp1* y *Papulaspora irregularis* fueron las únicas dos especies registradas que se presentaron en cuatro de las cinco estaciones de muestreo, si bien sus frecuencias de abundancia fueron medias y bajas en todos los casos.

*Trichoderma aff. citrinoviride*, *Penicillium pinophilum* y *Penicillium glabrum* se presentaron en tres de las cinco estaciones muestreadas. Sólo *Trichoderma aff. citrinoviride* presentó una frecuencia alta en una de las estaciones donde se presentó; *P. pinophilum* y *P. glabrum* presentaron frecuencias de aparición bajas en todas las estaciones donde se registraron.

El resto de las especies (tabla 15) se presentaron en una o dos de las cinco estaciones muestreadas y en todos los casos con frecuencias de aparición medias y bajas.

La tabla 18 y la figura 17 muestra la frecuencia de todas las especies aisladas en el muestreo de Octubre 2002 utilizando las dos técnicas.

*Aspergillus niger* fue la especie más frecuente (0.1954) a pesar de que sólo se registró en una de las técnicas, la de lavado de suelo, en donde fue la especie más abundante. *Trichoderma aff. citrinoviride* fue la segunda especie más frecuente (0.1678), fue la primera y la segunda especie más abundante en las técnicas utilizadas, lavado de suelo y dilución de suelo, respectivamente. *Trichoderma harzianum* fue la siguiente especie más frecuente (0.1218), fue la tercera especie más abundante con la técnica de lavado de suelo, mientras que con la técnica de dilución fue una de las especies con abundancia más baja.

*Aspergillus japonicus* siguió en la lista de especies más frecuentes (0.1080) y estuvo entre las 5 especies más abundantes con la técnica de lavado de suelo y entre las 10 más abundantes con la técnica de dilución de suelo. El resto de las especies tuvo frecuencias menores a 0.1000.

Tabla 16. Abundancias de las especies aisladas con la técnica de dilución de suelo a partir de la muestra de Octubre 2002.

| Especie                               | Abundancia |
|---------------------------------------|------------|
| <i>Trichoderma aff. citrinoviride</i> | 0.1349     |
| <i>Chrysosporium sp1</i>              | 0.1111     |
| <i>Penicillium pinophilum</i>         | 0.0873     |
| <i>Myrothecium sp2</i>                | 0.0873     |
| <i>Penicillium duclauxii</i>          | 0.0635     |
| <i>Aspergillus japonicus</i>          | 0.0556     |
| <i>Penicillium canescens</i>          | 0.0397     |
| <i>Penicillium glabrum</i>            | 0.0397     |
| <i>Penicillium aff. griseofulvum</i>  | 0.0317     |
| <i>Geotrichum candidum</i>            | 0.0317     |
| <i>Papulaspora irregularis</i>        | 0.0317     |
| <i>Verticillium chlamydosporium</i>   | 0.0238     |
| <i>Paecilomyces marquandii</i>        | 0.0238     |
| <i>Trichoderma piluliferum</i>        | 0.0238     |
| <i>Penicillium citrinum</i>           | 0.0238     |
| <i>Phialophora sp1</i>                | 0.0159     |
| <i>Beauveria bassiana</i>             | 0.0159     |
| <i>Myrothecium sp1</i>                | 0.0159     |
| <i>Penicillium oxalicum</i>           | 0.0159     |
| <i>Micelio estéril</i>                | 0.0159     |
| <i>Chrysosporium pannorum</i>         | 0.0079     |
| <i>Trichoderma aggr. aureoviride</i>  | 0.0079     |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i>   | 0.0079     |
| <i>Penicillium corylophilum</i>       | 0.0079     |
| <i>Penicillium decumbens</i>          | 0.0079     |
| <i>Trichoderma harzianum</i>          | 0.0079     |
| <i>Verticillium lecanii</i>           | 0.0079     |
| <i>Torula sp1</i>                     | 0.0079     |
| <i>Fusarium solani</i>                | 0.0079     |
| <i>Penicillium variabile</i>          | 0.0079     |
| <i>Trichoderma viride</i>             | 0.0079     |
| <i>Rhizomucor pusillus</i>            | 0.0079     |
| <i>Sphaeropsidal</i>                  | 0.0079     |
| <i>Paecilomyces carneus</i>           | 0.0079     |

Figura 16. Abundancia de las especies identificadas con la técnica de dilución de suelo en el muestreo de Octubre de 2002.

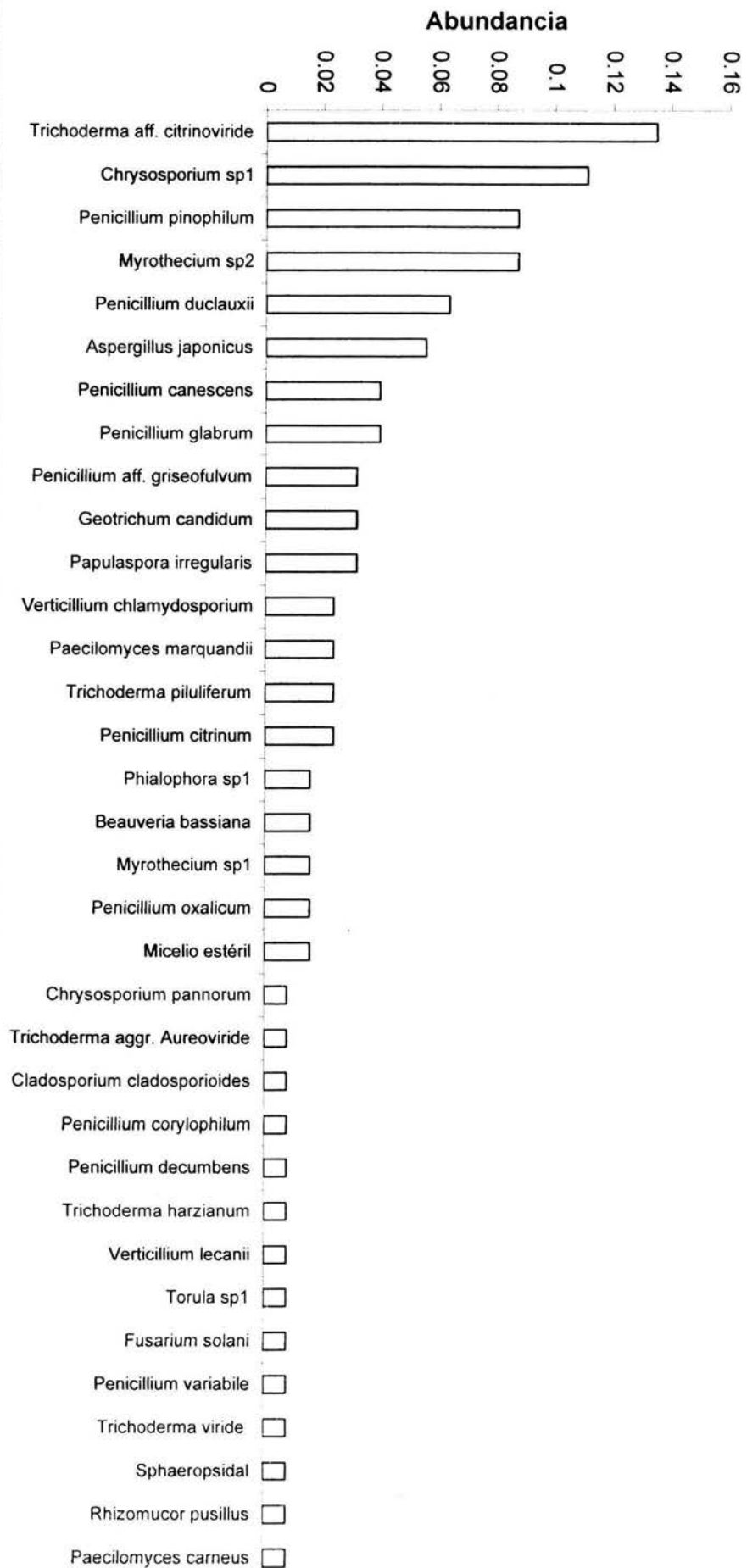




Tabla 17. Frecuencia de aparición de las 20 especies más abundantes aisladas con la técnica de dilución de suelo a partir de la muestra de Octubre 2002 en cada una de las cinco estaciones de muestreo.

| Especie                               | Estación 1 | Estación 2 | Estación 3 | Estación 4 | Estación 5 |
|---------------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <i>Trichoderma aff. citrinoviride</i> | 100        | 20         | 0          | 0          | 20         |
| <i>Chrysosporium sp1</i>              | 0          | 60         | 20         | 60         | 20         |
| <i>Penicillium pinophilum</i>         | 40         | 40         | 0          | 20         | 0          |
| <i>Myrothecium sp2</i>                | 0          | 0          | 0          | 0          | 40         |
| <i>Penicillium duclauxii</i>          | 40         | 0          | 0          | 0          | 0          |
| <i>Aspergillus japonicus</i>          | 80         | 40         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Penicillium canescens</i>          | 0          | 0          | 0          | 40         | 20         |
| <i>Penicillium glabrum</i>            | 20         | 20         | 0          | 0          | 40         |
| <i>Penicillium aff. griseofulvum</i>  | 0          | 0          | 0          | 0          | 60         |
| <i>Geotrichum candidum</i>            | 0          | 0          | 20         | 40         | 0          |
| <i>Papulaspora irregularis</i>        | 20         | 20         | 20         | 20         | 20         |
| <i>Verticillium chlamydosporium</i>   | 0          | 0          | 0          | 0          | 40         |
| <i>Paecilomyces marquandii</i>        | 0          | 0          | 0          | 0          | 60         |
| <i>Trichoderma piluliferum</i>        | 0          | 0          | 0          | 0          | 40         |
| <i>Penicillium citrinum</i>           | 0          | 0          | 20         | 20         | 0          |
| <i>Phialophora sp1</i>                | 0          | 0          | 0          | 40         | 20         |
| <i>Beauveria bassiana</i>             | 0          | 20         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Myrothecium sp1</i>                | 0          | 0          | 0          | 0          | 40         |
| <i>Penicillium oxalicum</i>           | 40         | 0          | 0          | 0          | 0          |
| Micelio estéril                       | 0          | 20         | 20         | 0          | 0          |
| <i>Chrysosporium pannorum</i>         | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |
| <i>Trichoderma aggr. aureoviride</i>  | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i>   | 0          | 20         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Penicillium corylophilum</i>       | 20         | 0          | 0          | 0          | 0          |
| <i>Penicillium decumbens</i>          | 0          | 20         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Trichoderma harzianum</i>          | 20         | 0          | 0          | 0          | 0          |
| <i>Verticillium lecanii</i>           | 0          | 20         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Torula sp1</i>                     | 0          | 0          | 0          | 0          | 20         |
| <i>Fusarium solani</i>                | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |
| <i>Penicillium variabile</i>          | 0          | 20         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Trichoderma viride</i>             | 0          | 20         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Sphaeropsidal</i>                  | 0          | 0          | 20         | 0          | 0          |
| <i>Rhizomucor pusillus</i>            | 0          | 20         | 0          | 0          | 0          |
| <i>Paecilomyces carneus</i>           | 20         | 0          | 0          | 0          | 0          |

Tabla 18. Frecuencia de las especies aisladas en el muestreo de Octubre 2002 utilizando las dos técnicas.

| Especie                               | Frecuencia |
|---------------------------------------|------------|
| <i>Aspergillus niger</i>              | 0.1954     |
| <i>Trichoderma aff. citrinoviride</i> | 0.1678     |
| <i>Trichoderma harzianum</i>          | 0.1218     |
| <i>Aspergillus japonicus</i>          | 0.1080     |
| <i>Penicillium canescens</i>          | 0.0828     |
| <i>Chrysosporium sp1</i>              | 0.0391     |
| <i>Trichoderma aggr. aureoviride</i>  | 0.0368     |
| <i>Myrothecium sp2</i>                | 0.0253     |
| <i>Penicillium pinophilum</i>         | 0.0253     |
| <i>Penicillium duclauxii</i>          | 0.0184     |
| <i>Cunninghamella elegans</i>         | 0.0161     |
| <i>Geotrichum candidum</i>            | 0.0115     |
| <i>Penicillium glabrum</i>            | 0.0115     |
| <i>Paecilomyces farinosus</i>         | 0.0092     |
| <i>Papulaspora irregularis</i>        | 0.0092     |
| <i>Penicillium aff. griseofulvum</i>  | 0.0092     |
| <i>Penicillium citrinum</i>           | 0.0092     |
| <i>Trichoderma viride</i>             | 0.0092     |
| <i>Aspergillus wentii</i>             | 0.0069     |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i>   | 0.0069     |
| <i>Paecilomyces marquandii</i>        | 0.0069     |
| <i>Trichoderma piluliferum</i>        | 0.0069     |
| <i>Verticillium chlamydosporium</i>   | 0.0069     |
| <i>Beauveria bassiana</i>             | 0.0046     |
| <i>Micelio estéril</i>                | 0.0046     |
| <i>Myrothecium sp1</i>                | 0.0046     |
| <i>Penicillium oxalicum</i>           | 0.0046     |
| <i>Penicillium variabile</i>          | 0.0046     |
| <i>Phialophora sp1</i>                | 0.0046     |
| <i>Absidia cylindrospora</i>          | 0.0023     |
| <i>Sphaeropsidal</i>                  | 0.0023     |
| <i>Chrysosporium pannorum</i>         | 0.0023     |
| <i>Fusarium moniliforme</i>           | 0.0023     |
| <i>Fusarium solani</i>                | 0.0023     |
| <i>Gonytrichum macrocladum</i>        | 0.0023     |
| <i>Paecilomyces carneus</i>           | 0.0023     |
| <i>Penicillium brevicompactum</i>     | 0.0023     |
| <i>Penicillium corylophilum</i>       | 0.0023     |
| <i>Penicillium decumbens</i>          | 0.0023     |
| <i>Rhizomucor pusillus</i>            | 0.0023     |
| <i>Torula sp1</i>                     | 0.0023     |
| <i>Trichoderma crassum</i>            | 0.0023     |
| <i>Verticillium lecanii</i>           | 0.0023     |

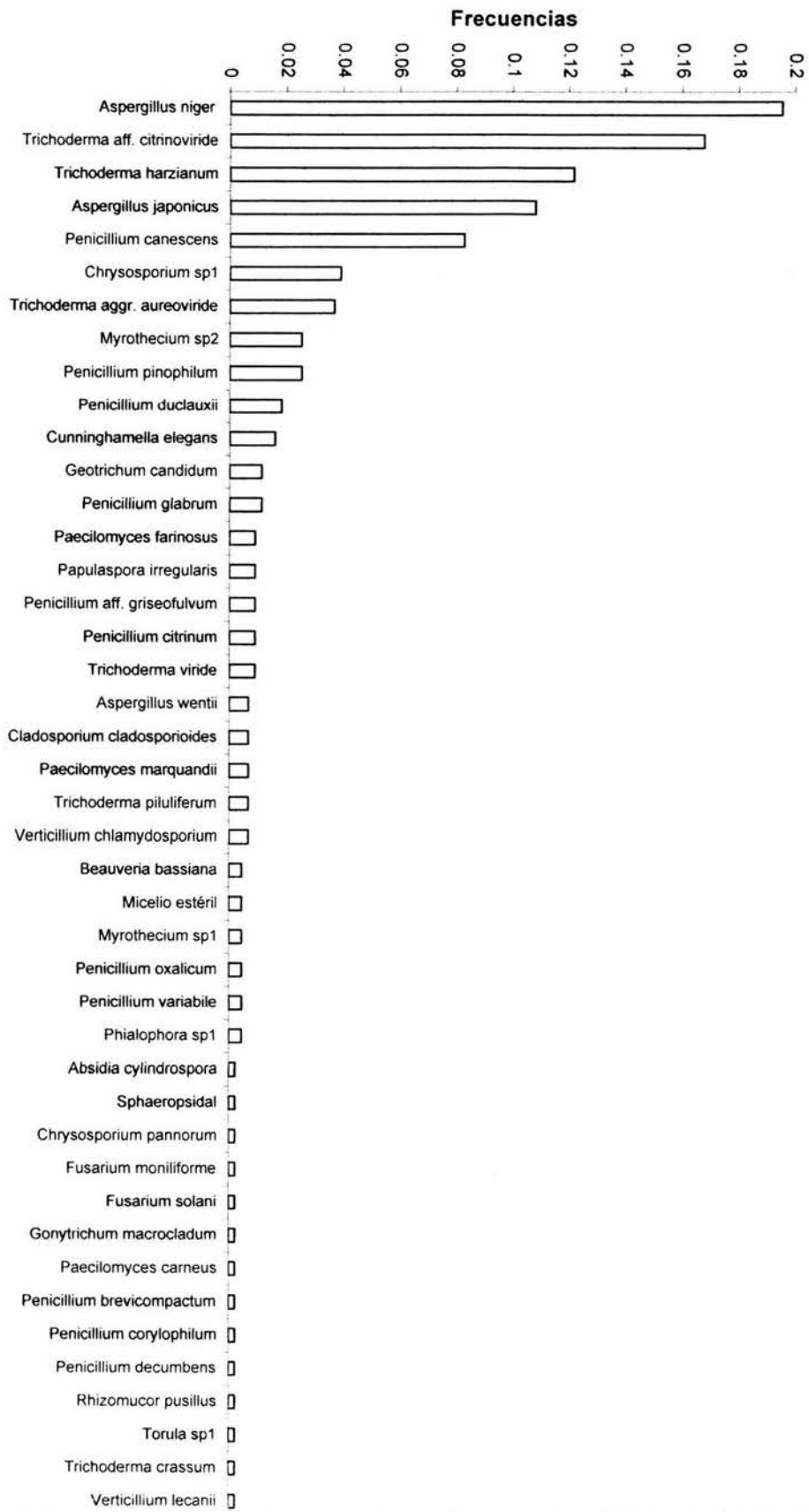


Figura 17. Frecuencia de las especies identificadas en el muestreo de Octubre 2002.

### 5.2.2.3 Número de aislamientos

El número promedio de aislamientos obtenidos por estación de muestreo con la técnica de lavado de suelo varió de 5.8 a 15.4 UFC. Mientras que la concentración promedio de propágulos obtenidos con la técnica de dilución de suelo varió de 26,000 a 66,000 por estación de muestreo (figura 18).

El mayor promedio de aislamientos se presentó en la estación 3 (15.4) y la concentración más alta se presentó en la estación 1 (66,000). Mientras que el menor promedio de aislamientos se observó en la estación 5 (5.8), y la concentración más baja se dio en la estación 3 (26,000).

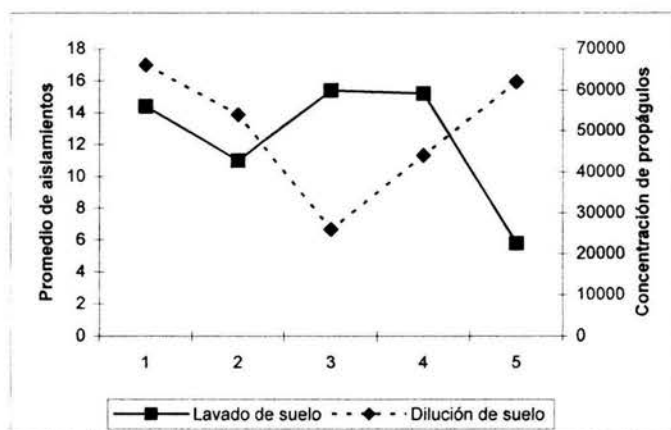


Figura 18. Promedio de aislamientos y concentración de propágulos cuantificados a partir de la muestra de Mayo 2002 con las dos técnicas de muestreo.

### 5.3 Análisis estadístico

Al compararse el número de aislamientos obtenidos a partir de cada una de las técnicas utilizadas (lavado de suelo y dilución de suelo) no se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en ninguno de los dos muestreos (Mayo y Octubre de 2002).

Pero al compararse el número de aislamientos obtenidos a partir de cada muestreo (Mayo y Octubre de 2002) para cada técnica utilizada (lavado de suelo y dilución de suelo), se observó una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) entre los datos obtenidos en el muestreo de Mayo de 2002.

La tabla 19 muestra la comparación de los datos de cada una de las estaciones de muestreo para cada muestreo realizado (Mayo y Octubre de 2002) y

técnica utilizada (lavado de suelo y dilución de suelo). Es notable que al comparar los datos obtenidos con la técnica de dilución entre cada muestreo y entre los dos muestreos no se observaron diferencias significativas. Mientras que al comparar los datos obtenidos con la técnica de lavado de suelo entre cada muestreo y entre los dos muestreos si se observaron diferencias significativas.

Tabla 19. Comparación de los datos de cada una de las estaciones de muestreo.

|            |         | Filtros |         | Diluciones |         |
|------------|---------|---------|---------|------------|---------|
|            |         | Mayo    | Octubre | Mayo       | Octubre |
| Filtros    | Mayo    | **      | **      | **         | -       |
|            | Octubre | -       | **      | -          | **      |
| Diluciones | Mayo    | -       | -       | -          | -       |
|            | Octubre | -       | -       | -          | -       |

\*\*diferencia significativa a  $p < 0.05$

Al hacer el análisis de correlación entre las frecuencias de aparición de las 20 especies más abundantes para cada técnica utilizada en ambos muestreos se encontró que muy pocas especies mostraron índices de correlación estadísticamente significativos.

En el muestreo de Mayo utilizando la técnica de lavado de suelo sólo *Trichoderma harzianum* mostró un coeficiente de correlación positivo con el pH, significativo a  $p < 0.05$ . En el mismo muestreo de Mayo pero utilizando la técnica de dilución de suelo, *Cunninghamella elegans* y *Rhizomucor pusillus* mostraron un coeficiente de correlación positivo con el pH, significativo a  $p < 0.05$ .

En el muestreo de Octubre solo se observaron coeficientes de correlación estadísticamente significativos ( $p < 0.05$ ) para *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Penicillium glabrum* y *Penicillium citrinum* con los valores de materia orgánica. En el caso de las dos primeras especies, la relación fue negativa, mientras que *P. citrinum* estuvo relacionado positivamente con la materia orgánica.

## 5.4 Comparación de las técnicas

### 5.4.1 Lavado de suelo

En el muestreo de Mayo 2002 los géneros con mayor riqueza fueron *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Aspergillus*, con 9, 7, 7 y 4 especies respectivamente, los cuales representaron el 66% del total de las especies aisladas.

En el muestreo de Octubre 2002 los géneros con mayor riqueza fueron los mismos, *Trichoderma* (5 especies), *Penicillium* (4 especies) y *Aspergillus* (3 especies), pero *Fusarium* presentó solo una especie. Una vez mas estos géneros representaron un porcentaje considerable del total de especies aisladas, un 55%.

La figura 19 muestra la variación en el número promedio de aislamientos obtenidos a partir de la técnica de lavado de suelo en los dos muestreos (Mayo y Octubre 2002) en cada una de las estaciones de muestreo.

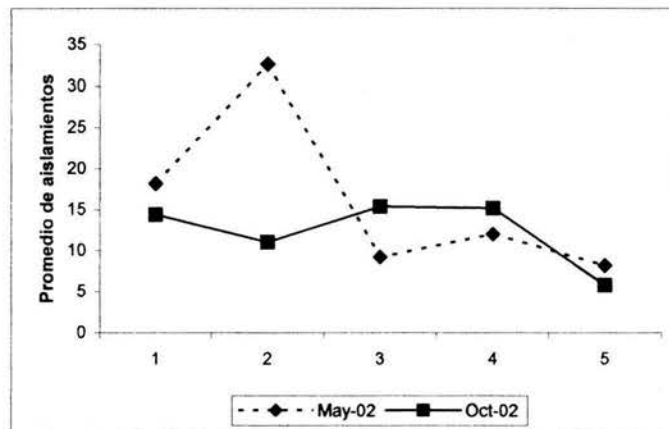


Figura 19. Promedio de aislamientos en cada una de las estaciones de muestreo obtenidos a partir de la técnica de lavado de suelo en los dos muestreos (Mayo y Octubre 2002).

El número promedio de aislamientos en el muestreo de Mayo varió de 8.2 en la estación 5 a 32.6 en la estación 2. Mientras que en el muestreo de Octubre 2002 varió de 5.8 en la estación 5 a 15.4 en la estación 3.

### 5.4.2 Dilución de suelo

En el muestreo de Mayo 2002 los géneros con mayor riqueza fueron *Penicillium* con 9 especies y, *Paecilomyces* y *Aspergillus* con 3 especies. Estos géneros comprendieron el 45% del total de especies aisladas.

En el muestreo de Octubre 2002 *Penicillium* también fue el género con mayor riqueza con 10 especies, seguido de *Trichoderma* con 5 especies; este último género en el muestreo de Mayo presentó sólo dos especies. Estos dos géneros representaron el 42% del total de especies aisladas. *Paecilomyces* y *Aspergillus* tuvieron dos y una especies respectivamente.

La figura 20 muestra la variación en la concentración de propágulos obtenidos a partir de la técnica de dilución de suelo en los dos muestreos (Mayo y Octubre 2002) en cada una de las estaciones de muestreo.

La concentración de propágulos en el muestreo de Mayo varió de 38,000 en la estación 3 a 76,000 en la estación 2; esta fue la mayor concentración obtenida a partir de la técnica de dilución de suelo. Mientras que el muestreo de Octubre varió de 26,000 en la estación 3, la concentración más baja obtenida a partir de la técnica de dilución de suelo, a 66,000 en la estación 1.

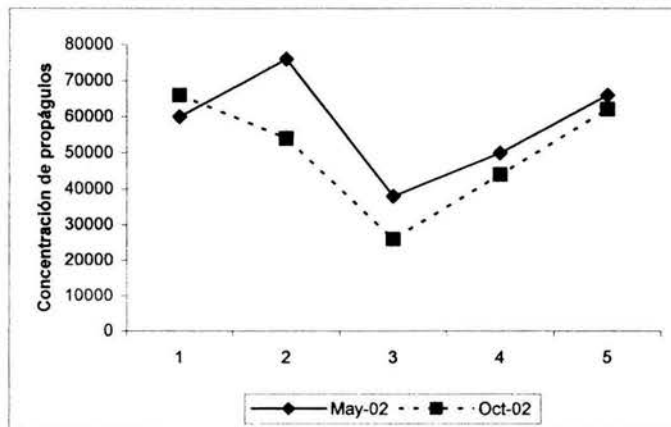


Figura 20. Concentración de propágulos en cada una de las estaciones de muestreo obtenidos a partir de la técnica de dilución de suelo en los dos muestreos (Mayo y Octubre 2002).



### 5.5 Índices de diversidad

En la tabla 20 se muestran los índices de diversidad para los datos obtenidos de las dos técnicas utilizadas.

Tabla 20. Valores de los índices de diversidad.

|                           | Mayo            |                   | Octubre         |                   |
|---------------------------|-----------------|-------------------|-----------------|-------------------|
|                           | Lavado de suelo | Dilución de suelo | Lavado de suelo | Dilución de suelo |
| Índice $\alpha$ de Fisher | 8.874           | 10.898            | 4.782           | 15.287            |
| Índice de Shannon         | 1.175           | 1.294             | 0.897           | 1.339             |
| Índice de Simpson         | 9.72            | 17.031            | 6.083           | 17.857            |
| Índice de Berger-Parker   | 4.89            | 8.529             | 3.635           | 7.412             |

### 5.6 Dominancia

En las figuras 21 a 28 se muestran los diagramas de cuadrantes para cada técnica de aislamiento utilizada así como para cada muestreo obtenidos a partir de la prueba de Olmstaed-Tukey. Y en las tablas 21 a 24 se muestran las especies incluidas en cada una de las categorías según la prueba de Olmstaed-Tukey.

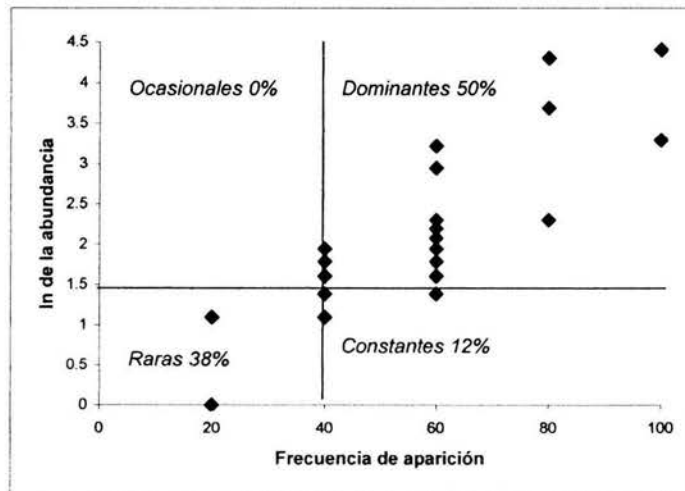


Figura 21. Análisis bidimensional de Olmstaed-Tukey para la técnica de lavado de suelo en el muestreo de Mayo.

En el muestreo de Mayo, con la técnica de lavado de suelo (figura 21 y 22) el mayor porcentaje (50%) de especies se presentó dentro del cuadrante de las dominantes, siguieron las especies en el cuadrante de las raras (38%), las

especies en el cuadrante de las constantes (12%) y no hubo especies en el cuadrante de las ocasionales. En la tabla 21 se listan las especies incluidas en cada una de las categorías.

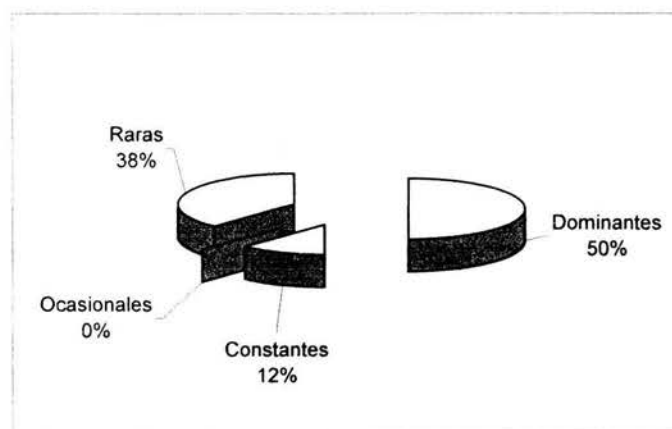


Figura 22. Porcentaje por categoría de dominancia de las especies identificadas con la técnica de lavado de suelo en el muestreo de Mayo 2002.

En el mismo mes pero con la técnica de dilución de suelo (figura 23 y 24) el mayor porcentaje (44.8%) de especies se presentó en el cuadrante de las raras, siguiendo las especies en el cuadrante de las dominantes (27.6%), las especies en el cuadrante de las constantes (17.2%) y, por último, las especies en el cuadrante de las ocasionales (10.3%). En la tabla 22 se listan las especies incluidas en cada una de las categorías.

En el muestreo de Octubre, con la técnica de lavado de suelo (figura 25 y 26) el mayor porcentaje de especies (55%) se presentó en el cuadrante de las especies raras, con las especies en el cuadrante de las dominantes con el siguiente porcentaje más alto (35%) y las especies en los cuadrantes de las constantes y las raras presentaron el mismo porcentaje (5%). En la tabla 23 se listan las especies incluidas en cada una de las categorías.

En el mismo mes pero con la técnica de dilución de suelo (figura 27 y 28) el mayor porcentaje de especies (64.7%) se presentó, de igual manera que con la técnica de lavado de suelo, en el cuadrante de las raras, pero el siguiente mayor porcentaje se presentó en el cuadrante de las ocasionales (20.6%), seguido de las especies en el cuadrante de las dominantes (8.8%) y con las especies en el

cuadrante de las especies constantes teniendo el menor porcentaje (5.8%). En la tabla 24 se listan las especies incluidas en cada una de las categorías.

Tabla 21. Especies agrupadas en cada una de las categorías obtenidas a partir del análisis bidimensional de Olmstaed-Tukey en el muestreo de Mayo con la técnica de lavado de suelo.

| Especies Dominantes                   | Especies Constantes           | Especies Raras                    |
|---------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------------|
| <i>Aspergillus japonicus</i>          | <i>Monochaetia karstenii</i>  | <i>Penicillium decumbens</i>      |
| <i>Trichoderma aff. citrinoviride</i> | <i>Paecilomyces carneus</i>   | <i>Penicillium variabile</i>      |
| <i>Penicillium citrinum</i>           | <i>Trichoderma</i>            | <i>Trichoderma viride</i>         |
| <i>Fusarium tabacinum</i>             | <i>longibrachiatum</i>        | <i>Aspergillus candidus</i>       |
| <i>Trichoderma harzianum</i>          | <i>Penicillium pinophilum</i> | <i>Epicoccum sp1</i>              |
| <i>Penicillium canescens</i>          |                               | <i>Emericella nidulans</i>        |
| <i>Chrysosporium sp1</i>              |                               | <i>Gelasinospora tetrasperma</i>  |
| <i>Paecilomyces farinosus</i>         |                               | <i>Gonytrichum macrocladum</i>    |
| <i>Trichoderma aggr. koningii</i>     |                               | <i>Myrothecium sp1</i>            |
| <i>Fusarium moniliforme</i>           |                               | <i>Penicillium aff. citrinum</i>  |
| <i>Cunninghamella elegans</i>         |                               | <i>Trichocladium canadense</i>    |
| <i>Aspergillus parasiticus</i>        |                               | <i>Trichoderma aff. harzianum</i> |
| <i>Paecilomyces marquandii</i>        |                               | <i>Trichoderma crassum</i>        |
| <i>Trichoderma piluliferum</i>        |                               |                                   |
| <i>Verticillium lecanii</i>           |                               |                                   |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i>   |                               |                                   |
| <i>Trichoderma parceramosus</i>       |                               |                                   |

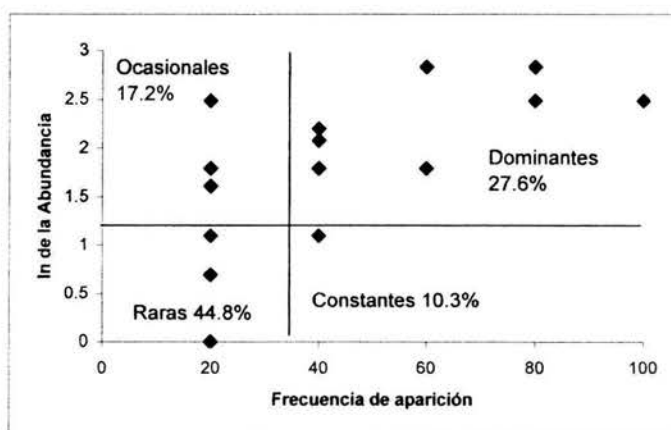


Figura 23. Análisis bidimensional de Olmstaed-Tukey para la técnica de dilución de suelo en el muestreo de Mayo.

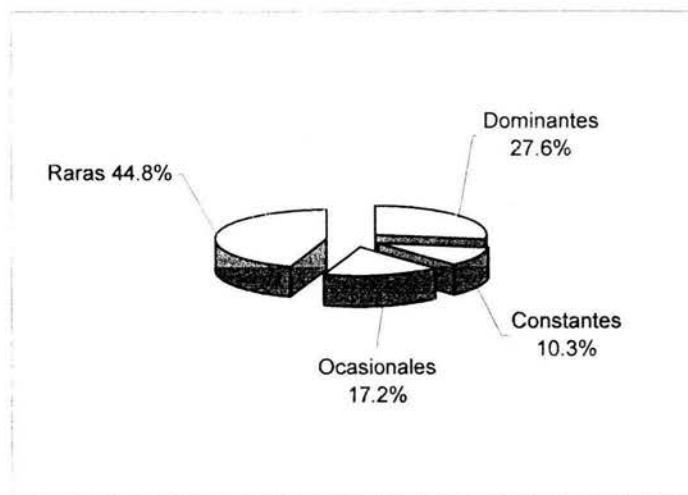


Figura 24. Porcentaje por categoría de dominancia de las especies identificadas con la técnica de dilución de suelo en el muestreo de Mayo 2002.

Tabla 22. Especies agrupadas en cada una de las categorías obtenidas a partir del análisis bidimensional de Olmstaed-Tukey en el muestreo de Mayo con la técnica de dilución de suelo.

| Especies Dominantes                   | Especies Constantes                 | Especies Ocasionales           | Especies Raras                  |
|---------------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| <i>Penicillium canescens</i>          | <i>Penicillium fellutanum</i>       | <i>Cunninghamella elegans</i>  | <i>Aspergillus japonicus</i>    |
| <i>Penicillium citrinum</i>           | <i>Cunninghamella echinulata</i>    | <i>Paecilomyces marquandii</i> | <i>Penicillium duclauxii</i>    |
| <i>Trichoderma aff. citrinoviride</i> | <i>Verticillium chlamydosporium</i> | <i>Aspergillus niger</i>       | <i>Paecilomyces carneus</i>     |
| <i>Cladosporium cladosporioides</i>   |                                     | <i>Rhizomucor pusillus</i>     | <i>Penicillium verruculosum</i> |
| <i>Micelio estéril</i>                |                                     | <i>Fusarium solani</i>         | <i>Helicoide</i>                |
| <i>Penicillium pinophilum</i>         |                                     |                                | <i>Aspergillus auricomus</i>    |
| <i>Paecilomyces farinosus</i>         |                                     |                                | <i>Penicillium glabrum</i>      |
| <i>Trichoderma harzianum</i>          |                                     |                                | <i>Verticillium lecanii</i>     |
|                                       |                                     |                                | <i>Chrysosporium sp1</i>        |
|                                       |                                     |                                | <i>Epicoccum sp1</i>            |
|                                       |                                     |                                | <i>Rhizoctonia sp1</i>          |
|                                       |                                     |                                | <i>Myrothecium sp2</i>          |
|                                       |                                     |                                | <i>Penicillium variabile</i>    |

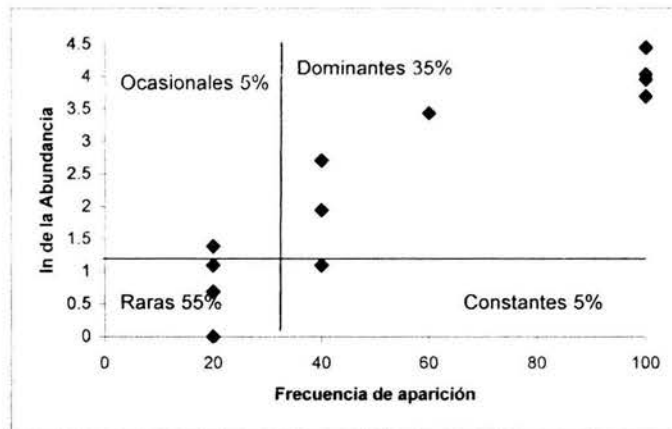


Figura 25. Análisis bidimensional de Olmstaed-Tukey para la técnica de lavado de suelo en el muestreo de Octubre.

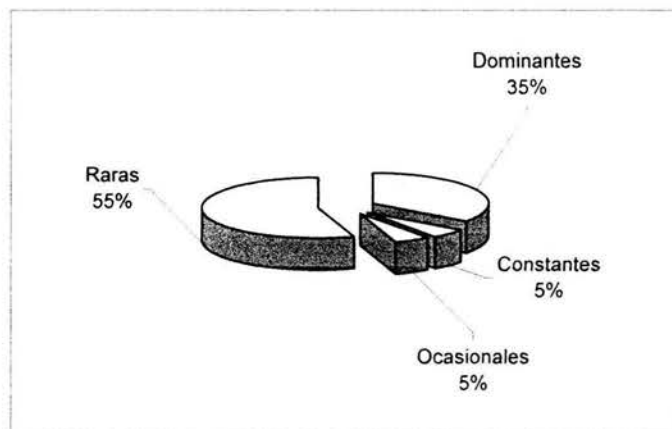


Figura 26. Porcentaje por categoría de dominancia de las especies identificadas con la técnica de lavado de suelo en el muestreo de Octubre 2002.

Tabla 23. Especies agrupadas en cada una de las categorías obtenidas a partir del análisis bidimensional de Olmstaed-Tukey en el muestreo de Octubre con la técnica de lavado de suelo.

| Especies Dominantes                   | Especies Constantes           | Especies Ocasionales     | Especies Raras                      |
|---------------------------------------|-------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|
| <i>Aspergillus niger</i>              | <i>Paecilomyces farinosus</i> | <i>Chrysosporium sp1</i> | <i>Aspergillus wentii</i>           |
| <i>Trichoderma aff. citrinoviride</i> |                               |                          | <i>Trichoderma viride</i>           |
| <i>Trichoderma harzianum</i>          |                               |                          | <i>Cladosporium cladosporioides</i> |
| <i>Aspergillus japonicus</i>          |                               |                          | <i>Absidia cylindrospora</i>        |
| <i>Penicillium canescens</i>          |                               |                          | <i>Fusarium moniliforme</i>         |
| <i>Trichoderma aggr. aureoviride</i>  |                               |                          | <i>Geotrichum candidum</i>          |
| <i>Cunninghamella elegans</i>         |                               |                          | <i>Gonytrichum macrocladum</i>      |
|                                       |                               |                          | <i>Penicillium brevicompactum</i>   |
|                                       |                               |                          | <i>Penicillium citrinum</i>         |
|                                       |                               |                          | <i>Penicillium variabile</i>        |
|                                       |                               |                          | <i>Trichoderma crassum</i>          |

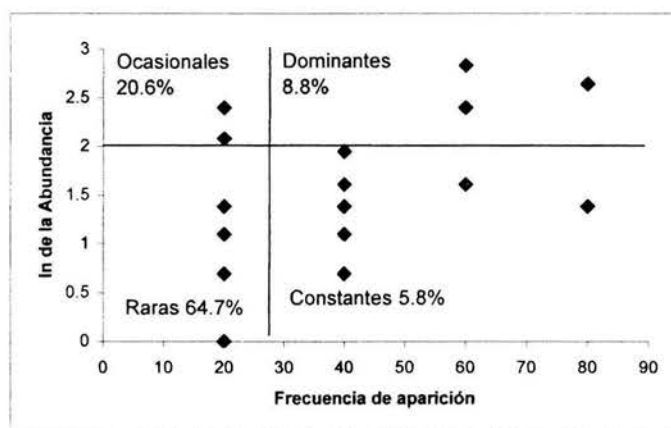


Figura 27. Análisis bidimensional de Olmstaed-Tukey para la técnica de dilución de suelo en el muestreo de Octubre.

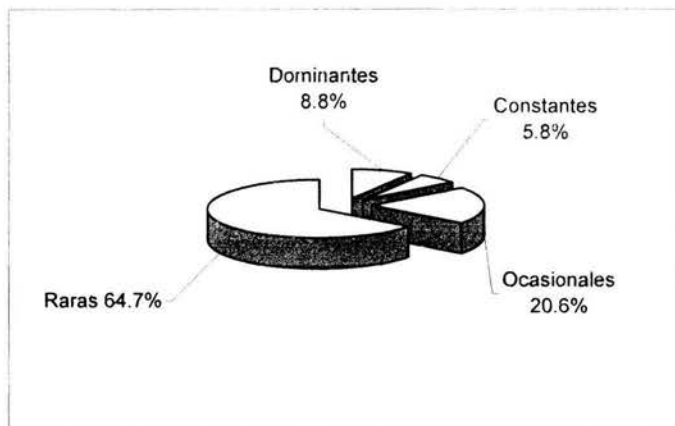


Figura 28. Porcentaje por categoría de dominancia de las especies identificadas con la técnica de dilución de suelo en el muestreo de Octubre 2002.

Tabla 24. Especies agrupadas en cada una de las categorías obtenidas a partir del análisis bidimensional de Olmstaed-Tukey en el muestreo de Octubre con la técnica de dilución de suelo.

| Especies Dominantes                   | Especies Constantes          | Especies Ocasionales           | Especies Raras                       |
|---------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------|
| <i>Trichoderma aff. citrinoviride</i> | <i>Myrothecium sp2</i>       | <i>Aspergillus japonicus</i>   | <i>Penicillium aff. griseofulvum</i> |
| <i>Chrysosporium sp1</i>              | <i>Penicillium duclauxii</i> | <i>Penicillium canescens</i>   | <i>Paecilomyces marquandii</i>       |
| <i>Penicillium pinophilum</i>         |                              | <i>Penicillium glabrum</i>     | <i>Trichoderma piluliferum</i>       |
|                                       |                              | <i>Geotrichum candidum</i>     | <i>Verticillium chlamydosporium</i>  |
|                                       |                              | <i>Papulaspora irregularis</i> | <i>Beauveria bassiana</i>            |
|                                       |                              | <i>Penicillium citrinum</i>    | <i>Micelio estéril</i>               |
|                                       |                              | <i>Phialophora sp1</i>         | <i>Myrothecium sp1</i>               |
|                                       |                              |                                | <i>Penicillium oxalicum</i>          |
|                                       |                              |                                | <i>Cladosporium cladosporioides</i>  |
|                                       |                              |                                | <i>Sphaeropsidal</i>                 |
|                                       |                              |                                | <i>Chrysosporium pannorum</i>        |
|                                       |                              |                                | <i>Fusarium solani</i>               |
|                                       |                              |                                | <i>Paecilomyces carneus</i>          |
|                                       |                              |                                | <i>Penicillium corylophilum</i>      |
|                                       |                              |                                | <i>Penicillium decumbens</i>         |
|                                       |                              |                                | <i>Penicillium variabile</i>         |
|                                       |                              |                                | <i>Rhizomucor pusillus</i>           |
|                                       |                              |                                | <i>Torula sp1</i>                    |
|                                       |                              |                                | <i>Trichoderma aggr. aureoviride</i> |
|                                       |                              |                                | <i>Trichoderma harzianum</i>         |
|                                       |                              |                                | <i>Trichoderma viride</i>            |
|                                       |                              |                                | <i>Verticillium lecanii</i>          |



## 6. DISCUSIÓN

### 6.1 Riqueza

En este estudio se identificaron 59 especies pertenecientes a 24 géneros. El mayor porcentaje (88%) de géneros pertenece al orden Moniliales (figura 3), esto coincide con lo reportado en otros estudios tanto en regiones tropicales (Betucci y Roquebert, 1995; Del Olmo, 2003) como en regiones templadas (Bisby *et al.*, 1933; Miller *et al.*, 1957).

El siguiente orden con mayor representación fue Mucorales (7%); este grupo representó aproximadamente el 20% en el estudio de Bettucci y Roquebert (1995) mientras que en el de Del Olmo (2003) no fueron aislados. Moubasher y Moustafa (1970) registraron frecuencias de aparición moderadas (aproximadamente 40%) en Egipto.

Al comparar el número total de especies identificadas en el presente estudio con otros estudios realizados en regiones tropicales se observa que representa casi el doble de las 39 especies identificadas por Del Olmo (2003) a partir de muestras de suelo de una plantación de plátano en Tabasco a pesar de haber tomado un menor número de muestras.

Maggi y Persiani (1983) identificaron 215 especies a partir de suelos cultivados en Costa de Marfil; casi cuatro veces más especies que en el presente estudio aunque hay que considerar que el número de muestras utilizadas para el aislamiento también fue mucho mayor que en el presente estudio.

Un estudio realizado en un oasis del desierto de Israel (Steiman, *et al.*, 1997) produjo 142 especies, un poco más del doble de las identificadas en el presente estudio; aunque el área de estudio tiene un clima muy diferente al de este último estudio, en ambos lugares se alcanzan temperaturas entre los 20 y 40°C.

Al comparar el número de especies identificadas en este estudio con las identificadas en estudios realizados en regiones templadas se observa un menor número de especies como las 54 especies identificadas por Cabello y Arambarri (2002) a partir de suelos de bosques en Argentina. Nordgren y colaboradores (1985) identificaron 120 especies a partir de suelos contaminados. Mientras que

Bissett y Parkinson (1980) identificaron 59 especies a partir de suelos subalpinos en Canadá, y Clarke y Christensen (1981) identificaron 62 especies a partir de suelos de pastizales en Dakota del Sur.

A pesar de sólo haberse tomado dos muestras de suelo del tinal se puede considerar que posee una riqueza media al compararla con otros estudios realizados en regiones tropicales y templadas.

Esto confirma que en suelos no cultivados hay una mayor riqueza (Christensen, 1981) y un mayor número de aislamientos (Bisby *et al.*, 1933; Miller *et al.*, 1957) que en suelos cultivados.

Las gran mayoría de las especies identificadas son comunes en el suelo y en otros sustratos, con la excepción de *Aspergillus auricomus* que había sido reportada previamente de una solución de cloro. Especies como *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces marquandii*, *Paecilomyces farinosus* y *Verticillium lecanii* han sido reportadas como parásitas de insectos (Domsch *et al.*, 1993) por lo que se puede suponer que en el suelo hay exoesqueletos de insectos muertos.

Dos hechos pueden haber determinado el que las especies aisladas sean comunes; por un lado, el haber utilizado solo un medio de cultivo, el cual permitía el desarrollo principalmente de especies saprobias y que tienen la capacidad de utilizar rápidamente el sustrato, y por otro lado, el haber utilizado solo una temperatura de incubación (28°C), evitando con ello el desarrollo de especies que crecen a temperaturas mayores.

## **6.2 Muestreo 1**

### **6.2.1 Riqueza y abundancia de géneros**

En este muestreo las diferencias cuantitativas en cuanto al número de aislamientos fue similar en ambas técnicas utilizadas (131 a partir del lavado de suelo y 101 de las diluciones de suelo) y con respecto al número de géneros y especies aisladas tampoco varió significativamente (16 y 36 a partir del lavado de suelo y, 15 y 33 de las diluciones, respectivamente).

11 géneros fueron aislados con las dos técnicas utilizadas, 5 géneros fueron aislados solamente con el lavado de suelo y 4 solamente con la dilución de suelo (tablas 4 y 7; figura 29).

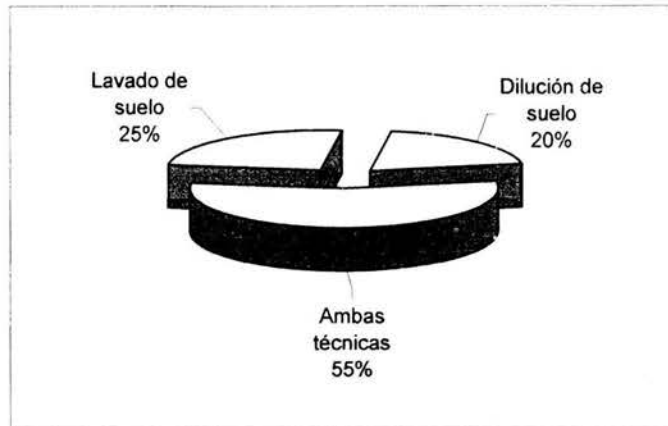


Figura 29. Porcentaje de géneros compartidos y para cada técnica en el muestreo de Mayo.

En cuanto a la riqueza en los géneros identificados (Tablas 4 y 7; figura 6 y 8). Con la técnica de lavado de suelo el género con mayor riqueza fue *Trichoderma* con 9 especies, mientras que con la técnica de dilución de suelo el género con mayor riqueza fue *Penicillium* con 8 especies.

*Penicillium* se considera un hongo saprobio ubicuo del suelo cuyas especies son dominantes en regiones templadas y en los horizontes orgánicos del suelo (Widden y Parkinson, 1973). Sus especies son aisladas frecuentemente con la técnica de dilución de suelo, con la técnica de lavado de suelo su frecuencia disminuye pero la riqueza del género no varía (Domsch *et al.*, 1993); esto es consistente con los resultados obtenidos en el presente estudio donde el género presentó la mayor riqueza y la mayor abundancia (0.4178) con la técnica de dilución de suelo mientras que con la técnica de lavado de suelo fue el segundo género con mayor riqueza (6 especies) pero su abundancia fue considerablemente menor (0.1870). Aunque es contrario a lo reportado por Kjoller y Struwe (1982), quienes observaron que el género era escaso en regiones tropicales.

*Trichoderma* fue el género con mayor riqueza con la técnica de lavado de suelo, donde presentó 9 especies y consistentemente fue el género más

abundante (0.3267); en la técnica de dilución sólo presentó 2 especies aunque fue el segundo género más abundante (0.1233), aunque muy por debajo del género más abundante que fue *Penicillium* (0.4178). *Trichoderma* también es considerado un hongo ubicuo del suelo y dominante en los horizontes orgánicos del suelo (Widden y Parkinson, 1973); la disminución de su riqueza con la técnica de dilución de suelo puede deberse a la presencia de especies de crecimiento y esporulación rápida.

*Aspergillus* presentó 3 especies con las dos técnicas, aunque su abundancia varió en ambas técnicas; con el lavado de suelo fue el segundo género más abundante (0.2244) mientras que con la dilución de suelo su abundancia fue baja. *Aspergillus* es considerado un género dominante y abundante en regiones cálidas (Domsch *et al.*, 1993) y es poco frecuente en suelos de regiones templadas (Bisby *et al.*, 1933).

*Paecilomyces* fue otro género que presentó 3 especies; aunque no fue de los géneros más abundantes con ninguna de las dos técnicas utilizadas (> de 0.1000). Esto es consistente con lo reportado por Domsch y colaboradores (1993). Harney y Widden (1991) reportaron que las especies del género se asocian a pH mayor de 8.

*Fusarium* es otro género considerado como un habitante común del suelo (Domsch *et al.*, 1993). En el presente estudio su riqueza fue baja con solo 2 especies con la técnica de lavado de suelo y 1 con la técnica de dilución. Este resultado contrasta con el obtenido por Del Olmo (2003) donde *Fusarium* fue el género con mayor riqueza (12 especies) y fue el segundo género más abundante de todo el estudio. El género se ha reportado como el más frecuente en suelos de pastizales y se ha asociado a suelos alcalinos (Kjoller y Struwe, 1982); esto puede explicar el bajo número de especies aisladas en ambas técnicas ya que el pH del suelo del tintal fue neutro.

El resto de los géneros presentaron solo 1 ó 2 especies y abundancias bajas (> 0.1000).

Un caso sobresaliente es el de *Cladosporium* que con la técnica de dilución de suelo presentó la tercera mayor abundancia (0.0822) aunque solo presentó una

especie. Este ha sido considerado como un género común tanto en el suelo como en el aire y se asocia a climas húmedos que permiten la mejor dispersión de sus esporas (Domsch *et al.*, 1993).

### **6.2.2 Abundancia de especies (tablas 5 y 8; figuras 7 y 9)**

En este muestreo el 31.3% de las especies se aisló con las dos técnicas, mientras que el 40% solo se aisló con la técnica de lavado de suelo y el 29.2% solo se aisló con la técnica de dilución de suelo (figura 30).

*Aspergillus japonicus*, *Trichoderma* aff. *citrinoviride*, *Penicillium citrinum*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium canescens*, *Chrysosporium* sp1, *Paecilomyces farinosus*, *Cunninghamella elegans*, *Paecilomyces marquandii*, *Verticillium lecanii*, *Cladosporium cladosporioides*, *Paecilomyces carneus*, *Penicillium pinophilum*, *Penicillium variabile* y *Epicoccum* sp1 fueron las especies aisladas con las dos técnicas utilizadas.

*Fusarium tabacinum*, *Trichoderma* aggr. *koningii*, *Fusarium moniliforme*, *Aspergillus parasiticus*, *Trichoderma piluliferum*, *Trichoderma parceramosus*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Monochaetia karstenii*, *Penicillium decumbens*, *Trichoderma viride*, *Penicillium* aff. *citrinum*, *Trichoderma* aff. *harzianum*, *Aspergillus candidus*, *Trichoderma crassum*, *Gonytrichum macrocladum*, *Myrothecium* sp1 y *Epicoccum* sp1 solo se aislaron con la técnica de lavado de suelo. Aunque solo *Fusarium tabacinum* tuvo una abundancia mayor a 0.0500.

Las especies aisladas sólo con la técnica de dilución de suelo fueron: *Penicillium fellutanum*, *Micelio estéril*, *Cunninghamella echinulata*, *Verticillium chlamydosporium*, *Aspergillus japonicus*, *Rhizomucor pusillus*, *Fusarium solani*, *Penicillium duclauxii*, *Penicillium verruculosum*, *Aspergillus auricomus*, *Penicillium glabrum*, *Rhizoctonia* sp1 y *Myrothecium* sp2.

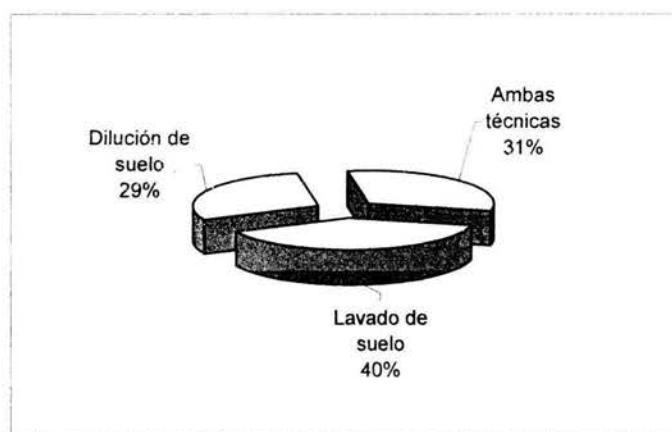


Figura 30. Porcentaje de especies compartidas y para cada técnica en el muestreo de Mayo.

*Aspergillus japonicus* fue la especie más abundante (0.2045) con la técnica de lavado de suelo. Mientras que con la técnica de dilución su frecuencia fue baja (0.0205); esto coincide con lo reportado con Del Olmo (2003), que registró la especie con una abundancia baja en el mismo mes (Mayo) utilizando la técnica de dilución de suelo. Esto puede deberse a que la técnica produjo un lavado de sus esporas o a que otras especies esporularon más rápidamente. Domsch y colaboradores (1993), y Klich y Pitt (1988) reportan a esta especie como dominante en regiones tropicales y subtropicales.

*Trichoderma* aff. *citrinoviride* presentó abundancia alta en ambas técnicas, fue la segunda (0.1845) especie más abundante con la técnica de lavado de suelo y la tercera (0.0822) con la técnica de dilución de suelo. *T. aff. citrinoviride* fue propuesta por Bissett en 1984; Del Olmo (2003) la aisló y la consideró una especie rara.

*Penicillium citrinum* fue otra de las especies más abundantes con ambas técnicas; fue la tercera más abundante (0.0998) con la técnica de lavado de suelo y la más abundante (0.1164), junto con *Penicillium canescens*, con la dilución de suelo. *P. citrinum* es una especie asociada con las capas superficiales del suelo y la vegetación en descomposición (Domsch *et al.*, 1993; Pitt, 2000). La especie tiene una distribución cosmopolita. Contrario a lo encontrado en el presente estudio, Del Olmo (2003) en suelos de una plantación de plátano, y Keller y



Bidochka (1998) en suelos de Canadá, observaron frecuencias bajas de la especie.

*Trichoderma harzianum* siguió en abundancia con la técnica de lavado de suelo aunque esta fue menor a 0.1000 en ambas técnicas; estas observaciones coinciden con lo registrado por Maggi y Persiani (1983) a partir de muestras de suelo de Costa de marfil pero son contrarias a lo registrado por Bettucci y Roquebert (1995) a partir de suelo de Malasia, donde *T. harzianum* fue la especie más abundante junto con *Penicillium simplicissimum*, y Del Olmo (2003) que también registró abundancias altas de *T. harzianum* en suelos cultivados.

*Fusarium tabacinum* sólo fue aislada con la técnica de lavado de suelo con una abundancia media. Esta especie es un caso especial ya que ha sido reportada solamente en suelos cultivados y dunas (Domsch *et al.*, 1993).

*Penicillium canescens* es una especie con distribución cosmopolita y ha sido aislada de una gran variedad de tipos de suelo y de vegetación (Domsch *et al.*, 1993). Christensen (1981) clasificó a esta especie como "sin patrón". En el presente estudio fue la especie más abundante con la técnica de dilución de suelo mientras que con la de lavado de suelo presentó una abundancia media. *P. canescens* produce canescina, un metabolito que tiene un efecto antifúngico (Domsch *et al.*, 1993), lo que puede haber influido el crecimiento de otras especies.

*Cladosporium cladosporioides* es la especie más común del género y ha sido reportada tanto de hojarasca como de suelo, es mas abundante en regiones templadas que en tropicales (Domsch *et al.*, 1993). En el presente estudio se aisló solamente con la técnica de dilución de suelo donde fue la segunda especie más abundante, lo que coincide con lo reportado por Domsch y colaboradores (1993), no así Del Olmo (2003), que registró abundancias bajas de *C. cladosporioides*.

*Penicillium fellutanum* sólo se aisló con la técnica de dilución de suelo con una abundancia media. Esta especie es común en bosques templados (Gochenaur, 1978), también ha sido aislado de bosques mesófilos (Heredia y Reyes-Estebanez, 1999) y de suelos cultivados (Del Olmo, 2003).



*Penicillium pinophilum* fue la segunda especie más abundante con la técnica de dilución de suelo, mientras que con la de lavado de suelo presentó una abundancia baja.

*Cunninghamella echinulata* es una especie de Zygomycete con distribución cosmopolita, dominante en regiones cálidas (Domsch *et al.*, 1993), aunque Maggi y Persiani (1983) registraron valores de abundancia bajos en suelos de Costa de Marfil en el presente estudio se presentó con valor medios de abundancia y solo se aisló con la técnica de dilución de suelo.

### **6.2.3 Frecuencia de aparición (tablas 6 y 9)**

A partir del análisis de correlación entre la frecuencia de aparición de cada especie y los parámetros edafológicos de cada estación de muestreo se observó que *Trichoderma harzianum* mostró una correlación positiva con el pH del suelo, con la técnica de lavado de suelo. Widden (1986b) no observó correlación entre *T. harzianum* y el pH en un bosque templado, solo observó una correlación positiva con temperatura y negativa con potasio, amonio y nitrato. En el presente estudio no se consideraron estos factores por lo que no se pueden hacer comparaciones.

En el mismo estudio, Widden (1986b) consideró al pH como un factor que influye en menor grado la composición de las comunidades de hongos microscópicos en el suelo de un bosque templado.

Con la técnica de dilución de suelo, *Cunninghamella elegans* y *Rhizomucor pusillus* mostraron un coeficiente de correlación positivo con el pH. Aunque *Cunninghamella elegans* no presenta un requerimiento específico de pH, se ha observado la prevalencia de la especie en suelos ácidos (Domsch *et al.*, 1993).

No se encontraron reportes de la relación de *Rhizomucor pusillus* con parámetros edafológicos.

El resto de las especies no mostró correlaciones significativas con los dos parámetros edafológicos utilizados: pH y materia orgánica; esto indica que su distribución no está determinada por factores abióticos o al menos por los utilizados en este estudio.

#### **6.2.4. Número de aislamientos y concentración de propágulos (figura 11)**

El número promedio de aislamientos y la concentración de propágulos fúngicos se comportó de igual manera con ambas técnicas de aislamiento.

El mayor número promedio de aislamientos y la mayor concentración se observaron en la estación 2. Mientras que el menor promedio de aislamientos se observó en la estación 5 y la concentración más baja se dio en la estación 3.

La concentración de propágulos por gramo de suelo en este muestreo varió de 38,000 a 72,000, estos valores son inferiores a los registrados (61,000 a 138,000) por Bisby y colaboradores (1933) para suelos no cultivados en Manitoba.

No se observó una correlación entre el número promedio de aislamientos o la concentración de propágulos y los valores de pH y contenido de materia orgánica en este muestreo por lo que las diferencias en los valores se deben a otro tipo de factores.

### **6.3 Muestreo 2**

#### **6.3.1 Riqueza y abundancia de géneros (tablas 12 y 15)**

En este muestreo el número de aislamientos fue mayor con la técnica de dilución de suelo que con la técnica de lavado de suelo (73 y 53 respectivamente) (figura 12).

En cuanto al número de géneros y especies aislados con cada una de las técnicas, fue mayor con la dilución de suelo donde se aislaron 34 especies pertenecientes a 17 géneros, mientras que con el lavado de suelo se aislaron 20 especies pertenecientes a 11 géneros.

11 géneros fueron aislados con las dos técnicas utilizadas, 5 géneros fueron aislados solamente con el lavado de suelo y 4 solamente con la dilución de suelo (tablas 12 y 15; figura 31).

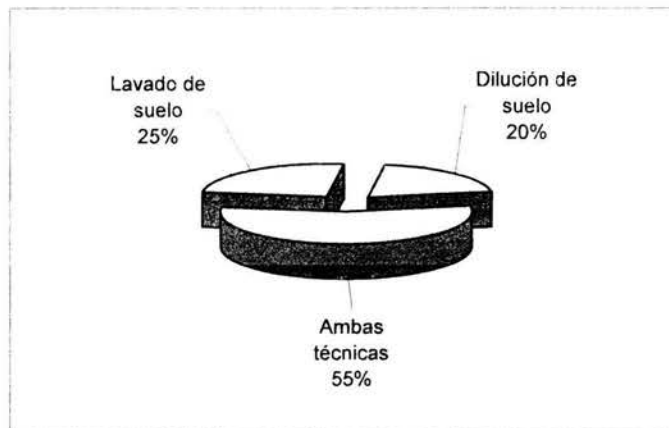


Figura 31. Porcentaje de géneros compartidos y para cada técnica en el muestreo de Octubre.

Con la técnica de lavado de suelo el género con mayor riqueza fue *Trichoderma* con 5 especies, mismo número de especies que presentó con la técnica de dilución de suelo. Con ambas técnicas, el género fue el segundo más abundante.

*Penicillium* fue el segundo género con mayor riqueza con la técnica de lavado de suelo con 4 especies, mientras que con la técnica de dilución de suelo presentó el mayor número de especies (10). Al ser el género con mayor riqueza también fue el género con mayor abundancia con la técnica de dilución de suelo, mientras que fue el tercer género más abundante con el lavado de suelo.

*Aspergillus* fue el género más abundante con la técnica de lavado de suelo a pesar de que solo presentó 3 especies. Con la dilución de suelo, el género solo presentó una especie y su abundancia fue baja.

El resto de los géneros presentaron 1 o 2 especies y valores de abundancia bajos. Sólo *Chrysosporium* y *Myrothecium* con 2 especies cada uno tuvieron valores de abundancia altos.

### 6.3.2 Abundancia de especies (tablas 13 y 16; figuras 14 y 16)

En este muestreo el 24% de las especies se aisló con las dos técnicas. Con la técnica de lavado de suelo sólo se aisló el 19.6% de las especies mientras que con las diluciones de suelo se aisló el 56.5% (figura 32).

*Trichoderma* aff. *citriniviride*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus japonicus*, *Penicillium canescens*, *Trichoderma* aggr. *aureoviride*, *Chrysosporium* sp1, *Trichoderma viride*, *Cladosporium cladosporioides*, *Geotrichum candidum*, *Penicillium citrinum* y *Penicillium variabile* fueron especies registradas con ambas técnicas.

Las especies que solo fueron aisladas con la técnica de lavado de suelo fueron: *Aspergillus niger*, *Cunninghamella elegans*, *Paecilomyces farinosus*, *Aspergillus wentii*, *Penicillium brevicompactum*, *Trichoderma crassum*, *Absidia cylindrospora*, *Gonytrichum macrocladum* y *Fusarium moniliforme*.

Las especies aisladas solamente con la técnica de dilución de suelo fueron: *Penicillium pinophilum*, *Myrothecium* sp2, *Penicillium duclauxii*, *Penicillium glabrum*, *Penicillium* aff. *griseofulvum*, *Papulaspora irregularis*, *Verticillium chlamydosporium*, *Paecilomyces marquandii*, *Trichoderma piluliferum*, *Phialophora* sp1, *Beauveria bassiana*, *Myrothecium* sp1, *Penicillium oxalicum*, Micelio estéril, *Chrysosporium pannorum*, *Penicillium corylophilum*, *Penicillium decumbens*, *Verticillium lecanii*, *Torula* sp1, *Fusarium solani*, *Rhizomucor pusillus*, *Sphaeropsisida* y *Paecilomyces carneus*.

La especie más abundante con la técnica de lavado de suelo fue *Aspergillus niger*, la cual se aisló solamente con esta técnica. Christensen (1981) asocia esta especie a desiertos, lo que concuerda con lo reportado por Moubasher y Moustafa (1970), donde *A. niger* fue la especie más abundante del género en suelos de Egipto. Mientras que Del Olmo (2003) registró la especie con valores medios de abundancia en el mes de Noviembre.

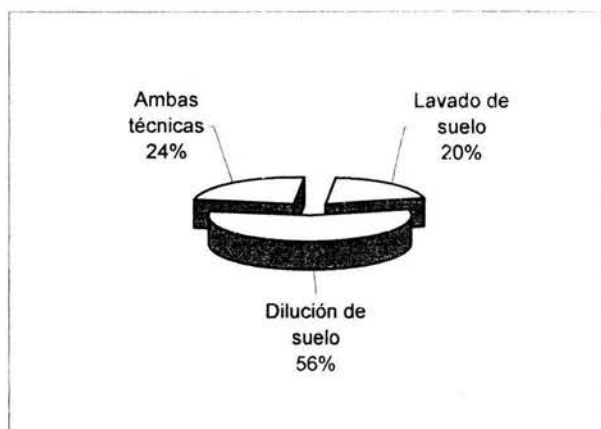


Figura 32. Porcentaje de especies compartidas y para cada técnica en el muestreo de Octubre.

*Trichoderma aff. citrinoviride* fue la segunda especie más abundante con la técnica de lavado de suelo y la especie más abundante con la de dilución.

*Trichoderma harzianum* fue la tercera especie más abundante con la técnica de lavado de suelo, mientras que con la de dilución presentó una abundancia media.

*Aspergillus japonicus* fue la siguiente especie en abundancia. Maggi y Persiani (1983) registraron abundancias medias de la especie en suelos cultivados.

*Penicillium canescens* presentó una abundancia alta con la técnica de lavado de suelo y baja con la de dilución. La especie no fue aislada de suelos cultivados en Tabasco (Del Olmo, 2003) ni de suelos cultivados en Costa de Marfil (Maggi y Persiani, 1983). Christensen (1981) considera a *P. canescens* como una especie sin patrón.

*Penicillium pinophilum* fue la tercera especie más abundante junto con *Myrothecium* sp2. No se encontraron registros de estas dos especies en otros estudios. Ambas se aislaron solamente con la técnica de dilución de suelo.

El resto de las especies se presentaron en abundancias menores a 0.1000.

### **6.3.3 Frecuencia de aparición (tablas 14 y 17)**

En este muestreo *Trichoderma* aff. *citrinoviride* y *Penicillium glabrum* tuvieron un coeficiente de correlación negativo con el contenido de materia orgánica, mientras que *Penicillium citrinum* estuvo relacionado positivamente con los valores de materia orgánica.

El contenido de materia orgánica del suelo se ha correlacionado con la biomasa o con la presencia de algunas especies (Morrall, 1974; Widden, 1986b); aunque no se encontraron datos relacionando estas especies con parámetros edafológicos.

### **6.3.4 Número de aislamientos y concentración de propágulos (figura 2)**

Al igual que en el muestreo anterior, no se observó una correlación estadísticamente significativa entre el número promedio de aislamientos y la concentración de propágulos con alguno de los parámetros edafológicos utilizados. Por lo que el comportamiento de estos datos se debe a otros factores no analizados o a características de las especies.

Los valores de concentración de propágulos en este muestreo variaron de 26,000 a 66,000, de igual manera que en el muestreo anterior Bisby y colaboradores (1933) reportaron valores mayores (48,000 a 78,000) de concentración de propágulos en el mismo mes.

En este muestreo ambos valores se comportaron de manera diferente. Mientras que los valores máximos se dieron en la estación 3 y 1 para el promedio de aislamientos y la concentración de propágulos, respectivamente; los valores mínimos se observaron en las estaciones 5 y 3 respectivamente.

Sobresale la estación 3 donde se presentó el mayor promedio de aislamientos y la menor concentración de propágulos.

### **6.3.5 Frecuencia (tablas 10 y 18)**

Al igual que en el estudio realizado por Bettucci y Roquebert (1995) y por Del Olmo (2003), ambos en regiones tropicales pero en suelos cultivados, en el presente estudio la frecuencia de las especies tuvo una distribución que siguió el

patrón de Raunkier, esto es, unas pocas especies con frecuencias altas y un gran número de especies con valores bajos (figuras 12 y 19).

Las especies que tuvieron una frecuencia mayor a 0.0500 en el muestreo de Mayo fueron: *Trichoderma* aff. *citrinoviride*, *Aspergillus japonicus*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium canescens* y *Trichoderma harzianum*. Mientras que en el muestreo de Octubre fueron: *Aspergillus niger*, *Trichoderma* aff. *citrinoviride*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus japonicus* y *Penicillium canescens*.

Debido a que se tomaron sólo dos muestras durante todo año no se puede hablar con certeza de una estacionalidad de las especies aisladas aunque si se pueden hacer algunas observaciones.

*Trichoderma* aff. *citrinoviride* fue la especie con mayor frecuencia en el muestreo de Mayo (0.1572) mientras que en Octubre fue la segunda más frecuente (0.1678).

La frecuencia de *Aspergillus japonicus* disminuyó del muestreo de Mayo (0.1554) al de Octubre (0.1080).

*Penicillium citrinum* también mostró una disminución considerable en su frecuencia del muestreo de Mayo (0.1042) al de Octubre (0.0092).

La frecuencia de *Penicillium canescens* fue aproximadamente la misma en los dos muestreos, con un ligero aumento de Mayo (0.0768) a Octubre (0.0828).

Los valores de frecuencia de *Trichoderma harzianum* aumentaron considerablemente en el muestreo de Octubre (0.1218) con respecto a los del muestreo de Mayo (0.0603).

El resto de las especies mostraron frecuencias menores a 0.0500 y se pueden identificar tres grupos:

1. Especies aisladas sólo en el muestreo de Mayo: *Fusarium tabacinum*, *Penicillium fellutanum*, *Trichoderma* aggr. *koningii*, *Aspergillus parasiticus*, *Cunninghamella echinulata*, *Trichoderma parceramosus*, *Verticillium chlamydosporium*, *Monochaetia karstenii*, *Trichoderma longibrachiatum*, *Epicoccum* sp1, Helicoide, *Penicillium verruculosum*, *Aspergillus auricomus*, *Gelasinospora* sp1, *Aspergillus candidus*, *Emericella nidulans*, *Penicillium*



*aff. citrinum*, *Rhizoctonia* sp1, *Trichocladium canadense*, y *Trichoderma aff. harzianum*.

2. Especies aisladas solo en el muestreo de Octubre: *Trichoderma aggr. aureoviride*, *Geotrichum candidum*, *Papulaspora irregularis*, *Penicillium aff. griseofulvum*, *Aspergillus wentii*, *Beauveria bassiana*, *Penicillium oxalicum*, *Phialophora* sp1, *Absidia cylindrospora*, *Sphaeropsidal*, *Chrysosporium pannorum*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium corylophilum* y *Torula* sp1.
3. Especies aisladas en los dos muestreos: *Aspergillus niger*, *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus japonicus*, *Penicillium canescens*, *Chrysosporium* sp1, *Myrothecium* sp1, *Penicillium pinophilum*, *Penicillium duclauxii*, *Cunninghamella elegans*, *Penicillium glabrum*, *Paecilomyces farinosus*, *Penicillium citrinum*, *Trichoderma viride*, *Cladosporium cladosporioides*, *Paecilomyces marquandii*, *Trichoderma piluliferum*, *Verticillium chlamydosporium*, *Micelio estéril*, *Myrothecium* sp2, *Penicillium variable*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani*, *Gonytrichum macrocladum*, *Paecilomyces carneus*, *Penicillium decumbens*, *Rhizomucor pusillus*, *Trichoderma crassum* y *Verticillium lecanii*.

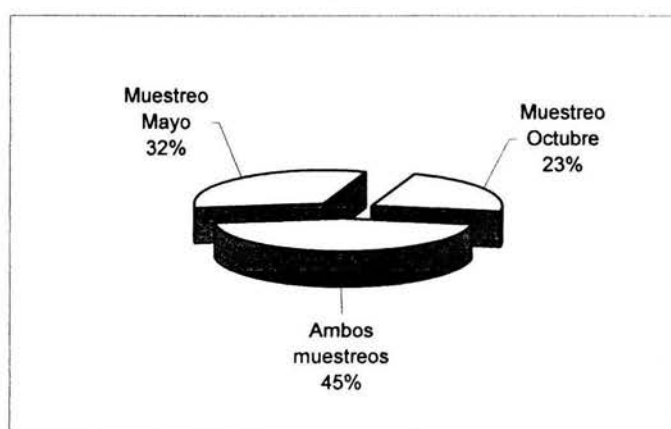


Figura 33. Porcentaje de especies compartidas y por muestreo.

## 6.4 Índices de diversidad

En el presente estudio se utilizaron 4 índices de diversidad: índice  $\alpha$  de Fisher, índice de Shannon, índice de Simpson e índice de Berger-Parker.

Todos ellos miden la abundancia proporcional de las especies y combinan la riqueza de especies y la equitatividad (el componente de la diversidad de especies que mide la abundancia relativa de éstas) en una sola cifra.

Estos índices tienden a desviarse hacia la riqueza ( $\alpha$  de Fisher, Shannon) los cuales están enfocados en el número de especies en relación con el número de individuos, o hacia la dominancia (Simpson, Berger-Parker) que son sensibles a la abundancia de las especies más comunes mas que a la riqueza de especies (Ravera, 2001).

Todos los índices (tabla 20) fueron mayores para los resultados obtenidos a partir de la técnica de dilución de suelo en ambos muestreos.

### 6.4.1 Índice $\alpha$ de Fisher e índice de Shannon

El comportamiento de ambos índices puede explicarse por la inclinación que tienen hacia la proporción de individuos entre las especies más abundantes.

Los valores del índice de diversidad de Shannon usualmente caen entre 1.5 y 3.5 (Margalef, 1972 en Magurran, 1988).

En ambos muestreos los índices obtenidos a partir de la dilución de suelo fueron mayores que los del lavado de suelo, aunque las diferencias fueron muy pequeñas (tabla 20).

En el muestreo de Mayo, a pesar de que fue ligeramente mayor tanto el número de aislamientos como el número de taxa con la técnica de lavado de suelo (figura 5), sólo 6 especies con abundancias mayores a 0.0500 (tabla 5) representaron aproximadamente el 70% de los aislamientos.

Mientras que con la técnica de dilución de suelo las 6 especies con abundancias mayores a 0.0500 representaron el 45% de los aislamientos.

En el muestreo de Octubre, tanto el número de aislamientos como el número de taxa fueron mayores con la técnica de dilución de suelo (figura 12).

El 85% de los aislamientos hechos con la técnica de lavado de suelo perteneció a 5 especies con abundancias mayores a 0.0500.

En el caso de la técnica de dilución de suelo, las 6 especies con abundancia mayor a 0.0500 representaron el 54% de los aislamientos.

#### **6.4.2 Índice de Simpson e índice de Berger-Parker**

El índice de Simpson está fuertemente orientado hacia las especies más abundantes de una muestra por lo que es menos sensible a la riqueza de especies (Magurran, 1988).

Por su parte el índice de Berger-Parker es una simple medición de la dominancia y expresa la importancia proporcional de las especies más abundantes.

En el muestreo de Mayo *Aspegillus japonicus* y *Trichoderma aff. citrinoviride*, representaron casi el 50% de los aislamientos hechos con la técnica de lavado de suelo. Mientras que en la técnica de dilución de suelo, *Penicillium canescens* y *Penicillium citrinum*, las especies más abundantes, representaron sólo el 23% del total de aislamientos.

En el muestreo de Octubre, *Aspergillus niger*, la especie más abundante con la técnica de lavado de suelo, representó aproximadamente el 30% de los aislamientos.

En el caso de la técnica de dilución de suelo, las especies más abundantes, *Trichoderma aff. citrinoviride* y *Chrysosporium* sp1, representaron el 24% de los aislamientos.

Los valores obtenidos se explican debido a que estos índices le dan mayor peso a la abundancia de las especies y en ambos muestreos, con la técnica de lavado de suelo, se registraron especies que representaron un porcentaje alto de dichos aislamientos.

#### **6.5 Dominancia**

En todos los análisis realizados con la prueba de Olmstaed-Tukey el mayor porcentaje de especies fueron raras, esto es, presentaron frecuencias de aparición

y valores de abundancia bajos; esto concuerda con la distribución de Raunkier mostrada en las graficas de abundancia y frecuencia de especies en todos los casos y con lo reportado por otros estudios de la micobiota del suelo (Bettucci y Roquebert, 1995; Del Olmo, 2003); con excepción del resultado para la técnica de lavado de suelo en el mes de Mayo, en donde el 50% de las especies resultó dominante, con frecuencias de aparición y valores de abundancia altos, lo cual se puede ser efecto de la gran cantidad de esporas producidas por las especies (Tabla 21) a pesar de que la técnica de lavado procura minimizar el efecto de las especies que producen una gran cantidad de esporas.

Se observaron especies, como *Penicillium canescens*, *Trichoderma aff. Citrinoviride*, *Trichoderma harzianum*, *Cunninghamella elegans* consideradas dominantes en todos los análisis

*Aspergillus japonicus* fue dominante con la técnica de lavado de suelo, en ambos muestreos; mientras que con la técnica de dilución de suelo fue rara y ocasional en los muestreos de Mayo y Octubre, respectivamente. Este comportamiento puede parecer contradictorio ya que una especie que produce una gran cantidad de esporas como *A. japonicus* se esperaría que fuera dominante con la técnica de dilución de suelo; teniendo en cuenta que la técnica de lavado de suelo permite aislar hongos que se encuentran asociados a partículas de suelo en forma de micelio mas que simples esporas, se podría decir que *A. japonicus* es un habitante activo del suelo ya que fue dominante con dicha técnica.

*Cladosporium cladosporioides* fue dominante con ambas técnicas en el muestreo de Mayo, mientras que en el muestreo de Octubre fue considerada una especie rara. Esto indica que tanto la frecuencia de aparición como los valores de abundancia de *C. cladosporioides* disminuyeron. No se puede hablar de fenología en este caso debido a que solo se hicieron dos muestreos durante un año y ya que esta especie no presentó correlaciones significativas con los parámetros edafológicos registrados tampoco se puede confirmar la influencia de alguno de dichos factores. Otras especies que presentaron el mismo comportamiento fueron: *Fusarium tabacinum*, *Cunninghamella echinulata*, *Penicillium verruculosum*,

*Monochaetia karstenii*, *Gelasinospora tetrasperma*, *Rhizoctonia* sp1 y *Trichocladium canadense* para el muestreo de Mayo; *Geotrichum candidum*, *Papulaspora irregularis*, *Aspergillus wentii*, *Beauveria bassiana*, *Phialophora* sp1, *Absidia cylindrospora*, *Chrysosporium pannorum* y *Penicillium corylophilum* para el muestreo de Octubre.

*Gonytrichum macrocladum* sólo fue aislada con la técnica de lavado de suelo donde se presentó como una especie rara; con esto se puede decir que esta especie se encuentra activa en el suelo aunque debido a que el crecimiento y la producción de esporas de esta especie es limitada en comparación con la de otras especies, su crecimiento puede haber sido enmascarado en los aislamientos hechos con la técnica de dilución de suelo. Esto mismo puede explicar la presencia de *Trichocladium canadense* y *Gelasinospora tetrasperma* sólo con la técnica de lavado de suelo en el muestreo de Mayo. Un caso particular es *Trichoderma crassum* que solo fue aislada con la técnica de lavado de suelo como una especie rara a pesar de ser una especie que produce abundantes esporas.

*Monochaetia karstenii* fue registrada como una especie constante lo que implica que a pesar de presentar valores de abundancia bajos, su distribución en el transecto representada por la frecuencia de aparición fue alta. Debido a que esta especie se encuentra principalmente en material vegetal y a que sólo fue aislada con la técnica de lavado de suelo se puede decir que el hongo está presente en las hojas de la hojarasca y que puede seguir desarrollándose como saprobio en el suelo.

## 7. CONCLUSIONES

El grupo más abundante fue el de los Moniliales, el cual comprendió el 88% de los géneros aislados, lo que concuerda con otros estudios hechos tanto en regiones templadas como en regiones tropicales.

En los dos muestreos hechos y con ambas técnicas utilizadas *Penicillium*, *Trichoderma* y *Aspergillus* fueron los géneros más representados.

Con ambas técnicas y en ambos muestreos, la distribución de las especies siguió la distribución de Raunkier: pocas especies con abundancia alta y muchas especies con abundancia baja.

Con la técnica de lavado las especies más representadas fueron *Aspergillus japonicus*, *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Trichoderma harzianum* y *Penicillium canescens*. Mientras que con la técnica de dilución fueron *Penicillium canescens*, *Trichoderma aff. citrinoviride* y *Penicillium pinophilum*.

Las especies más representadas en ambos muestreos (Mayo y Octubre) fueron *Trichoderma aff. citrinoviride*, *Aspergillus japonicus*, *Penicillium canescens* y *Trichoderma harzianum*.

En todos los casos los índices de diversidad concordaron con el fundamento del análisis, ya sea que le dieran mayor importancia a la diversidad o a la abundancia de las especies. Por lo que podemos concluir que cualquiera de esos índices puede utilizarse en estudios sobre hongos microscópicos.

Las especies aisladas en cada uno de los muestreos y con cada una de las técnicas mostraron una distribución de Raunkier.

No se puede afirmar que las especies aisladas representan la comunidad de hongos microscópicos del suelo de un tinal debido a la restricción de medios de cultivo y condiciones de incubación utilizadas y al reducido número de muestreos realizados; sin embargo se recuperaron las especies más representativas de dicha comunidad.

Por esta razón, y por las características únicas de los tintales, tampoco se puede comparar la comunidad de hongos microscópicos del suelo con las comunidades de otros tipos de suelo.



## 8. BIBLIOGRAFÍA

- Abou-Heilah, A. N. 1985. Soil mycoflora of Saudi Arabia. II. Some microfungi in the forest soils of Asir region. **Journal of Biological Science Research** **16**: 1-16.
- Alexander, M. 1980. **Introducción a la microbiología del suelo**. AGT Editor, S. A. México, D. F. 491 pp.
- Allen, E. B.; I. Espejel y C. Sigüenza. 1997. Role of mycorrhizae in restoration of marginal and derelict land and ecosystem sustainability. En: **Mycology in sustainability development: expanding concepts, vanishing borders**. Editores: M. A. Palm y I. H. Chapela. Pakway Publishers, Inc. Boone North Carolina: 147-159.
- Anónimo, 1994. **Systematic Agenda 2000**. American Society of Plant Taxonomists, Society of Systematic Biologists y Willi Hennig Society.
- Agarwal, A. K. y S. Chauhan. 1988. Fungal communities and seasonal succession of microfungi in the forest soil of Chandpata, Shivpuri (MP). **Acta Botanica Indica** **16**: 204-209.
- Baath, E. 1988. A critical examination of the soil washing technique with special reference to the effect of the size of the soil particles. **Canadian Journal of Botany** **66**: 1566-1569.
- Barnett, H. L. y B. B. Hunter. 1998. **Illustrated genera of imperfect fungi**. APS Press. Minnesota. 218 pp.
- Barron, G. L. 1983. **The genera of Hyphomycetes from soil**. Williams and Wilkins Company. Baltimore. 364 pp.
- Bazzaz, F. A. 1975. Plant species diversity in old-field successional ecosystems in southern Illinois. **Ecology** **56**: 485-488.
- Berg, M. P., J. P. Kniese y H. A. Verhoef. 1998. Dynamics and stratification of bacteria and fungi in the organic layers of a scots pine forest soil. **Biology and Fertility of Soils** **26**: 313-322.
- Bettucci, L. Y M-F. Roquebert. 1995. Microfungi from a tropical rain forest litter and soil: a preliminary study. **Nova Hedwigia** **61**: 111-118.
- Betucci, L. C.; C. Rodríguez y M-F, Roquebert. 1990. Fungal communities of volcanic ash soils along an altitudinal gradient in México. III. Seasonal variations. **Pedobiologia** **34**: 61-67.
- Bills, G. F. 1995. Analysis of microfungal diversity from a user's perspective. **Canadian Journal of Botany** **73 (Sup. 1)**: S33-S41.
- Bills, G.; M. Reyes-Estebanez; R. M. Arias y G. Heredia. 2001. *Merimbla humicoloides* sp. nov. from conifer forest soil of Veracruz state, México. **Mycological Research** **105**: 1273-1279.
- Bisby, G. R., N. James y M. Timonin. 1933. Fungi isolated from Manitoba soil by the plate method. **Canadian Journal of Research** **8**: 253-275.
- Bisby, G. R.; Timonin, M. I. y James, N. 1936. Fungi isolated from soil profiles in Manitoba. **Canadian Journal of Research** **13**: 47-65.
- Bissett, J. 1984. A revision of the genus *Trichoderma*. I. Section *Longibrachiatum* sect. nov. **Canadian Journal of Botany** **62**: 924-931.
- Bissett, J. D. y D. Parkinson. 1979a. The distribution of fungi in some alpine soils. **Canadian Journal of Botany** **57**: 1609-1629.
- Bissett, J. y D. Parkinson. 1979b. Fungal community structure in some alpine soils. **Canadian Journal of Botany** **57**: 1630-1641.
- Bissett, J. y D. Parkinson. 1979c. Functional relationship between soil fungi and environment in alpine tundra. **Canadian Journal of Botany** **51**: 1642-1659.
- Bissett, J. y D. Parkinson. 1980. Long-term effects of fire on the composition and activity of soil microflora of a subalpine, coniferous forest. **Canadian Journal of Botany** **58**: 1704-1721.
- Bridge, P. y B. Spooner. 2001. Soil fungi: diversity and detection. **Plant and soil** **232**: 147-154.
- Brown, J. C. 1958. Soil fungi of some British sand dunes in relation to soil type and succession. **Journal of Ecology** **46**: 641-664.
- Bruns, T. D., R. Vilgalys, S. M. Barns, D. Gonzalez, D. S. Hibbett, D. J. Lane, L. Simon, S. Stickel, T. M. Szaro, W. G. Weisburg y M. L. Sogin. 1992. Evolutionary relationships within the fungi: analysis of nuclear small subunit rRNA sequences. **Molecular Phylogenetics and Evolution** **1**: 231-241.
- Buston, H. W.; M. O. Moss y D. Tyrrell. 1966. The influence of carbon dioxide on growth and sporulation of *Chaetomium globosum*. **Transactions of the British Mycological Society** **49**: 387-396.



- Cabello, M. y A. Arambarri. 2002. Diversity in soil fungi from undisturbed and disturbed *Celtis tala* and *Scutia buxifolia* forests in the eastern Buenos Aires province (Argentina). **Microbiological Research** 157: 115-125.
- Campos, S. P. y R. Ferrera-Castro. 1984. Efecto de las cenizas volcánicas del Chichonal sobre la micoflora del suelo. **Revista Latinoamericana de Microbiología** 26: 349-352.
- Céspedes, A. E. y J. Castillo. 1982. Algunos quitridiomycetes y Oomicetes aislados de localidades en cuatro estados de la República Mexicana. El conocimiento de los hongos en México. **Boletín de la Sociedad Mexicana de Micología** 17: 207-210.
- Christensen, M. 1981. Species diversity and dominance in fungal communities. En: **The fungal community, its organization and role in the ecosystem**. Editores: D. T. Wicklow y G. C. Carroll. Marcel Dekker, New York: 201-232.
- Christensen, M. 1989. A view of fungal ecology. **Mycologia** 8: 1-19.
- Christensen, M. y W. F. Whittingham. 1965. The soil microfungi of open bogs and conifer swamps in Wisconsin. **Mycologia** 57: 882-896.
- Cifuentes, J. 1996. **Estudio taxonómico de los géneros hidnoides estipitados en México**. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias. U.N.A.M. México, D. F.
- Cifuentes, J.; M. Villegas y L. Pérez-Ramírez. 1985. Descripción de macromicetos poco estudiados en México I. **Revista Mexicana de Micología** 1: 413-422.
- Clarke, D. C. y M. Christensen. 1981. The soil microfungi community of South Dakota grassland. **Canadian Journal of Botany** 59: 1950-1960.
- Contreras Martínez de Escobar, M. 1994. **Clima**. Centro Regional Tropical Puyacatengo, Universidad Autónoma de Chapingo. México. 54 pp.
- Del Olmo Ruiz, M. 2003. **Micromicetos del suelo de una plantación de plátano (*Musa paradisiaca*) en Teapa, Tabasco**. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 60 pp.
- Dix, N. J. y J. Webster. 1995. Fungal ecology. Chapman & Hall. Inglaterra. 548 pp.
- Domsch, K. H., W. Gams y T-H. Anderson. 1993. **Compendium of soil fungi. Volume I**. IHW-Verlag, Berlin. 859 pp.
- Donnison, L. M.; G. S. Griffith; J. Hedger, P. J. Hobbs y R. D. Bardgett. 2000. Management influences on soil microbial communities and their function in botanically diverse haymeadows of northern England and Wales. **Soil Biology and Biochemistry** 32: 253-263.
- Frankland, J. C. 1981. Mechanism in fungal successions. En: **The fungal community, its organization and role in the ecosystem**. (Eds: D. T. Wicklow y G. C. Carroll). Marcel Dekker, New York: 403-426.
- Frankland, J. C. 1990. Ecological methods of observing and quantifying soil fungi. **Transactions of the Mycological Society of Japan** 31: 89-101.
- Frederick, L. R. 1965. Microbial populations by direct microscopy. En: **Methods of soil analysis. Part 2 Chemical and microbiological properties**. (Ed: C. A. Black). American Society of agronomy, Inc. Publisher. Estados Unidos: 1452-1459.
- Gams, W. 1992. The análisis of communities of saprophytic microfungi with special reference to soil fungi. En: **Fungi in vegetation science**. (Ed.: W. Winterhoff). Kluwer Academic Publishers. Netherlands: 183-223.
- Gochenaour, S. E. 1978. Fungi of a Long Island oak-birch forest. I. Community organization and seasonal occurrence of the opportunistic decomposers of the A horizon. **Mycologia** 70: 975-993.
- Gochenaour, S. E. y M. P. Backus. 1967. Mycoecology of willow and cottonwood lowland communities in southern Wisconsin. II. Soil microfungi in the sand bar willow stands. **Mycologia** 59: 893-901.
- Godeas, A. M. 1983. Estudios cuali y cuantitativos de los hongos del suelo del bosque de *Nothofagus bombeyi*. **Ciencia del Suelo** 1: 21-31.
- González, M. del C.; T. Herrera; M. Ulloa y R. T. Hanlin. 1988. Abundance and diversity of microfungi in three coastal beaches of México. **Mycoscience** 39: 115-121.
- Griffin, D. M. 1972. **Ecology of soil fungi**. Chapman and Hall, Ltd. Londres. 193 pp.
- Guzmán, G. 1970. Monografía del género *Scleroderma* Pers. Emend. Fr. **Darwiniana** 16: 233-407.
- Guzmán, G. 1998. Inventorying the fungi of México. **Biodiversity and conservation** 7: 369-384.
- Hamey, S. y P. Widden. 1991. The ecology of *Paecilomyces farinosus* in two balsam fir forests infested with spruce budworm. **Canadian Journal of Botany** 69: 512-515.
- Hawksworth, D. L. 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance and conservation. **Mycological Research**. 95: 641-655.

- Hawksworth, D. L. 2001. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited. **Mycological Research** 103: 1422-1432.
- Hawksworth, D. L. 2002. Why study tropical fungi?. En: **Tropical mycology. Vol. 2: Micromycetes.** (Eds: R. Watling, J. C. Frankland, A. M. Ainsworth, S. Isaac y C. H. Robinson). CAB International, Wallingford: 1-11.
- Hawksworth, D. L., P. M. Kirk, B. C. Sutton y D. N. Pegler. 1995. **Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi.** CAB International, Wallingford. 424 pp.
- Heredia, G. 1999. **Diversidad y sucesión de los hyphomycetes de la superficie de las hojas en descomposición de tres especies arbóreas dominantes en un bosque mesófilo de montaña en el centro de Veracruz.** Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias. U.N.A.M. México, D. F.
- Heredia, G. y A. Mercado-Sierra. 1998. Tropical hyphomycetes of México. III. Some species from the Calakmul Biosphere Reserve, Campeche. **Mycotaxon** 68: 137-143.
- Heredia, G. y M. Reyes-Estebanez. 1999. Hongos conidiales de bosque mesófilo: algunas especies foliícolas y de la hojarasca desconocidas para México. **Revista Mexicana de Micología** 15: 79-88.
- Heredia, G.; R. M. Arias y M. Reyes-Estebanez. 2000. Contribución al conocimiento de los hongos Hyphomycetes de México. **Acta Botánica Mexicana** 51: 39-51.
- Heredia, G.; R. M. Arias; M. Reyes-Estebanez y G. Bills. 2001. *Talaromyces ocofl* sp. nov. and observations on *T. rotundus* from conifer soils of Veracruz state, México. **Mycologia** 93: 528-540.
- Herrera, T. y M. Ulloa. 1990. El reino de los hongos. UNAM-FCE. 552 PP.
- Horwath, W. R. y E. A. Paul. 1994. Microbial biomass. En: **Methods of soil análisis. Part 2. Microbial and biochemical properties.** Editor: R. W. Weaver. Soil Science Society of America. 753-773.
- Hyde, K. D. y D. L. Hawksworth. 1997. Measuring and monitoring the biodiversity of microfungi. En: **Biodiversity of tropical microfungi.** (Ed: K. D. Hyde). Hong Kong University Press. Hong Kong: 11-28.
- Keller, L. y M. J. Bidochka. 1998. Habitat and temporal differences among soil microfungi assemblages in Ontario. **Canadian Journal of Botany** 76: 1798-1805.
- Kirby, J. J. H., J. Webster y J. H. Baker. 1990. A particle plating method for analysis of fungal community composition and structure. **Mycological Research** 94: 621-626.
- Kjoller, A. y Struwe, S. 1982. Microfungi in ecosystems: fungal occurrence and activity in litter and soil. **Oikos** 39: 391-422.
- Klich, M. A. y J. I. Pitt. 1988. **A laboratory guide to the common Aspergillus species and their teleomorphs.** Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization. Australia. 115 pp.
- Krebs, C. J. 1978. **Ecología. Estudio de la distribución y la abundancia.** 2ª. Edición. Harla S. A. de C. V. 753 pp.
- Kwasna, H.; Z. Sierota y G. L. Bateman. 2000. Fungal communities in fallow soil before and after amending with pine sawdust. **Applied Soil Ecology** 14: 177-182.
- Lund, J. W. G. 1971. Las algas del suelo. En: **Biología del suelo.** Ed: Burges, A. y F. Raw. Ediciones Omega: 163-184.
- Maggi, O. y A. M. Persiani. 1983. Mycological studies of the soil. En: **Comparative studies on microfungi in tropical ecosystems.** UNESCO: 64-99.
- Magurran, A. E. 1988. **Ecological diversity and its measurement.** Princeton University Press. New Jersey. 179 pp.
- Martínez, A. T. y C. Ramírez. 1979. Study of the microfungi community of an andosol. **Journal of Ecology** 67: 305-319.
- Mier, T.; C. Toriello y M. Ulloa. 2002. **Hongos microscópicos saprobios y parásitos: métodos de laboratorio.** UAM-UNAM. 90 pp.
- Miller, J. H.; J. E. Giddens y A. A. Foster. 1957. A survey of the fungi of forest and cultivated soils of Georgia. **Mycologia** 49: 779-808.
- Miranda, F. 1958. **Estudios acerca de la vegetación.** En: **Los recursos naturales del sureste y su aprovechamiento. Tomo II.** Editor: E. Beltrán. Instituto Mexicano de Recursos Naturales no Renovables. México, D. F. Pp. 215-271.
- Molina, E-M. J. 1995. **Caracterización de los suelos del área que ocupa la División Académica de Ciencias Biológicas, junto con el Centro de Investigación y Conservación de Especies Amenazadas (CICEA).** Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. 24 pp.
- Morrall, R. A. A. 1974. Soil microfungi associated with aspen in Saskatchewan: synecology and quantitative análisis. **Canadian Journal of Botany** 52: 1803-1817.

- Moubasher, A. H. y A. F. Moustafa. 1970. A survey of Egyptian soil fungi with special reference to *Aspergillus*, *Penicillium* and *Penicillium*-related genera. **Transactions of the British Mycological Society** **54**: 35-44.
- Nielsen, C. O. 1971. Nematodos. En: **Biología del suelo**. Ed: Burges, A. y F. Raw. Ediciones Omega: 239-256.
- Nilsson, M.; E. Baath y B. Söderström. 1992. The microfungal communities of a mixed mire in northern Sweden. **Canadian Journal of Botany** **70**: 272-276.
- Nordgren, A., Baath, E. y Söderström, B. 1985. Soil microfungi in an area polluted by heavy metals. **Canadian Journal of Botany** **63**: 448-455.
- Novak, R. O. y W. F. Whittingham. 1968. Soil and litter microfungi of a maple-elm-ash floodplain community. **Mycologia** **60**: 776-787.
- Orpurt, P. A. y J. T. Curtis. 1957. Soil microfungi in relation to the prairie continuum in Wisconsin. **Ecology** **38**: 628-637.
- Palma, D. y J. Cisneros. 1996. **Plan de uso sustentable de los suelos de Tabasco. Vol. 1**. Fundación Produce Tabasco, A. C. Tabasco. 116 pp.
- Parkinson, D. 1994. Filamentous fungi. En: **Methods of soil analysis. Part 2. Microbial and biochemical properties**. Editor: R. W. Weaver. Soil Science Society of America. 330-350.
- Parkinson, D. y J. S. Waid. 1960. The ecology of soil fungi. Liverpool University Press. 324 pp.
- Parkinson, D., T. R. G. Gray y S. T. Smith. 1971. **Methods for studying the ecology of soil microorganisms**. IBP Handbook No. 19. Oxford: 116 pp.
- Pennington, T. D. y J. Sarukhán. 1998. **Árboles tropicales de México. Manual para la identificación de las principales especies**. 2ª. Edición. UNAM-FCE. México. 520 pp.
- Persiani, A. M.; O. Maggi; M. A. Casado y F. D. Pineda. 1998. Diversity and variability in soil fungi from a disturbed tropical rain forest. **Mycologia** **90**: 206-214.
- Piñón Flores, G. G. 1984. **Comunidades fúngicas de los suelos de La Joya, Oaxaca**. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 56 pp.
- Pitt, J. I. 2000. **A laboratory guide to common *Penicillium* species**. John I. Pitt, Australia. 197 pp.
- Ravera, O. 2001. A comparison between diversity, similarity and biotic indices applied to the macroinvertebrate community of a small stream; the Ravella river (Como Province, Northern Italy). **Aquatic ecology** **35**: 97-107.
- Rodríguez Fábregas, C. 1984. **Comunidades fúngicas de los suelos derivados de cenizas volcánicas**. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 45 pp.
- Rodríguez, C.; L. Betucci y M-F. Roquebert. 1990a. Fungal communities of volcanic ash soils along an altitudinal gradient in México. I. Composition and organization. **Pedobiología** **34**: 43-49.
- Rodríguez, C.; L. Bettucci y M-F. Roquebert. 1990b. Fungal communities of volcanic ash soils along an altitudinal gradient in México. II. Vertical distribution. **Pedobiología** **34**: 51-59.
- Rossmann, A. Y. 1997. Biodiversity of tropical microfungi: an overview. En: **Biodiversity of tropical microfungi**. (Ed: K. D. Hyde). Hong Kong University Press. Hong Kong: 1-10.
- Samaniego, J. A. 1987. **Distribución y frecuencia de hongos del suelo en noguerales de Coahuila, atacados por *Phymatotrichum omnivorum***. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional Autónoma de México. 67 pp.
- Satchell, J. E. 1971. Lumbrícidos. En: **Biología del suelo**. Ed: Burges, A. y F. Raw. Ediciones Omega: 307-378.
- Sokal, R. R. Y F. J. Rohlf. 1981. **Biometría. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica**. Blume Ediciones. Madrid. 832 pp.
- Söderström, B. E. 1975. Vertical distribution of microfungi in a spruce forest soil in the south of Sweden. **Transactions of the British Mycological Society** **65**: 419-425.
- States, J. S. 1981. Useful criteria in the description of fungal communities. En: **The fungal community, its organization and role in the ecosystem**. (Eds: D. T. Wicklow y G. C. Carroll). Marcel Dekker, New York: 185-199.
- Steiman, R.; P. Guiraud; L. Sage y F. Seigle-Murandi. 1997. Soil microflora from the Dead Sea of Ein Gedi and Einot Zuqim (Israel). **Antonie van Leeuwenhoek** **72**: 261-270.
- Stenton, H. 1953. The soil fungi of Wicken Fen. **Transactions of the British Mycological Society** **36**: 304-314.
- Stout, J. D. y G. W. Heal. 1971. Protozoos. En: **Biología del suelo**. Ed: Burges, A. y F. Raw. Ediciones Omega: 185-237.

- Subramanian C. V. y S. P. Wasser, (Eds.). 2001. **Soil microfungi of Israel**. A. R. G. Gantner Verlag Kommandit Gesellschaft. 545 pp.
- Tabak, H. H. y W. B. Cooke. 1968. Growth and metabolism of fungi in an atmosphere of nitrogen. **Mycologia** **60**: 115-140.
- Timonin, M. I. 1936. The micro-organisms in profiles of certain virgin soils in Manitoba. **Canadian Journal of Research** **13**: 32-46.
- Tochey, J. I.; C. D. Nelson y G. Krotkov. 1965. Barren ring, a description and study of causal relationship. **Canadian Journal of Botany** **43**: 1043-1054.
- Tresner, H. D.; M. P. Backus y J. T. Curtis. 1954. Soil microfungi in relation to the hardwood forest continuum in Southern Wisconsin. **Mycologia** **46**: 314-333.
- von Arx, J. A. 1970. **The genera of fungi sporulating in pure culture**. J. Cramer. 288 pp.
- Wacha, A. G. y L. H. Tiffany. 1979. Soil fungi from fields under different tillage and weed-control regimes. **Mycologia** **71**: 1215-1226.
- Warcup, J. H. 1950. The soil plate method for isolation of fungi from soil. **Nature** **166**: 117-118.
- Warcup, J. H. 1951. The ecology of soil fungi. **Transactions of the British Mycological Society** **34**: 376-399.
- Warcup, J. H. 1971. Hongos en el suelo. En: **Biología del suelo**. Ed: Burges, A. y F. Raw. Ediciones Omega: 69-141.
- Watanabe, T. 1994. **Pictorial atlas of soil and seed fungi. Morphologies of cultured fungi and key to species**. Lewis Publishers. Boca Ratón, Florida. 411 pp.
- Watkinson, A. R. 1998. The role of the soil community in plant population dynamics. **Trends in ecology and evolution** **13**: 171-172.
- West, R. C.; N. P. Psuty y B. G. Thom. 1985. **Las tierras bajas de Tabasco en el Sureste de México**. Instituto de Cultura de Tabasco. 416 pp.
- Widden, P. 1986a. Seasonality of forest soil microfungi in southern Quebec. **Canadian Journal of Botany** **64**: 1413-1423.
- Widden, P. 1986b. Functional relationship between Quebec forest soil microfungi and their environment. **Canadian Journal of Botany** **64**: 1424-1432.
- Widden, P. y D. Parkinson. 1973. Fungi from Canadian coniferous forest soils. **Canadian Journal of Botany** **51**: 2275-2290.
- Wollumm, II; A. G. 1994. Soil sampling for microbiological analysis. En: **Methods of soil analysis, Part 2. Microbiological and biochemical properties**. Editor: J. M. Bigham. Soil Science Society of America, Inc.: 1-14.
- Zar, H. 1984. **Biostatistical analysis**. 2ª. Edición. Prentice Hall. New Jersey. 717 pp.



## 9. ANEXO A

### *Listado taxonómico (según Herrera y Ulloa, 1990).*

#### Reino Fungi

División Eumycota

Subdivisión Phycomycotina

Clase Zygomycetes

Orden Mucorales

*Absidia cylindrospora* Hagem

*Cunninghamella echinulata* (Thaxt.) Thaxt.

*Cunninghamella elegans* Lendner

*Rhizomucor pusillus* (Lindt) Schipper

Subdivisión Deuteromycotina

Clase Hyphomycetes

Orden Moniliales

*Papulaspora irregularis* Hotson

*Rhizoctonia* sp1

*Aspergillus auricomus* (Guegen) Saito

*Aspergillus candidus* Link

*Aspergillus japonicus* var. *japonicus* Saito

*Aspergillus niger* var. *niger* van Tieghem

*Aspergillus parasiticus* Speare

*Aspergillus wentii* Wehmer

*Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill.

*Chrysosporium pannorum* (Link) Hughes

*Chrysosporium* sp1

*Cladosporium cladosporioides* (Fres.) de Vries

*Epicoccum* sp1

*Fusarium moniliforme* J. Sheld.

*Fusarium solani* (Mart.) Appel & Wollenw. emend. Snyd. & Hans

*Fusarium tabacinum* (J. F. H. Beyman) W. Gams

*Geotrichum candidum* Link ex Leman

*Gonytrichum macrocladum* (Sacc.) Hughes

*Helicoide* sp1

*Micelia sterilia*

*Myrothecium* sp1

*Myrothecium* sp2

*Paecilomyces carneus* (Duché & Heim) A. H. S. Brown & G. Sm.

*Paecilomyces farinosus* (Holm ex Gray) A. H. S. Brown & G. Sm.

*Paecilomyces marquandii* (Masse) Hughes

*Penicillium* aff. *citrinum* Thom

*Penicillium* aff. *griseofulvum* Dierckx

*Penicillium brevicompactum* Dierckx

*Penicillium canescens* Sopp

*Penicillium citrinum* Thom

*Penicillium corylophilum* Dierckx

*Penicillium decumbens* Thom

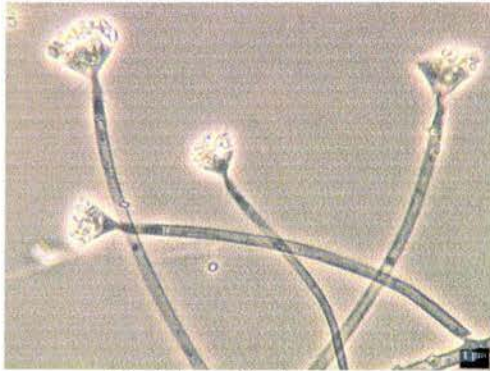
*Penicillium duclauxii* Delacr.

*Penicillium fellutanum* Biourge

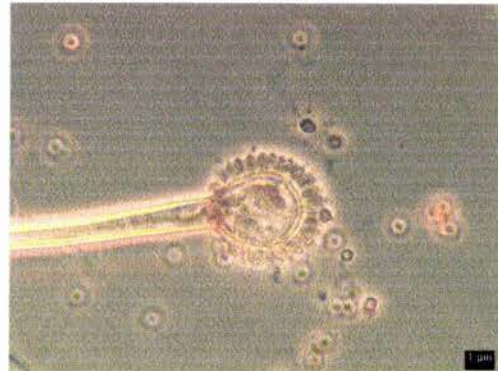
- Penicillium glabrum* (Wehmer) Westling
- Penicillium oxalicum* Currie & Thom
- Penicillium pinophilum* Hedgcock
- Penicillium variabile* Sopp
- Penicillium verruculosum* Peyronel
- Phialophora* sp1
- Torula* sp1
- Trichocladium canadense* S. Hughes
- Trichoderma* aff. *citrinoviride* Bissett
- Trichoderma* aff. *harzianum* Rifai
- Trichoderma* aggr. *koningii* Rifai
- Trichoderma crassum* Bissett
- Trichoderma harzianum* Rifai
- Trichoderma longibrachiatum* Rifai
- Trichoderma parceramosus* Bissett
- Trichoderma piluliferum* Webster & Rifai
- Trichoderma viride* Rifai
- Verticillium chlamydosporium* Goddard
- Verticillium lecanii* (Zimm.) Viégas
- Clase Coelomycetes
  - Orden Sphaeropsidales
  - Sphaeropsidal sp1
  - Orden Melanconiales
  - Monochaetia karstenii* (Sacc. & Syd.) Sutton
- Subdivisión Ascomycotina
- Clase Euascomycetes
- Subclase Plectomycetidae
  - Orden Eurotiales
  - Emericella nidulans* (Eidam) Vuill.
- Subclase Pyrenomycetidae
  - Orden Xylariales
  - Gelasinospora tetrasperma* Dowding

## 10. ANEXO B

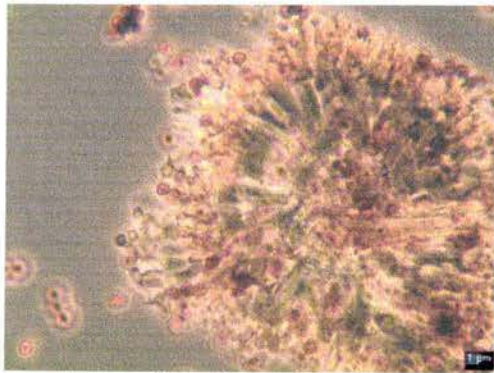
### Anexo fotográfico



*Absidia cylindrospora*



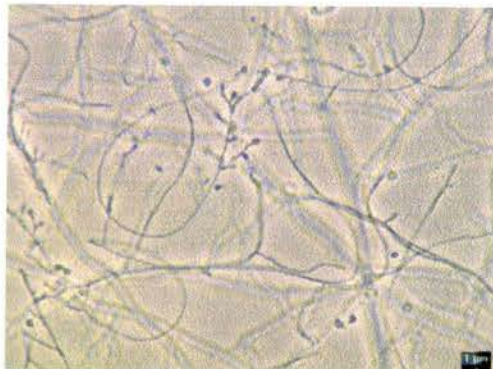
*Aspergillus japonicus* var. *japonicus*



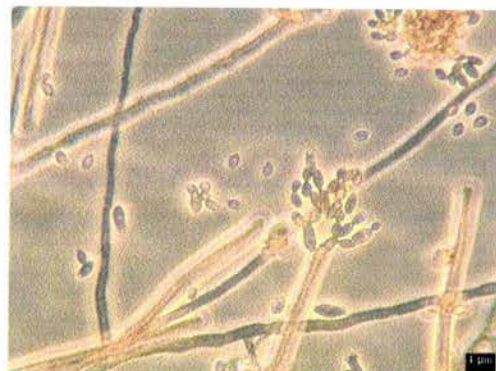
*Aspergillus niger* var. *niger*



*Beauveria bassiana*



*Chrysosporium pannorum*



*Cladosporium cladosporioides*

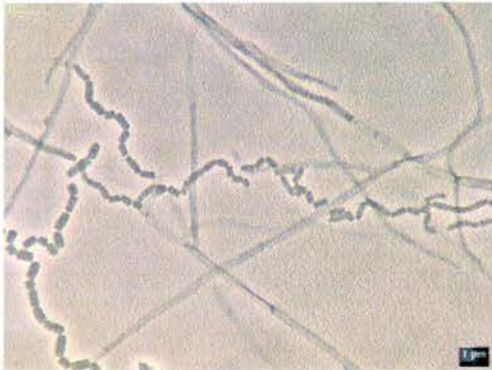




*Cunninghamella elegans*



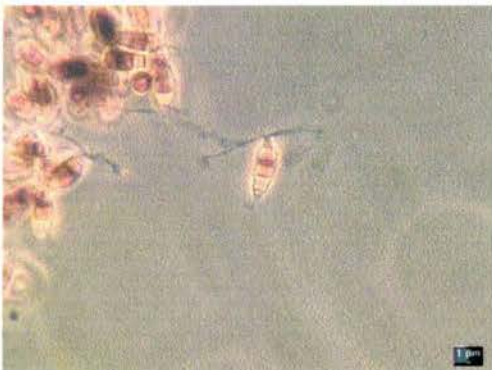
*Gelasinospora tetrasperma*



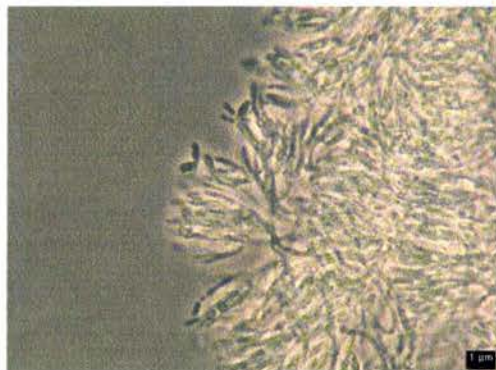
*Geotrichum candidum*



*Gonytrichum macrocladum*



*Monochaetia karstenii*



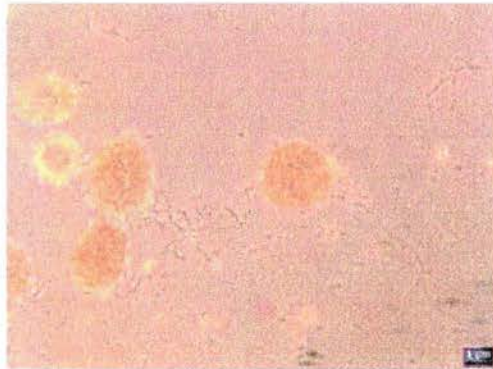
*Myrothecium sp1*



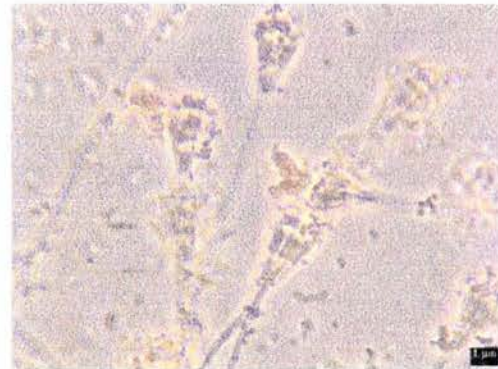
*Paecilomyces carneus*



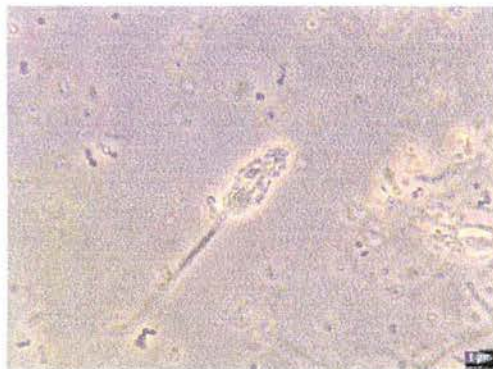
*Paecilomyces marquandii*



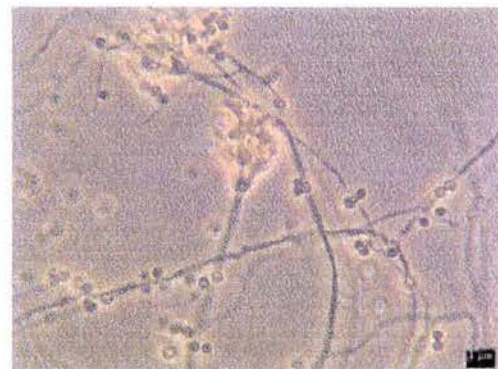
*Papuiaspora irreguiaris*



*Penicillium funiculosum*

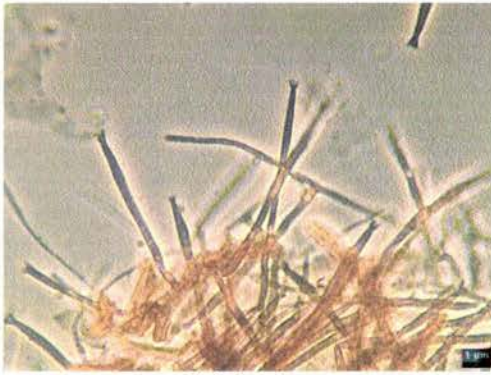


*Penicillium glabrum*



*Penicillium verruculosum*

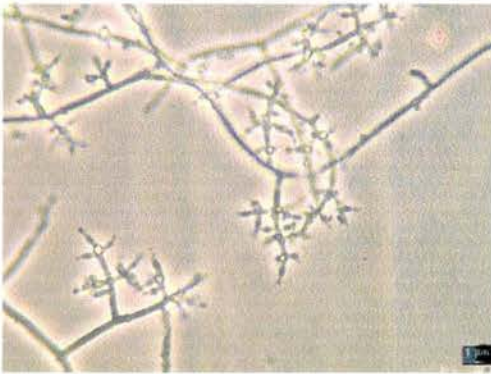




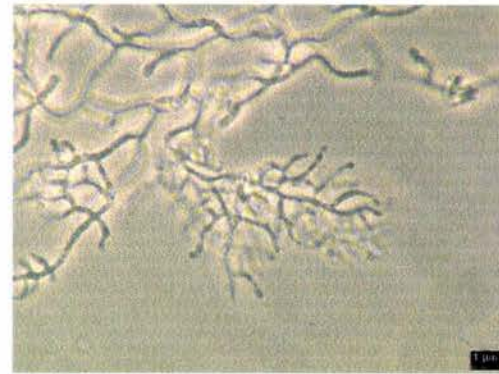
*Phialophora* sp



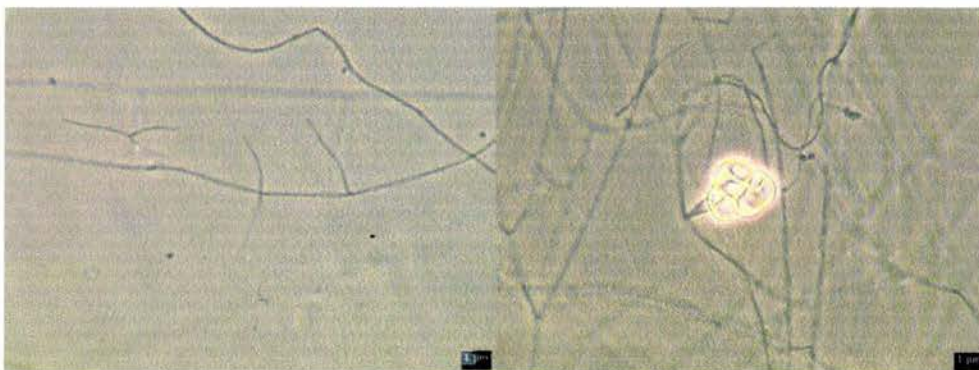
*Trichoderma* aff. *citrinoviride*



*Trichoderma harzianum*



*Trichoderma parceramosus*



*Verticillium chlamyosporium*