

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, LEÓN  
ESCUELA DE CIENCIAS AGRARIAS Y VETERINARIA  
DEPARTAMENTO DE AGROECOLOGÍA**



**Caracterización de hongos aislados de muestras (excretas de ganado bovino y suelo de corral), de municipios de Nagarote y León. Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos, ECAV, UNAN, León. En el periodo de febrero a junio del 2019**

**Trabajo presentado previo para optar el título de Ing. en Agroecología Tropical**

**Presentado por:**

Br. Yelsing José Martínez García.

**Tutor:**

Ing. Luis Francisco Moreno Mayorga.

**Asesor:**

M.Sc. Dalia Margarita Ortiz Olivas

León, Diciembre 2019.

*“A la Libertad por la Universidad*

# ÍNDICE

DEDICATORIA .....	i
AGRADECIMIENTO .....	ii
RESUMEN .....	iii
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. OBJETIVOS.....	3
III. HIPÓTESIS.....	4
IV. MARCO TEÓRICO .....	5
4.1. Generalidades e importancia .....	5
4.2. Papel ecológico e importancia.....	5
4.2.1. Beneficios ambientales.....	5
4.2.2. Usos medicinales .....	6
4.2.3. Beneficios culinarios .....	6
4.3. Industrias químicas.....	6
4.4. Origen.....	6
4.5. Morfología.....	7
4.5.1. Características físicas macroscópicas .....	7
4.5.2. Características físicas microscópicas .....	7
4.6. Hábitats y requerimientos Edafoclimáticas .....	8
4.7 Mecanismos de acción .....	8
4.7.1. Mico parasitismo .....	8
4.7.2. Competencia .....	8
4.7.3. Antibiosis.....	9
4.8. Nutrición.....	10
4.9. Clasificación de hongos .....	10
4.9.1 Basidiomicetos .....	10
4.9.2. Ascomicetos .....	10
4.10. Hongos .....	11
4.10.1 Penicillum.....	11
4.10.2. Marneffeii.....	11
4.10.3. Rishopuz sp.....	11
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
5.1. Ubicación del estudio .....	12

5.2. Tipo de investigación.....	12
5.3. La investigación consta de dos momentos .....	12
5.3.1. Colecta de muestra en campo .....	12
5.3.2 Montaje del aislamiento de los hongos en laboratorio de hongo del CIRCB. UNAN, León. .....	12
5.4. Obtención de muestras de excreta de ganado bovino del organismo del rumiante. ....	13
5.5. Obtención de muestras de excretas de ganado bovino de suelo del corral. ....	13
5.6. Análisis de las muestras en laboratorio .....	13
5.6.1. Desinfección y esterilización de materiales y medios.....	13
5.6.2. Siembra en PDA.....	14
5.6.3. Aislamiento de los hongos.....	14
5.6.4. Siembra en porta objeto y observación en microscopio .....	14
5.7. Identificación de los hongos.....	15
VI. RESULTADOS Y DISCUSION.....	16
1. Tabla 1. Taxonomía de especies de hongos aislados de muestras de excretas de ganado bovino y suelo de corral, 2019. ....	16
Figura 1. Géneros hongos aislados de muestras de excretas de ganado bovino y suelo de corral, 2019. ....	17
Caracterizaciones de las especies de hongos vistas al microscopio a 40x. ....	18
Imagen 1: <i>Aspergillus oryzae</i> . ....	18
Características macroscópicas.....	18
Características microscópicas.....	18
Imagen 2: <i>Aspergillus niger</i> . ....	19
Características macroscópicas.....	19
Características microscópicas.....	19
Importancia del hongo <i>Aspergillus</i> . ....	20
Imagen 3: <i>Penicillium chrysogenum</i> . ....	21
Características macroscópicas.....	21
Características microscópicas.....	21
Imagen 4: <i>Aspergillus niger</i> van.....	22
Características macroscópicas.....	22
Características microscópicas.....	22
Propiedades patogénicas .....	22
Imagen 5: <i>Trichoderma sp</i> .....	24

Características macroscópicas.....	24
Características microscópicas.....	24
Imagen 6: <i>Aspergillus</i> .....	26
Características macroscópicas:.....	26
Imagen 7: <i>Penicillium sp</i> .....	27
Características macroscópicas.....	27
Características microscópicas.....	27
Propiedades patogénicas .....	27
Imagen 8: <i>Rhizopus sp</i> .....	29
Características macroscópicas.....	29
Características microscópicas.....	29
Propiedades patogénicas .....	29
Imagen 9: <i>Trichoderma sp</i> .....	30
Características macroscópicas.....	30
Características microscópicas.....	30
Imagen 10: <i>Rhizopus oryzae</i> .....	31
Características macroscópicas.....	31
Características microscópicas.....	31
Imagen 11: <i>Rhizopus sp</i> .....	32
Características macroscópicas.....	32
Características microscópicas.....	32
Imagen 12 L1: <i>Geotrichum candidum</i> .....	33
Características macroscópicas.....	33
Características microscópicas.....	33
Propiedades patogénicas .....	33
Usos en la industria láctea.....	33
Imagen 13 L2: <i>Fusarium proliferatum</i> .....	34
Características macroscópicas.....	34
Características microscópicas.....	34
Propiedades patogénicas .....	34
VII. CONCLUSIONES .....	36
VIII. RECOMENDACIONES .....	37
IX. BIBLIOGRAFÍAS .....	38

X. ANEXO.....	41
---------------	----

## **DEDICATORIA**

Dedico este trabajo principalmente a Jehová Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mi madre, por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional sin importar nada. A mi padre, a pesar de nuestra distancia física. A mi madrina Marcia Aguilar quien me apoyo incondicionalmente y aprecio mucho.

*Yelsing José Martínez García.*

## AGRADECIMIENTO

A Jehová **Dios**, por concederme el don de la vida. Y por darme la sabiduría y fortaleza para las adversidades que se me presentaron y así poder salir adelante todos los días de mi vida. Permitiéndome la oportunidad de haber logrado culminar una de mis metas propuestas.

A mi madre Olivia Elena García por su apoyo, sacrificio y consejos, que lograron guiarme para culminar con éxito esta parte importante de mi vida.

A mis **hermanos** por su amor y cariño que nos hemos tenido y hemos estado juntos en la alegría y tristeza.

A mi abuela Felicidad de la Cruz Hernández Pavón y a mi padre Fabricio José Martínez por su apoyo, por sus consejos y amor incondicional.

A doña Marcia Cristina Aguilera por su apoyo en los momentos en los que más la necesite en el camino hacia la meta para alcanzar unos de mis mayores adjetivos, terminar con éxito mis estudios.

A mis compañeros, Mariano, Brayan, Juana Cristhian, Héctor, porque sin el equipo que formamos, no habiéramos logrado esta meta. A mi maestra Dalia Ortiz por guiarme por el camino correcto, sus enseñanzas siempre las voy a tener presente y sus consejos nunca los olvidaré, los voy a tener presente como el regalo más grande que puedo recibir de alguien, muchas gracias. De igual manera agradecer a los docentes que compartieron sus conocimientos con amor y dedicación en el transcurso de mis estudios, pero en especial a mi tutor de tesis **Ing. Luis Francisco Moreno Mayorga** por sus conocimientos brindados durante el desarrollo de esta investigación.

Y, por último, pero no menos importante, agradecer al **INTA**, por la confianza de poner una investigación en mis manos para poder desarrollarla y así poder obtener mi título como **Ing. en Agroecología Tropical**.

*Yelsing José Martínez García*

## RESUMEN

En nuestros ecosistemas existen un sinnúmero de micro organismos entre ellos una amplia diversidad de hongos, haciendo funciones diferentes, entre ellas de antagonistas, saprofitos y fitopatógenos, por lo cual se realizó esta investigación con el objetivo de Caracterizar hongos aislados en dos tipos de muestras (excretas de ganado bovino y suelo de corral), existentes en las fincas del occidente de Nicaragua, comunidad de Chacaraseca, departamento de León. Para la preparación de la solución madre, se tomó un gramo de suelo por muestra, las cuales fueron diluidas en 10 ml de agua esterilizada, colocando cinco gotas de solución madre por plato con PDA, a los 8 días se aisló conidias de los posibles hongos en nuevos platos con PDA, se colocaron en el incubador a una temperatura promedio de 27 grados, se realizaron observaciones diarias durante 8 días para ver su crecimiento, agrupándolas según sus características macroscópicas; luego se vertió PDA en porta objetos para la identificación por medio de las características microscópicas (conidióforo, micelios y conidias), observando al microscopio cada 24 h durante 4 días, obteniendo como resultado, la presencia de 13 hongos de distintas especies, siéndolos principales género *Aspergillus* con 30.76% , *Rhizopus* spp con 23.07, *Trichoderma* y *Penicillium* con un 15.38% , 8.25% de *Geotrichum* y *Fusarium* con 7.69 %.

## I. INTRODUCCIÓN

La agricultura de hoy en día sigue siendo extensiva monocultivista, se basan en sistemas productivos convencionales que con el pasar de los años ha aumentado el uso de productos sintéticos (herbicidas, pesticidas, etc.) para alcanzar la eficiencia de una alta productividad, lo que ha provocado la resistencia de muchos insectos y enfermedades y a la vez la aparición de nuevas enfermedades, recurriendo cada vez a productos más fuertes, ocasionando la pérdida de microorganismos del suelo y un ciclo vicioso del uso de plaguicidas. Por el contrario, los productos agroecológicos es otro método de manejo de los problemas fitosanitarios, resultados que se logran ver a más largo plazo, pero al aplicarse en tiempo y forma podremos obtener muy buenos resultados y nos aseguramos de que la contaminación al suelo y ambiente se reducen ya que son productos amigables con el medio ambiente (BenJannet, 2001).

En la naturaleza existen distribuidos una amplia variedad de hongos que desempeñan un papel crucial para el equilibrio de los ecosistemas. En la industria alimenticia los hongos también desempeñan un importante rol aportando las enzimas necesarias para los procesos enzimáticos necesarios para la producción de una gran diversidad de alimentos. Solo una pequeña cantidad de hongos forman parte del grupo capaz de producir enfermedades en los seres vivos.

Los hongos ocupan un lugar importante en el control microbiano de insectos plaga, ya que virtualmente todos los órdenes de insectos son susceptibles a enfermedades fúngicas. Frecuentemente, los hongos disminuyen poblaciones de insectos a través de epizootias. Por tal motivo, resulta indispensable que en los programas de control biológico y manejo integrado de plagas se recolecten, purifiquen y conserven estos microorganismos. Esto permitirá seleccionar a aquellos que, de acuerdo a sus características, sean más propicios a ser utilizados en una estrategia de control microbiano por incremento

Una estrategia ecológicamente segura para la utilización de hongos en el control de plagas, se basa en la identificación de sus patógenos naturales, lo cual se hace con el fin de seleccionar el patógeno con mayor potencial, tomando como criterio, su virulencia, persistencia y especificidad (Berlangu, Ayala, Montesinos, 2016).

En República Dominicana en el 2001 se realizó un estudio por parte de la Sociedad Dominicana de Investigadores Agropecuarios y Forestales en la cual el aislamiento se realizó en sustratos y raíces de plantas en invernaderos y los resultados fueron 56 colonias de *Trichoderma* provenientes de cepas nativas con potencial antagonista de hongos fitopatógenos radiculares, la mayor cantidad de aislados nativos por zonas se obtuvieron en los invernaderos de San José de Ocoa (20) y Villa Trina (14) y por tipo de muestra la mayor cantidad de aislados nativos se obtuvo en las muestras de raíz (Lahsen et al., 2001).

Aislamiento de *Trichoderma sp.*, en las unidades productivas agrícolas del Centro de Formación Agroindustrial “La Angostura” de campo alegre en el departamento de Huila en Colombia 2014. En este estudio se llegó a la conclusión que la metodología de terrones o gránulos de suelo permitió apreciar las características macroscópicas del hongo de interés en un período de tiempo más corto y con colonias mejor formadas y las posibles colonias de *Trichoderma* se evidenciaron más claramente en medio de cultivo Rosa de Bengala.

Es basado en todo lo antes expuesto que surge la necesidad de hacer frecuentemente diagnósticos de las poblaciones de microorganismos presentes en diferentes agroecosistemas (suelo, agua, aire, insectos benéficos), para identificar aquellos con potencial de uso como controladores biológicos. (Harman, 2014).

## **II. OBJETIVOS**

### **General**

Caracterizar morfológicamente hongos aislados en muestras de excretas de ganado bovino y suelo de corral.

### **Específicos**

Determinar el número de hongos aislados presentes en dos tipos de muestras (excretas de ganado bovino y suelo de corral).

### **III. HIPÓTESIS**

**Hi.** Las muestras excretas de ganado bovino y suelo de corral presentan distintos tipos de colonias de hongos de importancia económica para la agricultura.

## IV. MARCO TEÓRICO

### 4.1. Generalidades e importancia

Los hongos son un grupo de seres vivos diferentes de las plantas y de los animales, razón por la cual se clasifican en un reino aparte llamado Fungí. La ciencia que los estudia se llama Micología. Poseen gran capacidad de adaptación y pueden desarrollarse sobre cualquier medio o superficie, tanto en los bosques como en las ciudades. Se reproducen por medio de esporas, las cuales son diseminadas principalmente por el viento y por el agua. Pero también pueden desarrollarse formando asociaciones de beneficio mutuo con raíces de plantas (micorrizas) y con algas dando origen a los líquenes que son organismos totalmente diferentes a las plantas y a los mismos hongos, mientras que algunos crecen sobre otros seres vivos produciéndoles enfermedad o incluso la muerte.

Son descomponedores, ya que transforman la materia orgánica en sustancias más simples y asimilables por otros seres vivos.

Los hongos juegan y han jugado un papel muy importante en la medicina, la industria y la alimentación. La era de los antibióticos se inicia con el descubrimiento de la penicilina, obtenida a partir del hongo *Penicillium notatum*; asimismo, algunos hongos son importantes en la industria de quesos, cerveza, vinos y otros; además de la excelente fuente de vitaminas, proteínas, fibra y minerales que constituyen los hongos comestibles (Tovar, 2008).

### 4.2. Papel ecológico e importancia

#### 4.2.1. Beneficios ambientales

Los hongos se alimentan de materia orgánica muerta que incluye la hojarasca, el suelo, el estiércol, la madera y los animales muertos. Reciclan el 85 % del carbono de la materia orgánica muerta y, liberan los nutrientes para que puedan ser utilizados por otros organismos. Esto hace que los hongos sean vitales para la salud continua del ecosistema, definido este como un medio biológico que consiste en la suma de todos los organismos que viven en un área en particular, junto con los factores no vivos con los que interactúan. (Arango, 1988).

#### **4.2.2. Usos medicinales**

Algunos hongos, como *Ganoderma lucidum*, *Agaricus subrufescens*, Y *Ophiocordyceps sinensis*; son también agentes terapéuticos para la medicina tradicional china. Un estudio de 2001 publicado en el "Journal of Natural Products" encontró que los hongos contienen compuestos únicos y nutrientes que son eficaces contra los virus. El hongo shiitake es una fuente de un fármaco clínico llamado lentinan. En Japón, el lentinan está aprobado para su uso en tratamientos contra el cáncer. El tan conocido fármaco y antibiótico penicilina se deriva del hongo *Penicillium*. Restos de hongos fueron descubiertos cerca del cuerpo de un viajero neolítico en los Alpes, se teoriza que en esa época ya se usaban algunos hongos como la yesca, y posiblemente otros con fines medicinales (Michel, 2001).

#### **4.2.3. Beneficios culinarios**

Varios hongos son comestibles. Estos incluyen los hongos de paja, los de cardo, hongos shitake, los champiñones y los llamados "trompetas negras". Champiñones y setas Portobello se utilizan en ensaladas y sopas. Los hongos le agregan sabor a cualquier plato que acompañan. Además, contienen gran cantidad de vitamina D2, cuando se exponen a la luz ultravioleta. La investigación reciente llevada a cabo por la Universidad Estatal de Pennsylvania demostró que una hora de exposición a la luz ultravioleta antes de cosechar los hongos aumenta su contenido de vitamina D2. (Berlanga, Ayala, Montesinos, 2016).

#### **4.3. Industrias químicas**

Los hongos también se utilizan para producir productos químicos industriales, incluyendo los ácidos cítrico, málico y láctico. También se utilizan en la producción de enzimas industriales, tales como lipasa, celulosa y amilasa. La lipasa se utiliza en detergentes. Los hongos también se utilizan como agentes de control biológico de insectos. Las toxinas insecticidas en poca concentración producidas por hongos pueden matar insectos. (Domsch, 1980).

#### **4.4. Origen**

La micología es la ciencia que estudia los hongos, estos organismos fueron durante mucho tiempo considerados miembros del reino de las plantas. Hernández en 2001 propuso

la clasificación de todos los organismos en cinco reinos, distribuyendo a todos los de estructura celular eucariota en cuatro reinos en función de criterios estructurales y nutricionales; los hongos, por su estructura multicelular y su nutrición heterótrofa y absorptiva se agruparon en el reino de los hongos, esta clasificación ha sido ampliamente aceptada (Grondona, 1997).

## **4.5. Morfología**

### **4.5.1. Características físicas macroscópicas**

Las colonias se reconocen fácilmente por su crecimiento rápido y su coloración, blancas - verdes, amarillo – verdosas; las áreas con conidias se presentan con anillos concéntricos, según (Chávez, 2006).

### **4.5.2. Características físicas microscópicas**

Los hongos en su estado vegetativo presentan micelio con septos simples. Las especies son haploides y su pared está compuesta por quitina y glucano. Se reproducen asexualmente por conidios (Infante et. al., 2009).

Los conidióforos son erectos, hialinos, en su mayoría ramificada, no verticilada, los cuales pueden ser solitarios o en grupos. Las fiálides son en forma de botella, únicas o en grupos, hinchadas en la región central pero delgada hacia el ápice; son hialinas y en ángulo recto con respecto a los conidióforos. Los conidios (3 a 5  $\mu\text{m}$ ) son unicelulares subglobosas u oblongas, lisas o equinuladas, hialinas o verdes y ocurren en masas en los ápices de las fiálides y de rápido desarrollo en medios sintéticos (Arango, 1988); y (Barnett, Hunter, 1972).

Las esporas son los más viables de los propágulos empleados en programas de biocontrol. Estos cuerpos especializados se caracterizan por poseer una gruesa pared exterior, constituida por tres capas (endospora, epispora y perispora) que protegen el interior del conidio (protoplasto). La ventaja del conidio de poseer una pared celular gruesa es la posibilidad de aislarlo de su medio natural y que sobreviva a condiciones adversas, manteniéndolo en dormancia hasta que las condiciones sean propicias para la germinación (Álvarez y Sivilay, 2013).

#### **4.6. Hábitats y requerimientos Edafoclimáticas**

Se encuentran en diferentes hábitats y suelos, la presencia de varias especies difiere entre hábitat y están influidas por las condiciones ambientales. Se pueden encontrar en el aire, partes aéreas de plantas, pero especialmente en suelos, incluyendo humus forestales y de madera en descomposición se reportan densidades menores a  $1 \times 10^2$  conidios de suelo; sin embargo, se pueden encontrar hasta  $8 \times 10^5$  en suelos orgánicos. Su desarrollo se ve favorecido por la presencia de altas densidades de raíces, las cuales son colonizadas rápidamente por estos microorganismos (Domsch, 1980). Esta capacidad de adaptación a diversas condiciones medioambientales y sustratos les confiere a algunos de estos hongos la posibilidad de ser utilizado en la industria biotecnológica (Chávez, 2006). Se presentan diferencias entre especies del género de acuerdo al tipo de suelo, temperatura y contenido de humedad y no sólo se encuentra una sola especie.

En un estudio de caracterización fisiológica de *Trichoderma* sp realizado por Rodríguez y Arcia en 1993., indicaron que las temperaturas óptimas para el crecimiento fueron de 25 a 30°C. Pero hay otras especies que pueden llegar a tolerar hasta los 41°C como lo son la *T. pseudokoningii* y *T. saturnisporum*.

El pH es importante para manipular tanto el crecimiento, como la esporulación y la mayor longevidad se obtiene en un medio con pH de 6.0 y permanecen viables las esporas un período de 45 días en almacén. Bajo condiciones de campo requiere humedad relativa alta para sobrevivir más tiempo (Michel, 2001).

#### **4.7 Mecanismos de acción**

##### **4.7.1. Mico parasitismo**

Este proceso incluiría el crecimiento del antagonista hacia el patógeno, desarrollándose alrededor de éste o formando estructuras similares a ganchos o apresorio en la superficie del hospedero, que le permitirían, penetrar al interior (del patógeno) y por acción de enzimas líticas (quitinasa y  $\beta$ -1,3 glucanasa) degradar su pared celular.

##### **4.7.2. Competencia**

El desigual comportamiento de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, siempre y cuando la utilización del mismo por uno de los organismos reduzca la cantidad disponible

para los demás. Un factor esencial para que exista competencia es que haya "escasez" de un elemento, si hay exceso no hay competencia. La competencia más común es por nutrientes, oxígeno o espacio (Guillermo, 2016).

#### **4.7.3. Antibiosis**

Se refiere a la producción por parte de un microorganismo de sustancias tóxicas para los microorganismos patógenos, las cuales actúan en bajas concentraciones (menores a 10 ppm.). Estos metabolitos volátiles y no volátiles, son del tipo antibiótico como: viridín, trichodermin, glioviridin, gliotoxin y harzaniolide. De todas estas micotoxinas la más representativa es Trichodermin que actuaría inhibiendo la actividad ribosomal de los patógenos, por lo tanto, su reproducción.

La mayoría de los hongos se reproducen por esporas, diminutas partículas de protoplasma rodeado de pared celular. El champiñón silvestre puede formar doce mil millones de esporas en su cuerpo fructífero; así mismo, el pedo o cuesco de lobo gigante puede producir varios billones.

Las esporas se forman de dos maneras. En el primer proceso, las esporas se originan después de la unión de dos o más núcleos, lo que ocurre dentro de una o de varias células especializadas. Estas esporas, que tienen características diferentes, heredadas de las distintas combinaciones de genes de sus progenitores, suelen germinar en el interior de las hifas. Los cuatro tipos de esporas que se producen de esta manera (zoosporas, zigosporas, ascosporas y basidiosporas) definen los cuatro grupos principales de hongos.

Las zoosporas se forman por la unión de una célula macho y otra hembra; las zigosporas se forman al combinarse dos células sexuales similares entre sí. Las ascosporas, que suelen disponerse en grupos de ocho unidades, están contenidas en unas bolsas llamadas ascas. Las basidiosporas, por su parte, se reúnen en conjuntos de cuatro unidades, dentro de unas estructuras con forma de maza llamadas basidios. El otro proceso más común de producción de esporas implica la transformación de las hifas en numerosos segmentos cortos o en estructuras más complicadas de varios tipos. Este proceso sucede sin la unión previa de dos núcleos.

Los principales tipos de esporas reproductivas formadas así son: oídios, conidios y esporangiosporas. Estas últimas se originan en el interior de unos receptáculos, parecidos a

vesículas, llamados esporangios. La mayoría de los hongos producen esporas sexuales y asexuales (Guillermo, 2016).

#### **4.8. Nutrición**

En cuanto al tipo de nutrición, estos organismos desprovistos de clorofila e incapaces de sintetizar los glucósidos que necesitan para vivir, han desarrollado los tres sistemas de vida:

- ❖ Los saprobios que pueden descomponer residuos orgánicos para alimentarse. Este es el caso de los hongos comúnmente hallados sobre troncos muertos, como los pleurotos u hongo ostra, e incluso el más conocido "champiñon"
- ❖ Otros son parásitos y extraen las sustancias orgánicas que necesitan de un hospedador al que debilitan y a la larga lo matan
- ❖ El tercer modo de vida es de los hongos simbióticos, que extraen las sustancias orgánicas de un hospedador, pero que contrapartida le procuran cierto número de ventajas (Guillermo, 2016).

#### **4.9. Clasificación de hongos**

##### **4.9.1 Basidiomicetos**

Célula especial, característica de los hongos basidiomicetes, en la que se engendran los núcleos de las basidiósporas, que a su vez se forman en el exterior de éste y sostenidas por los esterigmas. Es homólogo al asco en cuanto concierne a la célula madre y a los procesos citológicos que en ella ocurren. Da esporas exógenas, en tanto que el asco las da endógenas. En la nomenclatura de Steiner, dicese de la célula que produce picnoconidios, para distinguirla del esterigma, que es un simple apéndice conidiófero. Compara endobasidio y exobasidio.

##### **4.9.2. Ascomicetos**

Son el grupo de hongos más numeroso, y abarca unas 30.000 especies. Se trata de hongos saprófitos que pueden vivir en numerosos sustratos, incluso bajo tierra, como es el caso de las trufas. En este grupo también se incluyen hongos parásitos de gran importancia

económica, responsables de gran cantidad de plagas. Además, los hongos ascomicetos también tienen importancia económica ya que se usan para la fermentación del pan, vino y cerveza y otros son comestibles como las trufas y las colmenillas (Guillermo, 2016).

#### **4.10. Hongos**

##### **4.10.1 Penicillium**

Es un hongo filamentoso productor de las penicilinas, un grupo de antibióticos empleados en el tratamiento de infecciones bacterianas. *Penicillium* es un amplio género de hongos, que se encuentran habitualmente en los suelos, son de crecimiento rápido por lo que algunos contaminan alimentos y frutas.

##### **4.10.2. Marneffeii**

Es el único patógeno para el hombre y animales, además es la única especie de este género identificada como dimórfica, la cual produce una micosis que afecta al sistema retículo endotelial.

##### **4.10.3. Rhizopus sp**

Es un hongo filamentoso cosmopolita de suelo, frutas y verduras en descomposición, excrementos de animales, y pan viejo. Las especies de *Rhizopus* son contaminantes comunes, pero son causales de infecciones oportunistas en los humanos. Algunas especies son patógenas de las plantas. Las especies más frecuentes son *Rhizopus oryzae*, *R. rizopodimorfis*, *R. stolonifer*, *R. microsporas* y *R. nigricans* (Guillermo, 2016).

## **V. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1. Ubicación del estudio**

El estudio se realizó en el laboratorio de Hongos Entomopatógenos, en el Centro de Investigación y Reproducción de Controladores Biológicos (CIRB) de la Escuela de Ciencias Agrarias y Veterinaria (ECAV), UNAN-León, ubicado 1½ Km al sureste de la ciudad de León, carretera hacia La Ceiba. Presentando el laboratorio condiciones controladas de 27 °C y humedad relativa promedio de 75% la cual presenta las condiciones favorables para el desarrollo de los microorganismos.

### **5.2. Tipo de investigación**

Es una investigación descriptiva, dado que las muestras fueron tomadas en determinado lapso de tiempo. Se observó un fenómeno y se describió el comportamiento de las muestras colectadas en campo. Así como también el crecimiento y características de los hongos en medio de cultivo PDA (Papa, Dextrosa, Agar).

Las muestras fueron tomadas de excretas de ganado bovino de los municipios de Nagarote (3 fincas) y del departamento de León, (2 fincas), la temperatura promedio eran de 28 a 30<sup>0</sup> c, una altura de 98.42 msnm, el suelo es franco arenoso con una pendiente del 3%, en esta zona es predominante el clima tropical seco.

### **5.3. La investigación consta de dos momentos**

#### **5.3.1. Colecta de muestra en campo**

- a) Material seco, excretas de ganado bovino en diferentes puntos de los corrales.
- b) Materia fresca, excretas extraídas desde el intestino del bovino

#### **5.3.2 Montaje del aislamiento de los hongos en laboratorio de hongo del CIRCB. UNAN, León.**

- a) Desinfección de materiales
- b) Siembra en PDA (medio de cultivo a base de papa)
- c) Aislamiento (pasar de plato a plato)
- d) Siembra en porta y observación al microscopio.

#### **5.4. Obtención de muestras de excreta de ganado bovino del organismo del rumiante.**

Se seleccionaron cuatro fincas del occidente del país, que presentaron problemas en la cría y reproducción de ganado bovino.

Para aislar los hongos se tomaron muestras de estiércol excreta frescas de bovinos las que se extrajeron del intestino del rumiante con la ayuda de un guante y luego fueron depositadas en bolsas de ziploc.

#### **5.5. Obtención de muestras de excretas de ganado bovino de suelo del corral.**

Se tomaron muestras de suelo y estiércol excreta de bovinos de los corrales de diferentes fincas del occidente del país, fincas con producción orgánica y de compost debido a que normalmente tienen un alto contenido en hongos. Es un ambiente óptimo de supervivencia de los hongos en estado saprofito.

Las muestras se tomaron del suelo a una profundidad aproximada de entre 5 y 10 cm, cerca de sitios en los que se observó estiércol seco de rumiantes y materia orgánica. Las muestras se colocarán en bolsas de polietileno, cada una rotulada con el nombre del municipio y la finca del productor y fecha. Posteriormente se transportaron al laboratorio.

#### **5.6. Análisis de las muestras en laboratorio**

##### **5.6.1. Desinfección y esterilización de materiales y medios**

Se procedió primeramente a lavar con detergente y cloro al 3% todos los platos petri, tubos de ensayos, micro pipetas, erlenmeyer. Los platos petri se esterilizaron, previamente fueron envueltos con papelógrafo en paquetes de 10 platos con su respectiva tapa, sellándose con maskintape, para meterlos en bolsas plásticas de 5 libras comúnmente llamadas verduleras, se amarraron para posteriormente ser introducidas a la olla de presión y esterilizadas a 15 libras de presión, 125 °C por 15 minutos.

Para la preparación del PDA se usaron 300gr de papa, luego se puso a hervir en 1.5lt de agua durante 30min, la infusión de la papa se filtró en un embudo al cual se le colocó algodón para evitar residuos de la papa, se dejó enfriar y al litro de infusión se le agregó 20gr de Agar, 20gr de dextrosa y el polvo de 2 cápsula de amoxicilina de 500mg (para evitar el crecimiento de bacterias), todos estos siendo mezclados en el momento de su incorporación a la suspensión, luego se selló con papel aluminio y maskintape para ser introducido a la

autoclave (olla de presión), se esperó que alcanzara una temperatura de 250oF, en un periodo de tiempo de 20 min.

Para la esterilización del agua, se colocaron 10ml de agua en los tubos de ensayo sellados e introducidos en la olla por un periodo de 1 hora.

Se realizó una observación diaria para poder caracterizar las colonias de hongos en crecimientos, así se observó el color, crecimiento, abundante esporulación, luego las muestras fueron agrupadas por las características antes mencionadas para su posterior identificación (Ver figura 5, página 37).

#### **5.6.2. Siembra en PDA**

Se tomó un gramo de las muestras de heces y de suelo, las cuales fueron diluidas en 10 ml de agua en un tubo de ensayo con la ayuda de una pipeta, luego se depositaron cuatro gotas de esta muestra diluida por plato petri, el cual contenía PDA más amoxicilina, las que se sellaron con papel parafilm y rotuladas con la información de campo, número de repetición y fecha de la siembra. Posteriormente se depositaron en la incubadora a 27 ° C y a 75% de humedad por un periodo de 4 días.

#### **5.6.3. Aislamiento de los hongos**

Se realizó a los cuatro días posteriores de la siembra, una vez que se logró ver el crecimiento y alcanzó la maduración fisiológica de los primeros conidias, con ayuda de un asa se tomó una muestra de conidios y se depositaron en un nuevo plato Petri, siguiendo el procedimiento anterior hasta garantizar una cepa pura de cada una de las diferentes colonias que crecieron en los platos iniciales sembrados.

#### **5.6.4. Siembra en porta objeto y observación en microscopio**

De las cepas puras aisladas se sembró en una porta objeto con PDA, para que estas crecieran y poder observar con mayor claridad las estructuras de los hongos, esta observación se realizó con el microscopio, enfocando con el lente de 4X hasta llegar al de 40X donde se pudo observar con claridad la estructura de los hongos.

## **5.7. Identificación de los hongos**

Para la identificación de los hongos, se utilizaron guías taxonómicas especializadas de Barnet-Hunter (1998) y el libro de Castaño-Zapata (2015). Lo cual se tomó en cuenta las características macroscópicas y microscópicas como color, textura y pigmentación de las colonias; cambio de color del medio, morfología de conidias, si eran septados o cenocíticos. Si las hifas eran hialinas y/o si eran septadas o no, también se tomó en cuenta la producción de clamidosporas, así como las características de las estructuras de atrapamiento: dedos adhesivos, anillos simples o constrictores y redes tridimensionales.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSION

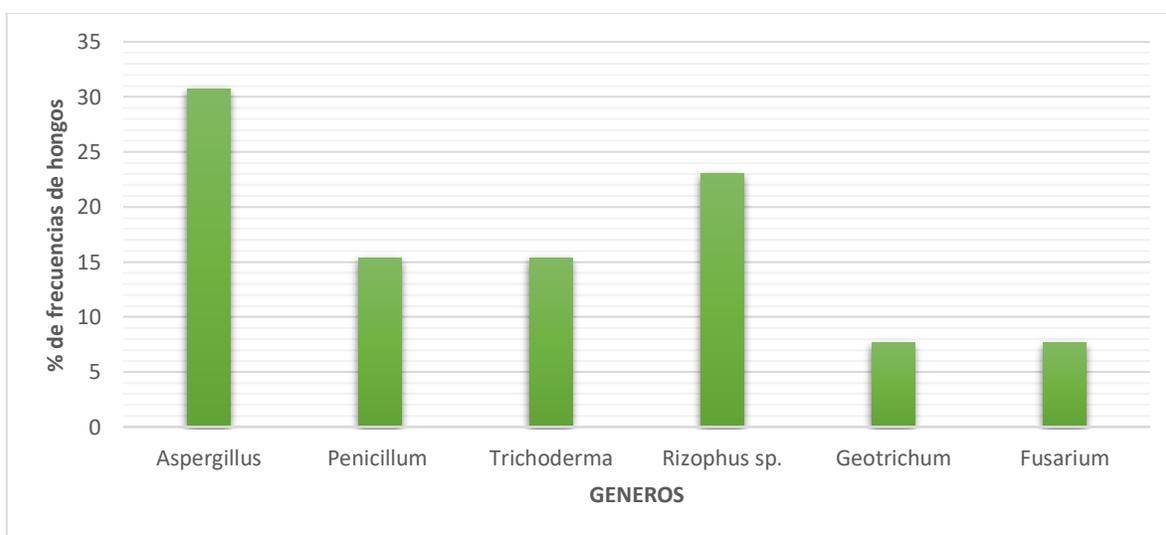
### 1. Tabla 1. Taxonomía de especies de hongos aislados de muestras de excretas de ganado bovino y suelo de corral, 2019.

La tabla. 1 muestra el número de especies de hongos aislados encontrados en las muestras de excretas y suelo de corral, de las cuales se encontraron un total de 13 especies correspondiente a 6 géneros y 6 familias, de las cuales cuatros son *Aspergillus*, tres *Rhizopus*, dos *Penicillium*, dos *Trichoderma*, un *Geotrichum* y un *Fusarium*.

N°	Código	Reyno	Filo	Orden	Familia	Genero	Especie
1	0-1	Fungi	Ascomycota	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Aspergillus</i>	<i>Oryzae</i>
2	0-2	Fungi	Ascomycota	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Aspergillus</i>	<i>Niger</i>
3	0-3	Fungi	Ascomycota	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Penicillium</i>	<i>chrysagenum espora</i>
4	0-4	Fungi	Ascomycota	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Aspergillus</i>	<i>niger van</i>
5	0-5	Fungi	Ascomycota	Hypocreales	Hypocreaceae	<i>Trichoderma</i>	identificada solo a nivel de genero
6	0-6	Fungi	Ascomycota	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Aspergillus</i>	identificada solo a nivel de genero
7	0-7	Fungi	Ascomycota	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Penicillium sp</i>	identificada solo a nivel de genero
8	0-8	Fungi	Zygomycota	Mucorales	Mucoraceae	<i>Rizophus sp.</i>	identificada solo a nivel de genero
9	0-9	Fungi	Ascomycota	Hypocreales	Hypocreaceae	<i>Trichoderma sp.</i>	identificada solo a nivel de genero
10	0-10	Fungi	Zygomycota	Mucorales	Mucoraceae	<i>Rhizopus</i>	<i>Oryzae</i>
11	0-11	Fungi	Zygomycota	Mucorales	Mucoraceae	<i>Rhizopus sp.</i>	identificada solo a nivel de genero
12	L-1	Fungi	Zygomycota	Saccharomycetales	Endomycetaceae	<i>Geotrichum</i>	<i>Candidum</i>
13	L-3	Fungi	Ascomycota	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Fusarium</i>	<i>Proliferatum</i>

Fuente propia. 2019

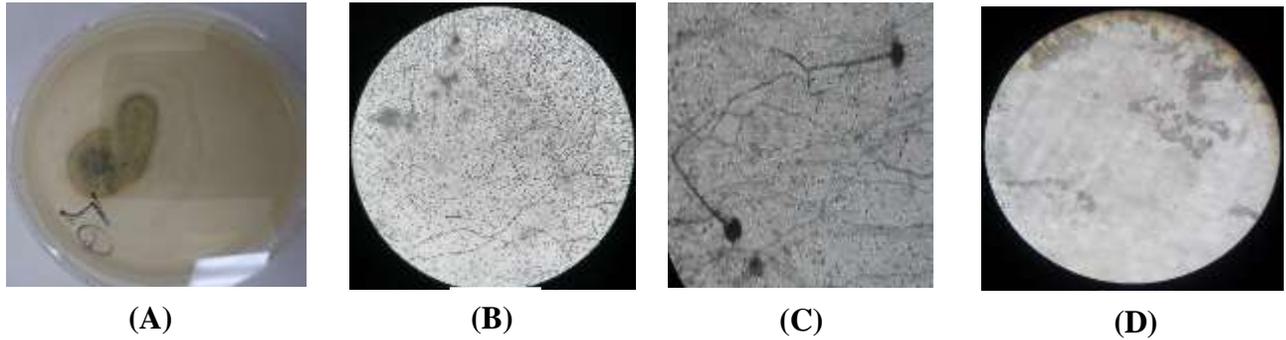
En la figura 1 se observan la presencia de 6 géneros de hongos, siendo los principales género *Aspergillus* con 30.76% son, *Rhizopus* spp. Con 23.07, *Trichoderma* y *Penicillium* con un 15.38% cada uno, 8.25% de *Geotrichum* y *Fusarium* con 7.69 %. En excretas de ganado bovino y suelo de corral por estar expuestas al ambiente hay una diversidad de microorganismos estos resultados son similares a los obtenidos en la investigación de Pacasa, “*et al*”, 2017 en donde hace referencia a la abundancia de hongos filamentosos que se encuentran por la cantidad de materia orgánica. Siendo los géneros de mayor importancia *Aspergillus*, tres *Rhizopus*, dos *Penicillium*, dos *trichodermas*, un *Geotrichum* y un *Fusarium*.



**Figura 1. Géneros hongos aislados de muestras de excretas de ganad bovino y suelo de corral, 2019.**

## Caracterizaciones de las especies de hongos vistas al microscopio a 40x.

En las imágenes, se observan cada muestra con: A) crecimiento de colonia, B) Micelio, C) Conidióforo y D) Conidias, de acuerdo al tipo de especie del hongo que se lograron identificar.



**Imagen 1: *Aspergillus oryzae*. (A) Crecimiento de colonia en plato con medio de cultivo PDA, (B) Crecimiento del micelio, (C) Crecimiento de conidioforo, (D) conidias.**

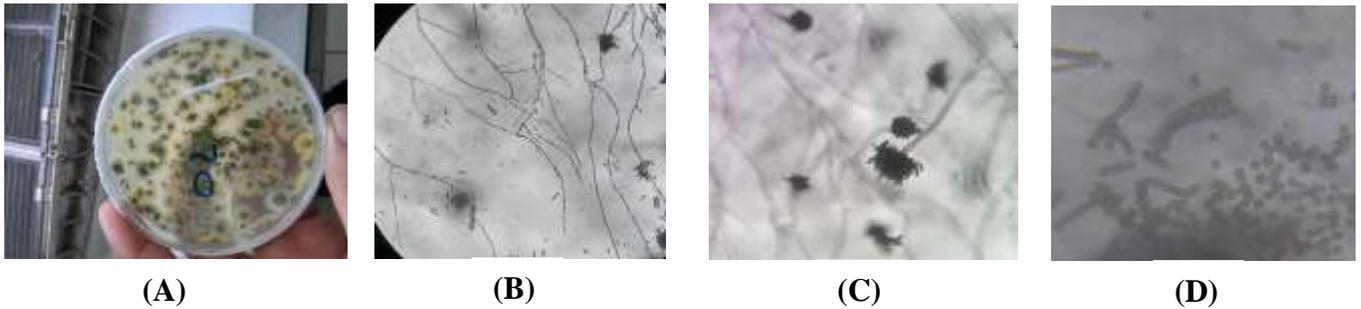
*Aspergillus oryzae*

### Características macroscópicas

Las colonias observadas en el Agar fueron circulares, con diámetros de 7 cm. A los 18 días de incubación a temperatura de 27°C, dichas colonias contenían una capa superficial de micelio blanquecino en etapa joven; y a medida que fue madurando se formaron áreas conidiales maduras de color amarillo-verdoso primeramente y de color olivo claro en su madurez estas características morfológicas coinciden con los resultados del estudio realizado por Carlile, 2001.

### Características microscópicas

Los conidióforos eran incoloros y largos, algunos de ellos tenían septos delgados, toda la parte externa de los conidióforos estaba cubierta de numerosas granulaciones y vesículas globosas o subglobosas, en algunos casos septadas en la base.



**Imagen 2: *Aspergillus niger*. (A) Crecimiento de colonia en plato con medio de cultivo PDA, (B) Crecimiento del micelo, (C) Crecimiento de conidioforo, (D) conidias.**

*Aspergillus niger*

### **Características macroscópicas**

Las colonias mostraron una coloración blanca y verde al inicio, aterciopeladas y de verde oscuro al madurar, con predominio de la corona radial de color amarillo. Según la morfología, la cepa pertenece a la especie *niger*, y puede ser identificada por sus cabezas conidiales de color negro o café oscuro, son globosas, radiadas o divididas y van formando columnas de cadenas de conidios irregulares o bien definidas, similares a como se le presentaron; Pitt y Hockings, 2009.

### **Características microscópicas**

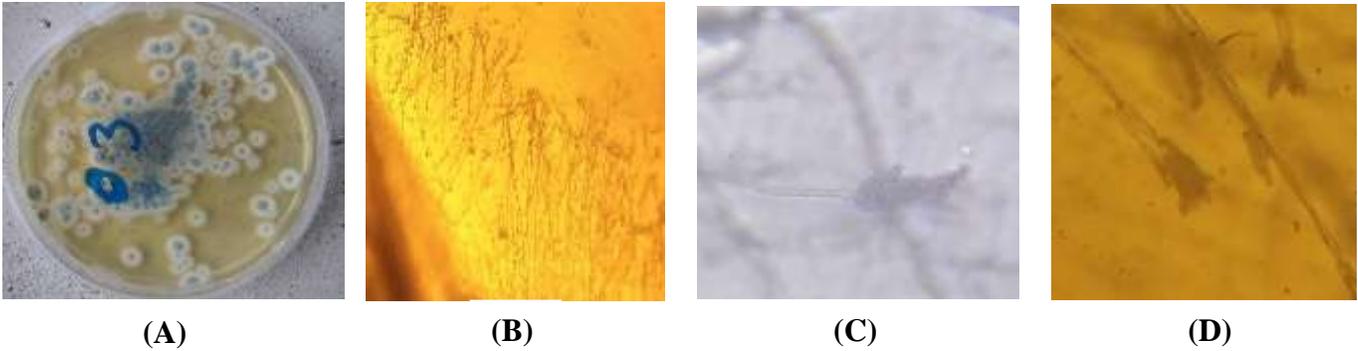
En el extremo del conidióforo se formó un ensanchamiento o vesícula; de esta vesícula parten una cantidad variable de hifas cortas, denominadas fiálides, que portan los conidios. En algunas especies las fiálides no se insertan directamente en la vesícula, sino que se insertan a su vez en otras pequeñas hifas denominadas métulas. La presencia o no de estas estructuras tiene interés taxonómico.

Los conidios no se liberan inmediatamente, sino que permanecen unidos formando largas cadenas. La producción de numerosas cadenas de conidios insertados en la vesícula adquiere una forma de cabellera característica. Cuando los conidios están maduros se separan fácilmente y son dispersados por el aire.

### **Importancia del hongo *Aspergillus*.**

Ha sido empleada, entre otras aplicaciones, para la producción de  $\alpha$ -amilasa, enzima de amplio uso en la industria panadera. En Asia, y en menor medida en países de África y América del Sur, se utiliza desde hace casi 2000 años como fermento natural en la producción de alimentos tradicionales, principalmente el koji, que es una masa elaborada a partir de cereales y leguminosas fermentadas que constituye la base del mismo, también es utilizada para la producción de salsa de soja, así como presenta en su trabajo de investigación (Sánchez, 2009).

*Aspergillus niger* es la especie más utilizada para la producción de ácidos orgánicos, básicamente ácido cítrico y ácido glucónico. El ácido cítrico es uno de los principales aditivos en la industria alimentaria, utilizándose entre otros productos, en refrescos, zumos de frutas, mermeladas, caramelos y vino. En la producción industrial de enzimas, esta especie también ha sido utilizada como productora de catalasa.



**Imagen 3: *Penicillium chrysogenum*. (A) Crecimiento de colonia en plato con medio de cultivo PDA, (B) Crecimiento del micelo, (C) Crecimiento de conidioforo, (D) conidias.**

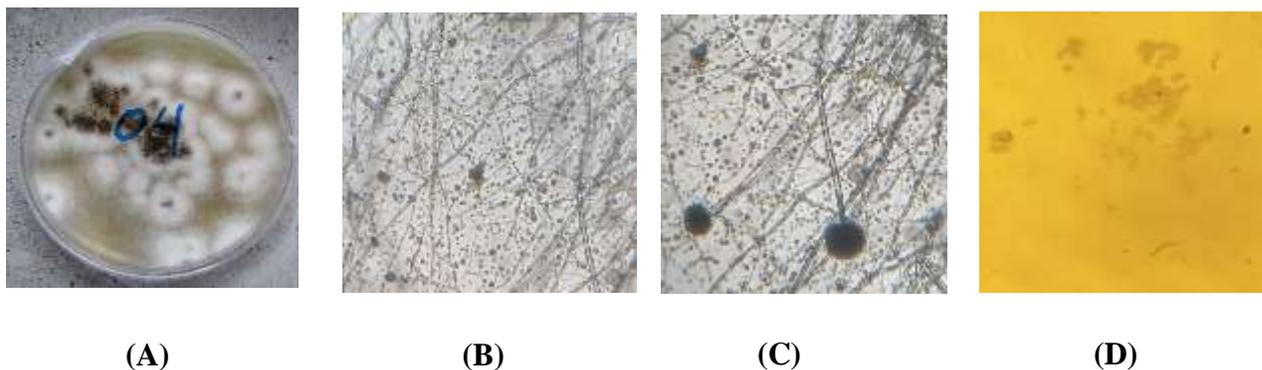
*Penicillium chrysogenum*

### **Características macroscópicas**

Presentó colonias de *Penicillium* que fueron de crecimiento rápido, filamentosas y vellosas, lanosas o de textura algodonosa. Son inicialmente blancas y luego se convierten en verde azuladas, gris verdosas, gris oliva, amarillentas o rosadas con el tiempo. El reverso de la colonia fue de color pálido o amarillento. Características similares que se le presentaron a Ames 2004,

### **Características microscópicas**

Presentó micelios filamentosos, las hifas son septadas, lo que es característica de los ascomicetos. Los conidióforos son verticilados (con ramificaciones abundantes). Estos son delgados y de paredes lisas. Las ramificaciones del conidióforo tienen paredes lisas y fiálides ampuliformes (con forma de botella), y muchas veces con las paredes gruesas. Las conidias son subglobosas hasta olipticas con paredes lisas cuando se observa con el microscópico.



**Imagen 4: *Aspergillus niger* van (A) Crecimiento de colonia en plato con medio de cultivo PDA, (B)Crecimiento del micelo, (C) Crecimiento de conidioforo, (D)conidias**

*Aspergillus niger* van

### **Características macroscópicas**

Se observaron colonias en el PDA con diámetros de 4 a 5 cm en un periodo de 7 días, que consistían en un filtro basal blanco compacto, con una capa densa de conidióforos de color marrón oscuro a negro, cabezas conidiales negras, irradiadas, que tienden a dividirse en columnas sueltas con la edad.

### **Características microscópicas**

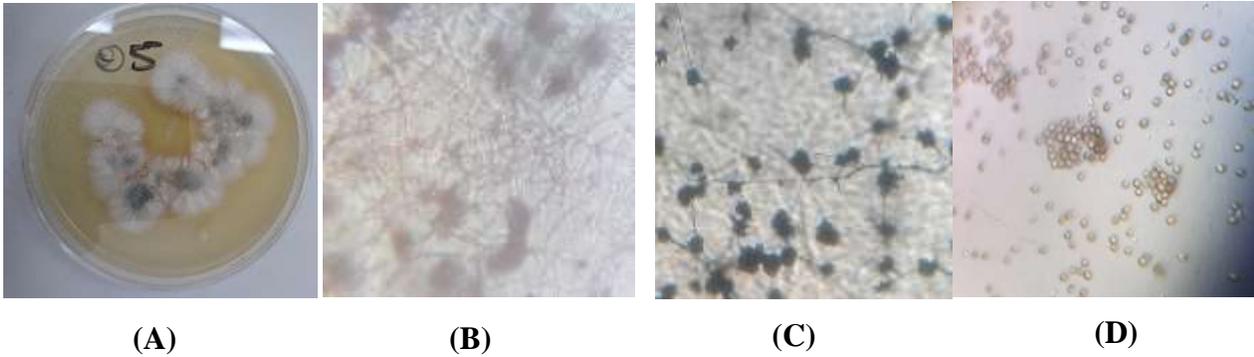
Resultados encontrados sus Conidióforos de paredes lisas, de colores marrones. Vesículas globosas a subglobosas. Fiálides en métulas, 7.0-9.5 x 3-4  $\mu\text{m}$ . Métulas hialinas a marrones, a menudo septadas, 15-25 x 4.5-6.0  $\mu\text{m}$ . Conidias de globosos a subglobosos, de 3.5-5  $\mu\text{m}$  de diámetro, marrones, adornados con verrugas, espinas y crestas. Sánchez, 2009 presento características similares al encontrar en sus muestras conidióforos bien desarrollados con cabezas negras y conidióforos bien estructurados.

### **Propiedades patogénicas**

*Aspergillus niger* van causa moho negro de la cebolla y plantas ornamentales. La infección de plántulas de cebolla por *A. niger* puede volverse sistémica, manifestándose solo cuando las condiciones son propicias. *A. niger* causa una enfermedad (moho negro)

postcosecha común de la cebolla, en la cual se pueden observar los conidios negros entre las escamas del bulbo. El hongo también causa enfermedad en el maní y en la uva. Enfermedad humana y animal *Aspergillus niger* tiene menos probabilidades de causar enfermedad humana que otras especies de *Aspergillus*.

En casos extremadamente raros, los humanos pueden enfermarse, pero esto se debe a una enfermedad pulmonar grave, aspergilosis, que puede ocurrir. La aspergilosis es, en particular, frecuente entre los trabajadores de la horticultura que inhalan el polvo de turba, que puede ser rico en esporas de *Aspergillus*. Se ha encontrado en las momias de las antiguas tumbas egipcias y se puede inhalar cuando son molestadas. *Aspergillus niger* es una de las causas más comunes de otomicosis (infecciones fúngicas del oído), que puede causar dolor, pérdida auditiva temporal y, solo en casos graves, daños en el canal auditivo y la membrana timpánica. Como lo aclaro en su investigación (Doring, et al., 2019).



**Imagen 5: *Trichoderma sp* (A) Crecimiento de colonia en plato con medio de cultivo PDA, (B)Crecimiento del micelo, (C) Crecimiento de conidioforo, (D)conidias.\*( La cepa del hongo no se identifico anivel de genero, pero si anivelde su division.)**

*Trichoderma*

### **Características macroscópicas.**

Estas características morfológicas coinciden con los resultados de estudios realizados por Chávez, 2006. Las colonias se reconocieron fácilmente por su crecimiento rápido y su coloración blancas - verdes, amarillo-verdosas; las áreas con conidios se presentaron con anillos concéntricos,

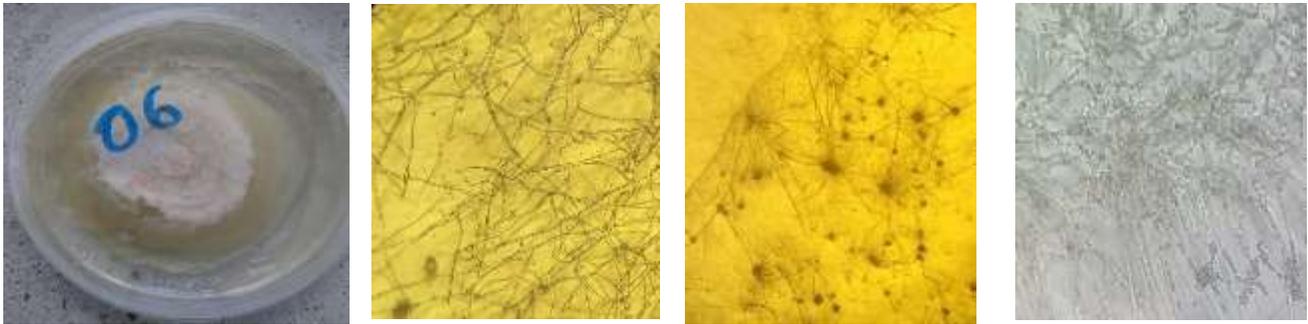
El revés de las colonias fue usualmente incoloro, amarillo, amarillo-verde, y muchas especies producen grandes cantidades de clamidosporas en cultivos

### **Características microscópicas.**

El género *Trichoderma* en su estado vegetativo presento micelio con septos simples. Presento conidióforo en forma de un racimo de uvas muy abundantes y con abundancia de formación de conidios. Las especies son haploides y su pared está compuesta por quitina y glucano. Se reproducen asexualmente por conidios a como presento en sus resultados Martínez, Infante, 2013.

Los conidióforos son erectos, hialinos, en su mayoría ramificada, no verticilada, los cuales pueden ser solitarios o en grupos. Las fiálides son en forma de botella, únicas o en grupos, hinchadas en la región central pero delgada hacia el ápice; son hialinas y en ángulo recto con respecto a los conidióforos. Los conidios (3 a 5  $\mu\text{m}$ ) son unicelulares subglobosas

u oblongas, lisas o equinuladas, hialinas o verdes y ocurren en masas en los ápices de las fiálides y de rápido desarrollo en medios sintéticos (Las esporas son los más viables de los propágulos empleados en programas de biocontrol. Estos cuerpos especializados se caracterizan por poseer una gruesa pared exterior, constituida por tres capas (endospora, epispora y perispora) que protegen el interior del conidio (protoplasto). La ventaja del conidio de poseer una pared celular gruesa es la posibilidad de aislarlo de su medio natural y que sobreviva a condiciones adversas, manteniéndolo en dormancia hasta que las condiciones sean propicias para la germinación a como presento en sus resultados Álvarez y Sivilay, 2013.



(A)

(B)

(C)

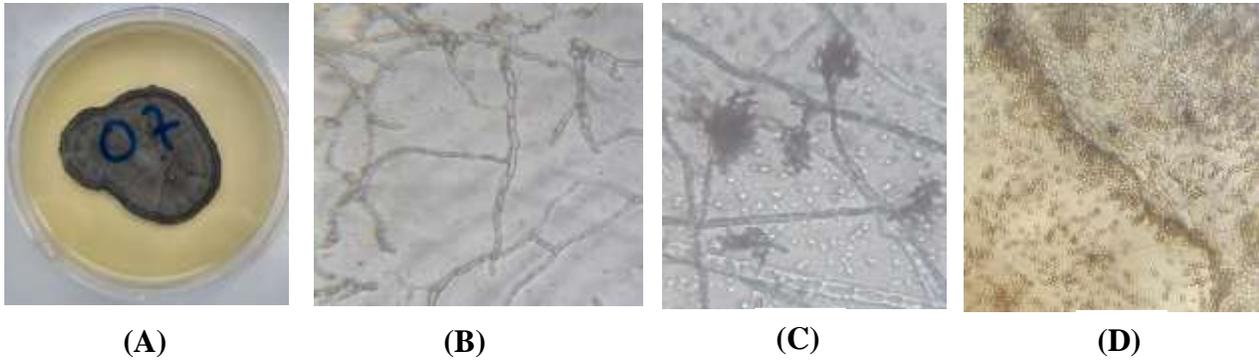
(D)

**Imagen 6: *Aspergillus* (A) Crecimiento de colonia en plato con medio de cultivo PDA, (B) Crecimiento del micelio, (C) Crecimiento de conidioforo, (D) conidias.**

*Aspergillus*

**Características macroscópicas:**

Las colonias en crecimiento fueron de color negro o marrón muy oscuro; reverso incoloro a amarillo; colonia densa, granular a flocosa. En Agar las colonias fueron más compactas. Colonias en MEA de color negro; micelio blanco apenas visible; reverso incoloro; textura granular a flocosa. Cabezas conidiales biseriadas y radiales; estipes de paredes gruesas, lisos, hialinos, amarillentos o de color marrón pálido, en especial cerca de la vesícula, las vesículas casi esféricas; métulas ocupando toda la superficie de la vesícula. Conidios globosos de color marrón, normalmente muy rugosos con crestas irregulares y protuberancias.



**Imagen 7:** *Penicillium sp* (A) Crecimiento de colonia en plato con medio de cultivo PDA, (B) Crecimiento del micelo, (C) Crecimiento de conidioforo, (D) conidias.

*Penicillium sp*

### **Características macroscópicas**

Presentó colonias de rápido crecimiento con aspectos lanoso, filamentosas, vellosas y de textura algodonoso. En principio fueron blancas y luego se tornaron azuladas. El reverso de la colonia fue pálido o amarillento

### **Características microscópicas**

La especie *de penicillium*, poseen hifas septadas hialinas 1.5-5  $\mu\text{m}$  de diámetro), con conidióforos simples o ramificadas, metulas, fiálides y conidios.

Las metulas son ramificaciones secundarias que se forman sobre los conidióforos. Las metulas acarrear fiálides en forma de frascos. La organización de las fiálides en la punta de los conidióforos es típica (llamadas penicilli o pincel). Las conidias son redondas, unicelulares y observadas como cadenas no ramificadas en el extremo de las fialides. Tal como lo demostró Sánchez y Hernández, (2009) en estudios de crecimientos de hongos de distintas especies.

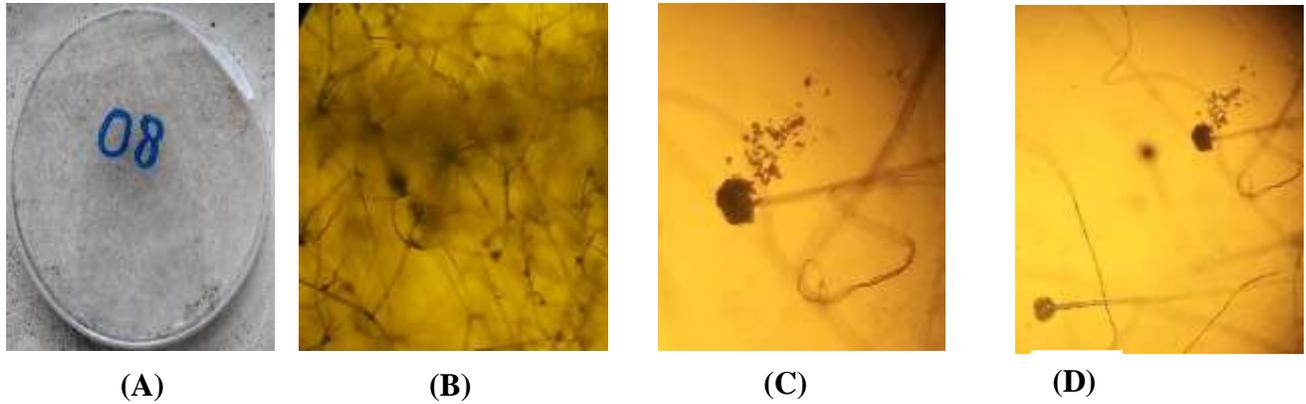
### **Propiedades patogénicas**

Diversas especies de *Penicillium* son agentes causales del deterioro de los alimentos particularmente cuando las condiciones son húmedas y cálidas. Las colonias se desarrollan

sobre estos y las enzimas que producen los descomponen rápidamente. Generalmente las colonias tienen colores azulescos y algunas veces verdosos.

También es frecuente la contaminación de edificaciones por las esporas de *Penicillium* y otros géneros. Los ambientes cerrados y húmedos favorecen el desarrollo del hongo. Hay personas que son muy sensibles a las esporas, lo que les causa diversas patologías respiratorias y alergias.

*Penicillium marneffe* es causante de la peniciliosis, una enfermedad endémica del sudeste asiático. Esta afecta sólo a pacientes inmunodeprimidos, principalmente aquellos con VIH. Las conidias infectan al hospedero por inhalación y luego se desarrollan intracelularmente, afectando el funcionamiento de algunos órganos. Algunas especies son capaces de producir antibióticos naturales. Uno de estos es la penicilina que se obtiene principalmente de *P. chrysogenum*. La penicilina fue el primer antibiótico utilizado en la medicina.



**Imagen 8: *Rhizopus sp* (A) Crecimiento de colonia en plato con medio de cultivo PDA, (B)Crecimiento del micelo, (C) Crecimiento de conidioforo, (D) conidias.**

*Rhizopus sp*

### **Características macroscópicas**

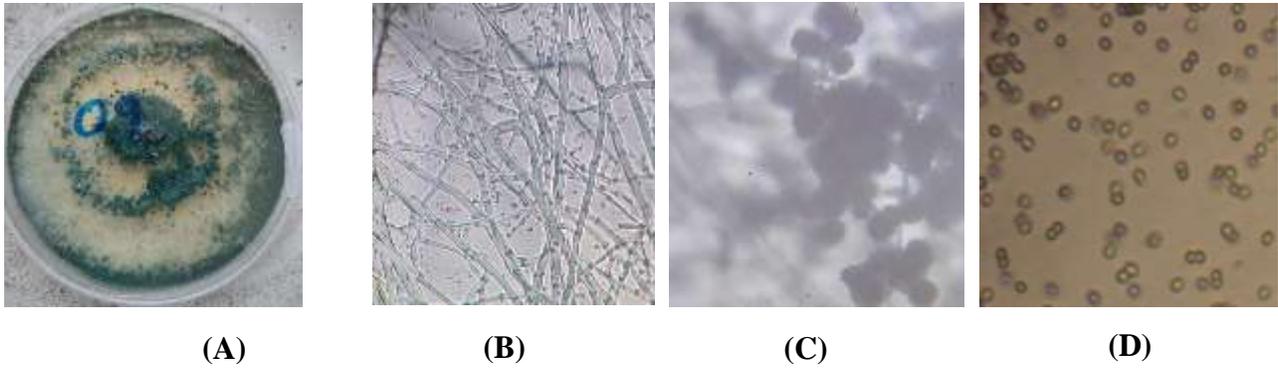
Fueron colonias de rápido crecimiento, blancas, alcanzan la madurez a los cuatro días, adquieren una tonalidad gris oscuras (la tonalidad se debe al desarrollo de las estructuras de reproducción asexual las Endosporas), Son vellosas algodonosas y secas.

### **Características microscópicas**

Presentaron un micelio macro sifonado, hialino, cenocítico en los puntos donde se conectan los esporangiosforos y los estolones que presentan, se forman rizoides (esta es una diferencia del género *Absidia* en la cual se desarrollan intermodales). Los esporangiosforos son largos y no se ramifican (a diferencia de *Mucor sp*), y culminan en esporangios de gran tamaño con esporangiosporos hialianos o ligeramente cafés. Estas características se Observaron y coinciden con lo explicado por el libro de Castaño, J, 2015.

### **Propiedades patogénicas**

Es un zigomiceto, comúnmente encontrado en el polvo de las casas, suelos, frutas, nueces y semillas, también se presentan en alimentos en proceso de descomposición. La exposición prolongada a las esporas, ha provocado reportes de problemas respiratorios (principalmente en personas inmuno comprometidas).



**Imagen 9: *Trichoderma sp* (A) Crecimiento de colonia en plato con medio de cultivo PDA, (B)Crecimiento del micelo, (C) Crecimiento de conidioforo,(D) conidias.**

*Trichoderma sp*

### **Características macroscópicas**

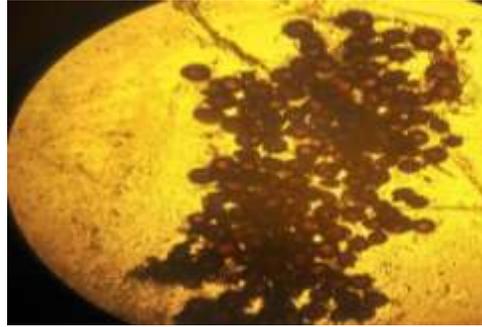
Se observó un crecimiento abundante con un cubrimiento total del medio de cultivo en cuatro días. Con coloración verde y en forma de un caracol. Tal como lo demuestra Larone, D, 2011 en estudios acerca del ciclo biológico de estos hongos.

### **Características microscópicas.**

Presentó hifas hialinas tabicadas y de micelio ramificado, fiálides en forma de botella, hialinas, conidios ovoides, hialinos. Resultados similares son consignados por Barnett hunter, 1972 quien señalo que las hifas del hongo *Trichoderma* son los más fácil de caracterizar debido a que se encuentran muchos estudios y programas que producen este microorganismo.



(A)



(B)

**Imagen 10: *Rhizopus oryzae* (A) Crecimiento de colonia en plato con medio de cultivo PDA, (B) Crecimiento de conidioforo,**

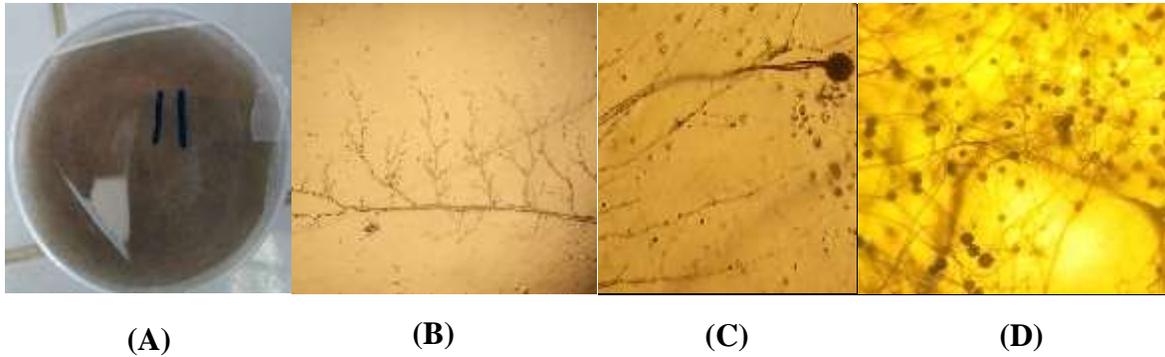
*Rhizopus oryzae*

### **Características macroscópicas**

A los cuatro días de incubación, se observó que las colonias en medio PDA cubrieron toda la superficie de la caja con micelio aéreo denso y algodonoso, presentaron coloración blanquizca a gris oscuro.

### **Características microscópicas**

Las características morfológicas concuerdan con la especie *oryzae*, las cuales presentan esporangiosforos delgados erectos, esporangios globosos de paredes delgadas, una columela prominente y esporangios esféricos negros. A como presento en sus resultados Pitt y Hocking, 2009.



**Imagen 11: *Rhizopus sp* (A) Crecimiento de colonia en plato con medio de cultivo PDA, (B) Crecimiento del micelo, (C) Crecimiento de conidioforo, (D) conidias.**

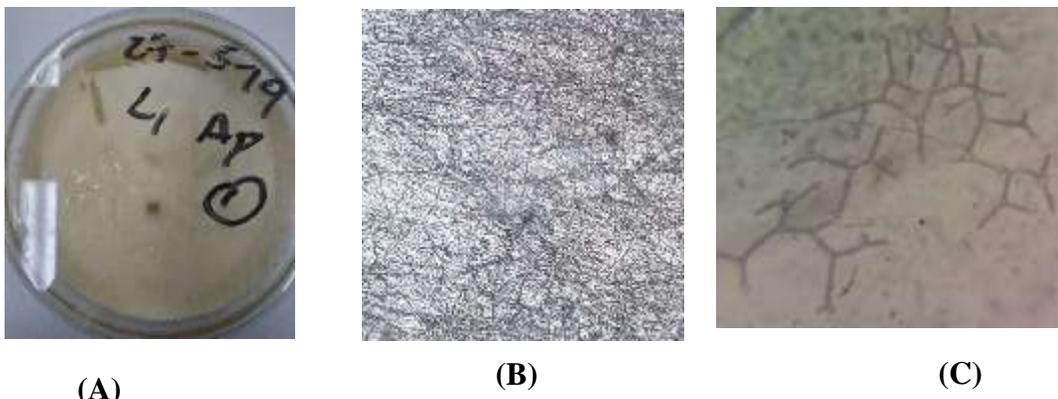
*Rhizopus sp*

### **Características macroscópicas**

A los cuatro días de incubación, se observó que las colonias en medio PDA cubrieron toda la superficie de la caja con micelio aéreo denso y algodonoso, presentaron coloración blanquizca con puntos café.

### **Características microscópicas**

Las características morfológicas concuerdan con la especie *oryzae*, las cuales presentan esporangiosforos delgados erectos, esporangios globosos de paredes delgadas, una columela prominente y esporangios esféricos negros. Igualmente, plantío en sus resultados Pitt y Hocking, 2009, al presentar grandes cantidades de esporangiosforos delgados y globosos de paredes muy delgadas.



**Imagen 12 L1: *Geotrichum candidum* (A) Crecimiento de colonia en plato con medio de cultivo PDA, (B) Crecimiento del micelo, (C) conidias.**

*Geotrichum candidum*

### **Características macroscópicas**

Las colonias fueron de rápido crecimiento cubriendo así todo el medio de color blanquecino seco pulverulentas.

### **Características microscópicas**

Se observaron hifas las cuales se segmentan en artrosporas verdaderas gruesas, son hialinos, unicelulares o en cadenas, y tenían forma rectangular estos fueron consistentes con los resultados obtenidos por; Pitt y Hocking, 2009.

### **Propiedades patogénicas**

Es un hongo o moho que puede actuar como patógeno de las plantas causando pudrición acida de melocotón, tomate, zanahoria y limón.

### **Usos en la industria láctea**

Es también ampliamente utilizada en la producción de muchos productos lácteos incluyendo muchos naturales quesos de corteza como Camembert y otros quesos cortezas Enmohecida, Saint-Nectaire, Tomme de Savoie y muchos quesos elaborados de ese estilo.



(A)



(B)



(C)

**Imagen 13 L2: *Fusarium proliferatum* (A) Crecimiento de colonia en plato con medio de cultivo PDA, (B) Crecimiento del micelo, (C) Crecimiento de conidioforo.**

*Fusarium proliferatum*

### **Características macroscópicas**

Las colonias fueron de rápido crecimiento donde se pudo observar una coloración rosada violeta seco sólido.

### **Características microscópicas**

En las características de este hongo no existen estudios de variabilidad de sus características morfológicas microscópica de sus conidias debido a la gran dificultad de caracterizar dichos ensayos experimentales. El análisis automatizado de las imágenes del libro de Castaño-Zapata, J, 2015, me permitió saber algunos parámetros cromáticos que me permitieron caracterizar los aislados fúngicos de una forma automática y rutinaria.

### **Propiedades patogénicas**

*Fusarium proliferatum* es un hongo polífago, como lo ha clara Desjardins, (2006). En su investigación de las toxinas que contiene este hongo. Ya que es un Patógeno que puede afectar a cultivos de diversas plantas de interés agroalimentario. Además de su patogenicidad, este hongo destaca por su capacidad para producir micotoxinas que pueden acumularse en los productos cosechados convirtiéndose en una potencial fuente de riesgo para la salud humana debido a su carácter carcinógeno.



## VII. CONCLUSIONES

Las muestras de suelo extraídas de los distintos potreros estudiados, en 20 muestras se encontró presencia de los géneros *Aspergillus*, *Penicillum*, *Rizophus*, en las cuales se encontraron 4 especies de *Aspergillus*, 3 especies de *Rizophus* siendo todas estas de las zonas del municipio de Nagarote y 2 *Penicillum*, 2 especies de *trichoderma*, un *fusarium* al igual que un *Geotrichum* del departamento de León, identificadas por medio de conidioforo, micelio y conidias.

## VIII. RECOMENDACIONES

- Producir y aplicar en las áreas de producción estas especies de *Trichoderma* nativas, que fueron identificadas. Ya que generalmente el *Trichoderma sp* es utilizado como uso potencial de controlador biológico.
- Continuar estudios afines sobre diagnóstico y comportamiento de estos aislados de hongos fúngicos en pruebas en animales y en cultivos agrícolas.

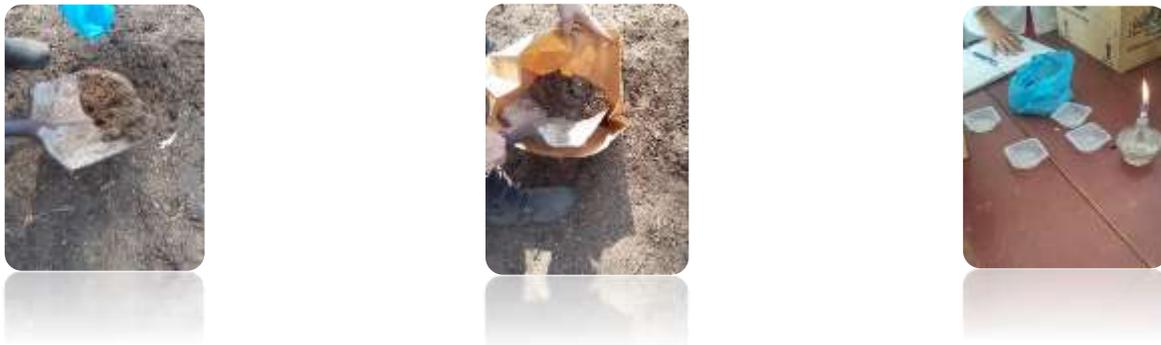
## IX. BIBLIOGRAFÍAS

1. Ait-Lahsen, H., Soler, A., Rey, M.J., de la Cruz, J., Monte, E., and Llobell, A. 2001. An antifungal Exo- $\alpha$ -1,3- glucanase (AGN13.1) from the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. Applied and Environmental Microbiology 67:5833-5839.
2. Álvarez, Sivilay. 2013. Producción artesanal de *Trichoderma*. Tecnologías agroecológicas para la agricultura familiar. En línea. Consultado el 19 de mayo 2017. Disponible en: <http://www.cedaf.fca.unju.edu.ar/assets/manual-de-trichoderma-2013--sivila-alvarez.pdf>
3. Ames, Cañedo. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. PDF. En línea. Consultado el 24 de agosto 2017. Disponible en: <http://cipotato.org/wp-content/uploads/2014/09/AN65216.pdf>
4. Arango, M., Ordoñez, N., Castellada, E., y Restrepo, a., 1988. Manual hongos contaminantes del laboratorio. Instituto nacional de salud. Corporación para la investigación biológica. 127. pp.
5. BenJannet, 2001. Antifeedant activity of plant extracts and of new natural diglyceride compounds isolated from *Ajuga pseudoiva* leaves against *Spodoptera littoralis* larvae. Ind. Crop. Prod. 4: 213-222.
6. Barnett, H. y Hunter, B. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Third edition burgerss publishing company. 241 pp.
7. Berlanga-Padilla A.M., M.A. AYALA-ZERMEÑO, R. Montesinos-Matias &, J.C. Rodriguez.2016.Manual de Exploracion para la Colesta de Hongos Entomopatogenos. Centro Nacional de Referencia de Control Biologico.Direccion General Tecomán, Colima, México. Pp. 54. ISBN: ENTRAMITE
8. Castaño-Zapata, J. (2015). Principios básicos de hongos fitopatógenos. . Universidad de Caldas. Editorial Universidad de Caldas. 360 p.
9. Carlile, M. J; Watkinson, S. C. y Gooday, G. W. 2001. The Fungi. Academic Press. 588 pp.

10. Chávez. 2006. Producción de *Trichoderma sp.* y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo (*Dendranthema grandiflora*). (En línea). Bogotá. D.C. 2006.
11. Doring M., Bridge, S., Sanchez, B., Hubka, Z., Klessen, C. - Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Stud Mycol.* 2014 78: 141-173.
12. Domsch, K., Gams, W. and Traute- Heide, a. 1980. *Compendium of soil fungi*. Vol. 1. academic press. London, U.K. 430pp.
13. Guillermo, N. (2016) Hongos. Recuperado de <https://academia.edu>. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. PDF. En línea, vol. 1. pp. 13 -26.
14. GRONDONA, I., HERMOSA, R., TEJADA, M., GOMIS, M., MATEOS, P., BRIDGE, P., MONTE, E. and GARCIA- ACHA, I., 1997. PHYSIOLOGICAL AND BIOCHEMICAL Characterization of *Trichoderma harzianum*, a biological control agent against soilborne fungal plant pathogens. *Applied and environmental microbiology*. Vol 63, vol. 2. pp. 43 -46.
15. Hernández, M., Grondona, E., Iturriaga, E., Miguez, J., Castro, C., Monte, E., Y Garcia..2011. Caracterización molecular y agronómica de aislados de *Trichoderma sp* nativos del noreste de México. En línea. Consultado el 23 de noviembre 2019. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/28009/28259>
16. Harman, g., howell, c., viterbo, a., chet, i. And lorito, m. 2014. *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature reviews* vol. 2. P 23-56.
17. Infante, Danay, Martínez, B Y González, Noyma., 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Rev. Protección Veg.* Vol. 24. No. 1. 2009. En línea. Consultado el 22 de noviembre 2017. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522009000100002](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002)
18. Larone, D. (2011) *Medically important fungi: a guide to identification*, capítulo termally monomorphic moulds, asm press: washington, dc. Pag 175-176, 485p.
19. Martínez, Infante y Reyes, 2013. *Trichoderma*. Y su función en el control de plagas en los cultivos (En línea) Scielo. La Habana, Cuba. Consultado 23 de mayo 2016. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1010-27522013000100001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522013000100001).

20. Michel, 2001. Cepas nativas de *Trichoderma sp* (Eufungi: hipocreas), su antibiosis y micoparasitismo sobre *Fusarium subglutinans* y *F. oxysporum* (Eufungi: hifales). (En línea). Colima, México, 2001. Consultado 25 abril 2016. Disponible en: LINIA.
21. PACASA, Q., LOZA, M., GREGORIA, M., FLORES, B., LAUDES, V., SERRANOS, 2017. Filamentosos de suelo en un kiphak, phani agroecosistemas, choquenaria-viacha municipal. Consultado el 22 de noviembre del 2019.
22. PITT J., HOCKING A.D. 2009. Fungi and food spoilage. New York, USA. Springer. 519 p. Consultado el 10 de marzo de 2015. Disponible en [books.google.co.cr/books](https://books.google.co.cr/books)
23. Sánchez, v., Hernández, F. 2009. Aislamiento y caracterización de *Trichoderma sp.* de diferentes ecosistemas en la región de Papaloapan. (En línea). Oaxaca, México. Consultado 19 de mayo 2016. Disponible en: [http://www.unpa.edu.mx/investigacion/Proyecto\\_Promep\\_UNPA.pdf](http://www.unpa.edu.mx/investigacion/Proyecto_Promep_UNPA.pdf)
24. Tovar. 2008. Evaluación de la capacidad antagonista “in vivo” de aislamiento de *Trichoderma sp* frente al hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani*. PDF. En línea. Consultado el 19 de mayo 2017. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis98.pdf>

## X. ANEXO



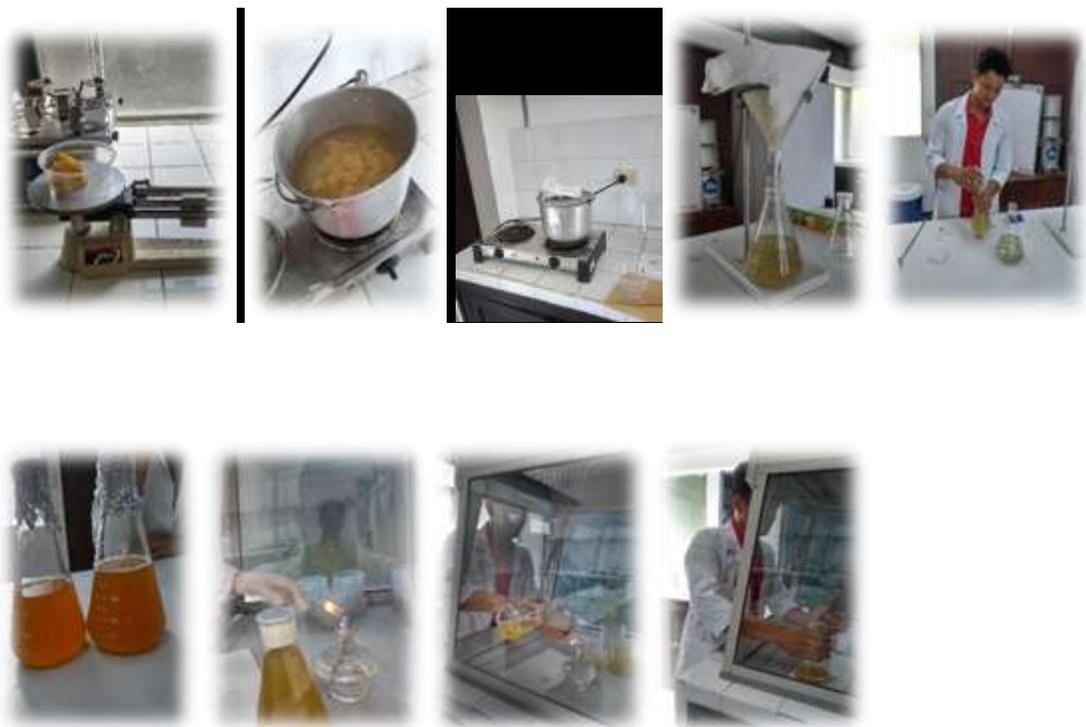
**Fig. 1:** Mestras de excretas colectadas de Nagarote y León.



**Fig. 2:** Lavado de platos petric, secado, sellado con papelografo y colocados en bolsas plasticas para su posterior esterilizacion en la autoclave(olla de presion).



**Fig. 3:** Esterilizacion de agua y medios de cultivos.



**Fig. 4:** Preparacion de infucion de papa, elaboracion del PDA y vertido en platos.



**Fig. 5:** Pesaje de 1 gr se suelo para preparar la soluion madre siembra y encubacion.