

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS DE
MUESTRAS DE SUELO DE LOS PARAMOS DE GUASCA Y CRUZ VERDE**

**EDNA LORENA ARIAS CIFUENTES
PAOLA ANDREA PIÑEROS ESPINOSA**

**TRABAJO DE GRADO
Presentado como requisito parcial
Para optar el título de Microbiólogas Industriales**

MICROBIÓLOGAS INDUSTRIALES

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL
BOGOTA, D.C.
JUNIO DE 2008**

NOTA DE ADVERTENCIA

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará por que no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por que las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

Artículo 23 de la resolución No. 13 de Junio de 1946.

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS DE
MUESTRAS DE SUELO DE LOS PARAMOS DE GUASCA Y CRUZ VERDE**

**EDNA LORENA ARIAS CIFUENTES
PAOLA ANDREA PIÑEROS ESPINOSA**

APROBADO

**Rubén Torrenegra
Químico
Director**

**Gerardo Moreno M.Sc.
Ingeniero Agrónomo
Jurado**

**David Gómez M.Sc.
Microbiólogo
Jurado**

**AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS DE
MUESTRAS DE SUELO DE LOS PARAMOS DE GUASCA Y CRUZ VERDE**

**EDNA LORENA ARIAS CIFUENTES
PAOLA ANDREA PIÑEROS ESPINOSA**

APROBADO

**Ingrid Schuler PhD
Bióloga
Decana Académica**

**Janeth Arias M.Sc., M.Ed
Bacterióloga
Directora de carrera**

DEDICATORIA

A nuestros padres por su apoyo, amor y comprensión,
A nuestros hermanos y amigos por su constante compañía.

AGRADECIMIENTOS

A Conciencias y al Grupo GIBUJ.

Al Doctor Rubén D. Torrenegra, por sus excelentes aportes académicos.

A la Pontificia Universidad Javeriana.

A Angela Pinzón, Joven Investigadora de Química Microbiológica, por su valioso apoyo en el desarrollo de este proyecto.

Al Laboratorio de Química Microbiológica.

TABLA DE CONTENIDO

	TÍTULO	PÁGINA
1.	INTRODUCCIÓN	5
2.	MARCO TEÓRICO	7
2.1	El Páramo	7
2.1.1	Condiciones Ambientales	7
2.1.2	Importancia del Páramo	8
2.1.3	Tipos de Vegetación	8
2.1.4	Los Frailejones	9
2.2	El Suelo	10
2.2.1	Textura y Estructura del suelo	11
2.2.2	El suelo como sistema de tres fases	12
2.2.3	El suelo de los páramos	13
2.3	Generalidades del páramo de Guasca	14
2.3.1	Propiedades físico-químicas del páramo de Guasca	14
2.4	Generalidades del páramo de Cruz Verde	15
2.5	Hongos filamentosos	16
2.5.1	Curva de crecimiento de hongos filamentosos	17
2.5.2	Requerimientos nutricionales de hongos filamentosos	18
2.5.3	Condiciones de crecimiento	19
2.6	Clasificación de los hongos	19
2.6.1	Hongos del suelo	22
2.6.1.1	<i>Aspergillus</i> sp.	22
2.6.1.2	<i>Penicillium</i> sp.	23
2.6.1.3	<i>Acremonium</i> sp.	24

2.6.1.4	<i>Fusarium</i> sp.	25
2.6.1.5	<i>Cladosporium</i> sp.	25
2.6.1.6	<i>Trichoderma</i> sp.	26
2.7	Importancia a nivel industrial y médica de los hongos filamentosos	27
2.8	Mecanismo de resistencia e importancia que tienen los hongos aislados de páramos	28
3.	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	30
4.	JUSTIFICACIÓN	32
5.	OBJETIVOS	33
5.1	Objetivo general	33
5.2	Objetivos específicos	33
6.	METODOLOGÍA	34
6.1	Muestreo de suelo	34
6.1.1	Toma de muestras	34
6.1.2	Equipo para muestreo	36
6.1.3	Procesamiento y almacenamiento de muestras	37
6.2	Determinación de pH y humedad del suelo	38
6.3	Métodos de Aislamiento	38
6.3.1	Cultivo líquido	38
6.3.2	Lavado de suelo	39
6.3.3	Dilución en placa	39
6.3.4	Placas de suelo de Warcup	39
6.3.5	Filtración de partículas	40
6.3.6	Fraccionamiento de la comunidad de hongos del suelo	40
6.4	Identificación de género y posible especie	40
6.4.1	Cultivos monospóricos	40
6.4.2	Observación microscópica	41

6.4.2.1	Técnica de cinta pegante	41
6.4.2.2	Montaje por disección	41
6.4.2.3	Método de microcultivo	41
6.5	Métodos de conservación	42
6.5.1	Agua destilada estéril	42
6.5.2	Suelo estéril	42
6.5.3	Papel filtro	42
6.5.4	Tubo con agar inclinado	42
6.5.5	Criopreservación (Glicerol al 10%)	43
6.5.6	Liofilización	43
7.	EXPERIMENTACIÓN	44
7.1	Ubicación	44
7.1.1	Páramo de Guasca	44
7.1.2	Páramo de Cruz Verde	44
7.2	Inspección de campo	45
7.2.1	Toma de muestras y Selección de área	45
7.2.2	Equipo de muestreo	46
7.2.3	Transporte de muestras	46
7.3	Determinación de pH y Temperatura del suelo	47
7.4	Medios de cultivo	47
7.5	Métodos de aislamiento	48
7.5.1	Técnica de dilución en placa	48
7.5.2	Técnica de lavado de suelo	48
7.5.3	Técnica de siembra directa de suelo	49
7.6	Identificación de género y posible especie	50
7.6.1	Observación microscópica	50
7.6.1.1	Técnica de cinta pegante	50
7.6.1.2	Montaje por disección	50
7.6.2	Empleo de claves taxonómicas	50
7.7	Métodos de conservación	51
7.7.1	Suelo estéril	51

7.7.2	Tubo con agar inclinado	52
7.7.3	Glicerol al 10%	52
7.8	Re siembra periódica en medios frescos	52
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
8.1	Determinación de pH y temperatura	53
8.1.1	Determinación de pH	53
8.1.2	Determinación de temperatura	53
8.2	Métodos de Aislamiento	54
8.2.1	Aislamientos obtenidos según género	54
8.2.2	Géneros aislados en cada método	57
8.2.3	Porcentaje de incidencia de los géneros aislados	59
8.2.4	Análisis de los aislamientos obtenidos según especies	61
8.2.4.1	Especies aisladas	61
8.2.4.2	Porcentaje de incidencia de especies aisladas	67
8.2.5	Comparación de los métodos de aislamiento con relación al número de géneros y especies aisladas	71
8.3	Identificación Taxonómica	72
8.3.1	Hongos Aislados de los Páramos de Guasca y Cruz Verde	73
8.3.1.1	GÉNERO: <i>Alternaria</i> sp.	73
8.3.1.1.1	<i>Alternaria alternata</i>	73
8.3.1.2	GÉNERO: <i>Aspergillus</i> sp.	74
8.3.1.2.1	<i>Aspergillus aureolatus</i>	74
8.3.1.2.2	<i>Aspergillus candidus</i>	75
8.3.1.2.3	<i>Aspergillus conicus</i>	76
8.3.1.2.4	<i>Aspergillus clavatus</i>	77
8.3.1.2.5	<i>Aspergillus flavipes</i>	78
8.3.1.2.6	<i>Aspergillus flavus</i>	79
8.3.1.2.7	<i>Aspergillus fumigatus</i>	80
8.3.1.2.8	<i>Aspergillus humicola</i>	81
8.2.1.2.9	<i>Aspergillus ochraceus</i>	82

8.2.1.2.10	<i>Aspergillus oryzae</i>	83
8.2.1.2.11	<i>Aspergillus janus</i>	84
8.2.1.2.12	<i>Aspergillus sydowii</i>	85
8.2.1.2.13	<i>Aspergillus terreus</i>	86
8.2.1.2.14	<i>Aspergillus terricola</i>	87
8.2.1.2.15	<i>Aspergillus ustus</i>	88
8.2.1.2.16	<i>Aspergillus versicolor</i>	89
8.2.1.2.17	<i>Aspergillus wentii</i>	90
8.2.1.3	GÉNERO: <i>Byssochlamys</i> sp.	91
8.2.1.3.1	<i>Byssochlamys fulva</i>	91
8.2.1.4	GÉNERO: <i>Cladosporium</i> sp.	92
8.2.1.4.1	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	92
8.2.1.5	GÉNERO: <i>Curvularia</i> sp.	93
8.2.1.5.1	<i>Curvularia sativus</i>	93
8.2.1.6	GÉNERO: <i>Eupenicillium</i> sp.	94
8.2.1.6.1	<i>Eupenicillium ornatum</i>	94
8.2.1.7	GÉNERO: <i>Emericella</i> sp.	95
8.2.1.7.1	<i>Emericella nidulans</i>	95
8.2.1.8	GÉNERO: <i>Fusarium</i> sp.	96
8.2.1.8.1	<i>Fusarium oxysporum</i>	96
8.2.1.9	GÉNERO: <i>Microsporum</i> sp.	97
8.2.1.9.1	<i>Microsporum nanum</i>	97
8.2.1.10	GÉNERO: <i>Mucor</i> sp.	98
8.2.1.10.1	<i>Mucor circinelloides</i>	98
8.2.1.11	GÉNERO: <i>Paecilomyces</i> sp.	99
8.2.1.11.1	<i>Paecilomyces ehrlichii</i>	99
8.2.1.11.2	<i>Paecilomyces lilacinus</i>	100
8.2.1.11.3	<i>Paecilomyces variotii</i>	101
8.2.1.12	GÉNERO: <i>Penicillium</i> sp.	102
8.2.1.12.1	<i>Penicillium</i> sp1.	102
8.2.1.12.2	<i>Penicillium</i> sp2.	103
8.2.1.12.3	<i>Penicillium</i> sp3.	104

8.2.1.12.4	<i>Penicillium aculeatum</i>	105
8.2.1.12.5	<i>Penicillium aethiopicum</i>	106
8.2.1.12.6	<i>Penicillium atramentosum</i>	107
8.2.1.12.7	<i>Penicillium baarnense</i>	108
8.2.1.12.8	<i>Penicillium biforme</i>	109
8.2.1.12.9	<i>Penicillium brefeldianum</i>	110
8.2.1.12.10	<i>Penicillium brevicompactum</i>	111
8.2.1.12.11	<i>Penicillium carneum</i>	112
8.2.1.12.12	<i>Penicillium chrysogenum</i>	113
8.2.1.12.13	<i>Penicillium citreovirens</i>	114
8.2.1.12.14	<i>Penicillium citrinum</i>	115
8.2.1.12.15	<i>Penicillium claviforme</i>	116
8.2.1.12.16	<i>Penicillium corylophilum</i>	117
8.2.1.12.17	<i>Penicillium crustosum</i>	118
8.2.1.12.18	<i>Penicillium duclauxii</i>	119
8.2.1.12.19	<i>Penicillium echinulatum</i>	120
8.2.1.12.20	<i>Penicillium egyptiacum</i>	121
8.2.1.12.21	<i>Penicillium ehrlichii</i>	122
8.2.1.12.22	<i>Penicillium expansum</i>	123
8.2.1.12.23	<i>Penicillium frequentans</i>	124
8.2.1.12.24	<i>Penicillium funiculosum</i>	125
8.2.1.12.25	<i>Penicillium herquei</i>	126
8.2.1.12.26	<i>Penicillium hirsutum</i>	127
8.2.1.12.27	<i>Penicillium implicatum</i>	128
8.2.1.12.28	<i>Penicillium islandicum</i>	129
8.2.1.12.29	<i>Penicillium italicum</i>	130
8.2.1.12.30	<i>Penicillium javanicum</i>	131
8.2.1.12.31	<i>Penicillium levitum</i>	132
8.2.1.12.32	<i>Penicillium melinii</i>	133
8.2.1.12.33	<i>Penicillium miczynskii</i>	134
8.2.1.12.34	<i>Penicillium nalgiovense</i>	135
8.2.1.12.35	<i>Penicillium olsonii</i>	136

8.2.1.12.36	<i>Penicillium palitans</i>	137
8.2.1.12.37	<i>Penicillium oxalicum</i>	138
8.2.1.12.38	<i>Penicillium piscarium</i>	139
8.2.1.12.39	<i>Penicillium rugulosum</i>	140
8.2.1.12.40	<i>Penicillium simplicissimum</i>	141
8.2.1.12.41	<i>Penicillium spinulosum</i>	142
8.2.1.12.42	<i>Penicillium stoloniferum</i>	143
8.2.1.12.43	<i>Penicillium striatum</i>	144
8.2.1.12.44	<i>Penicillium terlikowskii</i>	145
8.2.1.12.45	<i>Penicillium verruculosum</i>	146
8.2.1.12.46	<i>Penicillium vinaceum</i>	147
8.2.1.12.47	<i>Penicillium viridicatum</i>	148
8.2.1.13	GÉNERO: <i>Rhizopus</i> sp.	149
8.2.1.13.1	<i>Rhizopus oryzae</i>	149
8.2.1.14	GÉNERO: <i>Sterigmatocystis</i> sp.	150
8.2.1.14.1	<i>Sterigmatocystis versicolor</i>	150
8.2.1.15	GÉNERO: <i>Trichoderma</i> sp.	151
8.2.1.15.1	<i>Trichoderma harzianum</i>	151
9.	CONCLUSIONES	153
10.	RECOMENDACIONES	155

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	TÍTULO	PÁGINA
1	Vegetación característica del páramo dominada por frailejones y pastizales	9
2	Perfil del suelo	11
3	Triangulo de texturas a partir del cual se obtienen los nombres de las clases de las texturas	12
4	<i>Synchytrium endobioticum</i> , perteneciente al <i>Phylum Chytridiomycota</i>	19
5	<i>Mucor</i> sp, perteneciente al <i>Phylum Zygomycota</i>	20
6	<i>Chaetomium</i> sp, perteneciente al <i>Phylum Ascomycota</i>	20
7	<i>Setchelliogaster</i> sp, perteneciente al <i>Phylum Basidiomycota</i>	21
8	Características de <i>Aspergillus fumigatus</i>	23
8a.	Características macroscópicas de <i>Aspergillus fumigatus</i>	23
8b.	Características microscópicas de <i>Aspergillus fumigatus</i>	23
9	Características de <i>Penicillium</i> sp	24
9a.	Características macroscópicas de <i>Penicillium</i> sp	24
9b.	Características microscópicas de <i>Penicillium</i> sp	24
10	Características de <i>Acremonium</i> sp	24
10a.	Características macroscópicas de <i>Acremonium falciforme</i>	24
10b.	Características microscópicas de <i>Acremonium</i> sp	24
11	Características de <i>Fusarium</i> sp	25
11a.	Características macroscópicas de <i>Fusarium</i> sp	25
11b.	Características microscópicas de <i>Fusarium solani</i>	25
12	Características de <i>Cladosporium cladosporioides</i>	26

12a.	Características macroscópicas de <i>Cladosporium cladosporioides</i>	26
12b.	Características microscópicas de <i>Cladosporium cladosporioides</i>	26
13	Características de <i>Trichoderma</i> sp	26
13a.	Características macroscópicas de <i>Trichoderma</i> sp	26
13b.	Características microscópicas de <i>Trichoderma harzianum</i>	26
14	Tipos de posibles de muestreo de un lote	35
15	Equipo de muestreo	36
15a.	Barreno	36
15b.	Extractor de núcleos	36
15c.	Tubo de muestra de suelo	37
15d.	Manija de taladro	37
16	Zona de muestreo	44
16a.	Páramo de Guasca	44
16b.	Páramo de Cruz Verde	44
17	Esquema utilizado para la toma de muestras en los Páramos de Guasca y Cruz Verde	45
18	Herramientas utilizadas en el muestreo (Barreno)	46
19	Transporte de muestras	47
20	Aparato Lavador y suelo procesado	49
21	Siembra de partículas de suelo en Medio PDA con adición de Cloramfenicol (400ppm) 0,05mg/mL	50
22	Porcentaje de Incidencia de los Géneros aislados del Páramo de Cruz Verde	59
23	Porcentaje de Incidencia de los Géneros aislados del Páramo de Guasca	60
24	Porcentaje de incidencia de las especies aisladas en el Páramo Guasca	68
25	Porcentaje de incidencia de las especies aisladas en el Páramo de Cruz Verde	69

26	Relación del número de géneros y especies con respecto al método de aislamiento en el Páramo de Guasca	71
27	Relación del número de géneros y especies con respecto al método de aislamiento en el Páramo de Cruz Verde	72
28	<i>Alternaria alternata.</i>	73
29	<i>Aspergillus aureolatus</i>	74
30	<i>Aspergillus candidus</i>	75
31	<i>Aspergillus conicus</i>	76
32	<i>Aspergillus clavatus.</i>	77
33	<i>Aspergillus flavipes</i>	78
34	<i>Aspergillus flavus</i>	79
35	<i>Aspergillus fumigatus</i>	80
36	<i>Aspergillus humicola</i>	81
37	<i>Aspergillus ochraceus</i>	82
38	<i>Aspergillus oryzae</i>	83
39	<i>Aspergillus janus</i>	84
40	<i>Aspergillus sydowii</i>	85
41	<i>Aspergillus terreus</i>	86
42	<i>Aspergillus terrícola</i>	87
43	<i>Aspergillus ustus</i>	88
44	<i>Aspergillus versicolor</i>	89
45	<i>Aspergillus wentii</i>	90
46	<i>Byssochlamys fulva</i>	91
47	<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	92
48	<i>Curvularia sativus</i>	93
49	<i>Eupenicillium ornatum</i>	94
50	<i>Emericella nidulans</i>	95
51	<i>Fusarium oxysporum</i>	96
52	<i>Microsporum nanum</i>	97
53	<i>Mucor circinelloides</i>	98

54	<i>Paecilomyces ehrlichii</i>	99
55	<i>Paelocymeces lilacinus</i>	100
56	<i>Paecilomyces variotii</i>	101
57	<i>Penicillium</i> sp1	102
58	<i>Penicillium</i> sp2.	103
59	<i>Penicillium</i> sp3.	104
60	<i>Penicillium aculeatum</i>	105
61	<i>Penicillium aethiopicum</i>	106
62	<i>Penicillium atramentosum</i>	107
63	<i>Penicillium baarnense</i>	108
64	<i>Penicillium biforme</i>	109
65	<i>Penicillium brefeldianum</i>	110
66	<i>Penicillium brevicompactum</i>	111
67	<i>Penicillium carneum</i>	112
68	<i>Penicillium chrysogenum</i>	113
69	<i>Penicillium citreovirens</i>	114
70	<i>Penicillium citrinum</i>	115
71	<i>Penicillium claviforme</i>	116
72	<i>Penicillium corylophilum</i>	117
73	<i>Penicillium crustosum</i>	118
74	<i>Penicillium duclauxii</i>	119
75	<i>Penicillium echinulatum</i>	120
76	<i>Penicillium egyptiacum</i>	121
77	<i>Penicillium ehrlichii</i>	122
78	<i>Penicillium expansum</i>	123
79	<i>Penicillium frequentans</i>	124
80	<i>Penicillium funiculosum</i>	125
81	<i>Penicillium herquei</i>	126
82	<i>Penicillium hirsutum</i>	127
83	<i>Penicillium implicatum</i>	128
84	<i>Penicillium islandicum</i>	129
84	<i>Penicillium italicum</i>	130

85	<i>Penicillium javanicum</i>	131
86	<i>Penicillium levitum</i>	132
87	<i>Penicillium melinii</i>	133
88	<i>Penicillium miczynskii</i>	134
89	<i>Penicillium nalgiovense</i>	135
90	<i>Penicillium olsonii</i>	136
91	<i>Penicillium palitans</i>	137
92	<i>Penicillium oxalicum</i>	138
93	<i>Penicillium piscarium</i>	139
94	<i>Penicillium rugulosum</i>	140
95	<i>Penicillium simplicissimum</i>	141
96	<i>Penicillium spinulosum</i>	142
97	<i>Penicillium stoloniferum</i>	143
98	<i>Penicillium striatum</i>	144
99	<i>Penicillium terlikowskii</i>	145
100	<i>Penicillium verruculosum</i>	146
101	<i>Penicillium vinaceum</i>	147
102	<i>Penicillium viridicatum</i>	148
103	<i>Rhizopus oryzae</i>	149
104	<i>Sterigmatocystis versicolor</i>	150
105	<i>Trichoderma harzianum</i>	151

LISTA DE TABLAS

TABLA	TITULO	PÁGINA
1	Fases del suelo	13
2	Promedio pH de los Páramos de Guasca y Cruz Verde	53
3	Temperatura promedio de los Páramos de Guasca y Cruz Verde	54
4	Relación de géneros aislados del páramo de Cruz Verde	55
5	Relación de géneros aislados del páramo de Guasca	56
6	Análisis de métodos según los géneros obtenidos en el páramo de Cruz Verde	58
7	Análisis de métodos según los géneros obtenidos en el páramo de Guasca	58
8	Análisis de especies obtenidas según el método de aislamiento en el Páramo de Guasca	62
9	Análisis de especies obtenidas según el método de aislamiento en el Páramo de Cruz Verde	62
10	Relación de especies aisladas por Método en el Páramo de Guasca	63
11	Relación de especies aisladas por Método en el Páramo de Cruz Verde	65

LISTA DE ANEXOS

ANEXO	TÍTULO
1	Medios de Cultivo
2	Tinción con azul de lactofenol
3	Determinación de pH en los Páramos de Guasca
4	Determinación de pH en los Páramos de Cruz Verde
5	Cepas sin estructuras
6	Relación de cepas sin estructuras aisladas según el método empleado en el Páramo de Guasca
7	Relación de cepas sin estructuras aisladas según el método empleado en el Páramo de Cruz Verde

RESUMEN

En el presente trabajo se aislaron e identificaron hongos filamentosos originarios de los Páramos de Guasca y Cruz Verde específicamente en la zona de frailejones; con el fin de contribuir al conocimiento e investigación científica de la microflora colombiana. Para el aislamiento se utilizaron tres técnicas: Dilución en Placa, Siembra Directa de Suelo y Lavado de Suelo; de los cuales se obtuvieron 129 aislamientos a partir de los cultivos axénicos. Para la identificación del género y posible especie fue necesario la utilización de claves taxonómicas, teniendo en cuenta las características macroscópicas y microscópicas. Para estas últimas, se utilizó el Programa Motoc 2.0 ®.

La población fúngica encontrada pertenece a los siguientes géneros: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Byssochlamys*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Emericella*, *Eupenicillium*, *Fusarium*, *Microsporum*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Sterigmatocystis* y *Trichoderma*; siendo los géneros de mayor incidencia *Aspergillus* y *Penicillium*.

No obstante, en este estudio se obtuvieron tres cepas de *Penicillium* que no pudieron ser identificadas haciendo uso de las claves taxonómicas y adicionalmente, 10 de las cepas aisladas de los dos páramos no presentaban estructuras morfológicas definidas que permitieran su clasificación.

1. INTRODUCCIÓN

Los páramos son ecosistemas de pasturas nativas, que tienen una importancia indiscutible ya que son considerados esponjas de adsorción de los recursos hídricos, garantizan el balance ecológico en las zonas productivas más bajas y son refugio de especies silvestres que pueden tener un gran potencial biotecnológico.

Los estudios realizados sobre microbiología del suelo han aumentado gradualmente en los últimos años debido al rápido avance de la ciencia. En la actualidad los ecosistemas paramunos tienen una gran demanda de explotación gracias a la abundancia de muestras de plantas, animales y microorganismos que poseen, pues estas representan infinidad de posibilidades y nuevas alternativas de utilización en industrias de alimentos, producción de químicos, materiales poliméricos, perfumes y productos farmacéuticos entre ellos las plantas medicinales.

Con el propósito de aprovechar de una manera más racional y sostenible los recursos naturales sin causarles ningún tipo de perturbación, se escogieron zonas delimitadas de dos páramos de la cordillera oriental para contribuir al conocimiento e investigación científica de la microflora colombiana, específicamente para la identificación y aislamiento de hongos filamentosos, ya que son importantes en diversas investigaciones biotecnológicas. Estos microorganismos son ampliamente utilizados debido a que se adaptan fisiológicamente a condiciones más severas que otros microorganismos, soportando concentraciones elevadas de azúcares hasta el 10%, escalas de pH entre 2.0 y 9.0 siendo la óptima 5-6, y temperaturas de 0 a 62°C, siendo la temperatura óptima 28°C.

Así mismo, los páramos se caracterizan por sus condiciones ambientales extremas como la gran influencia biológica y física, suelos ácidos y con alta presión osmótica, aire con menor densidad y humedad relativa, menor presión atmosférica y baja temperatura media con fuertes oscilaciones diurnas. Además se presentan altas temperaturas del suelo y del aire durante la insolación directa, pero con cambios bruscos y fuertes por causa de la nubosidad lo mismo que durante la noche; factores que pueden ocasionar escarchas y nevadas así como recios vientos en determinada época del año.

Por consiguiente, el Grupo de Investigación en Biotransformación de la Universidad Javeriana (GIBUJ), está interesado en el aislamiento e identificación de flora nativa de diferentes páramos Colombianos, para posteriormente llevar a cabo investigaciones que pretenden identificar sustancias producidas por hongos filamentosos nativos de estos ecosistemas, realizando una caracterización bioquímica. Entre los estudios llevados a cabo por GIBUJ está la Biotransformación de Diterpenos obtenidos de Astereaceas por hongos filamentosos nativos, la Evaluación de Ácidos Grasos en especies de *Aspergillus* sp. como criterio taxonómico, la capacidad Biotransformadora de la cepa nativa de *Fusarium oxysporum* sobre el B-D-Glucopiranosil, Actividad antimicrobiana gracias a los metabolitos producidos por *Aspergillus* sp, entre otros trabajos.

El objetivo de este estudio, consiste en aislar e identificar hongos filamentosos edáficos como componentes microbiológicos de los ecosistemas de los páramos de Guasca y Cruz Verde (Cundinamarca) en la zona de frailejones, utilizando diferentes técnicas que permitan la recuperación de un cierto número de cepas a utilizar en posteriores investigaciones en el campo de la biotecnología, específicamente en el Grupo de Biotransformación de la PUJ.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 El Páramo

Según la conferencia Latinoamericana de Páramos y bosques Alto Andinos, 1998, la palabra Páramo significa áreas desprovistas o escasas de árboles, desfavorables para el asentamiento humano en las regiones altas de los Andes. Desde el punto de vista funcional, biogeográfico y de vegetación, los páramos se clasifican en subpáramo, páramo propiamente dicho y superpáramo (Cuatrecasas, 1998).

De las tres franjas del páramo, el páramo propiamente dicho es la más extensa y la mejor consolidada ecológicamente. En ella imperan condiciones extremas de temperatura y clima, el paisaje es aparentemente uniforme y tranquilo. En la vertiente occidental de la cordillera Occidental la franja paramuna abarca desde los 2.900 hasta los 3.800 msnm; en el flanco oriental sólo es nítida entre los 3.300 y los 3.800 msnm. En la cordillera Central, vertiente occidental, se encuentra entre 3.400 y 4.000 msnm; en la oriental va de 3.200 a 3.900 msnm. En la cordillera Oriental la mayor extensión se presenta en su flanco occidental, donde el límite inferior se ubica a los 3.000 msnm y el superior a los 3.800; en el costado, el límite inferior se observa a los 3.300 msnm (Rivera *et al.*, 2001).

2.1.1 Condiciones ambientales

El páramo se caracteriza por mostrar condiciones ambientales extremas: presenta una baja presión atmosférica, una escasa densidad del aire, una baja temperatura media, una radiación solar intensa alternada con días nublados y cielo cubierto, una alta temperatura del aire y del suelo con directa insolación (con fuertes contrastes térmicos diurnos), una fuerza del viento moderada y periódica (valores superiores a 3 m/s) y, finalmente, ocurrencia de frecuentes heladas nocturnas (Sturm y Rangel, 1985).

En la franja paramuna se registra una precipitación promedio mensual de 137 mm y un régimen pluviométrico unimodal o biestacional. El período lluvioso se presenta entre abril y octubre; el mes más húmedo es mayo con 186 mm. El período seco comprende los meses de noviembre a marzo y enero es el mes más seco, con 600 mm (Rivera *et al.*, 2001).

2.1.2 Importancia del páramo

Estos ecosistemas son altamente estudiados debido a su gran potencial biotecnológico por las condiciones climáticas extremas a las que se encuentran adaptadas las diferentes especies que lo habitan. Además, algunos son los yacimientos de los grandes ríos del país y estos representan una importancia económica. Asimismo cumplen una función hidrológica, ya que constituyen la fuente de agua potable para la mayoría de las poblaciones de los Andes Americanos; debido al frío y a la alta nubosidad que reina en estas alturas, la evaporación es muy baja por lo que existe un alto rendimiento de agua (Sturm y Rangel, 1985).

También se destacan porque cumplen una función ecológica y agropecuaria, ésta última de gran importancia ya que en ellos se cultiva papa, cebada, entre otros alimentos importantes en la dieta del ser humano y de gran uso a nivel nacional; sin embargo esta actividad altera el ecosistema porque genera impactos adversos en el suelo causando una pérdida de biodiversidad, erosión, deforestación y movimiento de masa. De igual forma el uso de fertilizantes y agroquímicos causa diferentes grados de toxicidad y altos consumos de agua (Ospina, 2003).

2.1.3 Tipos de vegetación

La principal característica del páramo, desde el punto de vista de la vegetación, con 14 comunidades vegetales, es el dominio del pajonal-fraijonal y de los pastizales (Figura 1). Los pajonales se componen de gramíneas en forma de macolla, de hojas agudas y duras como la paja ratona y generalmente se encuentran asociados con frailejones. En la cordillera Oriental, la matriz principal del paisaje paramuno se compone de extensas áreas cubiertas de pajonales del género *Calamagrostis effusa* y de otros pastos y plantas gramíneas del género *Festuca*, en general asociados con más de 20 especies de frailejones; su máximo límite de distribución altitudinal

se sitúa aproximadamente a los 4.700 msnm. Los pastizales están compuestos por gramíneas de porte bajo, de hojas anchas y suaves que se encuentran en ambientes abiertos donde se entremezclan con otras especies de hierbas de reducido tamaño (Rivera *et al.*, 2001).



Figura 1: Vegetación característica del páramo dominada por frailejones y pastizales

Fuente: Autores

2.1.4 Los frailejones

Una de las formas de vida mejor adaptadas a las condiciones de la alta montaña tropical, es quizás el frailejón; algunas especies tienen un amplio rango de distribución y otras, en ocasiones, conforman densas poblaciones que se acomodan mejor en el páramo bajo, hábitat que comparten con ericáceas y chusques. Los frailejones presentan diferentes formas evolutivas o formas de crecimiento, que van desde árboles ramificados, de tallos leñosos que alcanzan los 20 m de altura, hasta pequeñas rosetas sésiles, sin un tallo evidente y cuya altura no sobrepasa los 20 cm. Su evolución es un ejemplo claro de adaptación a la alta montaña tropical; mientras en los frailejones más primitivos y de tipo arborescente, la base de las hojas o peciolo tiene forma tubular, en los más evolucionados se da la tendencia a desarrollar un peciolo más aplanado y reducido, que favorece la existencia de una cobertura muy entretrejida, para proteger el cuerpo del tallo (Rivera *et al.*, 2001).

Teniendo en cuenta las características físicas del frailejón, este se puede considerar como un ecosistema en miniatura. Debido a la alta proporción de material muerto unido a la planta, se crea un hábitat en el cual se integran el subsistema productivo, compuesto por los órganos vivos y sus visitantes esporádicos y el degradativo, integrado por las partes descompuestas de la planta y sus descomponedores acompañantes (Rivera *et al.*, 2001).

2.2 El suelo

El término suelo se refiere al material exterior, poco compacto de la superficie terrestre, un estrato característicamente diferente del lecho rocoso subyacente. Químicamente, el suelo contiene una gran cantidad de sustancias orgánicas que no se encuentran en los estratos más profundos. Para el microbiólogo, el medio ambiente edáfico es único en diferentes aspectos: contiene gran variedad de bacterias, actinomicetos, hongos, algas y protozoarios; es uno de los sitios más dinámicos en interacciones biológicas en la naturaleza, en el cual se realizan la mayor parte de las reacciones bioquímicas involucradas en la descomposición de materia orgánica, la intemperización de las rocas y la nutrición de cultivos agrícolas (Alexander, 1980).

El suelo se dispone en capas, horizontes edáficos o perfiles (Figura 2) que tienen composición específica y propiedades especiales:

- a) Horizonte O: Es la capa más superficial del suelo es rico en materia orgánica como tallos y hojas muertas que se desintegran gradualmente. Este horizonte a menudo falta por completo en suelos desérticos, pero es la capa dominante en ciertos suelos de pastizal y de bosque de caducifolias, ricos en materia orgánica.
- b) Horizonte A: es la capa de suelo oscuro y rico en humus en la que la desintegración está muy avanzada. Tiene la textura granular y, en zonas con precipitación sustancial, es un tanto deficiente en nutrientes como resultado de la pérdida gradual de muchos de ellos por escurrientías hacia capas más profundas.
- c) Horizonte B: es la capa de subsuelo de color claro bajo el horizonte A, a menudo es una zona en la cual se acumulan minerales que escurrieron desde la rizosfera

y la capa superficial, es rico en compuestos que contienen hierro, aluminio y arcilla.

- d) Finalmente el horizonte C, que es la capa que limita la roca madre sólida y contiene fragmentos de roca intemperizada. Además el horizonte C, está más abajo del alcance de la mayor parte de las raíces y la mayoría de las veces está saturado de agua subterránea (Solomon *et al.*, 1996).



Figura 2: Perfil del suelo

Fuente: Delgado, 2001

2.2.1 Textura y Estructura del Suelo

Según Alexander, 1980, el suelo está formado por cinco componentes principales: materia mineral, agua, aire, materia orgánica y organismos vivos. La cantidad de estos constituyentes no es la misma en todos los suelos sino que varía según la localidad. La cantidad de materia orgánica y mineral, que forma parte de la porción inanimada, es relativamente fija en un determinado lugar; sin embargo, la proporción de aire y agua varía.

En cuanto a los principales constituyentes minerales del suelo se encuentran partículas inorgánicas de diferentes tamaños: arena (0.02 a 2 mm), limo (0.002 a

0.02 mm) y arcilla (menos de 0.002 mm de diámetro) y determinan la textura del suelo (Figura 3) que es un factor importante en la capacidad de retención del agua y nutrientes; en función del tipo y tamaño de partículas presentes en un suelo, la capacidad de adsorción de moléculas iónicas y polares varía considerablemente. Las partículas finas del suelo suelen estar unidas formando agregados en la mayoría de los casos gracias a la acción de la materia orgánica, es decir el complejo arcilloso-húmico (Valencia y Cabriales, 2001).

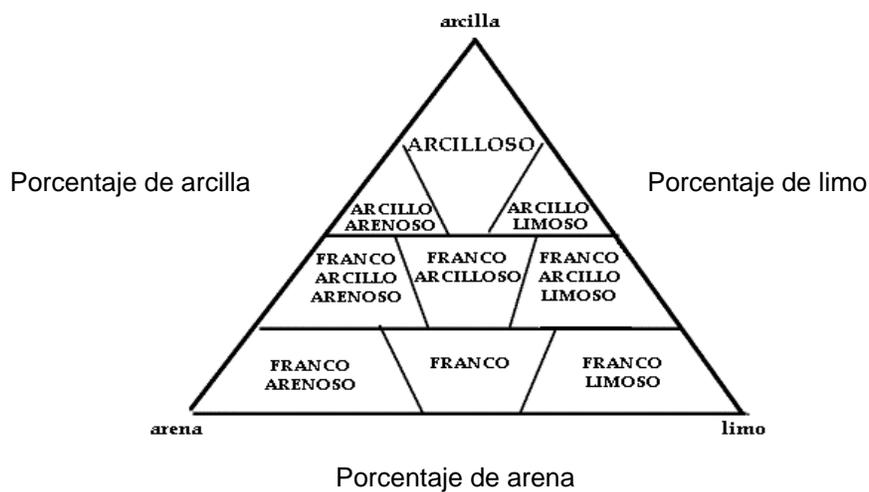


Figura 3: Triángulo de texturas a partir del cual se obtienen los nombres de las clases de las texturas.

Fuente: Alexander, 1980.

2.2.2 El suelo como sistema de tres fases

El suelo es un sistema abierto, dinámico, constituido por tres fases. La fase sólida está formada por los componentes inorgánicos y los orgánicos, que dejan espacio de huecos (poros, cámaras, grietas y otros) en el que se hallan las fases líquida y gaseosa. El volumen de huecos está ocupado parcialmente por agua, como componente principal de la fase líquida, que puede llevar iones y sustancias en solución o en suspensión; por aire, que constituye la fase gaseosa o atmósfera del suelo y por las raíces y organismos que viven en el suelo (Porta *et al.*, 1999). Para cada una de las fases, los aspectos a considerar y los ámbitos de estudio son:

Tabla No 1: Fases del suelo

FASES	ASPECTOS	ÁMBITO DE ESTUDIO
Sólida	<ul style="list-style-type: none"> ⤴ Distribución de partículas minerales según tamaño ⤴ Componentes inorgánicos ⤴ Componentes orgánicos ⤴ Organización 	Textura Mineralogía Superficie específica Meteorización Procesos de transporte Composición Procesos de transformación y transporte Estructura: forma de agregarse las partículas y espacio de huecos Densidad del suelo
Interfase sólido-líquido	Interacción suelo-agua	Reacciones de superficie
Líquida	<ul style="list-style-type: none"> ⤴ Agua del suelo ⤴ Exceso de agua 	Estados energéticos del agua Movimientos del agua Régimen de humedad Procesos de hidromorfismo
Gaseosa	Aireación del suelo	Composición Humedad del aire Flujo de aire

(Porta *et al.*, 1999).

2.2.3 El suelo de los páramos

Los suelos de los páramos presentan una acumulación de materia orgánica de color negro, bastante descompuesta y de muy poca fertilidad. Es suave al tacto, están depositados en la mayoría de los casos directamente sobre la roca base, en un espesor variable desde pocos centímetros hasta más de un metro (Guhl, 1982). Así mismo, los suelos de la sabana son similares, aunque suele faltar la acumulación de hierro en forma de costras. En los páramos estos suelos son más negros y espesos, pasando en ocasiones a suelos turbosos que pueden alcanzar espesor (Vargas y Zuluaga, 1980).

Según estudios realizados, en la mayor parte del área del páramo de Cruz Verde se presentan suelos de tipo “gumíferos de páramos”, que por lo general son poco profundos en las cimas de las colinas y profundos en sitios planos o poco inclinados (Lozano y Schnetter, 1976). El área de la asociación Páramo-Usme-Guasca se caracteriza por tener una topografía quebrada u ondulada, con pendientes de 25 a 50%. Los suelos tienen un alto contenido de materia orgánica, presentan colores oscuros a negros, son suelos profundos con apariencia textural mediana y el pH puede variar de 4.5 a 5.0 (Carrera *et al.*, 1968).

2.3 Generalidades del páramo de Guasca

Los páramos son las extensas regiones desarboladas que coronan las sumidades de las cordilleras por encima del bosque andino, que según el Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC), 1984, va desde los 3.800 m sobre el nivel del mar hasta el nivel de la nieve permanente 4.700 msnm. El páramo de Guasca está situado a 55 km al noroeste de la ciudad de Bogotá D.C, en la carretera que comunica a los municipios cundinamarqueses de Guasca y Gachetá; posee alturas entre los 3.000-3.250 msnm y presenta una vegetación típica del pajonal-frailejónal de *Calamagrostis effusa* y *Espeletia grandiflora*, entre otras (Cuatrecasas, 1958).

El suelo del páramo de Guasca presenta una textura dominante tipo franco arenoso-orgánica, de estructura granular fina, consistencia en húmedo friable; permeabilidad rápida; reacción de ácida a muy ácida (IGAC, 1984). El clima del páramo se caracteriza por el frío-húmedo donde la cantidad de lluvia alcanza 3.000 mm anuales, debido a que se encuentra en la alta montaña ecuatorial. De igual manera, esta zona cuenta con un promedio de temperatura anual inferior a 10°C en sectores por debajo de los 3.600 msnm y a 8°C en aquellos por encima de esa altitud (Reyes, 1995).

2.3.1 Propiedades físico-químicas del páramo de Guasca

El páramo de Guasca está ubicado a 55 km de distancia al noroeste de Bogotá D.C, en el municipio de Guasca (Cundinamarca) con una altitud de 3.000-3.250m y una temperatura de 13°C (Camacho y Hernández, 2002). La profundidad oscila entre 0 a 34 cm, con textura tipo franco-arenoso orgánico. Compuesto principalmente por:

arena 63%, limo 18% y arcillas 19%. Así mismo, según estudios hechos por el IGAC en 1984, el porcentaje de humedad es de 19.36%, el pH de la pasta 4.7, el porcentaje de carbono orgánico y nitrógeno total de 1.73 y 10.86 respectivamente.

Otros datos importantes son los siguientes:

-Calcio, Ca m.e/100g; 61.73

-Magnesio, Mg m.e/100g: 0.39

-Potasio, K: 0.32

-Sodio, Na: 0.25

-Hidrógeno, H: 0.11

-Relación C: N: 0.85

2.4 Generalidades del páramo de Cruz Verde

Este páramo se encuentra en el kilómetro 10 al suroeste de la ciudad de Bogotá D.C, vía municipio de Choachí-Cundinamarca. A 3.300-3.500msnm (4°, 45', latitud N y 74° longitud W), con temperatura promedio de 8.4°C y precipitación de 1.200 mm. Con una vegetación típica: *Calamagrostis effusa*, *C. bogotensis*, *Espeletia grandiflora*, *E. argentea*, *Jamesonia bogotensis*, *Espeleptiopsis corymbosa*, *Geranium santanderensis*, *Gentianella corymbosa*, entre otras (Cuatrecasas, 1958). La geología de la región del páramo de Cruz Verde está determinada por la evolución paleotectónica y el territorio colombiano y especialmente la cordillera oriental (Cárdenas y Moreno, 1993).

Vanegas, 2001, describe tres niveles altitudinales en el páramo; el superpáramo o páramo alto, el cuál cubre alturas superiores a 4.500 m llega hasta el límite del nivel, el páramo propiamente dicho, que corresponde a formaciones de prado de gramíneas fasciculadas, caulirrósulas y algunos arbustos bajos entre 3.500 y 4.500 m, y el páramo bajo, que es una región con abundante matorral que ocupa un cinturón de anchura muy irregular, es una zona de transición entre el bosque andino y el páramo propiamente dicho entre 2.900-3.300m, la vegetación es una mezcla de ambas formaciones.

Los suelos del área del páramo de Cruz Verde pertenecen a la asociación Páramo-Usme-Guasca. La anterior se caracteriza por tener una topografía quebrada a

ondulada, con pendientes de 25-50%. Por otro lado, los suelos se caracterizan por tener un alto contenido de materia orgánica, oscilando en un 12% de carbono orgánico. Son suelos profundos con apariencia textural mediana pero con tendencia a pesada, el pH puede variar de 4.5 a 5.0 (Carrera *et al.*, 1968).

2.5 Hongos Filamentosos

Los hongos filamentosos son microorganismos eucarióticos, aerobios facultativos que se reproducen de manera natural por esporas, sexual o asexualmente (Vargas y Villamizar, 2005). Los hongos tienen como característica común la ausencia de clorofila, por tanto no pueden realizar fotosíntesis y deben nutrirse a partir de materia orgánica ya elaborada (Arenas, 1993). Así mismo, tienen una pared celular formada por quitina el cual es un compuesto (polisacárido) fuertemente rígido. Por lo anterior, este tipo de microorganismos deben absorber los nutrientes simples y solubles, al contrario de fagocitar los alimentos.

La estructura fúngica consta de un complejo llamado talo o micelio, que a su vez está constituido por múltiples filamentos o hifas (hyphomycetos o mohos), la mayor parte de estos hongos son inmóviles no obstante algunos pueden tener células reproductoras móviles (Arenas, 1993). Las esporas son cuerpos resistentes que forman los hongos en estado latente o de reposo, que se producen de dos maneras diferentes sexual y asexualmente (Moreno, 2000). Las sexuales tienen núcleo derivado de las células progenitoras, y sus esporas son haploides; dos núcleos de las células antecesoras se funden para formar un núcleo diploide (zigoto) y las estructuras que producen las esporas sexuales son, casi siempre, morfológicamente diferenciadas de las esporas asexuales (Moreno, 2000). Por el contrario, las estructuras que producen las esporas asexuales se producen por simple diferenciación en la hifa de crecimiento (Vargas y Villamizar, 2005).

Fisiológicamente, los hongos filamentosos se adaptan a condiciones más severas que otros microorganismos, su desarrollo en sustratos puede ser con concentraciones de azúcares elevados, hasta el 10%, debido a que estos microorganismos no son sensibles a la presión osmótica elevada; creciendo muy lentamente de 5 a 7 días, y resistiendo condiciones de acidez relativamente altas (pH entre 2-9, óptimo pH: 5-6) (Moreno, 2000). La glucosa es una fuente de carbono

aprovechada por muchos hongos, también pueden utilizar compuestos de carbono orgánico complejos como el almidón y la celulosa. De igual forma, aprovechan fuentes de nitrógeno inorgánico como sales de amonio y nitratos y emplean además sustratos con nitrógeno inorgánico y carbono, como por ejemplo el extracto de levadura y peptona (Pelczar y Reid, 1996).

2.5.1 Curva de crecimiento de hongos filamentosos

El crecimiento del hongo puede ser dividido cualitativamente. Según Kavanagh, 2005, las curvas de crecimiento presentan tres fases: la primera es una fase de no crecimiento evidente, seguida de una fase de rápido crecimiento y finalmente una fase sin crecimiento neto o de autólisis y disminución en peso seco.

No todos los hongos cumplen este esquema, se observan curvas de dos fases, en la que el crecimiento inicial es seguido de una segunda fase en la que se detiene el crecimiento. Esta segunda fase puede representar una fase de síntesis de polisacáridos, sin un aumento en otros componentes celulares, o puede depender en una movilización de nitrógeno de hifas más viejas y su uso para crecimiento neto, éste es reutilizado después de agotar fuentes exógenas de nitrógeno disponible (Cochrane, 1963).

La primera fase, sin crecimiento aparente, tiene dos componentes: una fase anterior a la germinación de esporas y una fase en que el crecimiento se presenta pero no se evidencia. En la segunda fase ocurre un rápido crecimiento y un desarrollo del micelio cuyo crecimiento ocurre en las extremidades de las hifas. Las células al interior del micelio no contribuyen al crecimiento neto, aportan nutrientes a células periféricas, especialmente a estructuras aéreas. En ésta fase ocurre la utilización de carbohidratos, nitrógeno y fosfatos; además pueden aparecer las esporas al final de ésta fase o antes de su finalización.

La tercera fase se caracteriza por una disminución en el peso del micelio y la aparición de nitrógeno y fosfato en el medio. Un patrón común es la pérdida de peso por un corto período de tiempo sin ningún cambio después de esto. Puede presentarse, también, autólisis del micelio por el rompimiento de quitina,

carbohidratos y proteínas, catalizado por las enzimas del hongo. Entre otros productos de la lisis se encuentran el amoníaco, aminoácidos, compuestos de fósforo orgánico y compuestos de azufre. La disminución del crecimiento se debe a dos factores principales: la acumulación de metabolitos tóxicos, ácidos orgánicos en medios con gran cantidad de carbohidratos y de amoníaco en medios con alto contenido de nitrógeno, y el agotamiento de la fuente de carbono. Así mismo en esta fase las células realizan un metabolismo secundario, específicamente rutas metabólicas que no son esenciales para las células pero que están involucradas en la supervivencia del organismo (Kavanagh, 2005).

2.5.2 Requerimientos nutricionales de hongos filamentosos

Según Kendrick, 2000, una de las características principales de los hongos es su inhabilidad de utilizar el carbono inorgánico. El compuesto más simple como fuente de energía es la glucosa, también utilizan fructosa, manosa y galactosa. Algunos hongos (basidiomycetes) degradan la lignina a dióxido de carbono pero en presencia de otra fuente de carbono como celulosa, celobiosa o glucosa. Requieren, también, una fuente de nitrógeno, pueden utilizar nitrato y amonio. Los aminoácidos, la urea, algunos polipéptidos y proteínas son utilizados por algunos hongos pero no por todos. Una buena fuente de nitrógeno para muchos hongos es la caseína hidrolizada, una mezcla de aminoácidos.

Se puede incorporar sulfato al medio para los requerimientos de azufre, algunos Chytridiomycetes utilizan aminoácidos que tengan azufre como la metionina. Las vitaminas se requieren en mínimas cantidades, algunos hongos pueden sintetizar sus propias vitaminas, pero muchos necesitan tiamina, biotina, riboflavina, piridoxina y ácido nicotínico entre otras. Entre los macronutrientes se encuentra el potasio para el metabolismo de carbohidratos, actividad enzimática y para mantener el balance iónico; fósforo, componente esencial de ácidos nucleicos y de mecanismos para la transferencia de energía; magnesio, activador de enzimas requeridas en el metabolismo del ATP; azufre, para algunos aminoácidos y vitaminas y calcio que actúa como activador de algunas enzimas. Necesitan micronutrientes como el hierro, cobre, manganeso, zinc y molibdeno (Kendrick, 2000).

2.5.3 Condiciones de crecimiento

Según Alexopoulos *et al.*, 1996, la temperatura influye en el crecimiento, la germinación de esporas, reproducción y, en general, todas las actividades del organismo. Los hongos se pueden clasificar como psicrófilicos, mesófilicos o termófilicos. Los psicrófilicos tienen un mínimo de temperatura de crecimiento menor a los 0°C y máxima menor a los 20°C siendo la óptima en un rango de 0°-17°C. Los mesófilos, la mayoría de los hongos, tienen una temperatura mínima de 0°C, máxima menor a 50°C y óptima entre 15 y 40°C; y los termófilos una mínima mayor a los 20°C, máxima mayor a los 50°C y óptima entre 35°C y 50°C (Kendrick, 2000). La mayoría de los hongos crece a un rango de temperatura entre 25 a 30°C (Kavanagh, 2005).

El pH es fundamental para el desarrollo de los hongos, a un pH alto se ve afectada la solubilidad de los metales y a pH bajo se afectan los sistemas enzimáticos, el ingreso de vitaminas esenciales y ácidos orgánicos y la toma de minerales (Cochrane, 1963). El pH óptimo se encuentra entre 4 y 6 (Kavanagh, 2005).

2.6 Clasificación de los hongos

El reino de los hongos se encuentra dividido en los phylum Chytridiomycota, Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota y hongos mitospóricos (Mueller *et al.*, 2004; Carlile *et al.*, 2006).

Phylum Chytridiomycota: poseen células flageladas en su ciclo de vida (zoosporas) y se clasifican según la ultraestructura de las zoosporas. Poseen micelio cenocítico, talo holo o eucárpico (Figura 4). Reproducción sexual o asexual gracias al esporangio. Sus paredes celulares se componen principalmente de quitina y glucano.



Figura 4: *Synchytrium endobioticum*, perteneciente al *Phylum Chytridiomycota*

Fuente: Simmons, 2005

Phylum Zygomycota: su micelio es cenocítico, producen esporas sexuales denominadas zigosporas que se desarrollan en el zigosporangio (Figura 4). Algunos, como *Rhizopus sp.* tienen órganos de fijación denominados rizoides. Su pared celular esta compuesta de quitina, quitosano y ácido poligalacturónico.



Figura 5: *Mucor sp.*, perteneciente al *Phylum Zygomycota*

Fuente: Universidad de Adelaide, 2006

Phylum Ascomycota: sus hifas son septadas con un poro, a ambos lados del cual pueden observarse sendos "cuerpos de Woronin", poseen ascosporas dentro de ascas, esta asca proviene de un ascogonio y en general está dispuesta en una capa de células similares y en estructuras características denominadas cleistotecio, peritecio o apotecio (Figura 5). Sus paredes se componen de quitina principalmente.

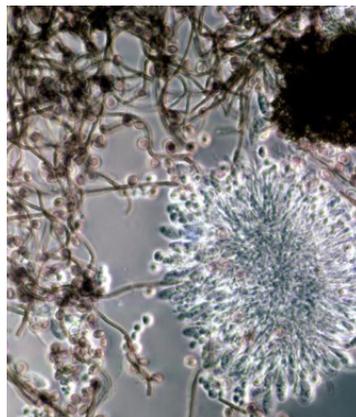


Figura 6: *Chaetomium sp.*, perteneciente al *Phylum Ascomycota*

Fuente: Sutton, 2000

Phylum Basidiomycota: este grupo se caracteriza por presentar basidiosporas que se producen en basidios, la forma del basidio juega un papel fundamental en la clasificación, aquellos que tienen septos se clasifican en Phragmobasidiomycetes y aquellos sin septos en Homobasidiomycetes. El cuerpo fructífero sexual se denomina basidiocarpo, sus hifas son septadas y los septos son simples o con doliporos (Figura 6).



Figura 7: *Setchelliogaster* sp, perteneciente al *Phylum Basidiomycota*

Fuente: Lepp, 2007

Hongos mitospóricos: se conocían como hongos imperfectos y después como *Deuteromycetes*. Se denominaron imperfectos por su ausencia de una fase sexual en su ciclo de vida y se conocen como hongos mitospóricos por que sus esporas se producen por división nuclear mitótica. Las hifas son septadas, la mayoría son anamorfos y sus conidiosporas se conocen como conidios, los cuales pueden ser de dos tipos: tálico si proviene de la segmentación de segmentos preexistentes de hifas y, blástico cuando hay un alargamiento del conidio inicial antes de septarse.

Otros organismos, parecidos a los hongos pertenecen al *Phylum Oomycota*, Reino *Straminipila*, estos son patógenos para plantas, poseen hifas y mecanismos de infección similares a los hongos. Sus paredes celulares se componen principalmente de glucano, su núcleo es diploide a diferencia de los hongos que es haploide y las membranas celulares están compuestas de esteroides de plantas y no de ergosterol como los hongos (Deacon, J., 2006).

De igual forma ocurre con los hongos mucilaginosos, conformados por cuatro *Phylum: Myxomycota, Plasmodiophoromycota, Dictyosteliomycota y Acrasiomycota*. Estos organismos se caracterizan por no tener pared celular, presentar mas de dos núcleos, y algunos, se mueven mediante flagelos. Se dividen en dos grupos, los plasmodiales (*Phylum Myxomycota, Plasmodiophoromycota*) y los celulares (*Phylum Dictyosteliomycota y Acrasiomycota*). Los primeros se caracterizan por ser masas de protoplasmas con movimientos rápidos, se alimentan de bacterias y otras partículas por fagocitosis, y el plasmodio se convierte en estructuras fructificantes, los esporangios, a partir de los cuales se generan las esporas. Los celulares producen cuerpos fructíferos cuando los nutrientes se agotan, en los que las células se agregan gracias al adenosínmonofosfato cíclico por quimiotaxis para formar esporas. También pueden realizar un ciclo sexual por la producción de macrocistos diploides que sufren meiosis seguido de divisiones mitóticas (Deacon, J., 2006).

2.6.1 Hongos del suelo

Según Mayea y colaboradores en 1991; Giri y colaboradores en el 2005, los géneros más comunes en los suelos, tanto en género como especie son los siguientes: *Acrostalagmus, Aspergillus, Acremonium, Botrytis, Cephalosporium, Gliocladium, Monilia, Penicillium, Scopulariopsis, Spicaria, Trichoderma, Trichothecium, Verticillium, Alternaria, Cladosporium, Pillularia, Cyllindrocarpon, Fusarium, Absidia, Cunninghamella, Mortierella, Mucor, Rhizopus, Zygorynchus, Pythium, Chaetomium y Rhizoctonia*.

En el estudio realizado por Sánchez y Romero en el 2004, se encontraron los siguientes hongos asociados a *Macleania rupestris* en los páramos El Granizo y Guasca: *Absidia sp., Alternaria sp., Ascochyta sp., Aspergillus sp., Cladosporium sp., Fusarium sp., Mucor sp., Nigrospora sp., Pestalotia sp., Stemphyllium sp., Thielaviopsis sp. y Trichoderma sp.*

2.6.1.1 *Aspergillus sp.*

Pertenece a la división Deuteromycota, clase Hyphomycetes, orden de los Hyphoymycetales y familia Moniliaceae (Ortega, 2002). Los *Aspergillus* se caracterizan por tener micelio vegetativo compuesto de hifas septadas, ramificadas,

incoloras, estructura conidial desarrollada como pedicelos y cabezuelas de origen en células hifales especializadas (células del pie), de paredes gruesas, las cuales producen conidiofóros como ramas aproximadamente perpendiculares al eje longitudinal de la célula del pie (García y Verástegui, 2001).

La clasificación se hace por las estructuras de reproducción y color de sus colonias. Los miembros de éste género son aerobios de crecimiento rápido, la colonia es inicialmente plana, blanca que crece haciéndose algodonosa. A medida que envejece y va apareciendo la esporulación, el centro de la colonia se va tornando de color distinto según la especie, así: amarillo *A. flavus*, verdoso *A. glaucus*, negro *A. niger*, gris *A. fumigatus* (Guzmán, 1977).

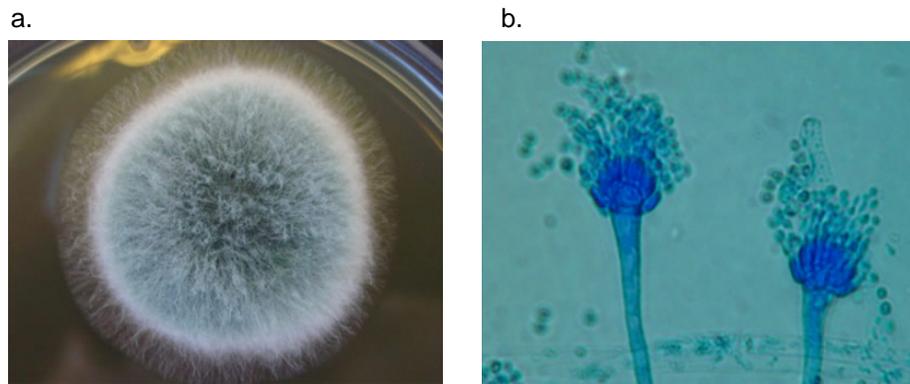


Figura 8: 8a. Características macroscópicas de *Aspergillus fumigatus*

8b. Características microscópicas de *Aspergillus fumigatus*

Fuente: Pitt, 1998

2.6.1.2 *Penicillium* sp.

Es un hongo de crecimiento rápido dando colonias blancas aterciopeladas inicialmente, las cuales se cubren con los esporos y van tomando diferentes colores según la especie; al final quedan completamente cubiertas de esporos con un aspecto pulverulento. La colonia está constituida por micelio de hifas delgadas septadas. El verticillum es fundamental en la clasificación del hongo, así pueden clasificarse en cuatro grandes grupos: monoverticillata, asimétrica, biverticillata-simétrica y poliverticillata (Guzmán, 1977).

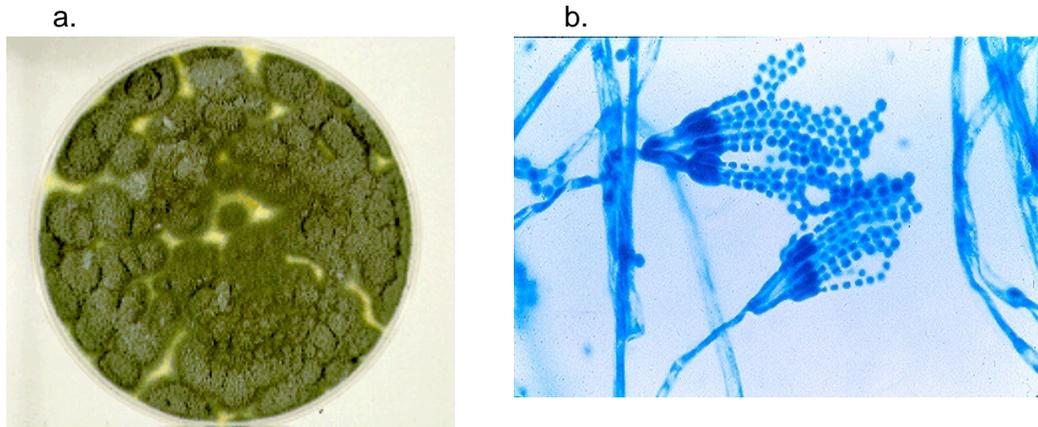


Figura 9: 9a. Características macroscópicas de *Penicillium* sp

9b. Características microscópicas de *Penicillium* sp

Fuente: Salfelder, 2000

2.6.1.3 *Acremonium* sp.

Las colonias son de color crema o durazno claro, lisas por la producción de un delicado micelio aéreo corto. Se ven variantes de las colonias blancas, rosadas y gris-amarillas. Microscópicamente, los conidióforos son largos delicados y casi como pelos. Conidios unicelulares elípticos, ovales a cilíndricos dispuestos en cabezuelas irregulares (Koneman y Roberts, 1997).

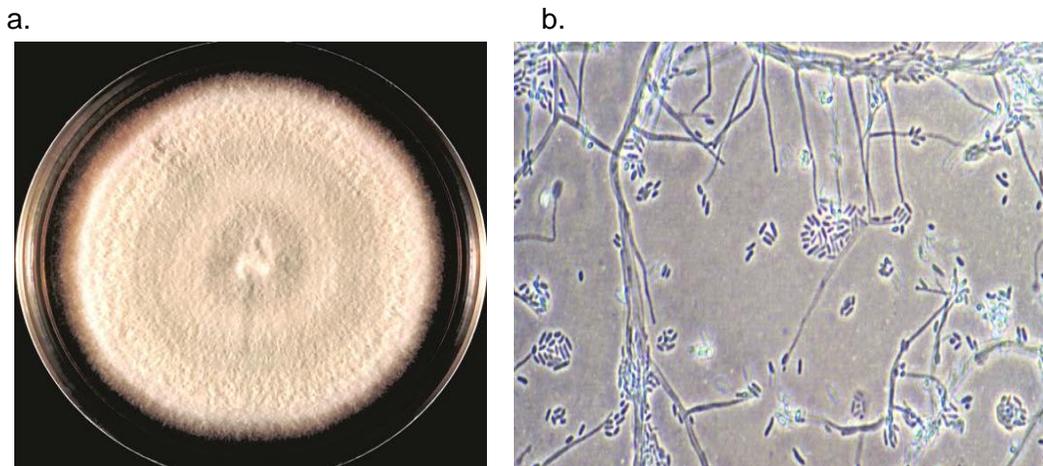


Figura 10: 10a. Características macroscópicas de *Acremonium falciforme*

10b. Características microscópicas de *Acremonium* sp

Fuente: Ellis y Hermanis, 2003

2.6.1.4 *Fusarium* sp.

Crece dando una colonia blanca la cual produce un pigmento color vino que gradualmente difunde en el medio. El micelio está formado por hifas septadas y los conidióforos presentan racimos de macroconidios. Se observan también clamidosporas y microconidios (Guzmán, 1977). Algunas especies de interés agrícola son *Fusarium oxysporum*, causante de la marchitez en algodón, el mal de Panamá en el banano y de la podredumbre basal en frijol; y *Fusarium solani*, responsable de la pudrición radicular de la yuca y de los tubérculos de la papa (Finch y Finch, 1997).

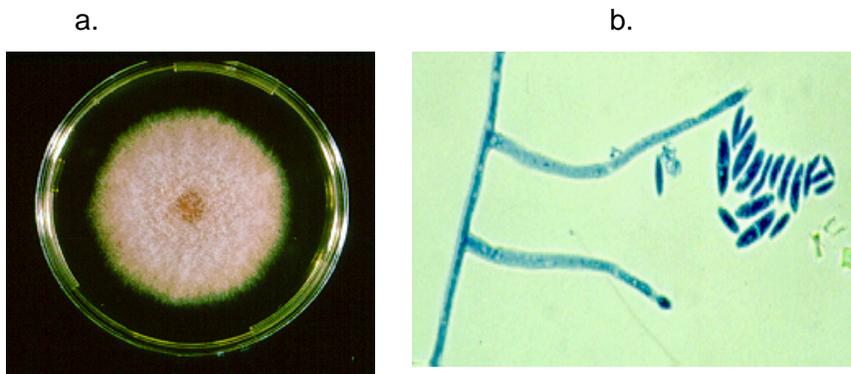


Figura 11: 11 a. Características macroscópicas de *Fusarium* sp

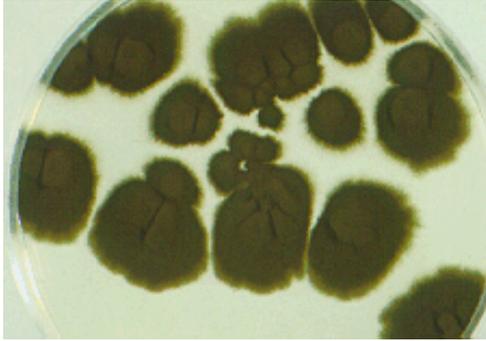
11b. Características microscópicas de *Fusarium solani*

Fuente: Universidad de Adelaide, 2006

2.6.1.5 *Cladosporium* sp.

Crece rápido a temperatura ambiente pero no a 37°C. Las colonias son planas, aterciopeladas, de color carmelita oscuro un poco más clara hacia la periferia, formadas por micelio de hifas gruesas septadas y oscuras. Presentan conidióforos con conidios ovoides sobre las cuales se ven dos sitios donde se encuentran dos conidios. Algunas especies tienen actividad proteolítica (Guzmán, 1977).

a.



b.

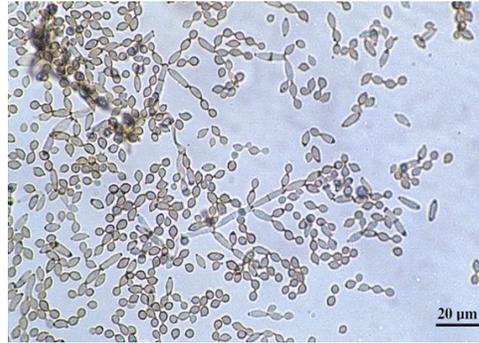


Figura12: 12 a. Características macroscópicas de *Cladosporium cladosporioides*

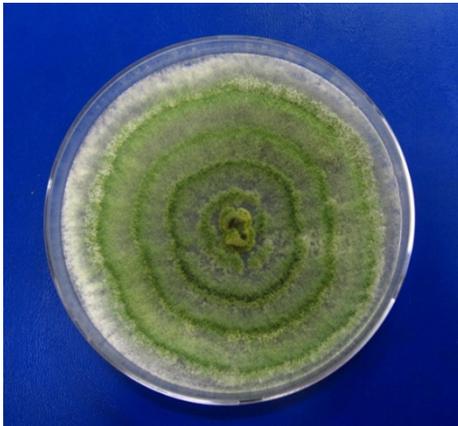
12 b. Características microscópicas de *Cladosporium cladosporioides*

Fuente: Universidad de Adelaide, 2006

2.6.1.6 *Trichoderma* sp.

Crece formando colonias blancas que simulan una película sobre el medio. El micelio está formado por hifas septadas. Los conidióforos por segmentos cortos que se hallan a lado y lado de la hifa, mostrando por su parte terminal pequeños conidios redondeados. La esporulación da sobre la colonia parches verdosos (Guzmán, 1977).

a.



b.

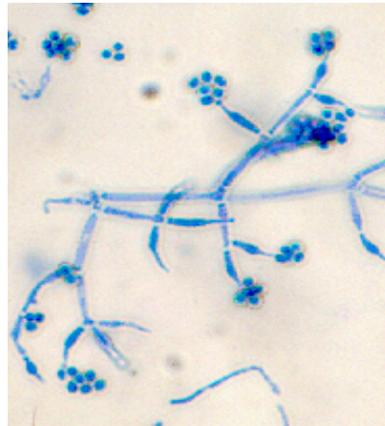


Figura13: 13 a. Características macroscópicas de *Trichoderma* sp

13 b. Características microscópicas de *Trichoderma harzianum*

Fuente: Universidad de Adelaide, 2006

2.7 Importancia a nivel industrial y médica de los hongos filamentosos

La importancia de los hongos involucra el conocimiento de las especies patógenas y su aprovechamiento industrial. Cerca del 40% de las enzimas comercialmente disponibles se obtienen de hongos filamentosos. Estas enzimas son producidas sobre todo por especies de los géneros *Aspergillus* y *Trichoderma*. Debido a que secretan grandes cantidades de enzimas en el medio de cultivo, resultan rentables en fermentaciones a gran escala (CONCYTEY, 2007). *Aspergillus* por ejemplo, es un organismo ampliamente utilizado en la producción de una gran variedad de glucanasas con un espectro tal que puede lograrse la completa degradación de la celulosa. Las glucanasas son utilizadas en muchos procesos industriales, como bi blanqueo, panificación, extracción y clarificación de jugos, elaboración de alimento animal, industria textil, entre otras. *Aspergillus* muestra algunas ventajas para la producción industrial de enzimas: tiene un alto nivel de producción, presenta buenas propiedades para el cultivo, lo que posibilita la producción a gran escala, sus productos son generalmente considerados como seguros, GRAS (por sus siglas en inglés: generally regarded as safe), lo que permite su aplicación en la industria de alimentos tanto para el hombre y animales (Villena y Gutiérrez, 2003). Estos metabolitos secundarios producidos por hongos filamentosos se originan a partir de intermediarios del metabolismo primario y son clasificados según su precursor. El acetil es el compuesto intermediario del metabolismo secundario de los hongos filamentosos productores de terpenos (carotenoides, ergosterol, ácido giberélico), derivados de ácidos grasos (poliacetileno), de derivados de aminoácidos (alcaloides, penicilina, cefalosporina) y por último de policétidos (Roussos y Gaime, 1996). Algunas especies de *Trichoderma* son utilizadas para separar isómeros ópticos en la producción de mentol, producen lactonas que se usan ampliamente en la industria como saborizantes y están caracterizados por su agradable olor y sabor (Bayona y Villanueva, 1999).

Así mismo, según Moreno, 2000, el género *Acremonium* es importante en la industria por la producción de importantes antibióticos como lo son las cefalosporinas eficaces contra las bacterias Gram positivas y Gram negativas. Las cefalosporinas tienen propiedades antibacterianas similares a las penicilinas semisintéticas, además de actuar eficazmente y tener baja toxicidad.

Por otro lado, los representantes de *Acrasiomycetes* desempeñan un importante papel ecológico en la naturaleza, pero su verdadera importancia para el hombre está actualmente confinada a la utilización de estos organismos en el laboratorio como sujetos experimentales, particularmente en estudios de biología morfo genética y molecular (Carone, 1986).

2.8 Mecanismos de resistencia e importancia de los hongos paramunos

Los organismos psicrotróficos son aquellos que crecen a temperaturas menores a 10°C, se encuentran en ambientes naturales y algunos en condiciones adversas como baja disponibilidad de nutrientes. Los hongos que crecen a bajas temperaturas pueden dañar pastos, cereales y otras plantas; además pueden crecer en las bases de las plantas cubiertas de nieve (Mueller *et al.*, 2004). Según Gadre *et al.*, 2003, estos organismos son capaces de producir enzimas adaptadas al frío que tienen actividad a una temperatura inferior a los 20°C, teniendo aplicaciones específicas especialmente en la industria de alimentos. Así mismo, Zimmer *et al.*, 2006, reporta, según el estudio realizado por otros autores, el uso de éstas enzimas para la producción de químicos, materiales poliméricos homogéneos, aromas y compuestos aromáticos para perfumes y productos farmacéuticos. Puesto que muchos de los compuestos son a menudo, altamente volátiles, es importante realizar su síntesis a bajas temperaturas y éstas enzimas, además de presentar actividad a bajas temperaturas realizan la hidrólisis a una mayor velocidad que las enzimas mesofílicas, en un rango de temperaturas entre 0 y 20°C, es así como estas enzimas muestran una mayor eficiencia catalítica y están asociadas a una alta termosensibilidad (Gerday *et al.*, 2000)

En general se pueden sintetizar los mecanismos de adaptación de estos organismos en tres: función de enzimas, transporte de nutrientes y función de la membrana celular (Gocheva *et al.*, 2006). Estos organismos no tienen una regulación de temperatura, su temperatura interna es cercana al ambiente que los rodea, sin embargo han desarrollado varias formas de adaptación como cambios estructurales a nivel de membrana, proteínas constitutivas y enzimas (Gerday *et al.*, 2000). Según Robinson, 2001, un mecanismo para proteger el citosol es aumentar la concentración de trehalosa, un carbohidrato de reserva en células fúngicas

vegetativas y esporas, pues este estabiliza las membranas durante la desecación, así mismo los polioles como el manitol y glicerol, mantienen un entorno adecuado para la actividad enzimática. Otro importante mecanismo es la conformación de las membranas, ya que los ácidos grasos y fosfolípidos son más insaturados que aquellos de mesófilos.

Según Gocheva *et al.*, 2006, estos organismos tienen tasas metabólicas menores, llevando a una disminución en la demanda de ATP y acumulación de electrones en ciertos puntos de la cadena respiratoria. Esto conlleva a un incremento en la producción de especies reactivas del oxígeno como radicales superóxido, peróxido de hidrógeno y radicales hidroxilo; estas especies reactivas causan estrés oxidativo en procariones y eucariotes, puesto que dañan componentes celulares como DNA, lípidos y proteínas, para prevenir el daño las células aeróbicas tienen enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa y catalasa; es así como estos organismos presentan niveles más altos de estas enzimas antioxidantes.

3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Colombia es el segundo país más rico en especies del mundo, después de Brasil. En promedio, una de cada diez especies de fauna y flora del mundo, habita en Colombia. La flora es la primera gran riqueza, ya que Colombia posee entre 45.000 y 55.000 especies de plantas, de las cuales aproximadamente la tercera parte son endémicas. Así como Colombia posee una alta biodiversidad, esta presenta una gran vulnerabilidad ya que corre un alto riesgo de sufrir extinciones masivas, producidas por la destrucción de hábitats por deforestación y contaminación. Por consiguiente Colombia debe ser considerado un país con una alta prioridad ambiental, en donde deben desarrollarse programas de conservación, recuperación y manejo sostenible (Instituto Alexander Von Humboldt).

Es así como los ecosistemas de páramos en Colombia han sido poco explorados, y por el contrario están siendo perturbados y alterados por actividades antropogénicas que ocasionan la destrucción de la flora autóctona, la erosión y el empobrecimiento de suelos. Esto último relacionado con la destrucción masiva de los hábitats naturales, el aumento demográfico de la población, el uso inadecuado de agroquímicos y pesticidas, así como diferentes actividades económicas como, la ganadería extensiva, la agricultura, la deforestación, explotación de canteras y el orden público (Ospina, 2003).

La ganadería extensiva ocasiona compactación de los suelos por el pisoteo de los animales, se pierden los poros por donde transitan el agua y el aire generando así un desequilibrio de la capacidad de almacenamiento, retención y regulación del agua en el suelo que es una de las principales funciones del ecosistema. Al compactar el suelo se impide el desarrollo de la vegetación, los procesos de descomposición de la materia orgánica y la respiración del suelo. Por otro lado, los

suelos de los páramos no son aptos para la agricultura, por lo que si estos suelos se destinan para esta actividad requerirán muchos recursos para la adecuación como el ajuste del pH y el contenido de nutrientes. Uno de los cultivos de mayor impacto es el de papa, ya que para su realización se requiere tumbar y quemar el frailejón, arar y drenar el terreno con profundas zanjales lo que genera erosión y movimiento de masas. Otro factor importante que degrada los ecosistemas del páramo es la deforestación para la utilización de la madera o para establecer cultivos tradicionales agrícolas. La explotación de canteras causa procesos erosivos, inestabilidad de tierra y sedimentación de cauces. Por otra parte, los grupos armados establecen sus campamentos desarrollando allí actividades de todo tipo que conllevan a una acelerada destrucción afectando suelo, agua y vegetación (Ospina, 2003).

4. JUSTIFICACIÓN

Se escogieron los páramos de Guasca y Cruz Verde de Cundinamarca, con el fin de aprovechar de una manera más racional y sostenible los recursos naturales renovables por que representan una fuente innumerable de especies nativas que son aún desconocidas y que pueden proporcionar un valor científico a nivel industrial y terapéutico en estudios posteriores. Además, se encuentran en cercanías a Bogotá lo que permite tener fácil acceso y desplazamiento ya que el proyecto se llevó a cabo en el laboratorio de Química Microbiológica de la Pontificia Universidad Javeriana.

Con este Proyecto, se pretende aportar nuevos conocimientos sobre hongos filamentosos originarios de los páramos de Guasca y Cruz Verde (Cundinamarca), que sirvan de referencia en la biodiversidad del país para facilitar investigaciones futuras en el campo de la micología y en el desarrollo de trabajos de investigación a nivel de biotransformación, los cuales son llevados a cabo por el Grupo de Investigación en Biotransformación del Departamento de Química de la Universidad Javeriana.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Aislar e identificar hongos filamentosos obtenidos en muestras de suelo no intervenido provenientes de las zonas de frailejones en los páramos de Guasca y Cruz Verde ubicados en Cundinamarca-Colombia.

5.2 Objetivos específicos

- ❖ Realizar aislamiento de hongos filamentosos de las zonas de frailejones en los páramos de Guasca y Cruz Verde.
- ❖ Caracterizar macro y microscópicamente los hongos filamentosos aislados de los páramos de Guasca y Cruz Verde.
- ❖ Identificar mediante claves taxonómicas el género y posible especie de los hongos filamentosos aislados de los páramos de Guasca y Cruz Verde.
- ❖ Conservar las cepas aisladas e identificadas de hongos filamentosos obtenidos, para su posterior utilización.

6. METODOLOGÍA

6.1 Muestreo del suelo

Las condiciones del suelo, desde la recolección hasta la culminación del experimento se debe considerar, debido a que la temperatura, la disponibilidad de oxígeno, el contenido del agua y la duración del almacenamiento afecta enormemente a la microflora del suelo y de esta manera los procesos que en ellos intervienen.

Por consiguiente los procedimientos de muestreo tienen que asegurar que el número y las actividades de los microorganismos no se alteran, ya sea positiva o negativamente, de manera no cuantificable durante la recolección y la conservación de la muestra. También tienen que asegurar que las muestras son representativas y que no están contaminadas con microorganismos extraños; es decir, el procedimiento seguido debe asegurar que los microorganismos sólo proceden del ecosistema que se está examinando (Atlas y Bartha, 2005). Para lo que es necesario, identificar y registrar los sitios de muestreo, usando un mapa o plano dónde se especifiquen las condiciones geográficas o topográficas de la zona, por referencia a objetos estáticos fácilmente reconocibles, o mediante una referencia detallada en un mapa (NTC 4113-6).

6.1.1 Toma de muestras

Existen diferentes formas de recolectar una muestra representativa. Según Ferraris, 2000, los tipos de muestreo son: muestreo al azar, muestreo al azar estratificado, muestreo en áreas de referencia y muestreo en grilla (Ver figura 14).

El muestreo al azar es el más sencillo, debido a que consiste en recolectar submuestras que luego son mezcladas para lograr una muestra compuesta. El inconveniente de este tipo de muestro es que frecuentemente no se tiene en cuenta la variabilidad existente en sectores no homogéneos del lote.

Otro método, consiste en dividir el lote en subunidades homogéneas, dentro de las cuales se toman muestras compuestas al azar, evitando cualquier desuniformidad que pueda aparecer en el lote como sectores engramonados. Por el contrario, el muestreo en áreas de referencia, consiste en muestrear intensamente un sector homogéneo del lote, que se asume representativo del lote completo. Finalmente, el tipo más intensivo de muestreo es el muestreo en grilla, En este las muestras son tomadas a intervalos regulares en todas las direcciones, analizándose por separado. Se debe tener en cuenta, que el método de obtención de las muestras está determinado por las propiedades fisicoquímicas del ecosistema sometido a estudio, por la abundancia esperada de microorganismos, y por los procedimientos de enumeración y medición llevados a cabo (Atlas y Bartha, 2005).

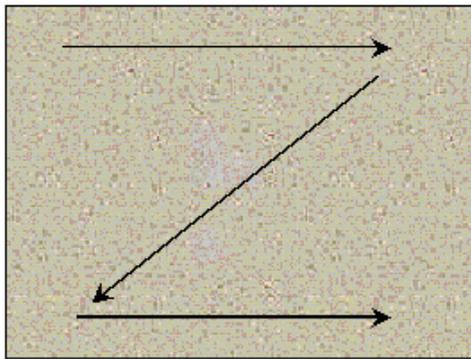


Figura a

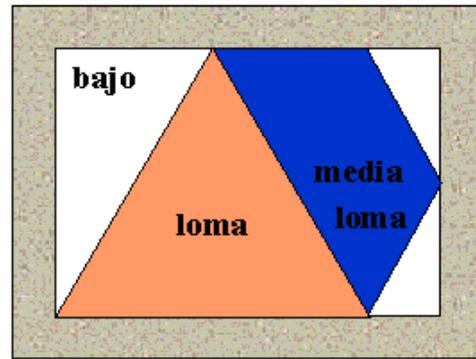


Figura b

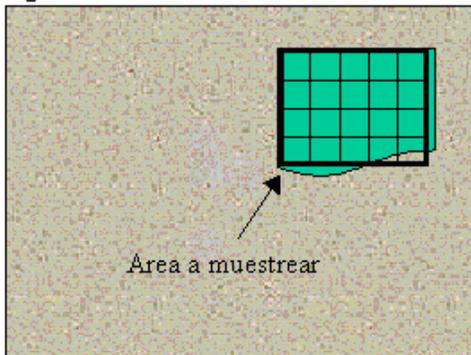


Figura c

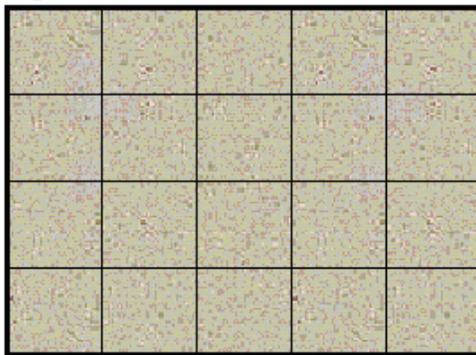


Figura d

Figura N° 14: Tipos de posibles de muestreo de un lote: **14a** Muestreo al azar
14b Muestreo al azar estratificado **14c** Muestreo en áreas de referencia
14d Muestreo en grilla (Tomado de Ferraris, 2000).

6.1.2 Equipo para muestreo

Luego de haber seleccionado el tipo o método de muestreo, es necesario escoger la herramienta a utilizar para la recolección de la muestra de suelo.

Las cuatro herramientas básicas comúnmente utilizadas son: la cuchara o cucharón de draga, el extractor de núcleos, los dispositivos de barreno o sonda, o las zanjas (Ver figura 15). La cuchara o cucharón de draga, es fácil de usar y descontaminar, se utiliza para una superficie suave (0-100 cm de profundidad). El dispositivo para extraer núcleos del suelo, se usa en un suelo suave (0-60 cm). Este equipo es relativamente fácil de usar, preserva el núcleo del suelo para una colecta de muestra sin perturbación, no obstante es difícil de descontaminar.

El barreno manual o eléctrico, generalmente se emplea en asociación con el barreno de balde para coleccionar muestras, tiene buen rango de profundidad (15 cm - 5 m), sin embargo es difícil de descontaminar. Y por último, las zanjas que son utilizadas para todo tipo de suelo y para ganar acceso a horizontes de suelo más profundos (Dirección General de asuntos ambientales, 2000).

a.



b.



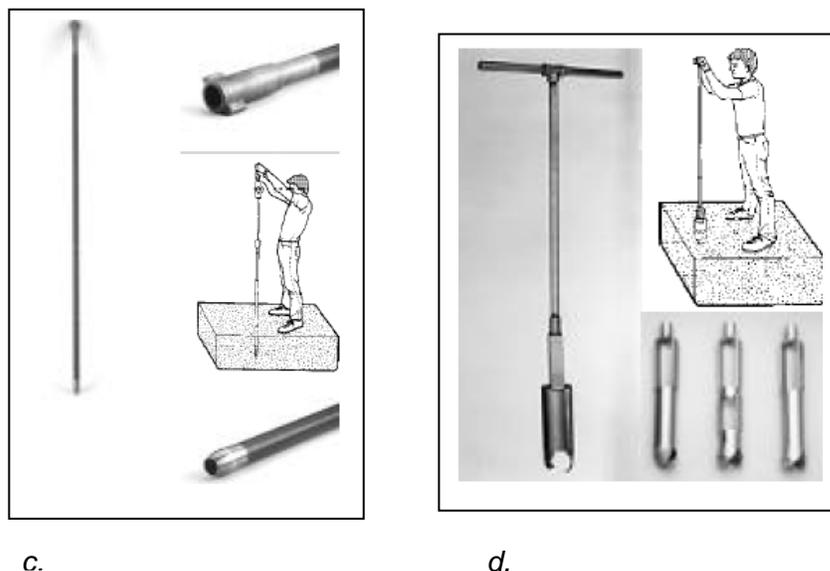


Figura N° 15: Equipo de muestreo: **15a** Barreno, **15b** Extractor de núcleos, **15c** Tubo de muestra de suelo, **15d** Manija de taladro
Fuente: Soilmoisture Equipment Corp., 1999

Es necesario, tener en cuenta, que los dispositivos de muestreo deben ser descontaminados para evitar contaminación cruzada y que se deben escoger dependiendo de la profundidad a la cual se va a tomar la muestra y las características del suelo. Como lo señala Atlas y Bartha, cuando se toman muestras de suelo, no se suelen utilizar técnicas asépticas sino que de forma pragmática se recurre a una pala y a un cubo; la gran abundancia de microorganismos en el suelo relativiza la acción de posibles contaminantes procedentes del aire o de recipientes no estériles (2005, 677).

6.1.3 Procesamiento y almacenamiento de muestras

Según la NTC 4113-6, el suelo se debe procesar lo más pronto posible después del muestreo. La muestra debe pasarse a través de un tamiz de 2mm para facilitar el intercambio gaseoso entre las partículas y por lo tanto mantener la naturaleza aeróbica del suelo. Así mismo, el suelo se debe desmigajar y voltear con frecuencia a temperatura ambiente, para evitar secado excesivo en la superficie. Seguidamente, las muestras deben ser almacenadas en oscuridad a $4^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ con acceso de aire libre (Burlage *et al.*, 1998). Para lo anterior, es adecuado el uso de

bolsas plásticas amarradas en forma holgada, evitando que se presenten condiciones anaeróbicas en el fondo de estas. Además, es esencial no permitir que el material se seque o se sature de agua durante el almacenamiento y no almacenar una sobre otra.

6.2 Determinación de pH y humedad del suelo

El pH del suelo esta influenciado por la composición de los cationes de intercambio, composición y concentración de las sales solubles y la presencia o ausencia de yeso y carbonatos de metales alcalinos-térreos (Brissio, 2005). El pH del suelo se mide potenciométricamente mezclando 20 g de suelo en agua destilada en una proporción de 1:2,5. Posteriormente se agita la muestra y se registra el valor de pH. La determinación del porcentaje de humedad se realiza por diferencia entre peso húmedo y peso seco. Se toman 2 g por duplicado de cada muestra y se colocan en horno a temperatura de 100°C durante dos horas, al cabo de las cuales se deja enfriar en el desecador durante una hora para evitar que las muestras ganen humedad del ambiente. Seguidamente, cuando desciende la temperatura, las muestras son pesadas y luego llevadas nuevamente al horno para continuar con el secado. Dos horas después son nuevamente pesadas en frío y se repite el procedimiento hasta que el peso se estabilice.¹

6.3 Métodos de Aislamiento

6.3.1 Cultivo líquido

En esta técnica se toman 10 g (equivalente peso seco) de suelo fresco y se adiciona a erlenmeyers de 1000 mL con una solución de agua destilada estéril, peptona al 0,1% (Díaz, 2000), Tween 80 al 0,5% y Cloramfenicol (400ppm) 0,005mg/mL (Vishnoi *et al*, 2005). Se coloca la mezcla en shaker giratorio durante 48 horas para luego dejarlo en incubación estática hasta observar el desarrollo de micelios en el líquido (aproximadamente 1 semana). Posteriormente las formas de crecimiento se pasan a placas con medio PDA (Ver Anexo 1), mediante siembra por agotamiento, con el fin de obtener cultivos axénicos al realizar subcultivos de acuerdo a las

¹ ENTREVISTA: Dr. Rubén Dario Torrenegra, Profesor Titular, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C, 15 de Octubre de 2007.

diferentes características macroscópicas (Díaz, 2000). Las placas se incuban a 28°C durante 5 a 6 días y cada ensayo se realiza por triplicado (Valášková y Baldrian, 2006).

6.3.2 Lavado de suelo

Esta metodología permite aislar hongos en estado activo, por lo cual se separan partículas de suelo de los propágulos microbianos por lavado de suelo y se aíslan hongos filamentosos cuyas hifas permanecen adheridas a las partículas o al sustrato. En el trabajo realizado por Chitiva y Cabrera en el 2001, realizaron una modificación del aparato lavador descrito por Domsch y colaboradores en 1980. El aparato modificado consta de dos embudos de porcelana (acoplables) con un poro de 1,5 mm, con un diámetro de 5 cm. En el extremo superior se coloca el primer embudo con un tapón de caucho conectado a una manguera de entrada de agua contenida en un galón. Dicho embudo a su vez, se acopla por su extremo inferior al segundo embudo que contiene papel de filtro para reducir el tamaño del poro. Este último se acondiciona a un recipiente de vidrio para recoger el agua del proceso. Debido al uso de tapones de caucho, es necesario perforarlos introduciendo varillas de vidrio que facilitan la entrada de aire para permitir la circulación de agua. Todos los implementos que conforman el aparato lavador son previamente esterilizados en autoclave.

6.3.3 Dilución en placa

Es uno de los métodos más utilizados para aislamiento de hongos de suelo, también se denomina suspensión en placa. Es sencillo y rápido, consiste en suspender el suelo en agua estéril o soluciones de agar (0.05-0.2%), dextrina o carboximetil celulosa (0.1-0.2%) para posterior a la sedimentación, realizar la siembra en cajas de agar (Mueller *et al.*, 2004).

6.3.4 Placas de suelo de Warcup

Fue desarrollado por Warcup en 1950, las placas se preparan dispersando pequeñas cantidades (0.2-5 mg) de suelo pulverizado en una caja de petri estéril, se adiciona agar a las placas y se agita lentamente para dispersar las partículas. Este método es sencillo y es bueno para la identificación preliminar o rápida de especies

en el suelo, sin embargo las colonias jóvenes incrustadas en el agar son difíciles de remover (Mueller *et al.*, 2004).

6.3.5 Filtración de partículas

Según Mueller *et al.*, 2004, se denomina también “lavado de suelo” y permite el aislamiento de hongos de fragmentos de micelio sumergidos en el sustrato, reduciendo la recuperación de colonias de hongos originarios de esporas; de igual forma el aislamiento de especies con clamidosporas también es favorecido ya que sus propágulos no son removidos del todo por el lavado.

6.3.6 Fraccionamiento de la comunidad de hongos del suelo

Esta técnica involucra la preseparación de propágulos del suelo utilizando centrifugación por gradiente de densidad antes de la aplicación en los medios de aislamiento. Se aíslan específicamente, las esporas de diferentes tamaños. También se pueden eliminar poblaciones de hongos con calor, vapor o solventes para el aislamiento selectivo de especies con propágulos resistentes. Estos últimos tratamientos hacen que predominen la población de ascomycetes y basidiomycetes que tienen ascosporas, clamidosporas y esclerocios (Mueller *et al.*, 2004).

6.4 Identificación de género y posible especie

6.4.1 Cultivos monospóricos

Este procedimiento se usa para obtener cultivos desarrollados de una spora simple. Para lo anterior, se toman dos tubos con 5ml de agua destilada estéril con Tween 80 al 0,5%; con una aguja de disección se pasa una pequeña proporción del crecimiento a uno de los tubos, de esta suspensión se toma con una asa en argolla una alícuota que se mezcla en el otro tubo; por duplicado se toman 10 μ l del segundo tubo y se esparce por agotamiento con una asa de argolla sobre una caja con agar papa dextrosa. Luego, las cajas se incuban a 25°C y se observan diariamente hasta ver la germinación de una spora que inmediatamente es transferida a un tubo con PDA inclinado y se continúa con la incubación hasta el desarrollo total de la colonia (Koneman, 2001).

6.4.2 Observación microscópica

6.4.2.1 Técnica de cinta pegante

Esta técnica es una de las más usadas, debido a que se conserva la yuxtaposición original de las esporas y segmentos de hifas (Koneman, 1987). Además de permitir observar las estructuras fúngicas casi sin alteración (Arenas, 1993). Para su realización, se toma una tira de cinta de 4cm, con el lado adhesivo hacia fuera, sosteniéndose con pinzas y presionando firmemente contra la superficie de la colonia del hongo que se desea estudiar. Posteriormente, la tira de cinta se coloca en un portaobjetos con una gota de azul de lactofenol.

6.4.2.2 Montaje por disección

Divo en 1990 relaciona esta técnica al uso de una aguja de disección para tomar una parte de la superficie de la colonia y que luego debe ser depositada sobre una gota de azul de lactofenol. Con la ayuda de otra aguja o de un asa microbiológica se deberá extender el preparado y se cubrirá con una lámina cubreobjetos; para luego ser observada al microscopio con un aumento de 40X. Este es el método más habitual pero puede destruir los aparatos esporíferos y dificultar la identificación (Arenas, 1993).

6.4.2.3 Método de microcultivo

Según Arenas en 1993, este método es el más preciso y permite observar las estructuras fúngicas *in situ*.

Para su realización se toma una caja de petri con un caballete de vidrio en U, se deposita 5 mL de agua estéril en la caja que evitará la desecación posterior; se coloca un portaobjetos sobre el caballete y con una pipeta estéril se pone una capa de agar en la superficie de la lámina, se siembra en el centro un fragmento del cultivo y se coloca una laminilla estéril sobre éste para después incubar a la temperatura seleccionada. Se retira la laminilla y se coloca sobre una gota de azul de lactofenol observando al microscopio en aumento de 40X (Arenas, R., 2003; Casas, G., 1989).

6.5 Métodos de conservación

6.5.1 Agua destilada estéril

Es un método que consiste en suspender en agua estéril un determinado número de células del microorganismo que se quiera conservar e incubarla de 20° a 25°C (Castellani, 1939). Se han observado altos porcentajes de viabilidad en períodos a veces superiores a 5 años, en diversos tipos de microorganismos, tanto hongos filamentosos como levaduras y algunas bacterias, así como también se ha comprobado una buena estabilidad para caracteres morfológicos y fisiológicos (García y Uburubu, 2000).

6.5.2 Suelo estéril

El método consiste en esterilizar y secar el suelo el cual es utilizado como medio absorbente para una pequeña cantidad de inóculo y usado para cultivos que producen esporas y estructuras de resistencia. Se puede preservar la viabilidad y características a temperatura ambiente o en refrigeración (Louis y Lim, 1988)

6.5.3 Papel filtro

Este método permite la conservación de células en papel filtro esterilizado, al inocular una solución de células para posteriormente realizar un tratamiento de secado y mantenerlo en congelación. También es posible desecarlos por desecación líquida (L-Dry) utilizando un liofilizador evitando un vacío excesivo (García y Uburubu, 2000).

6.5.4 Tubo con agar inclinado

Este tipo de técnica es utilizada con gran frecuencia para aplicaciones microbiológicas, especialmente en la conservación de cepas. Para ello se precisa una superficie grande de medio de cultivo, que se puede obtener mediante agar inclinado.

Los tubos llenos con medio de cultivo esterilizado, todavía líquido, se colocan en una posición inclinada, de tal forma que se forme una capa de aproximadamente 3cm y una superficie inclinada de iguales dimensiones. El medio de cultivo se deja solidificar en la posición lograda (Merck, 2007), seguidamente se siembran los microorganismos que van a ser conservados a 4°C o 9°C.

6.5.5 Criopreservación (Glicerol al 10%)

El empleo de agentes crioprotectores protegen el daño que se pueda producir en las células microbianas en el momento de la congelación. Existen muchos compuestos que se pueden utilizar como crioprotectores, pero el que se utiliza con más frecuencia es el glicerol, a una concentración del 10 al 20% (García y Uruburu, 2000). El glicerol es un líquido incoloro, muy espeso, de sabor dulce, es muy soluble en todas las proporciones en el agua y en el etanol, es más pesada que el agua; en estado anhídrido es muy higroscópica, es decir, absorbe la humedad del aire, aumentando de volumen. El glicerol o glicerina líquida es resistente a la congelación, pero puede cristalizarse a baja temperatura (Burns, 1996).

El glicerol como crioprotectante baja la concentración de sales en equilibrio con el hielo a cualquier temperatura de congelación cuando está presente en el medio o cuando éste ha penetrado la célula. También reduce el tamaño y la cantidad de cristales de hielo formado y es encontrado naturalmente como osmoregulador dentro de las células. Este método de conservación es a largo plazo (Corredor, 2002).

6.5.6 Liofilización

Es un método para preservación a largo plazo (Corredor, 2002). Según Kearney, 2005; el proceso de liofilización implica la remoción de agua en el estado congelado utilizando la sublimación. Lo anterior, se logra mediante la aplicación de vacío. Para mejor estabilidad y viabilidad se utilizan soluciones crioprotectantes, las cuáles evitan la formación de cristales a nivel celular. Los equipos para liofilización tienen tres componentes: un mecanismo de congelamiento, una fuente de vacío y una trampa para el vapor de agua (Corredor, 2002).

La liofilización tiene dos grandes ventajas sobre la criopreservación: no requiere almacenamiento del producto y al enviar el producto liofilizado no necesita de refrigeración. La viabilidad de la liofilización para hongos depende de la tasa de congelación, el tamaño de los propágulos, el espesor de la célula y la composición de los protectores utilizados (Tan *et al*, 1995).

7. EXPERIMENTACIÓN

7.1 Ubicación

7.1.1 Páramo de Guasca

El área seleccionada para este estudio se encuentra ubicada en la zona de frailejones a 55Km al noroeste de la ciudad de Bogotá D.C, en la carretera que comunica a los municipios cundinamarqueses de Guasca y Gachetá; a una altura entre los 3.000-3.250msnm (Ver figura 16a).

7.1.2 Páramo de Cruz Verde

Para el muestreo del Páramo de Cruz verde, se escogió la zona ubicada en el kilómetro 10 al suroeste de la ciudad de Bogotá D.C, vía municipio Choachí-Cundinamarca. A una altura de 3.300-3.500msnm (4° , $45'$, latitud N y 74° longitud W), con temperatura promedio de $8,4^{\circ}\text{C}$ (Ver figura 16b).

a.



b.



Figura16: Zona de muestreo.

16a Páramo de Guasca; **16b** Páramo de Cruz Verde

Fuente: Autores

7.2 Inspección de campo

7.2.1 Toma de muestras y selección de área

La toma de muestras se realizó de forma aleatoria en una porción determinada de los páramos de Guasca y Cruz verde, específicamente en zonas cercanas a los frailejones. Estas muestras se tomaron utilizando el sistema de recorrido en diagonal, de manera que se pudiera obtener una muestra representativa (Figura 17). Para lo anterior, se realizó una inspección del área del muestreo con el fin de determinar las zonas a muestrear, tomando puntos aleatorios en un esquema en dónde se demarcaron 5 áreas de 25 m² equidistantes. A partir de las 5 parcelas demarcadas previamente, se tomaron de 10 a 20 cm de profundidad, cinco submuestras con un peso de 100 g cada una, que seguidamente se mezclaron uniformemente para obtener 5 muestras en total, cuyo peso promedio fue de 500g cada una (Burlage *et al.*, 1998).

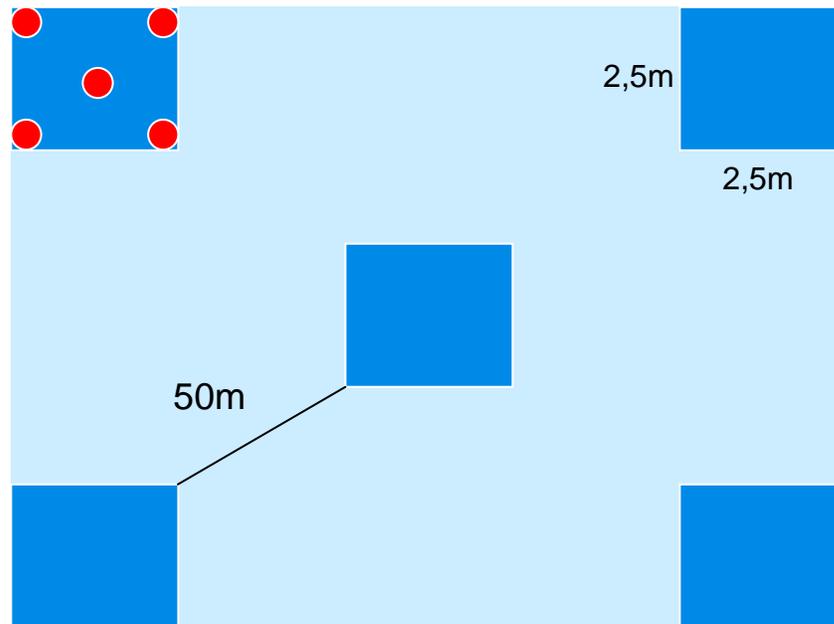


Figura N° 17: Esquema utilizado para la toma de muestras en los Páramos de Guasca y Cruz Verde

Fuente: Autores

7.2.2 Equipo de muestreo

Para la recolección de las muestras se utilizó un barreno, el cuál fue lavado previamente con agua destilada estéril y seguidamente se dejó sumergido en hipoclorito de sodio al 5,2% durante 10 minutos. Luego, se realizó un último lavado con agua destilada estéril y fue sellado con papel kraft.



Figura 18: Herramientas utilizadas en el muestreo (Barreno)

Fuente: Autores

7.2.3 Transporte de muestras

Para el transporte de muestras se utilizaron bolsas plásticas de cierre hermético, estériles y se almacenaron en condiciones de refrigeración a 4°C. Estas fueron transportadas y procesadas el mismo día en el laboratorio, para lo cual, las muestras de suelo se tamizaron utilizando un tamiz de 2 mm, y seguidamente se realizó una preincubación durante 24 horas a 25°C. Posteriormente, se llevaron a cabo los procesos de aislamiento.



Figura N° 19: Transporte de muestras

Fuente: Autores

7.3 Determinación de pH y Temperatura del suelo

El pH del suelo se midió potenciométricamente (pHmetro Inolab®) mezclando 20 g de suelo en agua destilada en una proporción de 1:2,5. Posteriormente se agitó la muestra y se registró el valor de pH. Ese procedimiento se realizó en el laboratorio. La temperatura del suelo se tomó con un termómetro de suelos marca Brixco, introduciéndolo a una profundidad de 10 a 20 cm aproximadamente².

7.4 Medios de cultivo

Para la recuperación e identificación de hongos filamentosos se utilizaron medios de cultivo sólidos como el agar papa dextrosa (PDA), agar Czapeck, agar Extracto de Malta, agar Extracto de Levadura, OGYE y el agar Sabouraud (Ver Anexo 1). El PDA se utilizó para llevar a cabo los procedimientos de aislamiento. Este medio, fue útil ya que proporcionó gran cantidad de nutrientes (fuente de nitrógeno y carbono), lo que permitió recuperar una amplia variedad de hongos filamentosos. Para el aislamiento de los hongos filamentosos a los medios de cultivo se les adicionó Cloramfenicol (400ppm) 0,05mg/mL.

² ENTREVISTA: Dr. Rubén Darío Torrenegra, Profesor Titular, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C, 18 de Agosto de 2007.

7.5 Métodos de aislamiento

7.5.1 Técnica de dilución en placa

Esta técnica se utilizó para cuantificar los microorganismos en placa de cultivo realizando diluciones del suelo. Por consiguiente, se obtuvo un estimado de la población viable cultivable en los medios de cultivos.

Procedimiento: Se hicieron diluciones seriadas en base 10 de las muestras en agua peptonada 0,1%, desde la dilución 10^{-1} – 10^{-5} , las cuales se agitaron por cinco minutos, para luego realizar siembra masiva en superficie (0,1 mL) en los medios de cultivo. Se sembraron las diluciones 10^{-3} – 10^{-5} , por duplicado. Posteriormente se llevaron a incubar de 3 a 6 días a 25°C para observar crecimiento de colonias de hongos, a partir de las cuales por subcultivos se obtuvieron cultivos axénicos de acuerdo a las diferentes características macroscópicas (Valencia, 1979).

7.5.2 Técnica de lavado de suelo

En esta técnica se utilizó el aparato lavador modificado (ver numeral 5.2.2) que permitió aislar hongos filamentosos en estado activo, cuyas hifas permanecieron adheridas a las partículas o al sustrato.

Procedimiento: Se tomaron 20 g de suelo previamente cernido por tamiz de 2mm y se colocaron en el aparato lavador (Figura 20a). Las partículas de suelo lavadas se tomaron del segundo embudo y se secaron sobre papel de filtro en una caja de petri (Ver figura 20b), para luego transferir cinco partículas sobre placas con agar PDA por duplicado. Posteriormente se llevaron las placas a incubación de 3 a 6 días a 25°C para observar crecimiento de colonias de hongos, a partir de las cuales se obtuvieron cultivos axénicos realizando subcultivos de acuerdo a las diferentes características macroscópicas (Valencia, 1979).



Figura Nº 20: 20a Aparato Lavador. **20b** Suelo procesado

Fuente: Autores

7.5.3 Técnica de siembra directa de suelo

Este método se lleva a cabo introduciendo fragmentos del suelo fresco en la superficie de placas con diferentes medios de cultivo, para posteriormente observar el crecimiento micelial de los hongos presentes en las muestras (Mueller *et al.*, 2004).

Procedimiento: Se tomaron partículas pequeñas de suelo fresco y se colocaron en superficies sobre placas con agar PDA (Anexo 1) con adición de Cloramfenicol (400ppm) 0,05mg/mL por duplicado, cinco partículas en cada placa. Seguidamente se llevaron las placas a incubar de 3 a 6 días a 25°C con el fin de observar crecimiento de colonias fúngicas.

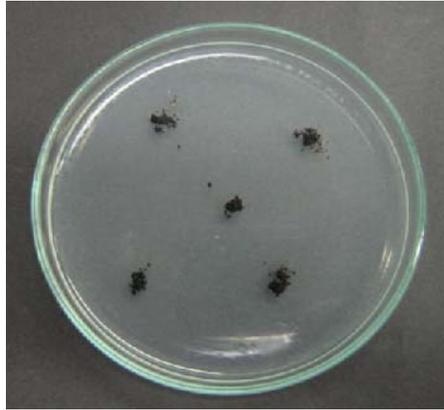


Figura Nº 21: Siembra de partículas de suelo en Medio PDA con adición de Cloramfenicol (400ppm) 0,05mg/mL.

Fuente: Autores

7.6 Identificación de género y posible especie

7.6.1 Observación microscópica

7.6.1.1 Técnica de cinta pegante

Se realizó un doblado de una tira de cinta de 4cm, con el lado adhesivo hacia fuera y se sostuvo con pinzas. El lado adhesivo se presionó firmemente contra la superficie de la colonia del hongo a estudiar. El micelio aéreo se une a la superficie adhesiva por lo cual es fácilmente separada de la colonia. La tira de cinta con micelio aéreo se colocó en una gota de azul de lactofenol (Anexo 2), con un portaobjetos.

7.6.1.2 Montaje por disección

Para el montaje por disección se utilizó una aguja de disección para tomar una parte de la superficie de la colonia que luego se depositó sobre una gota de azul de lactofenol. Con la ayuda de otra aguja se extendió el preparado y se cubrió con una lámina cubreobjetos, para luego ser observada al microscopio con un aumento de 40X y 100X.

7.6.2 Empleo de claves taxonómicas

Para la identificación del género y posible especie de los hongos filamentosos aislados fue necesario la utilización de claves taxonómicas, para ello se tuvo en cuenta las características macro y microscópicas, es así como fue preciso examinar

los aislamientos de cada una de las cepas utilizando diferentes medios de cultivo para la caracterización macroscópica e inducción de estructuras de reproducción. Así mismo, fue necesaria la utilización del Programa Motoc 2.0 ® para la observación de las características morfológicas a nivel microscópico, para posteriormente, ser confrontadas con las descripciones reportadas por los autores en la literatura sobre identificación de hongos filamentosos.

La literatura que se utilizó fue:

- ✚ Alexopoulos, C, 1996.
- ✚ Barnett y Hunter, 1972.
- ✚ Carone, D, 1986.
- ✚ Domsch y Gams, 1980.
- ✚ Gilman, J., 1963.
- ✚ Hoog, G, 2000.
- ✚ Koneman, E, 1932.
- ✚ Robinson, P., 1978.
- ✚ Samson y Pitt, 1990.
- ✚ Samson *et al.*, 2004.
- ✚ Samson *et al.*, 2000.
- ✚ Zapater, R, 1965.
- ✚ <http://microbiology.mtsinai.on.ca/mig/opfungi/index.shtml>, 2007.
- ✚ http://www.socalemi.org/atlas_hongos.htm, 2003.
- ✚ <http://www.doctorfungus.org/imageban/,2008>.
- ✚ <http://www.cbs.knaw.nl/Aspergillus/BioloMICS.aspx,2008>.
- ✚ <http://www.mycobank.org/MycoTaxo.aspx?Link=T&Rec=209842>, 2008.

7.7 Métodos de conservación

7.7.1 Suelo estéril

Se procesó el suelo utilizando tamices de tamaño de poro de 0.25mm y 0.025mm. Se adicionaron 2g de suelo a los viales que posteriormente se esterilizaron a 121°C, 15 lb de presión por 15 minutos, por duplicado. A cada uno de los cultivos se les

agregó Tween 80 al 0,1% para obtener una suspensión de conidios, con una concentración aproximada de 10^6 conidios/mL o de micelio, de la cual se tomó 1ml y se adicionó a cada frasco. Después de su incubación por dos días a 25°C se almacenaron en refrigeración a 4°C.

7.7.2 Tubo con agar inclinado

Las cepas se conservaron en medio agar papa dextrosa (PDA) en plano inclinado (Ver Anexo 1). El medio fue distribuido en tubos 16 x 150 con tapa rosca hasta 2/3 de la capacidad total, éste se esterilizó durante 15 minutos a 121°C y posteriormente se dejó solidificar en posición horizontal. Se transfirió un inóculo de un cultivo activo a los tubos y se llevaron a incubar a 25°C por 7 días. Se almacenaron a temperatura ambiente y se verificó periódicamente si estos se encontraban contaminados o deshidratados, para realizar nuevos pases.

7.7.3 Glicerol al 10%

Se esterizaron tubos eppendorf con 1,5 ml de glicerol al 10% durante 15 minutos a 121°C, 15 lb de presión, posteriormente, a partir de cultivos activos se tomaron varios discos de aproximadamente 4 mm de diámetro usando pitillos estériles que se depositaron en los viales. Estos se almacenaron a -70°C.

7.8 Re siembra periódica en medios frescos

De las cepas conservadas en suelo estéril, tubo inclinado y glicerol al 10% se realizaron subcultivos a medios frescos con el objetivo de evaluar la viabilidad y pureza del cultivo conservado. Para esto se utilizaron los siguientes medios: agar papa dextrosa (PDA), agar czapeck (Cz), agar extracto de malta y agar sabouraud. Después de sembrados se llevaron a incubar a 25°C durante 7 días. Los viales se almacenaron según el método utilizado y se evaluó su pureza y viabilidad durante cuatro meses.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Determinación de pH y temperatura del suelo

8.1.1 Determinación de pH

El pH se determinó en el laboratorio de Química Microbiológica de la Pontificia Universidad Javeriana, usando un pHmetro marca Inolab. Se mezclaron 20g de suelo en agua destilada (proporción 1:2.5) realizando 25 repeticiones.

Tabla No. 2: Promedio pH de los Páramos de Guasca y Cruz Verde

Páramo	Promedio pH
Guasca	5.38
Cruz Verde	5.07

(Ver anexo 3 y 4)

Según los resultados obtenidos, (Ver tabla 2) el pH de los suelos de páramos de Guasca y Cruz Verde para aislamientos de hongos filamentosos es el óptimo, ya que se encuentra en un rango de 4 a 6 (Kavanagh, 2005; Diemer, 1996). Debe ser así, debido a que según Cochrane, 1963; un pH alto perjudica enormemente el desarrollo de los hongos por la solubilidad de los metales y a pH bajos se afectan los sistemas enzimáticos, el ingreso de vitaminas esenciales, ácidos orgánicos y la toma de minerales.

8.1.2 Determinación de temperatura

Para la determinación de la temperatura del suelo se utilizó un termómetro de suelos marca Brixco, introduciendo a una profundidad de 15 cm aproximadamente.

Tabla No. 3: Temperatura promedio de los Páramos de Guasca y Cruz Verde

Páramo	Temperatura ambiente (°C)	Temperatura suelo (°C)
Guasca	10.5	7.8
Cruz Verde	12.3	9,1

La temperatura y el pH son factores importantes en el aislamiento microbiano, debido a que estas condiciones son un punto de partida clave para estimular o inhibir el crecimiento de la flora de interés. Por consiguiente, para el procesamiento de las muestras fue necesario manejarlos a una temperatura que no afectara el metabolismo de los microorganismos objeto de investigación, para lo cual se utilizó una temperatura de 11°C en el momento de almacenar las muestras y así estabilizarlas. Esto con el fin de dar condiciones similares a las de los páramos (Ver tabla 3), sin afectar la proliferación fúngica. Como lo menciona Diemer en 1998, la temperatura de suelos de páramos máxima es de 9,4°C y mínima de 0,6°C, en épocas de invierno y verano. En cuanto a la temperatura ambiente, en otros estudios se ha reportado que alcanza temperaturas hasta de 20 a 21°C como máximo en horas de la mañana (Pérez, 1984). Por lo que para los métodos de aislamiento, las muestras fueron incubadas a 25°C para poder reactivar la población fúngica, ya que según Biles y High, 2003; es la temperatura óptima para el crecimiento de hongos en medios enriquecidos como MEA y PDA.

8.2 Métodos de Aislamiento

8.2.1 Aislamientos obtenidos según género

Para el análisis de los aislamientos obtenidos según el género con respecto al método se determinó la frecuencia de aparición de cada uno de los géneros aislados en cada método (Tablas No. 4 y 5).

En el páramo de Cruz Verde se obtuvieron un total de ocho géneros con los diferentes métodos de aislamiento, con un total de 64 aislamientos con los tres métodos (Tabla No. 4).

Tabla No. 4: Relación de géneros aislados del páramo de Cruz Verde

Número de géneros	Géneros aislados	Método						Total	
		Dilución		Suelo		Lavado			
		No.A	%No.A	No.A	%No.A	No.A	%No.A	No.TA	%TA
1	<i>Aspergillus</i> sp.	7	18,42	3	16,67	1	12,50	11	17,19
2	<i>Eupenicillium</i> sp.	1	2,63					1	1,56
3	<i>Microsporium</i> sp.			1	5,56			1	1,56
4	<i>Paecilomyces</i> sp.	1	2,63					1	1,56
5	<i>Penicillium</i> sp.	27	71,05	14	77,78	6	75,00	47	73,44
6	<i>Sterigmatocystis</i> sp.	1	2,63					1	1,56
7	<i>Rhizopus</i> sp.	1	2,63					1	1,56
8	<i>Trichoderma</i> sp.					1	12,50	1	1,56
Total Aislamientos por Método		38		18		8		64	
Total Géneros por Método		6		3		3		8	

No.A: Número de aislamientos (frecuencia de repeticiones de aislamientos del mismo género).

%No.A: Porcentaje del número de aislamientos por género (suma total de aislamientos de cada género/número total de aislamientos en cada método).

No.TA: Número total de aislamientos de cada género (suma total de aislamientos de cada género en los tres métodos).

%TA: Porcentaje de incidencia de cada género (número de aislamientos de cada género/número total de aislamientos obtenidos por los 3 métodos).

Así mismo para el páramo de Guasca se determinaron diez géneros con los tres métodos utilizados para el aislamiento, con un total de 65 aislamientos (Tabla No. 5).

Tabla No. 5: Relación de géneros aislados del páramo de Guasca

Géneros aislados	Método						Total	
	Dilución		Suelo		Lavado			
	No.A	%No.A	No.A	%No.A	No.A	%No.A	No.TA	%TA
<i>Alternaria</i> sp.	1	3,45					1	1,54
<i>Aspergillus</i> sp.	10	34,48	7	43,75	7	35,00	24	36,92
<i>Byssochlamys</i> sp.			1	6,25			1	1,54
<i>Cladosporium</i> sp.	1	3,45					1	1,54
<i>Curvularia</i> sp.	1	3,45					1	1,54
<i>Emericella</i> sp.					1	5,00	1	1,54
<i>Fusarium</i> sp.	1	3,45					1	1,54
<i>Mucor</i> sp.					1	5,00	1	1,54
<i>Paecilomyces</i> sp.			1	6,25	2	10,00	3	4,62
<i>Penicillium</i> sp.	15	51,72	7	43,75	9	45,00	31	47,69
Total Aislamientos por Método	29		16		20		65	
Total Géneros por Método	6		4		5		10	

Los resultados obtenidos permiten observar que los géneros de mayor incidencia en los dos páramos (Guasca y Cruz Verde) corresponden a *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp. (Tablas 4 y 5), siendo estos los más comunes en suelo según Mayea y colaboradores, 2001. En cuanto a *Penicillium*, se aislaron e identificaron una amplia variedad de especies, como es el caso de *Penicillium brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *P. crustosum* y *P. expansum* (Tablas 4 y 5), que según Comerio y Cormack en el 2004, son propios de suelos de diferentes regiones del mundo, con porcentajes de aislamientos que varían de 3.0 a 13%, haciendo uso de medios de cultivo (MEA, CzA, Extracto de levadura) que proporcionen los requerimientos nutricionales necesarios para la proliferación de los mismos. Cabe destacar, que los medios de cultivo empleados por Comerio y Cormack para el aislamiento fueron semejantes a los utilizados en este estudio. Por otro lado, para el género *Aspergillus* se demostró una vez más la ubicuidad y la capacidad de crecer a diferentes temperaturas sobre sustratos con diverso contenido de humedad, debido a que se

encontraron similares especies tanto en el páramo de Guasca como en el de Cruz Verde. Así mismo, en el estudio realizado por Khalid y colaboradores en el 2006, se pudo evidenciar que estos dos géneros son los de mayor incidencia en suelo, muy probablemente por la capacidad que tienen para producir una amplia gama de antibióticos y micotoxinas que los protegen de otros organismos del suelo dificultando el crecimiento de otras especies fúngicas; así como también el extenso sistema enzimático que poseen.

No obstante, se encontraron otros géneros en menor proporción que también son aislados de suelos con bastante frecuencia, como es el caso de *Alternaria* sp., *Byssochlamys* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Emericella* sp., *Eupenicillium* sp., *Mucor* sp., *Paelocymeces* sp., *Rhizopus* sp., *Sterigmatocystis* sp. y *Trichoderma* sp (Tabla 4 y 5) (Sánchez y Romero, 2004; Martínez *et al.*, 2005, Khalid *et al.*, 2006). Lo anterior demuestra que no sólo la distribución en el suelo influye en el porcentaje de incidencia o frecuencia de aparición, sino también las diversas características fúngicas como, la esporulación, tasa de crecimiento, el sistema enzimático, los requerimientos nutricionales y la tolerancia a diversas condiciones de estrés, los que hacen en un última instancia ser los responsables del porcentaje de aparición de lo microorganismos en un ecosistema (Khalid *et al.*, 2006).

8.2.2 Géneros aislados en cada método

En la Tabla No. 6 y 7 se realizó el análisis de los métodos utilizados en el estudio teniendo en cuenta el total de los aislamientos y géneros por método, el porcentaje de cada uno de los géneros obtenidos y la sensibilidad de los tres métodos para analizar cuál de éstos proporcionó mejores resultados en cuanto al aislamiento de géneros.

Tabla No. 6: Análisis de métodos según los géneros obtenidos en el páramo de Cruz Verde:

	Método			Total
	Dilución	Suelo	Lavado	
Total Aislamientos por Método	38	18	8	64
Total Géneros por Método	6	3	3	8
% Aislamientos por Método	59,38	28,13	12,50	100
% Géneros aislados por Método	15,79	16,67	37,50	
% Sensibilidad de Cada Método	75	37,50	37,50	

% Aislamiento por Método: Total de aislamiento por método/total de aislamientos

% Géneros aislados por cada Método: Número de géneros por método/número de aislamientos por método

% Sensibilidad del Método: Relación del porcentaje de géneros aislados en cada método con el porcentaje de aislamientos por método.

Gracias a la utilización de los tres métodos se logró obtener para el páramo de Cruz Verde un total de 64 aislamientos de cultivos puros correspondientes a 8 géneros, de los cuales 6 pertenecen a la técnica de dilución en placa, 3 a la técnica de siembra directa de suelo y 3 a la técnica de lavado de suelo, teniendo en cuenta que algunos géneros pueden estar presentes en diferentes técnicas (Tabla 6).

Tabla No. 7: Análisis de métodos según los géneros obtenidos en el páramo de Guasca

	Método			Total
	Dilución	Suelo	Lavado	
Total Aislamientos por Método	29	16	20	65
Total Géneros por Método	6	4	5	10
% Aislamientos por Método	44,62	24,62	30,77	100
% Géneros aislados por Método	20,69	25	25	
% Sensibilidad de Cada Método	40	26,67	33,33	

Por otra parte, según la Tabla No 6, en el páramo de Guasca se obtuvieron un total de 65 aislamientos de cultivos puros correspondientes a 10 géneros, de los cuales 6 pertenecen a la técnica de dilución en placa, 4 a la técnica de siembra directa de

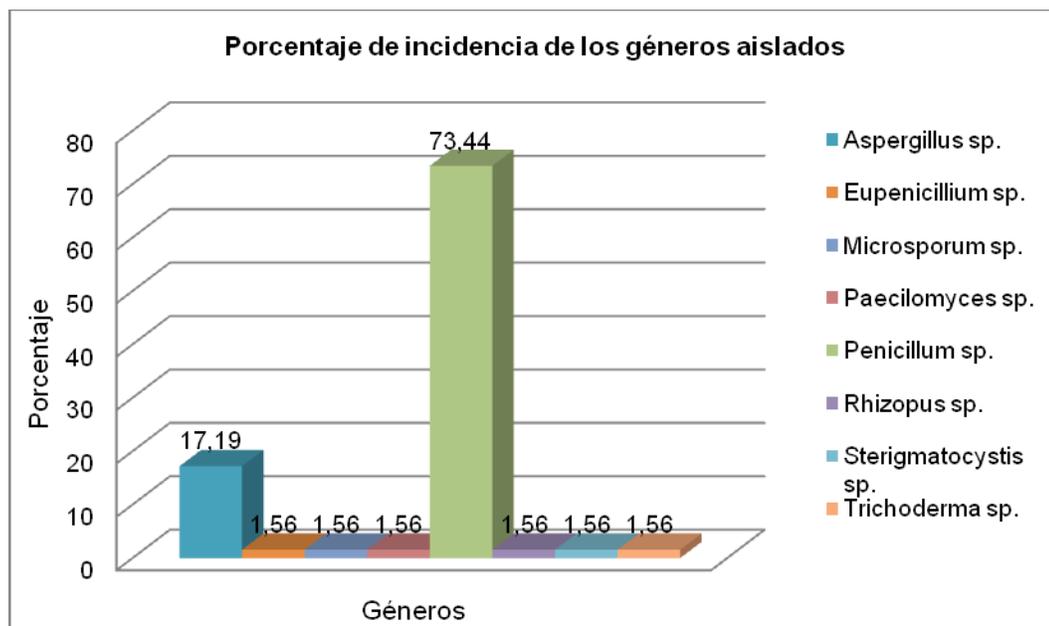
suelo y 5 a la técnica de lavado de suelo, teniendo presente que algunos géneros pueden estar presentes en diferentes técnicas.

8.2.3 Porcentaje de incidencia de los géneros aislados

Con base en los datos de las No. 4 y 5 se calculó el porcentaje de incidencia de cada uno de los géneros aislados utilizando las tres técnicas para así establecer el género predominante dentro de las dos poblaciones de los páramos objeto de estudio.

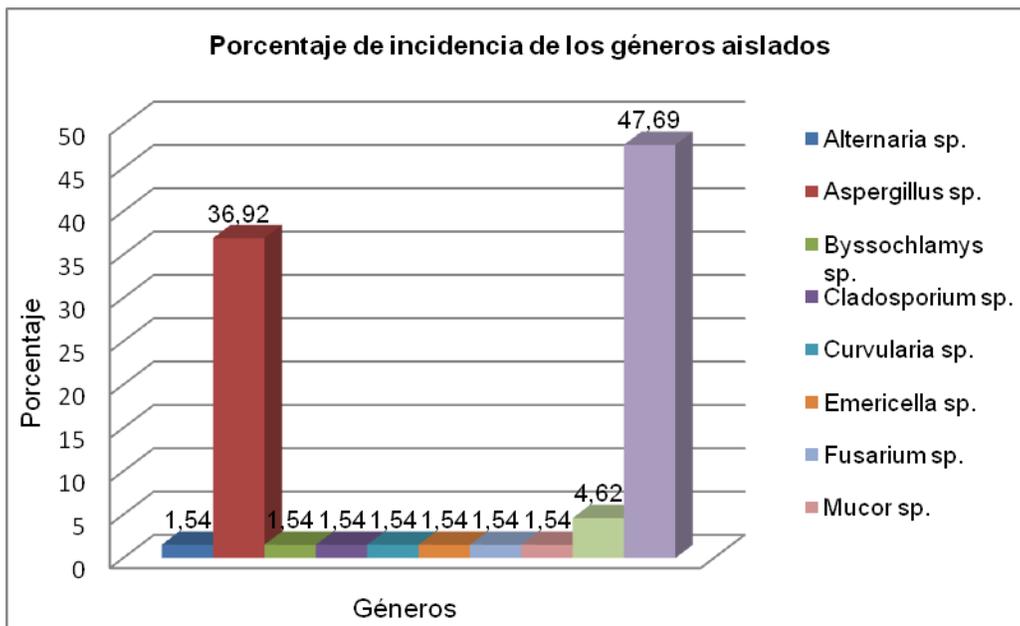
Según la Figura No.22 en el páramo de Cruz Verde los géneros de mayor incidencia con las diferentes técnicas utilizadas fueron: *Penicillium* sp. con un 73,44% y *Aspergillus* sp. con un 17,19%; y los de menor incidencia: *Eupenicillium* sp., *Microsporium* sp., *Paecilomyces* sp., *Sterigmatocystis* sp., *Rhizopus* sp. y *Trichoderma* sp. con un 1,56% de incidencia.

Figura No. 22: Porcentaje de Incidencia de los Géneros Aislados del Páramo de Cruz Verde



En el páramo de Guasca (Figura No. 23) los géneros de mayor incidencia fueron: *Penicillium* sp. con un 47,69%, *Aspergillus* sp. con un 36,92% y *Paecilomyces* sp. con un 4,62% y los de menor incidencia *Alternaria* sp., *Byssoschlamys* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Emericella* sp., *Fusarium* sp. y *Mucor* sp. con un porcentaje de incidencia del 1,54%.

Figura No. 23: Porcentaje de Incidencia de los Géneros Aislados del Páramo de Guasca



Los anteriores resultados coinciden con los obtenidos por Cabrera y Chitiva en el 2001, en el cual se aislaron e identificaron 18 géneros de hongos filamentosos del suelo del páramo de Guasca y 45 especies. Así mismo obtuvieron una mayor incidencia de los géneros *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp. lo cual concuerda con lo obtenido en el presente estudio para los dos páramos.

En cuanto al páramo de Guasca, además de los dos géneros mencionados anteriormente, se encontraron también *Alternaria* sp., *Curvularia* sp., *Emericella* sp., *Fusarium* sp. y *Paecilomyces* sp., lo que coincide con el estudio de Cabrera y Chitiva, en el que se reportaron especies de éstos géneros. Esto indica que la presencia de éstos microorganismos es típica de éste páramo en particular. Sin

embargo en el presente estudio se aislaron además los géneros *Byssochlamys* sp., *Cladosporium* sp. y *Mucor* sp., géneros que no fueron reportados por Cabrera y Chitiva en el 2001.

En un estudio posterior de Chitiva y colaboradores, 2002, de muestras de suelo y de hojas de *Espeletia killipii* del páramo de Guasca y de hojas de *Espeletia barclayana* del páramo El Tablazo, y Sánchez y Romero en el 2004, en su estudio de hongos asociados a *Macleania rupestris* en los páramos El Granizo y Guasca se aislaron cepas pertenecientes a los géneros anteriormente descritos, a excepción del género *Byssochlamys* sp.

En el páramo de Cruz Verde se aislaron géneros que fueron encontrados también en el estudio de Chitiva y colaboradores en el 2002. Estos son: *Paecilomyces* sp., *Rhizopus* sp., y *Trichoderma* sp. Estos resultados coinciden también, con lo reportado por Gualdrón y colaboradores en 1997, del páramo de Chisacá. Se aislaron géneros como *Eupenicillium* sp., *Microsporum* sp. y *Sterigmatocystis* sp., que no fueron reportados en anteriores trabajos lo que permite evidenciar la diversidad fúngica de los páramos.

8.2.4 Análisis de los aislamientos obtenidos según especies

Para el análisis de especies aisladas, se tuvo en cuenta el número de aislamientos en cada uno de los páramos dependiendo del método utilizado. Así mismo se determinó el porcentaje de incidencia de cada especie y se analizó la sensibilidad de cada método en relación con el número de aislamientos y especies obtenidas.

8.2.4.1 Especies aisladas

Utilizando los tres métodos de aislamiento anteriormente descritos, se logró un total de 129 aislamientos de colonias axénicas, de los cuáles 65 corresponden al Páramo de Guasca y 64 al Páramo de Cruz Verde.

En el páramo de Guasca las 65 cepas axénicas corresponden a 42 especies agrupadas en 10 géneros, mencionados anteriormente, los cuáles están distribuidos según el método utilizado (Ver tabla No. 8). En el páramo de Cruz Verde las 64

cepas aisladas corresponden a 43 especies agrupadas en 8 géneros (Ver tabla No. 9). No obstante, cabe destacar que algunas especies pueden estar presentes en varios de los procedimientos.

Tabla No. 8 Análisis de especies obtenidas según el método de aislamiento en el Páramo de Guasca

	MÉTODO			TOTAL
	DILUCIÓN	SUELO	LAVADO	
Total Aislamientos por Método	29	16	20	65
Total Especies por Método	24	12	6	42
% Aislamientos por Método	44,62	24,62	30,77	100
%Especies aisladas por Método	82,76	75	30	
%Sensibilidad de cada Método	18,55	30,47	9,75	

% Aislamiento por Método: Total de aislamiento por método/total de aislamientos

% Especies aislados por cada Método: Número de especies por método/número de aislamientos por método

% Sensibilidad del Método: Relación del porcentaje de géneros aislados en cada método con el porcentaje de aislamientos por método.

Tabla No. 9: Análisis de especies obtenidas según el método de aislamiento en el Páramo de Cruz Verde

	MÉTODO			TOTAL
	DILUCIÓN	SUELO	LAVADO	
Total Aislamientos por Método	38	18	8	64
Total Especies por Método	30	9	4	43
% Aislamientos por Método	59,38	28,13	12,50	100
%Especies aisladas por Método	78,95	50	50	
%Sensibilidad de cada Método	13,30	17,78	40	

En la técnica de dilución en placa se obtuvo un mayor número de aislamientos, debido a que se utilizaron medios enriquecidos y selectivos (adición de Cloramfenicol (400ppm) 0,05mg/mL) que permitieron obtener un estimativo de la población viable cultivable (Valencia, 1979). Así mismo, según Mueller y colaboradores, 2004, es uno de los métodos más utilizados por ser sencillo y rápido para estimativos de la microcarga de suelos a estudiar y por ser uno de los métodos que aísla mayor número de hongos esporulantes.

No obstante, la técnica de siembra directa de suelo proporcionó una menor cantidad de aislamientos de hongos filamentosos que en la técnica de dilución en placa, debido a que la actividad metabólica de los microorganismos que se encuentran en estos ecosistemas es bastante lenta. Por consiguiente, para su recuperación es necesario realizar un pre-enriquecimiento que proporcione nutrientes y condiciones necesarias que favorezcan y generen un ambiente propicio, para que su crecimiento sea óptimo (Warcup, 1950). Lo anterior se debe a que los páramos presentan condiciones ambientales extremas, como por ejemplo la alta presión osmótica, suelos ácidos, aire con menor densidad y humedad relativa, menor presión atmosférica y baja temperatura, lo que imposibilita la adaptación de las especies a otros ambientes. Es decir, que para el procesamiento de las muestras se debe tener en cuenta las condiciones en las cuales fueron tomadas las muestras de suelo.

Por el contrario, en la técnica de lavado de suelo se obtuvo un menor espectro de aislamientos que con la técnica de siembra directa, ya que permitió la separación de los hongos de mayor y menor esporulación, por el uso de filtros reteniendo los micelios en estado activo y dejando pasar las esporas al ser de menor tamaño. Este método resultó efectivo, debido a que posibilitó la obtención de hongos que rara vez aparecen en los métodos de dilución en placa, como son *Emericella* sp., *Microsporium* sp. y *Curvularia* sp.

Tabla No. 10: Relación de especies aisladas por Método en el Páramo de Guasca

Género y posible especie	Método						TOTAL	
	Dilución		Suelo		Lavado			
	NºA	%NºA	NºA	%NºA	NºA	%NºA	NºTA	%TA
<i>Alternaria alternata</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Aspergillus candidus</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Aspergillus conicus</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Aspergillus clavatus</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Aspergillus flavus</i>	3	10,34			2	10	5	7,69
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1	3,45	2	12,5	3	15	6	9,23
<i>Aspergillus humicola</i>			1	6,25	1	5	2	3,08
<i>Aspergillus oryzae</i>			1	6,25	1	5	2	3,08
<i>Aspergillus janus</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Aspergillus terreus</i>			1	6,25			1	1,54

Relación de especies aisladas por Método en el Páramo de Guasca

<i>Aspergillus terricola</i>			1	6,25			1	1,54
<i>Aspergillus versicolor</i>			1	6,25			1	1,54
<i>Aspergillus sydowii</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Aspergillus wentii</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Byssochlamys fulva</i>			1	6,25			1	1,54
<i>Curvularia sativus</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Emericella nidulans</i>					1	5	1	1,54
<i>Fusarium oxysporum</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Mucor circinelloides</i>					1	5	1	1,54
<i>Paelocymeces lilacinus</i>			1	6,25	1	5	2	3,08
<i>Paecilomyces variotii</i>					1	5	1	1,54
<i>Penicillium aethiopicum</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Penicillium bifforme</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Penicillium brevicompactum</i>					1	5	1	1,54
<i>Penicillium carneum</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Penicillium chrysogenum</i>	2	6,90					2	3,08
<i>Penicillium citreovirens</i>	2	6,90					2	3,08
<i>Penicillium citrinum</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Penicillium duclauxii</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Penicillium expansum</i>					2	10	2	3,08
<i>Penicillium funiculosum</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Penicillium frequentans</i>			1	6,25	1	5	2	3,08
<i>Penicillium hirsutum</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Penicillium herquei</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Penicillium italicum</i>			1	6,25			1	1,54
<i>Penicillium nalgiovense</i>			1	6,25	2	10	3	4,62
<i>Penicillium oxalicum</i>	2	6,90					2	3,08
<i>Penicillium rugulosum</i>			2	12,5	1	5	3	4,62
<i>Penicillium spinulosum</i>	1	3,45					1	1,54
<i>Penicillium stoloniferum</i>			2	12,5	1	5	3	4,62
<i>Penicillium verruculosum</i>					1	5	1	1,54

NºA: Número de aislamientos (frecuencia de repeticiones de aislamientos de la misma especie).

%NºA: Porcentaje del número de aislamientos por género (suma total de aislamientos de cada especie/número total de aislamientos en cada método).

NºTA: Número total de aislamientos de cada especie (Suma total de aislamientos de cada especie en los tres métodos).

%TA: Porcentaje de incidencia de cada especie (número de aislamientos de especie/número total de aislamientos obtenidos por los 3 métodos).

% Aislamiento por Método: Total de aislamiento por método/total de aislamientos

% Especies aislados por cada Método: Número de especies por método/número de aislamientos por método

% Sensibilidad del Método: Relación del porcentaje de especies aisladas en cada método con el porcentaje de aislamientos por método.

Tabla No. 11: Relación de especies aisladas por Método en el Páramo de Cruz Verde

Género y posible especie	Método						TOTAL	
	Dilución		Suelo		Lavado		NºTA	%TA
	NºA	%NºA	NºA	%NºA	NºA	%NºA		
<i>Aspergillus aureolatus</i>			1	5,56			1	1,56
<i>Aspergillus flavipes</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Aspergillus fumigatus</i>	3	7,89	2	11,11	1	12,50	6	9,38
<i>Aspergillus ochraceus</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Aspergillus sydowii</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Aspergillus ustus</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Eupenicillium ornatum</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Microsporium nanum</i>			1	5,56			1	1,56
<i>Penicillium</i> sp1.	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium</i> sp2.			1	5,56			1	1,56
<i>Penicillium</i> sp3.			1	5,56			1	1,56
<i>Penicillium aculeatum</i>					1	12,50	1	1,56
<i>Penicillium atramentosum</i>			1	5,56			1	1,56
<i>Penicillium baarnense</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium brefeldianum</i>			2	11,11	1	12,50	3	4,69
<i>Penicillium claviforme</i>	3	7,89	1	5,56	1	12,50	5	7,81
<i>Penicillium carneum</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium corylophilum</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium crustosum</i>	1	2,63	1	5,56			2	3,13
<i>Penicillium echinulatum</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium ehrlichii</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium egyptiacum</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium funiculosum</i>	1	2,63	1	5,56	1	12,50	3	4,69
<i>Penicillium implicatum</i>					1	12,50	1	1,56

Relación de especies aisladas por Método en el Páramo de Cruz Verde

<i>Penicillium islandicum</i>					1	12,50	1	1,56
<i>Penicillium italicum</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium javanicum</i>	3	7,89	1	5,56			4	6,25
<i>Penicillium levitum</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium nalgiovense</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium melinii</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium miczynskii</i>	2	5,26	2	11,11			4	6,25
<i>Penicillium olsonii</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium palitans</i>			1	5,56			1	1,56
<i>Penicillium piscarium</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium simplicissimum</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium striatum</i>			1	5,56			1	1,56
<i>Penicillium terlikowskii</i>	2	5,26					2	3,13
<i>Penicillium vinaceum</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Penicillium viridicatum</i>			1	5,56			1	1,56
<i>Rhizopus oryzae</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Sterigmatocystis versicolor</i>	1	2,63					1	1,56
<i>Trichoderma harzianum</i>					1	12,50	1	1,56

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, se pudo confirmar que la población fúngica objeto de investigación aislada e identificada, corresponde a la microcarga normal de suelos de páramos Colombianos según lo reporta Chitiva y Cabrera en el 2001. Esto se debe a que las bajas temperaturas que se presentan en estos ecosistemas, lo hacen propicio para ciertos microorganismos que puedan tolerarlo, constituyéndose en un escenario oportuno para su proliferación. Lo anterior hace referencia a que los hongos paramunos presentan mecanismos de resistencia que los hacen adaptarse a condiciones ambientales adversas. Según Gadre y colaboradores, 2003, uno de ellos es la capacidad de producir enzimas que se adaptan al frío, teniendo una actividad a una temperatura inferior a los 20°C. Así mismo, estos organismos han desarrollado varias formas de adaptación como cambios estructurales a nivel de membrana, proteínas constitutivas y enzimas (Gerday *et al.*, 2000). En general, según Gocheva y colaboradores, 2006, se pueden resumir los mecanismos de adaptación en tres: función de enzimas, transporte de nutrientes y función de la membrana celular. Por consiguiente, se garantiza que los

hongos aislados de los dos páramos corresponden a estos ecosistemas y son comunes en suelo, sin ser producto de contaminación cruzada.

8.2.4.2 Porcentaje de incidencia de especies aisladas

Se calculó el porcentaje de incidencia de cada una de las especies aisladas con relación a los métodos de aislamiento, teniendo en cuenta los datos de la Tabla 10 y 11, con el fin de establecer el género y especie más predominante dentro de la población fúngica objeto de investigación en cada uno de los páramos.

En la figura 24 se puede observar que las especies de mayor incidencia en el Páramo de Guasca fueron *Aspergillus fumigatus* con 9.23% y *Aspergillus flavus* con un 7.69%. Por el contrario, las especies de menor incidencia fueron *Alternaria alternata* con 1.54% y *Curvularia sativus*, entre otras; que también hacen parte de los hongos característicos de suelo, pero en menor proporción (Gaxiola y Madinaveitia, 2007). Por el contrario, las especies de *Aspergillus* se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, caracterizándose por ser un género saprobio cosmopolita que se ha aislado prácticamente de cualquier sustrato, especialmente de suelo y materiales orgánicos en descomposición (Aristegui, 2002). Así mismo, en el estudio realizado por Manguiaterra y colaboradores en el 2003, la especie de mayor incidencia es *Aspergillus fumigatus*, debido a que puede crecer a temperaturas entre los 12 y 45°C y puede desarrollarse con un mínimo de aw de 0,85. En general, las especies más frecuentes de *Aspergillus* aisladas de suelo son: *A. fumigatus*, *A. flavus* y *A. niger* como lo reporta Torrenegra y Rueda en el 2005.

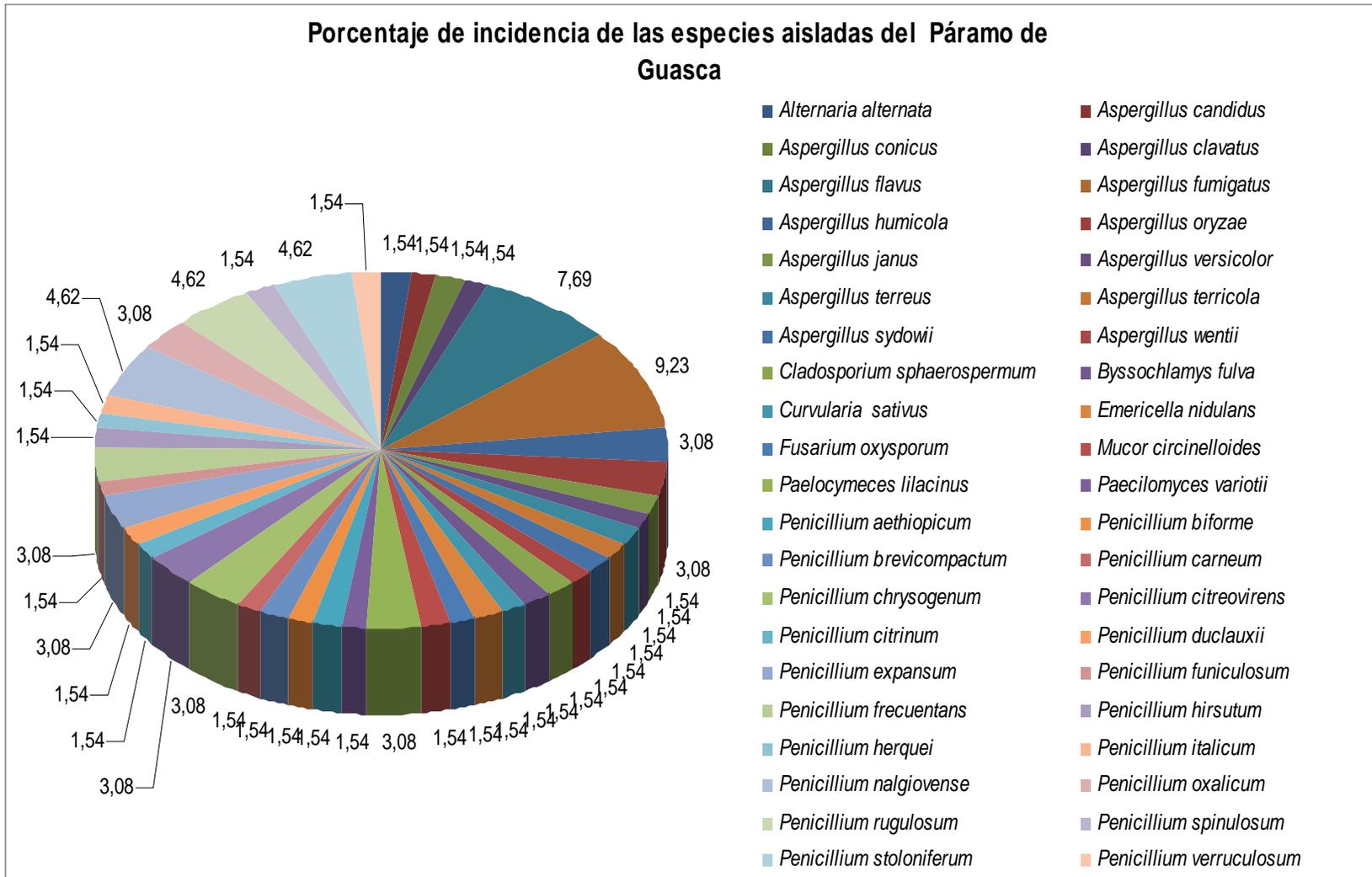


Figura 24: Porcentaje de incidencia de las especies aisladas en el Páramo Guasca

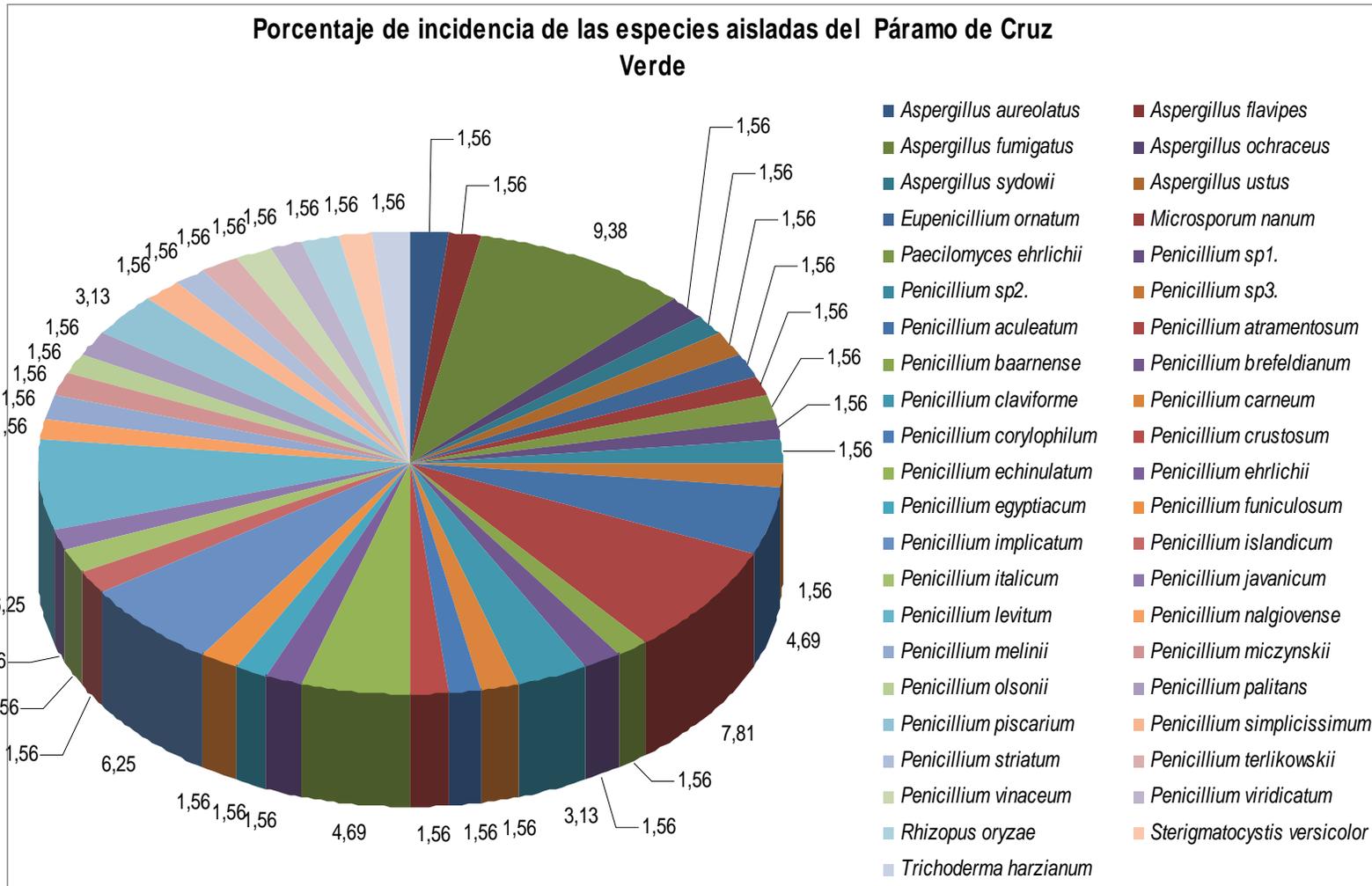


Figura 25: Porcentaje de incidencia de las especies aisladas en el PáramoCruz Verde

Los resultados obtenidos, permiten observar que las especies de mayor incidencia en el Páramo de Cruz Verde fueron *Aspergillus fumigatus* con un 9.38% y *Penicillium atramentosum* con 7.81%. Las especies de menor incidencia fueron *Eupenicillium ornatum* con 1.56% y *Sterigmatocystis versicolor*, entre otras (Figura 25).

Muchas de las especies aisladas de suelo en el presente estudio coinciden con las reportadas por Chitiva y colaboradores, 2002, como son: *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus terreus*, *Curvularia sativus*, *Paecilomyces lilacinus*, *Mucor circinelloides*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus oryzae*, *Trichoderma harzianum*, *Penicillium brevicompactum*, *Penicillium italicum* y *Penicillium echinulatum* entre otros. Así mismo muchas de estas especies también coinciden con los resultados del estudio de Gualdrón y colaboradores en 1997.

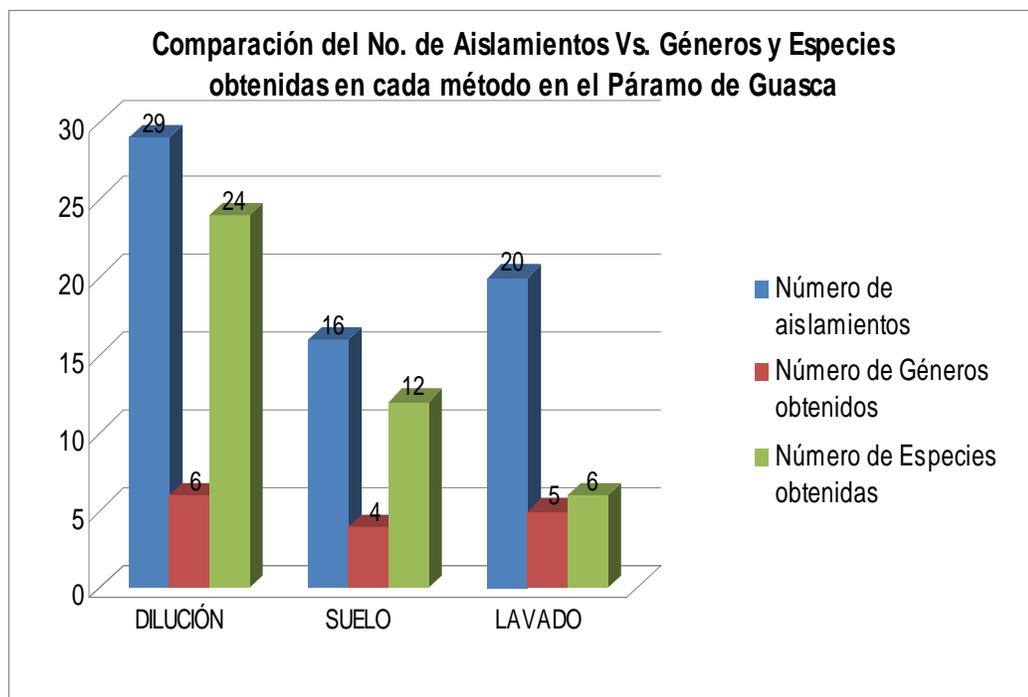
Lo anterior permite considerar los géneros y las especies mencionadas típicos de los ecosistemas páramos colombianos. Por otra parte las diferencias que se presentan entre el presente estudio y trabajos realizados anteriormente, pueden explicarse según Gualdrón y colaboradores, 1997, debido a que la carga microbiana en el mismo páramo varía de acuerdo con la vegetación y el tipo de suelo, esto permite deducir también que así como la microflora varía en el mismo páramo, varía según el páramo estudiado.

Además, según Pierson y Wight, 1991, la temperatura del suelo, que es menor a mayor profundidad, siendo la máxima a 10 cm de profundidad de 5 a 8°C (Pérez, 1984), puede influenciar significativamente el crecimiento y desarrollo de una gran variedad de organismos del suelo, explicando también las diferencias con anteriores trabajos.

8.2.5 Comparación de los métodos de aislamiento con relación al número de géneros y especies aisladas

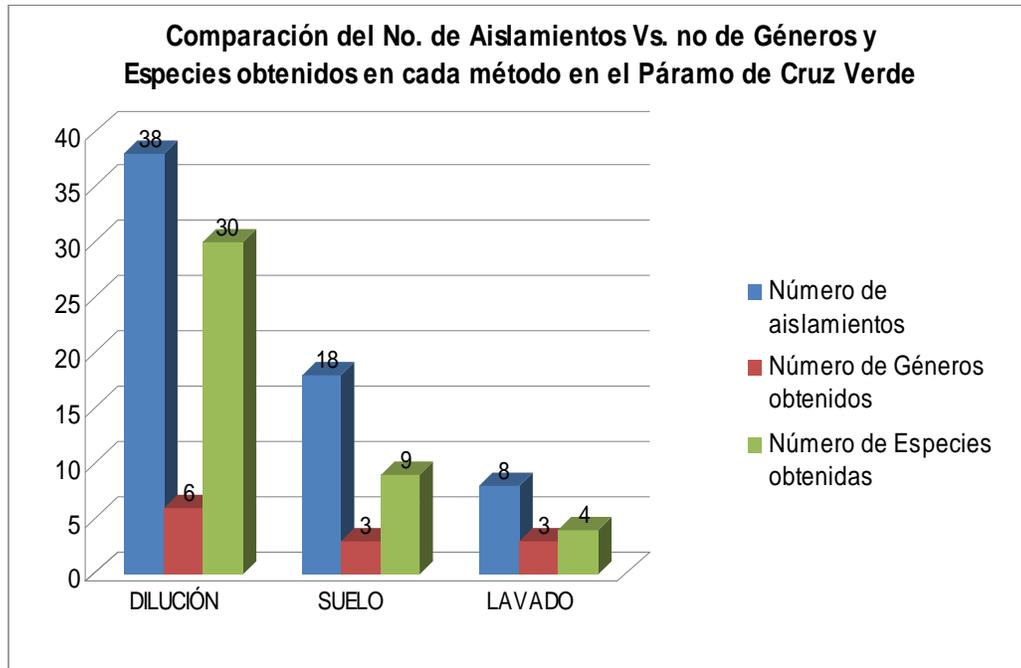
Para determinar cuál de los métodos de aislamiento de géneros y especies fue más efectivo, se comparó la sensibilidad de cada uno de estos. Los resultados se graficaron en las figuras 26 Y 27.

Figura 26: Relación del número de géneros y especies con respecto al método de aislamiento en el Páramo de Guasca



Teniendo en cuenta la figura No. 26, en el páramo de Guasca, el método de dilución en placa arrojó el mayor número de aislamientos en cuanto a género y especie, seguido del método de siembra directa en suelo, debido a que este presentó un número más alto de aislamientos y de especies. Contrario a esto, el lavado de suelo no fue tan eficiente, esto se debe a que el objetivo de este procedimiento es retener el micelio activo, lavando estructuras de menor tamaño como las esporas fúngicas. Esto mismo se evidenció en el páramo de Cruz Verde (Figura No. 27).

Figura 27: Relación del número de géneros y especies con respecto al método de aislamiento en el Páramo de Cruz Verde



8.3 Identificación Taxonómica

Gracias a los métodos de aislamiento anteriormente descritos, a partir de los suelos de Páramos de Guasca y Cruz Verde en zonas cercanas a la vegetación de frailejones, se obtuvieron un total de 129 aislamientos a partir de los cultivos axénicos, los cuáles corresponden a 15 géneros con su respectiva especie, cuya clasificación se basó en la observación de las colonias, características microscópicas y la medición de estructuras de cada una de las cepas utilizando el Programa MotiC 2.0® correlacionándolas con las claves taxonómicas.

Para cada cepa identificada, se muestran las características macroscópicas y microscópicas, el género, la posible especie y su respectiva foto macro y microscópica que corresponde a la descripción de cada especie.

8.3.1 Hongos Aislados de los Páramos de Guasca y Cruz Verde

8.3.1.1 GÉNERO: *Alternaria*

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Euascomycetes

Orden: Pleosporales

Familia: Pleosporaceae

8.3.1.1.1 *Alternaria alternata*

Características macroscópicas

Colonias que alcanzan 4.5 cm de diámetro en medio PDA. De apariencia algodonosa, color crema-grisáceo en la parte joven, en el centro se oscurece a café-amarillo. Reverso amarillo-grisáceo. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforos con 1 a 3 septos, simples o algunas veces ramificados, rectos o flexibles; con uno o algunos poros apicales, $50 \times 3.0-6.0 \mu\text{m}$. Los conidióforos y conidios se observan de color café-amarillos. Conidios largos, algunas veces ovoides o elipsoides. Se observa la característica forma de una granada, presenta un poro basal, picos cortos y cónicos, de paredes lisas, con aproximadamente 8 septos transversales y en menor cantidad longitudinales.

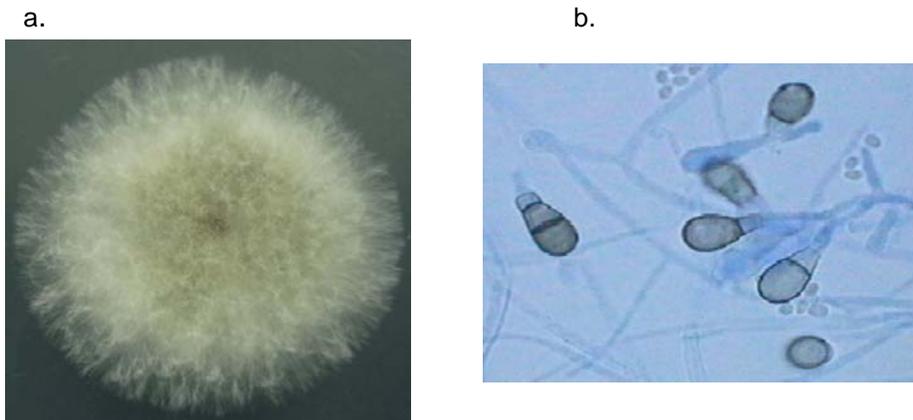


Figura 28: *Alternaria alternata*. **28a** *Alternaria alternata* en medio PDA (7 Días).

28b. *Alternaria alternata* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.3.1.2 GÉNERO: *Aspergillus*

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Orden: Eurotiales

Familia: Trichomaceae

8.3.1.2.1 *Aspergillus aureolatus*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapeck a 25°C de color verde-grisáceo, textura pulverulenta, que con la edad se torna de color amarillo claro. Micelio joven blanco-grisáceo de tipo algodonoso. Reverso crema con centro gris-verdoso. Colonia ovalada, borde irregular. No presenta exudación.

Características microscópicas

Cabeza conidial radial. Conidióforos hialinos, de paredes lisas. Vesículas globosas, 12.5- 16 μm en diámetro. Las fiálides crecen a menudo sobre las métulas, 4-0-6.0 x 2.0 μm . Métulas delgadas, 4.5-8.0 x 2.0-2.5 μm , hialinas. Conidios globosos a subglobosos, de color gris verdoso, 3.0 -4.0 μm .

a.



b.



Figura 29: *Aspergillus aureolatus*. **29a.** *Aspergillus aureolatus* en medio PDA de 5 a 7 días. **29b.** *Aspergillus aureolatus* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.3.1.2.2 *Aspergillus candidus*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek a 25°C alcanzan un diámetro de 5.5 cm en 7 días. Micelio algodonoso de color blanco, crema-amarillo con la edad; borde regular, colonia redonda. Reverso no coloreado. Colonia levantada formando círculos radiales, de textura algodonosa. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforo hialino de paredes lisas, 5.0-10 μm de diámetro. Vesícula globosa, 10-20 μm μm de diámetro. Algunas fiálides (5-8.0 x 2.5-3.5 μm) crecen directamente sobre la vesícula, y además sobre las métulas. Métulas 5-8.0 x 2-3.0 μm . Conidios globosos a subglobosos, 3.5 - 4.0 μm de diámetro, hialinos.

a.



b.



Figura 30: *Aspergillus candidus*. **30a.** *Aspergillus candidus* en medio Sabouraud (7 días).

30b. *Aspergillus candidus* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.3.1.2.3 *Aspergillus conicus*

Características macroscópicas

Colonias de crecimiento moderado (2.15 cm a 25°C en 7 días), formando una masa algodonosa y pulverulenta, de margen irregular sumergido, verde-gris a verde oscuro. Reverso crema verdoso. No presenta exudación.

Características microscópicas

Cabezas conidiales de forma columnar. Conidióforos cortos, de paredes lisas, hialinos (50-75 μm). Vesículas subesféricas hasta de 20 μm de diámetro. Fiálides cortas (5-8 x 2.0-4.0 μm). Conidios globosos y elípticos, 3.0-3.5 μm , lisos, verde claro en masas.

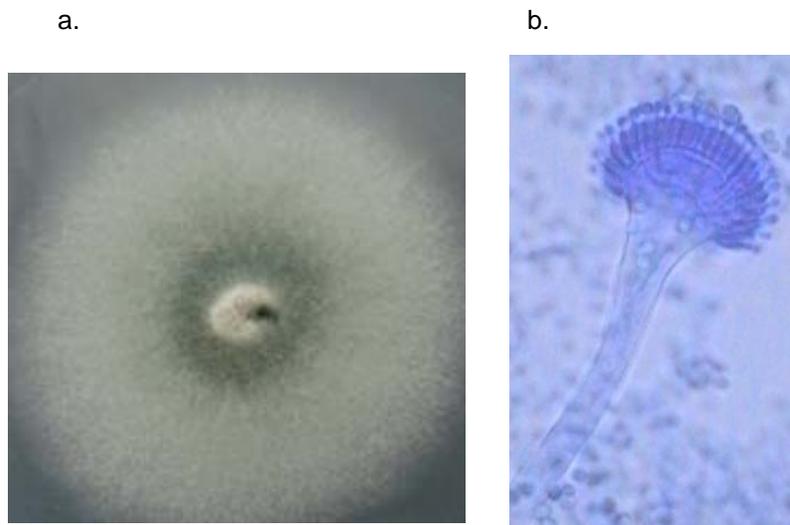


Figura 31: *Aspergillus conicus*. **31a.** *Aspergillus conicus* en medio Czapek (CzA) 7 días. **31b.** *Aspergillus conicus* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.3.1.2.4 *Aspergillus clavatus*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek a 25°C alcanzan un diámetro de 3,5 cm en 7 días. Micelio verde-azul a verde oscuras y grisáceas, con textura pulverulenta. En la zona más joven es blanca de textura algodonosa. Reverso amarillo-café claro. No presenta exudación. Colonia redonda con borde irregular.

Características microscópicas

Conidióforos largos, de paredes lisas, hialinos. Cabezas conidiales clavadas usualmente divididos dentro de algunas columnas divergentes, comúnmente de 20-40 μm de diámetro. Las fiálides crecen directamente sobre las vesículas, variando de tamaño (7-8.0 x 2-3.0 μm). Conidios globosos que se aglomeran en masas, 3.0-4.5 x 2.5-4.5 μm , de color verde claro.

a.



b.



Figura 32: *Aspergillus clavatus*. **32a.** *Aspergillus clavatus* en medio Czapek (CzA) 7 días. **32b.** *Aspergillus clavatus* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.3.1.2.5 *Aspergillus flavipes*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapek al principio blancas, posteriormente amarillas con textura pulverulenta. Reverso de la colonia crema amarillento y café oscuro en el centro. No presenta exudado, colonia de borde irregular y redonda. La colonia alcanza un diámetro de 2.5 cm a los 6 días.

Características microscópicas

Presenta conidióforos (65-70x5.4 μm) de paredes lisas, vesículas subglobosas de 15-20 μm de diámetro, fiálides nacen sobre las métulas, 6.4-7 x 2.0 μm , Métulas 8.2 x 2.4 μm . Conidios 2.7 o 3.0 μm , lisos, subglobosos e incoloros.

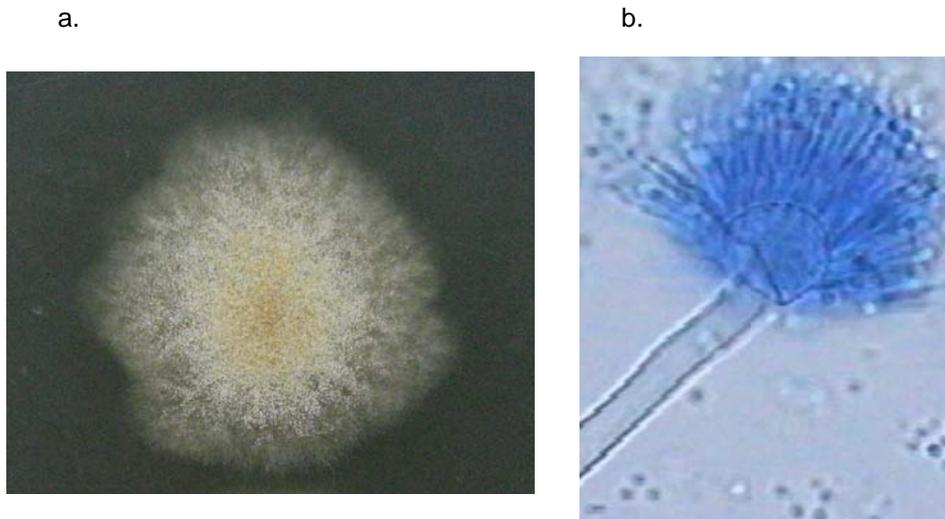


Figura 33: *Aspergillus flavipes*. **33a.** *Aspergillus flavipes* en medio Czapek (CzA) 6 días. **33b.** *Aspergillus flavipes* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.3.1.2.6 *Aspergillus flavus*

Características macroscópicas

Las colonias sobre agar Czapek alcanzan un diámetro de 3,5 cm dentro de 7 días, a 25°C. Usualmente consisten de micelio verde-amarillo, verde claro y oscuro de textura pulverulenta. Margen de la colonia de color blanco, textura algodonosa. Reverso verde-crema oscuro. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforos hialinos, ligeramente rugosos. Vesícula globosa a subglobosa, 20-35 μm de diámetro. Las fiálides (6-10 x 4.0-5.5 μm) crecen directamente sobre la vesícula o sobre las métulas. Métulas 6.5-10 x 3-5.0 μm . Conidios globosos a subglobosos, 3.4 μm de diámetro, de color verde claro.

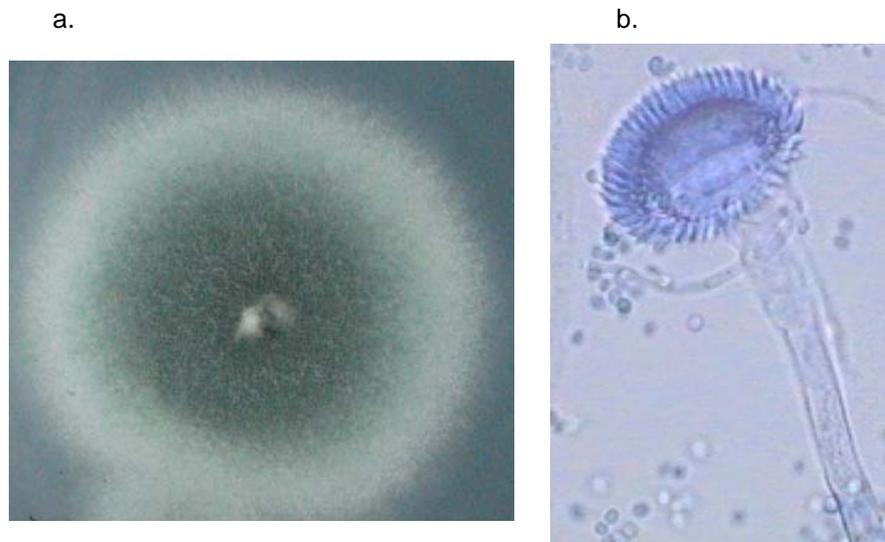


Figura34: *Aspergillus flavus*. **34a.** *Aspergillus flavus* en medio Czapek (CzA) 7 días. **34b.** *Aspergillus flavus* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.3.1.2.7 *Aspergillus fumigatus*

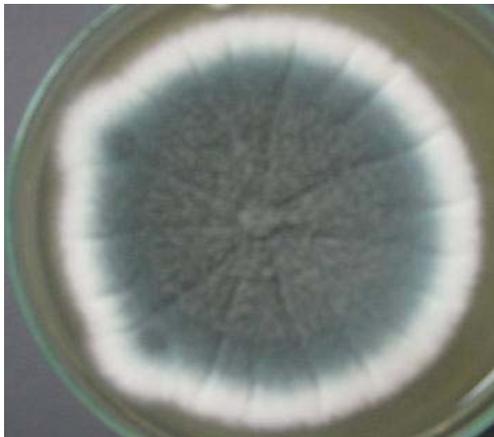
Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek son aterciopeladas de color verde a verde oscuro, alcanzan un diámetro de 3-5 cm en 7 días a 25°C. Reverso incoloro a amarillo. Presenta exudación, pequeñas gotas incoloras.

Características microscópicas

Conidióforos cortos, de paredes lisas con cabezas conidiales columnares y uniseriadas. Fiálides generalmente 6-8 x 2-3 μm , aglomeradas, conidios de color verde oscuro en masa, globosos a subglobosos, 2,5 – 3 μm de diámetro.

a.



b.

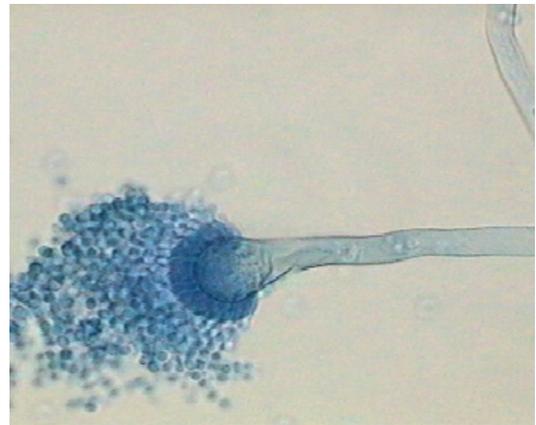


Figura 35: *Aspergillus fumigatus*. **35a.** *Aspergillus fumigatus* en medio PDA 15 días. **35b.** *Aspergillus fumigatus* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.3.1.2.8 Cepa: *Aspergillus humicola*

Características macroscópicas

Colonias al principio blancas, pasando por tonalidades de color gris a gris verdoso. Reverso blanco-amarillo. Colonia aterciopelada en las márgenes y vellosa hacia el centro. Colonia redonda con borde irregular. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforos cortos (70 μm de largo en promedio), paredes lisas, de color verde claro. Vesículas radiales 9.0-15 μm de diámetro. Fiálides crecen sobre las métulas, 3.6-5.4 x 1.8-2.0 μm . Métulas en forma de botella, 3.8 x 1.8 μm ; las métulas y las fiálides son casi de igual longitud. Conidios globosos y elípticos en cadenas divergentes, 2-3 μm de diámetro, color verde.

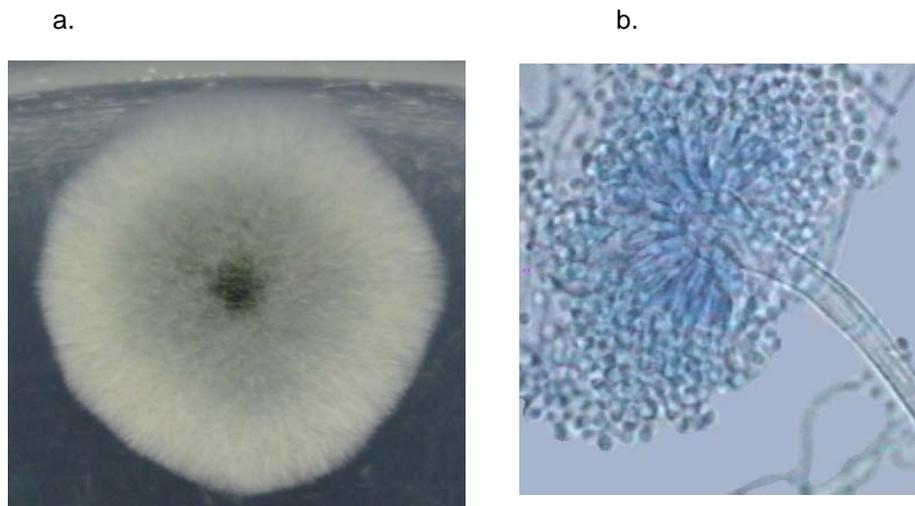


Figura 36: *Aspergillus humicola*. **36a.** *Aspergillus humicola* en medio Czapek (CzA) 7 días. **36b.** *Aspergillus humicola* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.2.9 *Aspergillus ochraceus*

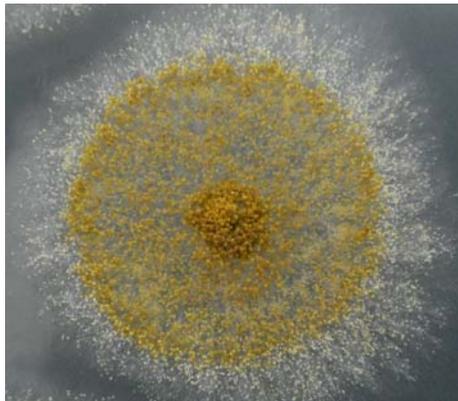
Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek a 25°C alcanzan un diámetro de 2.65 cm a los 7 días. Colonias con matices de color ocre, amarillo-naranja de textura pulverulenta con borde blanco. Reverso crema-amarillo con café claro en el centro. No presenta exudado, colonia redonda con borde irregular.

Características microscópicas

Usualmente consiste de una vesícula globosa, hialina hasta de 60 µm de diámetro. Fiálides crecen sobre métulas, 11 x 2.0 µm. Métulas 15 x 5.0-5.5 µm. Conidios globosos a subglobosos, 3.5-5.0 µm de diámetro, de color amarillo, hialino o verdes, espinulados.

a.



b.

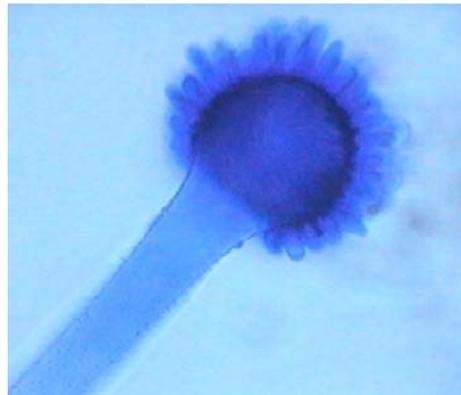


Figura 37: *Aspergillus ochraceus*. **37a.** *Aspergillus ochraceus* en medio Czapek (CzA) 7 días. **37b.** *Aspergillus ochraceus* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.2.10 *Aspergillus oryzae*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek alcanzan un diámetro de 2.5 cm en 7 días. Superficie densamente aterciopelada, verde claro-amarillo. Micelio joven de color blanco, textura algodonosa. Reverso blanco-crema. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes rugosas, hialinos. Vesículas subglobosa 40-80 μm de diámetro. Las fiálides a menudo crecen sobre las vesículas o sobre las métulas, midiendo 10-15 x 3-5.0 μm . Métulas 8.0-12 x 4.0-5.0 μm . Conidios globosos a subglobosos 3.5-4.0 μm , de color verde.

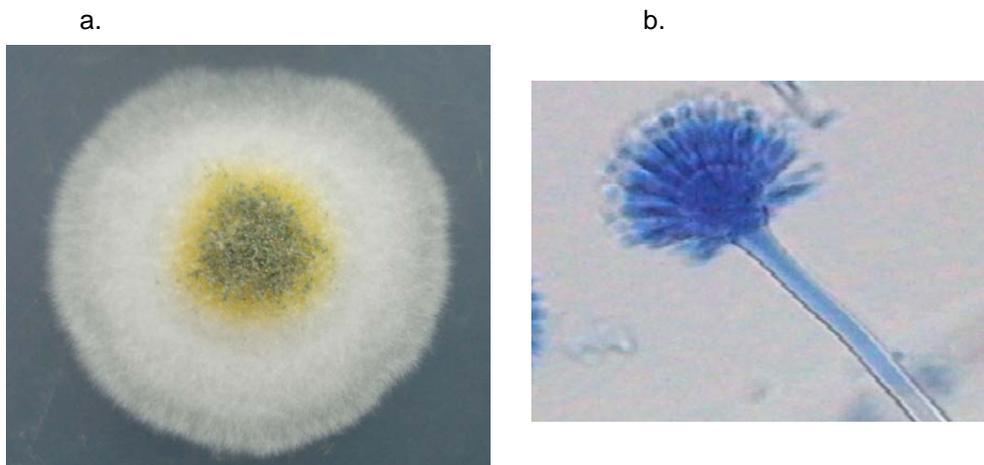


Figura 38: *Aspergillus oryzae*. **38a.** *Aspergillus oryzae* en medio Czapek (CzA) 7 días. **38b.** *Aspergillus oryzae* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.2.11 *Aspergillus janus*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek a 25°C, alcanzan un diámetro de 2.5-3.0 cm en 7 días. Micelio de color verde grisáceo intenso, de textura rígida. Micelio joven de color blanco de textura algodonosa. Reverso crema-naranja café claro. Presenta exudación café brillante.

Características microscópicas

Conidióforo hialinos, algunas veces coloreados de verde-azul. Cabeza biseriada, vesícula globosa, hialina, 15-20 µm de diámetro. Las fiálides crecen sobre las métulas, 5.5 x 2.5 µm. Métulas 4-7.0 x 2.0-3.5 µm. Conidios globosos 2.5-3.0 µm de diámetro, de color verde-café.

a.



b.

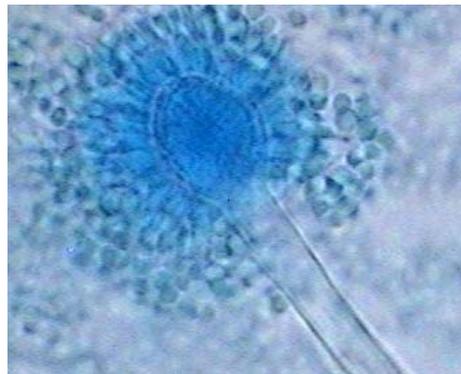


Figura39: *Aspergillus janus*. **39a.** *Aspergillus janus* en medio Czapek (CzA) 7 días. **39b.** *Aspergillus janus* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.2.12 *Aspergillus sydowii*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek son aterciopeladas de color verde azulado, alcanzan un diámetro de 3-4 cm en 15 días a 25°C. Reverso de color rojo a café. Presenta exudación como gotas rosadas.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes lisas, incoloros con cabezas conidiales radiadas y biseriadas, vesículas 12-20 μm de diámetro. Fiálides 6-10 x 2-3,5 μm , métula 6-7 x 2-3,5 μm , conidios globosos 3 - 4 μm de diámetro.

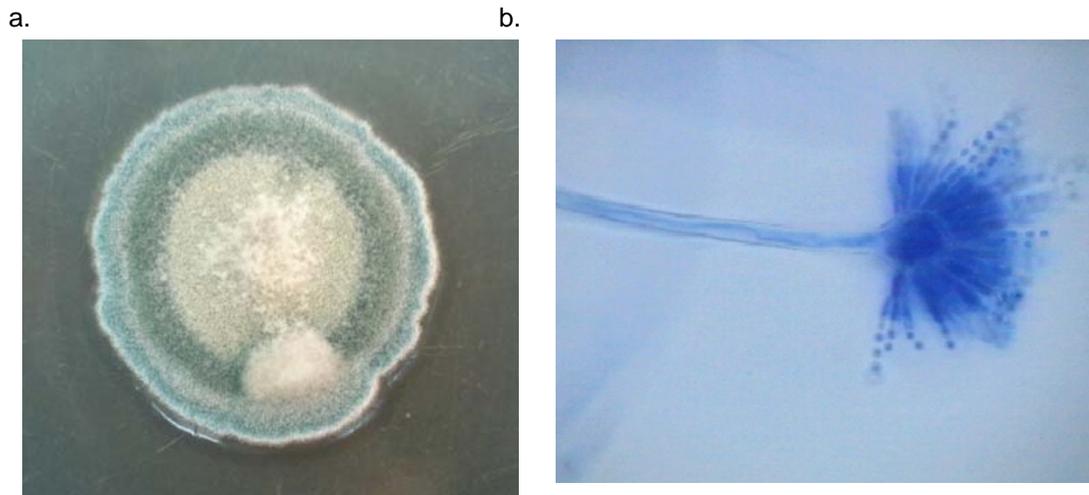


Figura 40: *Aspergillus sydowii* **40a.** *Aspergillus sydowii* en medio Czapeck 15 días. **40b.** *Aspergillus sydowii* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.2.13 *Aspergillus terreus*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek de color rosado parduzco, aterciopeladas, alcanzan un diámetro de 3,5-5 cm en 7 días a 25°C. Reverso amarillo tornándose café. Exudado incoloro, produce pigmento amarillo difusible en el medio.

Características microscópicas

Cabezas conidiales columnares, conidióforos lisos hialinos. Vesícula subglobosa de 10 – 20 μm de diámetro, métula 5-7 x 1,5-2 y fiálides de 5-7 x 1,5-2 μm . Conidios hialinos a amarillentos, globosos 1,5-2,5 μm de diámetro.

a.



b.



Figura 41: *Aspergillus terreus* **41a.** *Aspergillus terreus* en medio Czapek 15 días. **41b.** *Aspergillus terreus* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.2.14 *Aspergillus terricola*

Características macroscópicas

Crece rápidamente, 4.0-4.5 cm en 7 días en agar Czapek. La superficie de la colonia es algodonosa de color blanco. Con la edad se torna amarillo-dorado de textura pulverulenta. No presenta exudación. Reverso amarillo pálido.

Características microscópicas

Conidióforo de paredes lisas, hialino. Vesícula subglobosa, 15-20 μm en diámetro. Métulas en forma de botella, 7-15 x 4.5-8.0 μm de diámetro, con cadenas conidiales largas, ligeramente separadas. Conidios globosos a subglobosos, color amarillo-dorado, después café, extremadamente variable en tamaño, 4.5-6.5 μm , ásperos debido a los bordes irregularmente ramificados de una sustancia colorante amarilla o café que se encuentra entre las paredes interior y exterior.

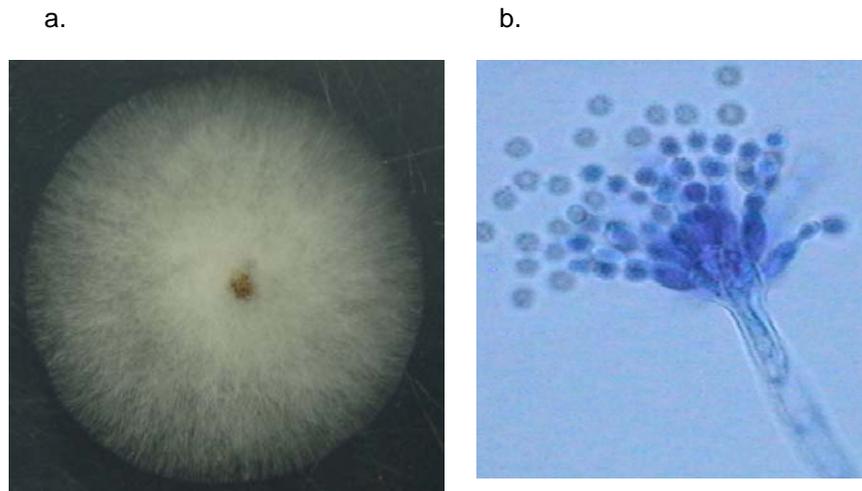


Figura 42: *Aspergillus terricola*. **42a.** *Aspergillus terricola* en medio PDA de 5 a 7 días. **42b.** *Aspergillus terricola* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.2.15 *Aspergillus ustus*

Características macroscópicas

Colonias en PDA a 25°C blancas a grises algodonosas-pulverulentas, en el centro amarillo café grisáceo de textura pulverulenta, pero nunca de color verde. Reverso con matices de color amarillo a naranja y café. Presenta exudado incoloro. Alcanzan un diámetro de 2.5 cm a los 7 días.

Características microscópicas

Presenta vesículas de 15-20 μm , semiesféricas a casi columnares, hialinas, lisas. Fiálides incoloras 6.8 x 2.9 μm . Métulas 7-9 x 2.0-2.5 μm . Conidios globosos, 3.8-4.0 μm de diámetro, en cadenas, formando columnas relativamente compactas, de color verde, traslúcidos y espinulados.

a.



b.



Figura 43: *Aspergillus ustus*. **43a.** *Aspergillus ustus* en medio PDA 7 días. **43b.** *Aspergillus ustus* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.2.16 *Aspergillus versicolor*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapek aterciopeladas, de color blanco con diferentes tonalidades de amarillo, amarillo-naranja hasta amarillo verdosos, alcanzan un diámetro de 2-3 cm en 15 días a 25°C. Reverso incoloro, amarillo, naranja o rosado. Exudado incoloro.

Características microscópicas

Conidióforos hialinos o ligeramente pigmentados, vesículas de 12 - 16 μm de diámetro. Fiálides 5.5-8 x 2,5-3 μm , métula 5-7,5 x 2-2,5 μm , conidios globosos, rugosos, 2-3,5 μm de diámetro.

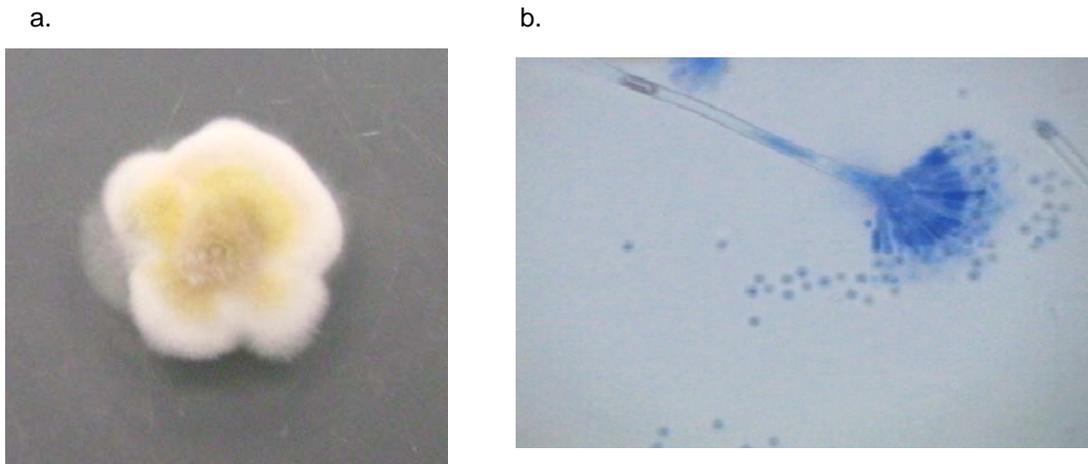


Figura 44: *Aspergillus versicolor* **44a.** *Aspergillus versicolor* en medio Czapek 7 días. **44b.** *Aspergillus versicolor* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.2.17 *Aspergillus wentii*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek a 25°C, crecen lentamente, alcanzando un diámetro de 2 cm en 7 días. Superficie algodonosa, blanco-crema a café-amarillo, surcadas de manera radial, con el área central más levantada. Reverso blanco-crema con centro negro. No presenta exudación. Colonia ovalada con borde regular.

Características microscópicas

Conidióforos hialinos de paredes lisas. Vesícula globosa 60-80 µm de diámetro. Las fiálides crecen sobre las métulas; 10-20 x 3.0-5.0 µm, métulas 6.0-8.0 x 2.5-3.0 µm. Conidios globosos y subglobosos amarillo-verdoso, 4.0-4.5 µm.

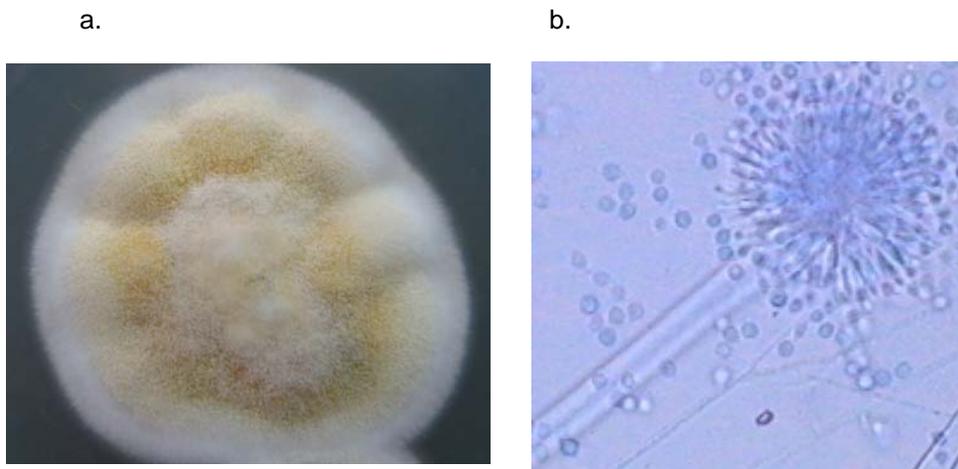


Figura 45: *Aspergillus wentii*. **45a.** *Aspergillus wentii* en medio Czapek (CzA) 7 días. **45b.** *Aspergillus wentii* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.3 GÉNERO: *Byssochlamys*

Reino: *Fungi*

Phylum: *Ascomycota*

Clase: *Ascomycetes*

Orden: *Eurotiales*

Familia: *Trichocomaceae*

8.2.1.3.1 *Byssochlamys fulva*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapeck son aterciopeladas con hifas aglomeradas, de color blanco a café pálido, alcanzan un diámetro de 3,5-4 cm en 7 días a 25°C Reverso color amarillo hasta café. Exudado presente en forma de gotas incoloras.

Características microscópicas

Conidióforos de longitud variable, las fiálides nacen en grupos de 2 a 5 en métulas cortas, con una porción basal cilíndrica de 12.5-17 x 2.5-3.5 μm , con un cuello de 3-8.5 μm de largo y 1-1.2 μm de ancho. Conidios cilíndricos, 4-9 x 2-2,5 μm .

a.



b.

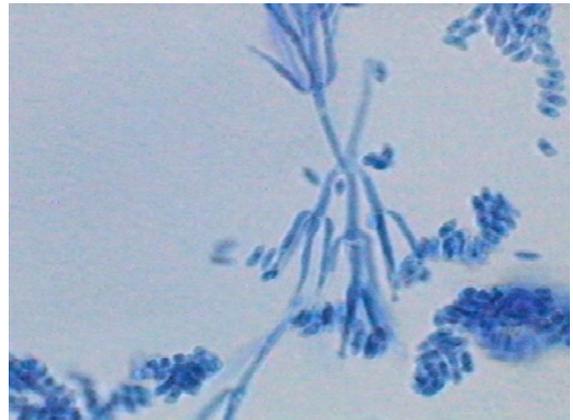


Figura 46: *Byssochlamys fulva*. **46a.** *Byssochlamys fulva* en medio Czapeck 7 días. **46b.** *Byssochlamys fulva* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.4 GÉNERO: *Cladosporium*

Reino: *Fungi*

Phylum: *Ascomycota*

Clase: *Ascomycetes*

Orden: *Dothideales*

Familia: *Mycosphaerellaceae*

8.2.1.4.1 *Cladosporium sphaerospermum*

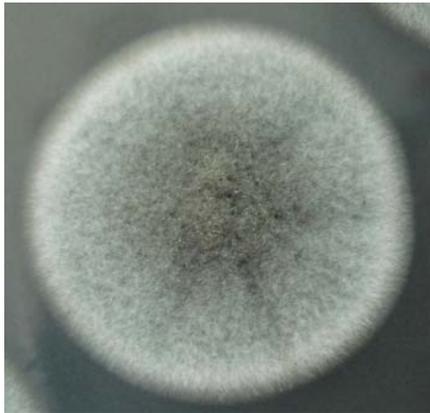
Características macroscópicas

Las colonias en agar PDA alcanzan un diámetro de 2- 4,5 cm en 7 días a 25°C, de color café, aterciopeladas. Reverso color café a negro. No presenta exudado.

Características microscópicas

Conidióforos de 3-5 μm de ancho, de color café pálido y superficie lisa. Poseen ramoconidios sin o con septos de pared lisa o verrugosa. Los conidios tienen pared verrugosa de color marrón, subglobosos de 3-7 x 2-4.5 μm .

a.



b.



Figura 47: *Cladosporium sphaerospermum*. **47a.** *Cladosporium sphaerospermum* en medio Czapeck 7 días. **47b.** *Cladosporium sphaerospermum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.5 GÉNERO: *Curvularia*

Reino: *Fungi*

Phylum: *Ascomycota*

Clase: *Euascomyces*

Orden: *Pleosporales*

Familia: *Pleosporaceae*

8.2.1.5.1 *Curvularia sativus*

Características macroscópicas

Las colonias alcanzan un rápido crecimiento en agar Czapek a 25°C, 5.0 cm de diámetro en 7 días. Color café oliva que luego pasa a ser negro grisáceo. Reverso de color negro. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforos erectos, ondulados y septados. Conidios elipsoidales, agrupados en pares, aconados hacia los extremos, finalmente curvados, de color café oscuro, paredes lisas, con septos distales.

a.



b.



Figura 48: *Curvularia sativus*. **48a.** *Curvularia sativus* en medio Czapek (CzA) 7 días. **48b.** *Curvularia sativus* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.6 GÉNERO: *Eupenicillium*

Reino: *Fungi*

Phylum: *Ascomycota*

Clase: *Ascomycetes*

Orden: *Eurotiales*

Familia: *Trichocomaceae*

8.2.1.6.1 *Eupenicillium ornatum*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapeck son aterciopeladas de color blanco a amarillo, las áreas conidiales son de color verde, alcanzan un diámetro de 2-4 cm en 15 días a 25°C. Reverso color amarillo. No presenta exudado. Sinónimo: *Eupenicillium ochrosalmoneum*.

Características microscópicas

Conidióforos irregulares de paredes lisas, monoverticilados, de 2 a 4 métulas 7-15 x 1,5-2,5 µm, fiálides 7-11 x 2 – 2,5 µm. Conidios de paredes lisas, globosos a subglobosos, de 2,2-3,5 x 2-3 µm de diámetro.

a.



b.

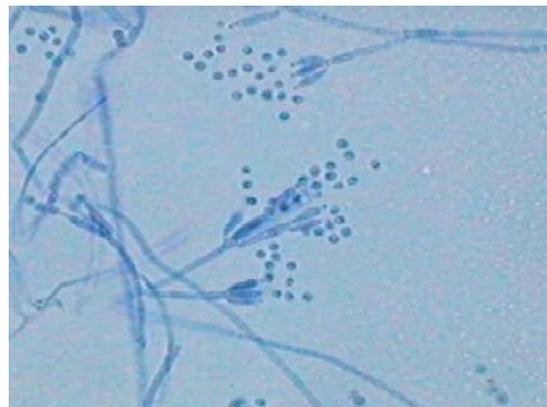


Figura 49: *Eupenicillium ornatum*. **49a.** *Eupenicillium ornatum* en medio Czapeck 7 días. **49b.** *Eupenicillium ornatum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.7 GÉNERO: *Emericella*

Reino: *Fungi*

Phylum: *Ascomycota*

Clase: *Ascomycetes*

Orden: *Eurotiales*

Familia: *Trichocomaceae*

8.2.1.7.1 *Emericella nidulans*

Características macroscópicas

Las colonias en agar PDA son de color verde oscuro con áreas amarillas y blancas, aterciopeladas, alcanzan un diámetro de 2-4 cm en 15 días a 25°C. Reverso color amarillo oscuro. Exudado inicialmente incoloro con el tiempo color negro.

Características microscópicas

Cabezas conidiales columnares, conidióforos de paredes lisas, de color café 60-130 x 2,5-3 µm, vesículas de 8-10 µm de diámetro, biseriados. Métulas 5-6 x 2-3 µm, fiálides 5-6 x 2-2,5 µm. Conidios globosos, ásperos de 3-3,5 µm de diámetro.

a.



b.



Figura 50: *Emericella nidulans*. **50a.** *Emericella nidulans* en medio PDA 7 días. **50b.** *Emericella nidulans* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.8 GÉNERO: *Fusarium*

Reino: *Fungi*

Phylum: *Ascomycota*

Clase: *Ascomycetes*

Orden: *Hypocreales*

Familia: *Hypocreaceae*

8.2.1.8.1 *Fusarium oxysporum*

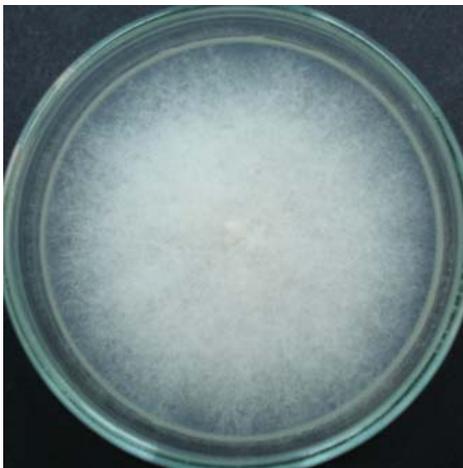
Características macroscópicas

Las colonias en agar PDA alcanzan un diámetro de 3-5,5 cm en 7 días a 25°C, aterciopeladas de color blanco amarillento con tono rosado. Reverso amarillo o con colores púrpura.

Características microscópicas

Conidióforos aseptados o con septos. Microconidios de 0 a 2 septos, abundantes, variables en forma y tamaño, ovales-elipsoidales a cilíndricos, 5-12 x 2,2-3,5 µm. Macroconidios con 3 a 5 septos, fusiformes, ligeramente curvos, 27-50 x 3-5 µm.

a.



b.

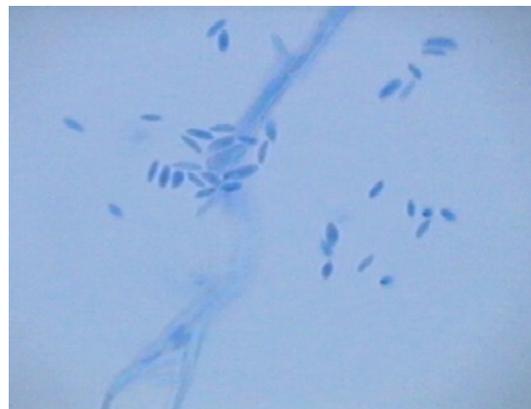


Figura 51: *Fusarium oxysporum*. 51a. *Fusarium oxysporum* en medio Czapeck 7 días. 51b. *Fusarium oxysporum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.10 GÉNERO: *Mucor*

Reino: *Fungi*

Phylum: *Zygomycota*

Clase: *Zygomycetes*

Orden: *Mucorales*

Familia: *Mucoracea*

8.2.1.10.1 *Mucor circinelloides*

Características macroscópicas

Las colonias son de color crema grisáceo a amarillo café pálido, de tipo algodonoso, alcanzan un diámetro de 6-9 cm en 7 días a 25°C. Crecimiento aéreo abundante compuesto de largos y cortos esporangioforos. Reverso incoloro. No presenta exudación.

Características microscópicas

Esporangioforos hialinos-café claro, de paredes con finas inscrustaciones. Tallos largos sin ramificar y tallos largos ramificados de forma simpodial que en ocasiones se curvan hacia abajo. Columnela ovoide a elipsoidal, gris-café oscuro, 30-50 µm de diámetro. Las esporangiosporas son de tipo elipsoidal, de paredes lisas, 4.4-6.8 x 3.7-4.7 µm, color gris verdoso.

a.



b.

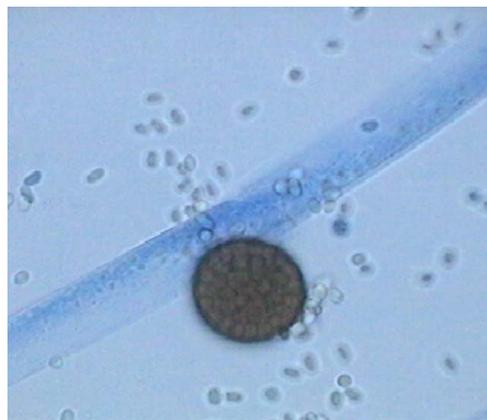


Figura 53: *Mucor circinelloides*. **53a.** *Mucor circinelloides* en medio Czapek (CzA) 7 días. **53b.** *Mucor circinelloides* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.11 GÉNERO: *Paecilomyces*

Reino: *Fungi*

Phylum: *Ascomycota*

Orden: *Eurotiales*

Familia: *Trichocomaceae*

8.2.1.11.1 *Paecilomyces ehrlichii*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapek de crecimiento lento y limitado, alcanzando un diámetro de 2.05 cm en 7 días a 25°C, con borde irregular. Colonia redonda, blanca algodonosa con centro en relieve. Reverso de la colonia incoloro con matices de color amarillo. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforo de paredes rugosas, hialinas que se dividen en 2 ramas las cuales se ven apresadas contra el eje y luego son ligeramente divergentes. Producen cadenas cortas de conidios elípticos, 3.5 x 3.0 µm, con los extremos puntiagudos, de paredes lisas. Presenta fiálides en grupos de 2 a 3, notablemente diferentes, 10-15 x 3.5-4.0 µm, con ápices relativamente largos y angostos.

a.



b.



Figura 54: *Paecilomyces ehrlichii*. **54a.** *Paecilomyces ehrlichii* en medio Czapek (CzA) 7 días. **54b.** *Paecilomyces ehrlichii* microscópicamente 100X. **Fuente:** Autores

8.2.1.11.2 *Paelocymeces lilacinus*

Características macroscópicas

Colonias de crecimiento moderado, alcanzan un diámetro de 2.5 a 3.0 cm en medio Czapek (7 días a 25°C). Colonias de superficie vellosas, aterciopeladas, con colores verdes (gris-verdoso, verde claro y verde oscuro). Presenta exudado color amarillo brillante.

Características microscópicas

Presenta conidióforos tabicados de paredes lisas y ramificados en sus extremos (triverticilado a cuatrivertilido), con métulas usualmente cortas (6-8.0 x 2.5-3.0 μm) y fiálides con el ápice puntiagudo de 5.0-6.0 x 2.0 μm , de dónde nacen los conidios lisos o equinulados, elipsoidales de 2.5-3.5 μm , formando cadenas, sin ramificar, con aspecto característico de pincel.

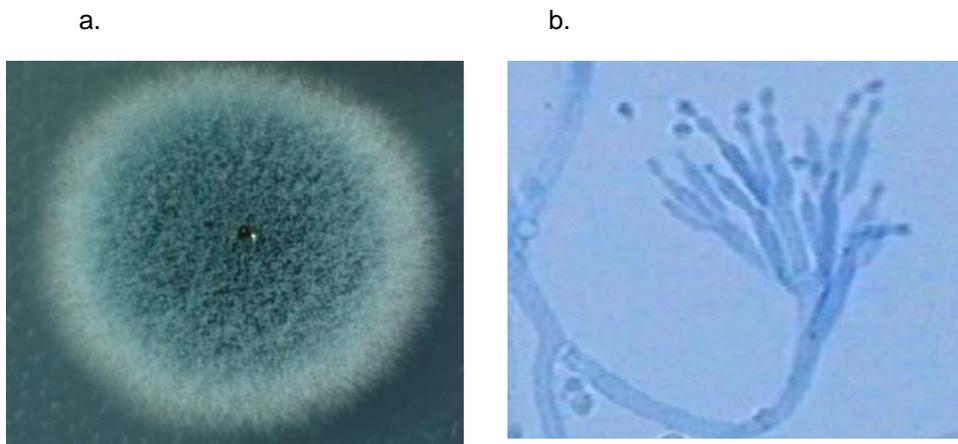


Figura 55:. *Paelocymeces lilacinus*. **55 a.** *Paelocymeces lilacinus* en medio PDA de 5 a 7 días. **55b.** *Paelocymeces lilacinus* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.11.3 *Paecilomyces variotii*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapeck son aterciopeladas de color blanco que con el tiempo desarrolla color verde oliva, alcanzan un diámetro de 5-8 cm en 7 días a 25°C. Reverso incoloro hasta naranja. Exudado presente como gotas incoloras.

Características microscópicas

Conidióforos terminando en grupos de 1 a 6 fialides. Fialides de tamaño y forma variable, 9-32 x 2,5-6 μm , cilíndricas a elipsoidales en la parte inferior, con un cuello de 1-2 μm de ancho. Conidios de paredes lisas, elipsoidales a cilíndricos, variables en tamaño, 5-7 x 2,5-3 μm .

a.



b.



Figura 56: *Paecilomyces variotii*. **56a.** *Paecilomyces variotii* en medio Czapeck 7 días. **56b.** *Paecilomyces variotii* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12 GÉNERO: *Penicillium*

Reino: *Fungi*

Phylum: *Ascomycota*

Orden: *Eurotiales*

Familia: *Trichomaceae*

8.2.1.12.1 Cepa: *Penicillium sp1.* (CV15Nd)

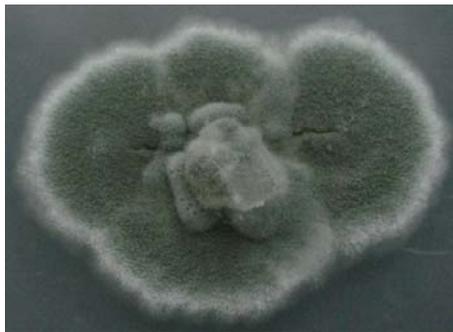
Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek crecen muy lentamente, alcanzan un diámetro de 1.6 cm en 7 días. Borde relativamente ancho de color blanco, con textura algodonosa. La superficie de la colonia se torna de color verde azulado, cambiando después a un color más oscuro con la edad (verde oscuro y verde oliva), con la zona central más levantada por la acumulación de esporas y surcada radialmente de manera profunda, con textura pulverulenta. Reverso de la colonia blanco amarillento a verde claro con centro café. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes lisas y gruesas. Cuatriverticilado. Métulas ensanchadas, 12 x 3.1 μm . Fiálides en grupos de 3 a 6, de forma cilíndrica, con el ápice inflado, 8.0 x 2.7-3.0 μm . Conidios globosos a subglobosos, 2.5-4.0 x 2.2-2.7 μm , formando cadenas cortas y divergentes.

a.



b.

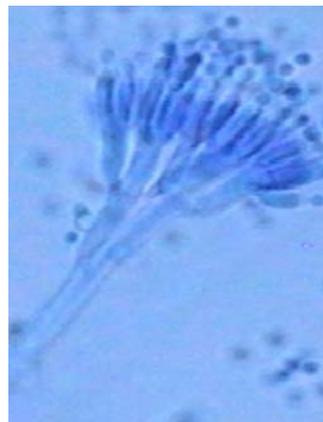


Figura 57: *Penicillium sp1.* **57a.** *Penicillium sp1.* en medio Czapek (CzA) 7 días. **57b.** *Penicillium sp1.* microscópicamente 100X. **Fuente:** Autores.

8.2.1.12.2 *Penicillium* sp2. (CV16Sd)

Características macroscópicas

Crecimiento lento en agar Czapek a 25°C, alcanzan un diámetro de 1.5 cm en 9 días. Colonias de tipo algodonoso, de color gris a verde grisáceo. El área central es más levantada por la acumulación de esporas. Reverso crema verdoso y borde blanco. Colonia ovalada con borde irregular. No presenta exudación.

Características microscópicas

Presenta conidióforos cortos, hialinos, de paredes rugosas, tabicado, con un diámetro de 3.2 μm . Con m \acute{e} tulas adelgazadas, 13 x 3.3 μm . Fiálides con el \acute{a} pice puntiagudo, (7.4 x 2.8 μm .) en grupos de 2 a 3. Conidios hialinos y verde azulado en masa, 4.3 x 3.4 μm , globosos a subglobosos, espinulados, de paredes gruesas.

a.



b.

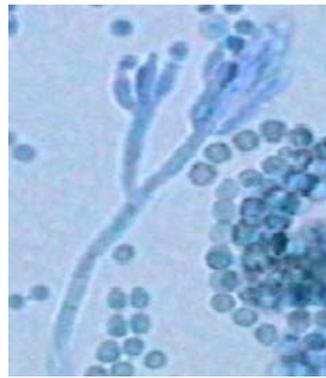


Figura 58: *Penicillium* sp2. **58a.** *Penicillium* sp2. en medio Czapek (CzA) 7 días. **58b.** *Penicillium* sp2. microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.3 *Penicillium* sp3. (CV29Ns)

Características macroscópicas

Colonias en medio Czapek, de crecimiento rápido, alcanzan un diámetro de 2.85 cm en 7 días a 25°C. Colonia pulverulenta café claro, verde oscuro y borde blanco de tipo algodonoso. Reverso verde amarilloso con tonalidades parduzcas en el centro y blancuzcas en el borde. El medio se torna amarillo claro por producción de pigmentos. Colonia ovalada, con borde irregular. Presenta exudación de color negro.

Características microscópicas

Conidióforos cortos, hialinos, de paredes lisas, 3.8 μm de diámetro. Triverticilado. Métulas ensanchadas, en forma de botella, 15 x 3.35 μm . Presenta fiálides con el ápice puntiagudo, en grupos de 3 a 4, 10.9 x 2.76 μm . Conidios verde claro, globosos, espinulados, 3.9 μm de ancho.

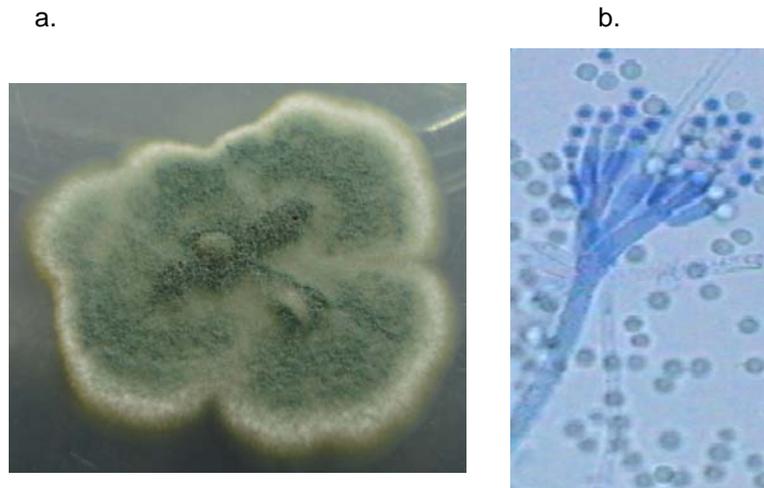


Figura 59: *Penicillium* sp3. **59a.** *Penicillium* sp3. en medio Czapek (CzA) 7 días. **59b.** *Penicillium* sp3. microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.4 *Penicillium aculeatum*

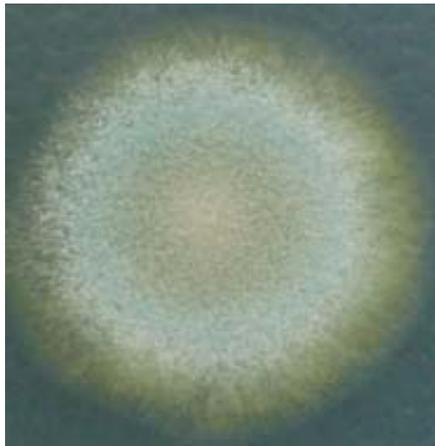
Características macroscópicas

Colonias en agar Czapek de crecimiento lento y reducido, alcanzando un diámetro de 1.9 cm en 7 días a 25°C. Colonia de color amarillo, verde claro, blanco de textura pulverulenta. Borde amarillo algodonoso. Reverso verde claro, café amarillento en el centro. El medio se torna amarillo con el tiempo por producción de pigmentos. Presenta exudación abundante de color transparente.

Características microscópicas

El tamaño de los conidióforos varía de 50-100x3.0-3.5 μm . Biverticilado. Fiálides 7-9x3.0-3.5 μm , algo hinchadas. Métulas 13x3.1-4.0 μm . Conidios globosos a subglobosos, de color verde, producidos en cadenas ligeramente paralelas o entrelazadas, 3.4-4.0 μm .

a.



b.



Figura 60: *Penicillium aculeatum*. **60a.** *Penicillium aculeatum* en medio Czapek (CzA) 7 días. **60b.** *Penicillium aculeatum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.5 *Penicillium aethiopicum*

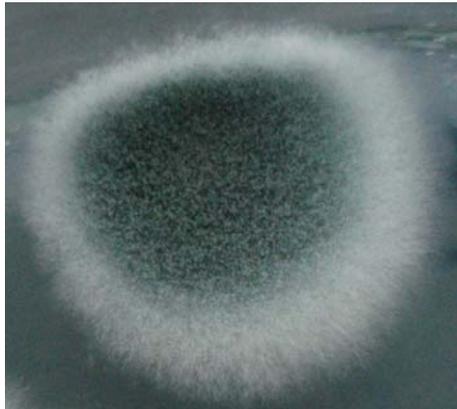
Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapeck a 25°C crecen de forma rápida. Superficie de la colonia de color gris verdosa a verde oscuro, granulada o pulverulenta. Micelio joven blanco grisáceo de textura algodonosa. Reverso crema-amarillo. Exudación abundante, color amarillo claro.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes lisas, hialino. Estructura triverticilada a cuatriverticilada. Conidios globosos y subglobosos, 3.1-4.5 µm. Fiálides 7.9-11.7 x 2.2-3.5 µm. Métulas cilíndricas, de paredes rugosas, 8.5-18.8 x 2.4-4.5 µm. Ramas, 9.8-24.9 x 2.9-4.8 µm. No presenta esclerócios.

a.



b.



Figura 61: *Penicillium aethiopicum*. **61a.** *Penicillium aethiopicum* en medio Czapek (CzA) 7 días. **61b.** *Penicillium aethiopicum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.6 *Penicillium atramentosum*

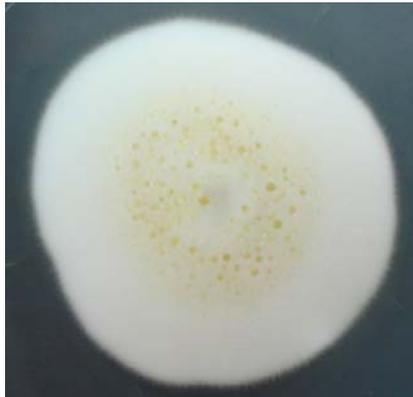
Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek a 25°C crecen de manera moderada, alcanzan un diámetro de 2.7-3 cm en 7 días. Superficie de la colonia algodonosa con tonalidad blanco a crema. Reverso de la colonia de color crema. Colonias redondas, con borde regular. Presenta exudado amarillo brillante.

Características microscópicas

Conidióforos septados, de paredes gruesas, color verde claro (triverticilado), con elementos divergentes. Métulas en grupos de 2 a 4, 10-15 x 2.2-2.7 µm, donde nacen las fiálides con el ápice puntiagudo, 9.0-10 x 2.0-2.3 µm. Conidios globosos y subglobosos, color verde, 3.5 x 3.0-3.3 µm.

a.



b.



Figura 62: *Penicillium atramentosum*. **62a.** *Penicillium atramentosum* en medio Czapek (CzA) 7 días. **62b.** *Penicillium atramentosum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.7 *Penicillium baarnense*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek alcanzan un diámetro de 2.65 cm en 7 días. Borde de la colonia irregular, el área central de la colonia se observa arrugada, no presenta exudación. Colonia algodonosa de color blanco, en el borde presenta coloración crema-amarillo. Reverso blanco crema, con centro negro.

Características microscópicas

Conidióforos ligeramente ramificados, formados por un eje principal (Triverticilado). Fiálides en verticilos de 3 a 7, de $8.2 \times 2.8 \mu\text{m}$. Métulas de $13 \times 3.3 \mu\text{m}$. Conidios ligeramente entrelazados de color verde, elípticos o globosos, $3-3.5 \times 2.5-2.8 \mu\text{m}$, aunque variables y lisos.

a.



b.

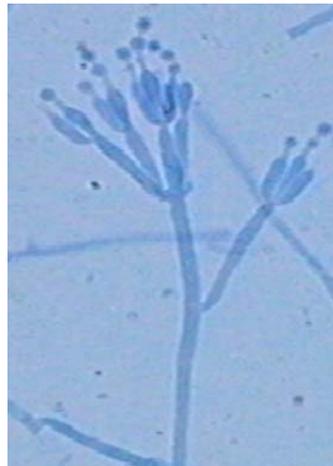


Figura 63: *Penicillium baarnense*. **63a.** *Penicillium baarnense* en medio Czapek (CzA) 6 días. **63b.** *Penicillium baarnense* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.8 *Penicillium bifforme*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapek esparciéndose ampliamente, verde grisáceas, tornándose café, subdesarrolladas densamente pulverulenta. Margen blanca y ancha de textura algodonosa. Reverso de color crema. Colonia redonda con borde irregular. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes rugosas, hialinos, cortos (60-80 μm de largo). Fructificaciones conidiales generalmente divididas en tres series. Fiálides con el ápice puntiagudo 9.0-10 x 3 μm . Métulas engrosadas, 13-15 x 3.0-3.5 μm . Conidios globosos a elípticos, 4.0-4.3 x 3.2-3.5 μm , hialinos y verde claro.

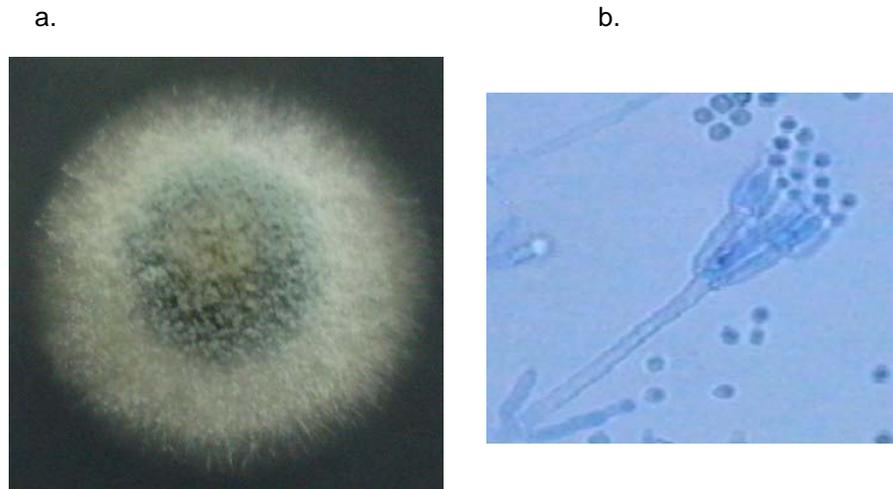


Figura 64: *Penicillium bifforme*. **64a.** *Penicillium bifforme* en medio Czapek (CZA) 7 días.

64b. *Penicillium bifforme* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.9 *Penicillium brefeldianum*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek alcanzan un diámetro de 2.5-3 cm en 7 días a 25°C. Zona central de la colonia levantada. Superficie algodonosa de color blanco a crema. Con exudación limitada e incolora. Reverso crema claro con centro café.

Características microscópicas

Conidióforos comúnmente monoverticilados o biverticilados, cortos de 30-50 x 3.0 µm. Presenta Fiálides angostas 2 o 3 por cada verticilo, 7.2-10 x 2.4-3.0 µm. Métulas 13 x 2.6 µm. Conidios globosos a elípticos cortos, lisos, 3.0 x 2.5 µm.

a.



b.



Figura 65: *Penicillium brefeldianum*. **65a.** *Penicillium brefeldianum* en medio Czapek (CzA) 7 días. **65b.** *Penicillium brefeldianum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.10 *Penicillium brevicompactum*

Características macroscópicas

Las colonias en Czapeck a 25°C alcanzan un diámetro de 1-1,5 cm en 7 días, aterciopeladas de color verde oliva, margen no compacto. Reverso amarillo. Exudado incoloro.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes lisas o rugosas, terverticilados a cuatriverticilados. Métulas compactas 9–12 x 3,5–4,5 µm, fiálides 6.5-9 x 2.5-3 µm, en grupos de 3 a 5. Conidios lisos, globosos a subglobosos, 3-4,5 µm de diámetro.

a.



b.

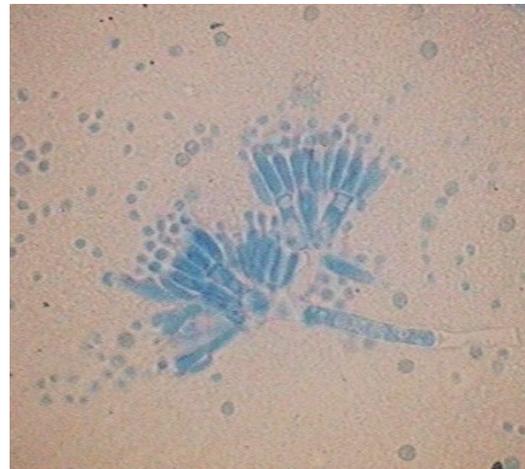


Figura 66: *Penicillium brevicompactum* **66a.** *Penicillium brevicompactum* en medio Czapek 7 días. **66b.** *Penicillium brevicompactum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.11 *Penicillium carneum*

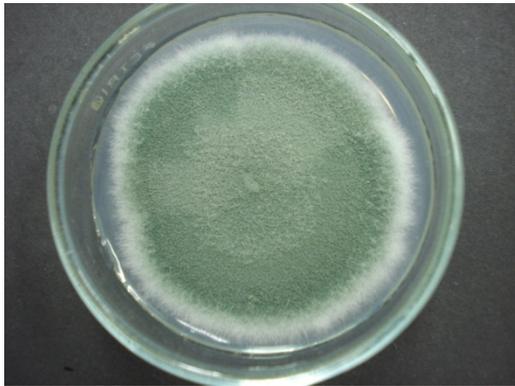
Características macroscópicas

Las colonias en Czapeck alcanzan un diámetro de 2,3-3,5 cm en 7 días a 25°C, aterciopeladas de color verde. Reverso incoloro ó pálido. Presenta exudación como pequeñas gotas incoloras.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes rugosas, terverticilados. Métulas cilíndricas 10-17 x 3-4 μm , fiálides 8-10 x 2.5-3 μm . Conidios lisos, globosos 3,5- 5 μm de diámetro.

a.



b.

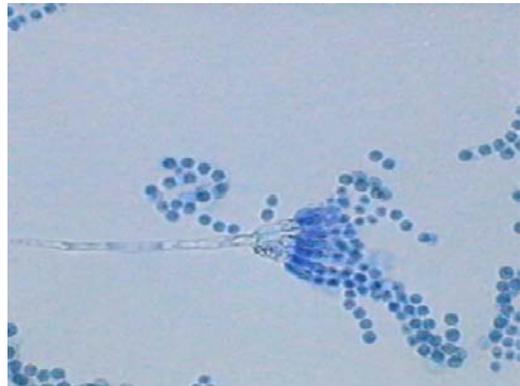


Figura 67: *Penicillium carneum*. **67a.** *Penicillium carneum* en medio Czapeck 15 días. **67b.** *Penicillium carneum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.12 *Penicillium chrysogenum*

Características macroscópicas

Colonias de crecimiento rápido, alcanzando un diámetro de 4 cm en 7 días. Superficie de la colonia vellosa, aterciopelada, de color verde claro a verde-azul con una corona radial ancha y blanca. Presenta exudado amarillo brillante. Reverso habitualmente amarillo cremoso. Esporulación abundante.

Características microscópicas

Presenta conidióforos tabicados de paredes lisas, hialinos, usualmente triverticilados, ramificado al final; con métulas (8.0-12.0 x 2.0-2.7 μm) y fiálides en forma cilíndrica (7.0-12.0 x 2.0-2.5 μm), donde nacen conidios lisos, subglobosos a elipsoidales (3.0-4.0 x 3.8-3.8 μm), hialinos o verde azulados.

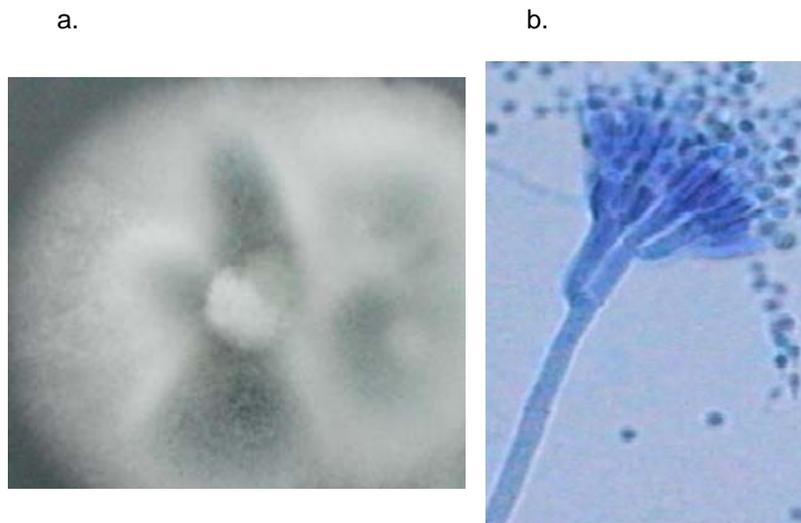


Figura 68: *Penicillium chrysogenum*. **68a.** *Penicillium chrysogenum* en medio Czapek (CzA) 7 días. **68b.** *Penicillium chrysogenum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.13 *Penicillium citreovirens*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek a 25°C, crecen rápidamente, alcanzando un diámetro de 2-3.0 cm en 7 días. Surcadas de manera radial. Al principio de color blanco a crema, con el tiempo color verde azulado a gris-verde, de textura algodonosa. Reverso típicamente crema-café claro. Presenta exudación limitada, transparente.

Características microscópicas

Conidióforos cortos, hialinos, no septados, de paredes lisas. A menudo biverticilados y asimétricos, pero algunas veces con estructuras monoverticiladas. Presenta 2 a 4 métulas, hialinas de paredes lisas, (12-20 x 2-3.0 µm). Fiálides con el ápice puntiagudo, hialinas, de paredes lisas (8-12 x 2.0-2.5 µm) Conidios en cadenas cortas, separadas, hialinos, subglobosos y elípticos, 2.5-3.0 µm.

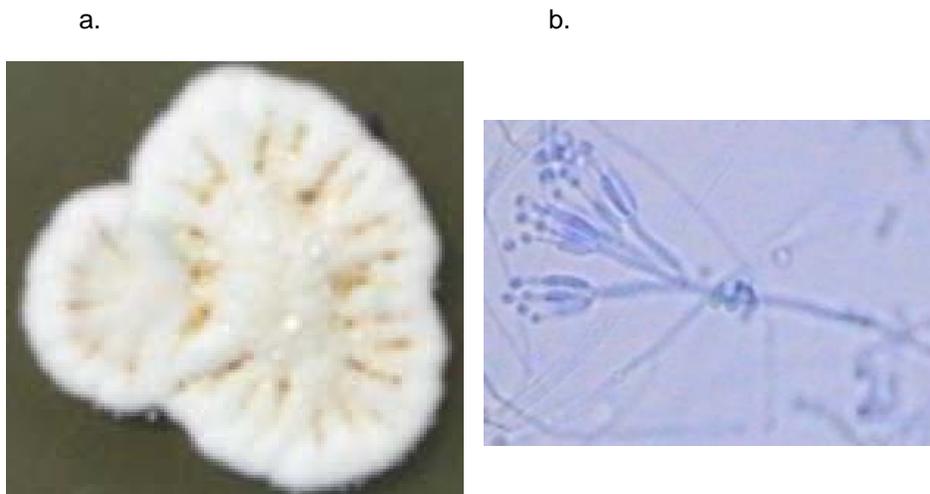


Figura 69: *Penicillium citreovirens*. **69a.** *Penicillium citreovirens* en medio Sabouraud 7 días. **69b.** *Penicillium citreovirens* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.14 *Penicillium citrinum*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek a 25°C, crecen lentamente alcanzando un diámetro de 1.0-1,5 cm en 7 días. Consiste de una superficie pulverulenta, color verde claro a verde oscuro azulado, con margen ancha de color blanco tipo algodonosa. Reverso normalmente amarillo a naranja. Colonia redonda, borde irregular, no presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforos largos, hialinos, de paredes lisas, normalmente de 2-3 μm de ancho, con 3 a 5 métulas divergentes (12-20 x 2.0-3.0 μm), fiálides en forma cilíndrica (8-10 x 2.0-2.5 μm). Conidios producidos en columnas, globosas a sugglobosas hialinos a verdes, 2.5-3.0 μm .

a.



b.



Figura 70: *Penicillium citrinum*. **70a.** *Penicillium citrinum* en medio Czapek (CzA) 7 días.

70b. *Penicillium citrinum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.15 *Penicillium claviforme*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapek, blancas de textura algodonosa, alcanzando un diámetro de 3.3 cm en 7 días a 25°C. Reverso de color blanco y en el centro café. No presenta exudado.

Características microscópicas

Conidióforos simples (monoverticilados), los cuáles producen verticilos de pocas fiálides, 9.0-10 x 2.0-2.7 μm . Conidios globosos a subglobosos de color verde, 3.7 x 3.4 μm .

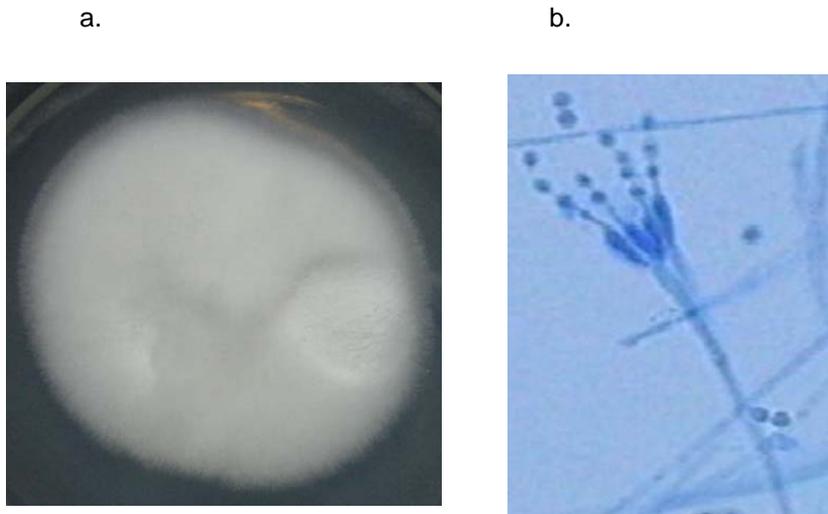


Figura 71: *Penicillium claviforme*. **71a.** *Penicillium claviforme* en medio Czapek (CzA) 6 días. **71b.** *Penicillium claviforme* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.16 *Penicillium corylophilum*

Características macroscópicas

Colonias en Czapeck de 2,5-3 cm en 7 días a 25°C, aterciopeladas de color azul verdoso, tornándose gris verdoso. Reverso verde inicialmente, con el tiempo verde oscuro. Exudación reducida, produce pigmento amarillo difusible en el medio.

Características microscópicas

Conidióforos biverticilados y asimétricos, con algunas estructuras monoverticiladas. Métulas 12-20 x 2-3 μm , fiálides 8-12 x 2-2,5 μm . Conidios de paredes lisas, subglobosos a elipsoidales 2,5- 3,2 x 2,5-3 μm .

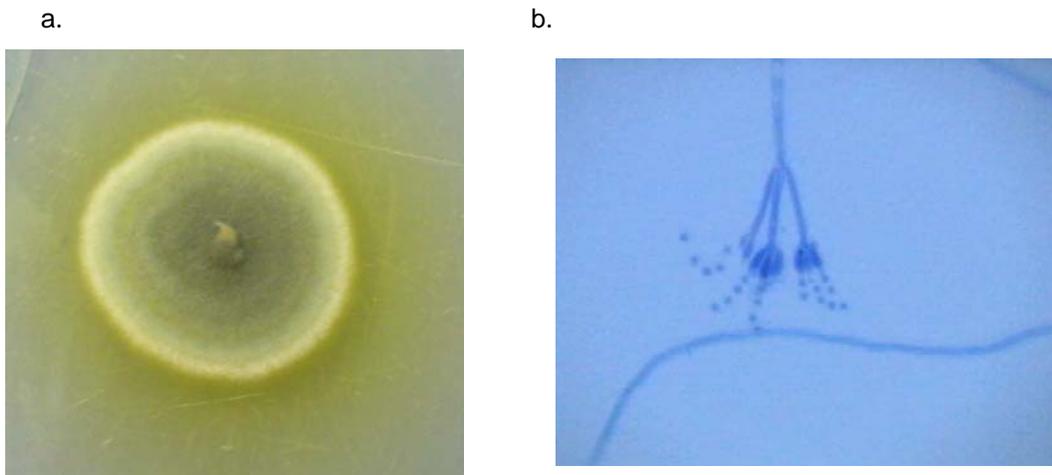


Figura 72: *Penicillium corylophilum* **72a.** *Penicillium corylophilum* en medio Czapeck 15 días. **72b.** *Penicillium corylophilum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.17 *Penicillium crustosum*

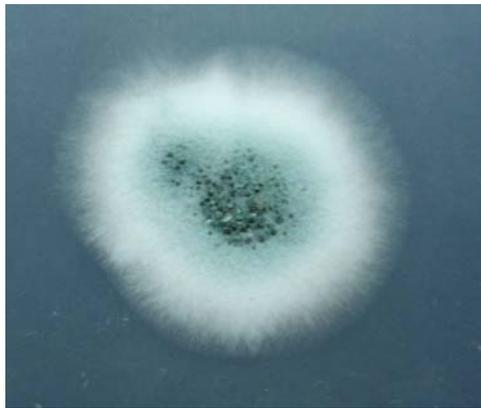
Características macroscópicas

Las colonias en Czapeck son aterciopeladas, crecen rápidamente alcanzando un diámetro de 3-4 cm en 7 días a 25°C, de color verde. Reverso color crema verdoso. Exudación presente como gotas cristalinas.

Características microscópicas

Conidióforos terverticilados con paredes rugosas. Métulas cilíndricas 10-15 x 3-3,5 μm , fiálides 9-12 x 2,5-3 μm . Conidios de paredes lisas, globosos a subglobosos de 3,5-4 μm de diámetro.

a.



b.

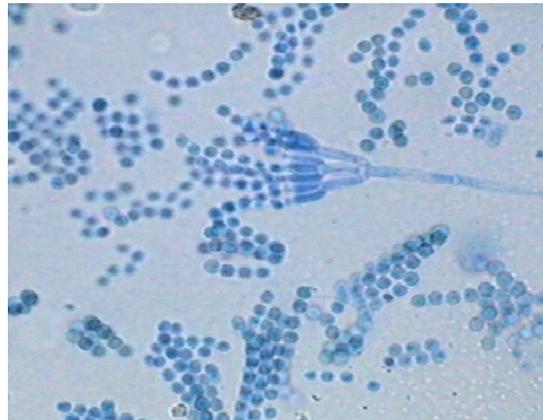


Figura 73: *Penicillium crustosum* **73a.** *Penicillium crustosum* en medio Czapeck 7 días. **73b.** *Penicillium crustosum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.18 *Penicillium duclauxii*

Características macroscópicas

Las colonias en Czapeck crecen lentamente alcanzando un diámetro de 2-3 cm en 15 días a 25°C, son aterciopeladas, de color blanco con tonos ligeramente rojos. Reverso color blanco, amarillento a rojo. Produce pigmento rosado difusible en el medio.

Características microscópicas

Conidióforos cortos, biverticilados y simétricos, con verticilos de 2 a 5, la métula de 8-10 x 2,5-3 μm , no ramificada. Conidios subglobosos de 3 μm de diámetro.

a.



b.

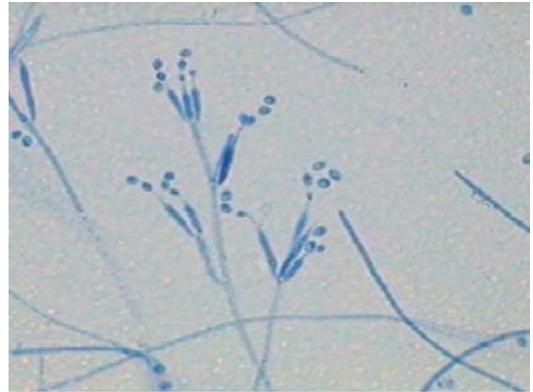


Figura 74: *Penicillium duclauxii* **74a.** *Penicillium duclauxii* en medio Czapeck 15 días. **74b.** *Penicillium duclauxii* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.19 *Penicillium echinulatum*

Características macroscópicas

Las colonias en Czapeck son aterciopeladas, con el tiempo zonadas, con diferentes tonalidades de gris, gris olivo; crecen lentamente alcanzando un diámetro de 2,5-3,5 cm en 7 días a 25°C. Reverso incoloro a amarillento. Exudado como gotas incoloras.

Características microscópicas

Conidióforos de longitud variable, cortos, de paredes rugosas, terverticilados. Métula variable 10-15 x 2,5-3 μm , cilíndrica; fiálides en forma de botella, 7-10 x 2,2-2,8 μm , conidos de 3.0 a 3.5 μm de diámetro, globosos y rugosos.

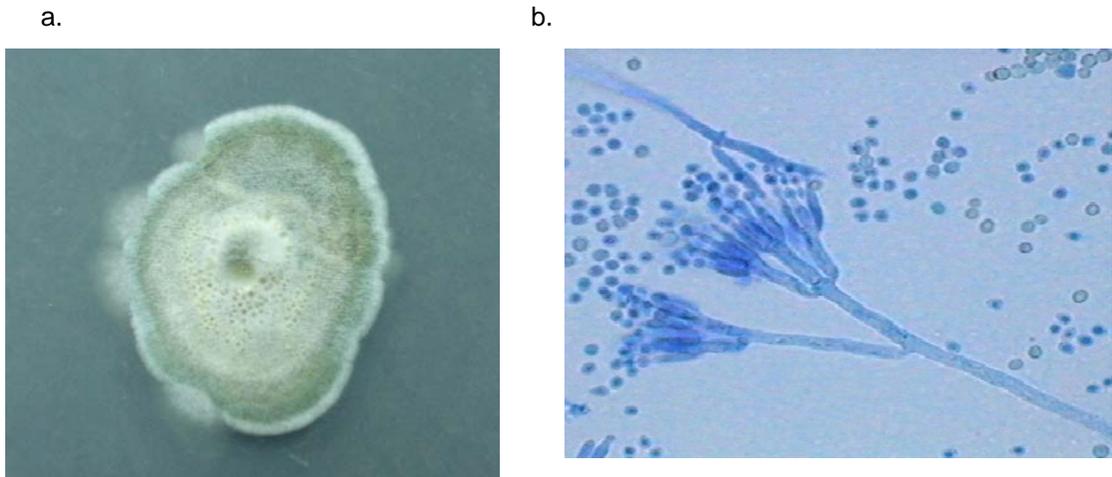


Figura 75: *Penicillium echinulatum*. **75a.** *Penicillium echinulatum* en medio Czapeck 7 días. **75b.** *Penicillium echinulatum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.20 *Penicillium egyptiacum*

Características macroscópicas

Colonias en el centro ligeramente levantadas, micelio verde oscuro, amarillo pulverulento y algodonoso. Borde irregular de color amarillo y textura algodonosa. Reverso verde amarillento, colonia redonda, presentando exudado limitado, de color transparente.

Características microscópicas

Los conidióforos aparecen como ramas laterales cortas, lisos, $40 \times 3.1 \mu\text{m}$, con el ápice ligeramente ensanchado. Se observa de 3 a 5 Fiálides, cada una de $6.0 \times 2.2 \mu\text{m}$. Métulas de $12 \times 3.2 \mu\text{m}$, en forma de botella. Conidios en cadenas largas en forma desordenada, de color verde, globosos, $2.3\text{-}2.7 \mu\text{m}$.

a.



b.



Figura 76: *Penicillium egyptiacum*. **76a.** *Penicillium egyptiacum* en medio Czapek (CzA) 6 días. **76b.** *Penicillium egyptiacum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.21 *Penicillium ehrlichii*

Características macroscópicas

Colonias en Czapeck aterciopeladas de color blanco, crecen lentamente alcanzando un diámetro de 2-3 cm en 15 días a 25°C. Reverso blanco a amarillo. No presenta exudado.

Características microscópicas

Penicilos escasos formados por fiálides arregladas irregularmente produciendo cadenas cortas de conidios. Fiálides frecuentemente solitarias o en grupos de 2 a 3, variables en forma y dimensiones, comúnmente 10-15 x 2,5-3,5 μm ; conidios elípticos de paredes lisas, 4-5 x 3,5-4 μm .

a.



b.

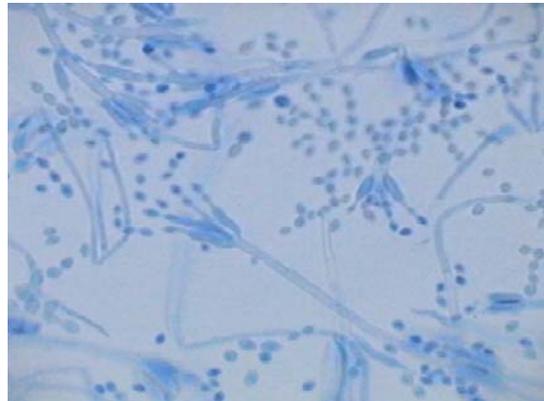


Figura 77: *Penicillium ehrlichii*. **77a.** *Penicillium ehrlichii* en medio Czapeck 7 días. **77b.** *Penicillium ehrlichii* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.22 *Penicillium expansum*

Características macroscópicas

Las Colonias en agar Czapek a 25°C crecen rápidamente, alcanzando un diámetro de 4 cm en 7 días. Color azul verdoso, blanco con borde amarillo de textura pulverulenta. El área central es más levantada por la acumulación de esporas. Reverso amarillo a amarillo-café. Colonia redonda con borde irregular. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforos hialinos, septados, tri-cuatriverticilados. Métulas más o menos cilíndricas, 10-15 x 2.2-3.0 µm, en donde empiezan las fiálides en grupos de 5 a 8. Fiálides cilíndricas con un corto pero distintivo cuello, 8-12 x 2-3.5 µm. Conidios globosos a elipsoidales, 3.0-3.5 x 2.5-3.0 µm, de color verde.

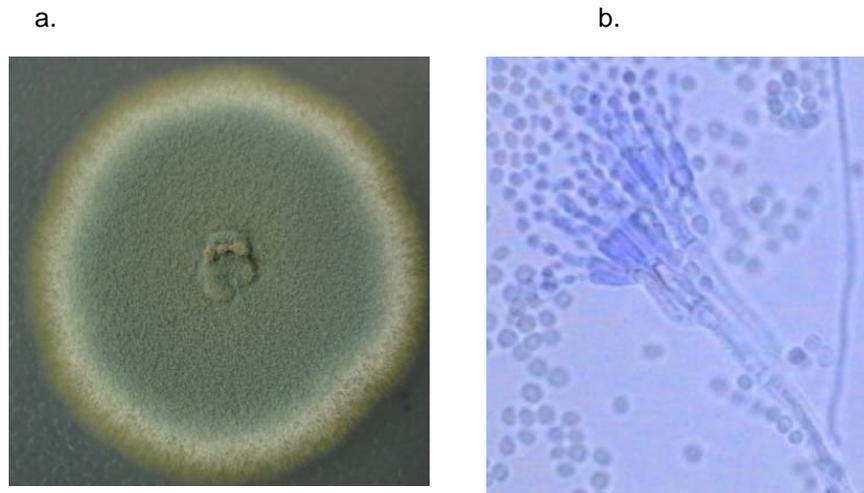


Figura 78: *Penicillium expansum*. **78a.** *Penicillium expansum* en medio PDA 6 días. **78b.** *Penicillium expansum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.23 *Penicillium frequentans*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapeck alcanzan un diámetro de 3,2 cm en 7 días a 25°C. Colonias verde-azul a verde oliva, adquiriendo, con la edad, mayor intensidad hasta verde-café oscuro; aterciopeladas o pulverulentas. Margen ancha y blanca de textura aterciopelada. Reverso amarillo verdoso. Colonia ovalada con borde irregular. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforos con frecuencia cortos (varían de 60 a 100 μm), de paredes lisas, hialinos y monoverticilados. Cadenas conidiales largas y uniformes que se producen únicamente en fiáldes, 8.0-11.5 x 2.2-3.2 μm . Conidios globosos, hialinos, lisos o moderadamente rugosos, 2.6-4.0 μm de diámetro.

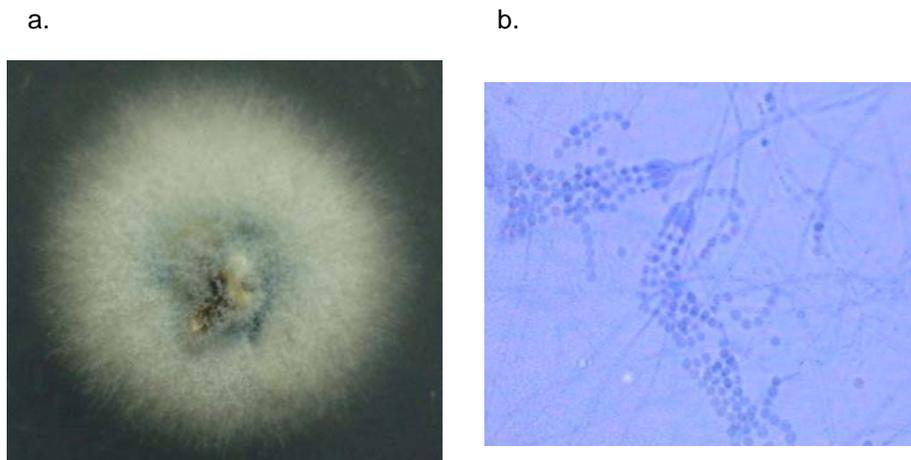


Figura 79: *Penicillium frequentans*. **79a.** *Penicillium frequentans* en medio Czapek (CzA) 7 días. **79b.** *Penicillium frequentans* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.24 *Penicillium funiculosum*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapeck crecen rápidamente alcanzando un diámetro de 3-4 cm en 7 días a 25°C; de color verde y amarillo, aterciopelada. Reverso anaranjado a café. No exudado.

Características microscópicas

Conidióforos biverticilados terminando en 5 a 8 métulas. Fiálides 10-14 x 2-3 μm , en verticilos densos, paralelos. Métula 10-13 x 2-3 μm , conidios subglobosos a elipsoidales, lisos a rugosos, 3-4 x 2-3 μm .

a.



b.



Figura 80: *Penicillium funiculosum*. **80a.** *Penicillium funiculosum* en medio PDA 7 días. **80b.** *Penicillium funiculosum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.25 *Penicillium herquei*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapeck, con micelio algodonoso, de color blanco que con la edad se torna amarillo y verde claro, surcadas de manera radial. Reverso amarillo verdoso. Colonia redonda con borde irregular. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforos hialinos, de paredes rugosas. Métulas engrosadas de 8-10 μm de largo x 2.2-2.5. Presenta fiálides de 7.0-9.0 μm de largo, adelgazándose de manera brusca para terminar en un tubo estrecho (2.0-2.2 μm de ancho) que porta los conidios. Conidios subglobosos y elípticos, delicadamente ásperos, desde 3.0 x 2 μm hasta 3.5-4.0 x 2.5 μm , muy ligeramente coloreados de verde, en cadenas divergentes y entremezcladas.

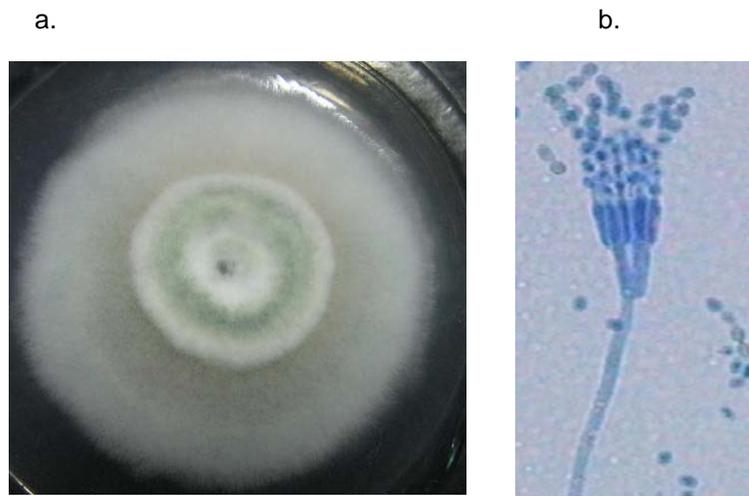


Figura 81: *Penicillium herquei*. **81a.** *Penicillium herquei* en medio Czapek (CzA) 7 días.

81b. *Penicillium herquei* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.26 *Penicillium hirsutum*

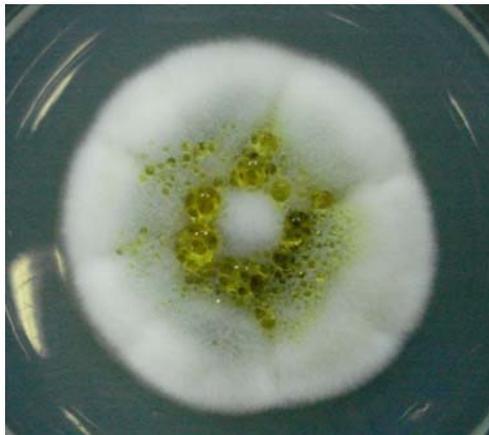
Características macroscópicas

Colonias en agar Czapeck aterciopeladas, crecen rápidamente alcanzando un diámetro de 2-3 cm en 7 días a 25°C; de color blanco verdoso. Reverso amarillo, exudado abundante como gotas amarillas.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes lisas, terverticilados. Métulas cilíndricas 10-15 x 3,2-4 μm , fiálides 9-12 x 2,4-3,2 μm . Conidios globosos a subglobosos de paredes lisas, 2,2 - 4 μm de diámetro.

a.



b.



Figura 82: *Penicillium hirsutum*. **82a.** *Penicillium hirsutum* en medio Czapeck 15 días. **82b.** *Penicillium hirsutum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.27 *Penicillium implicatum*

Características macroscópicas

Las colonias en czapek crecen muy poco y lentamente, alcanzando 1.5-2 cm de diámetro en 7 días. Margen delgado, blanco y de textura rígida. Producen abundantes esporas que se acumulan en el centro formando costras con la edad, de color verde claro y oscuro, de textura pulverulenta. Exudación limitada de color transparente. Reverso de la colonia amarillo-crema con centro café.

Características microscópicas

Conidióforos cortos $100 \times 2.5-2.8 \mu\text{m}$, que se dividen en 2 ramas. Pueden ser biverticilados o triverticilados. Fiálides unidas, de 8 a 12 por verticilo, $9-12 \times 2.0-2.5 \mu\text{m}$. Conidios globosos, $2.5-3.0 \times 2-2.5 \mu\text{m}$, de paredes gruesas, lisos o con ligera asperezas, de color verde oscuro.

a.



b.

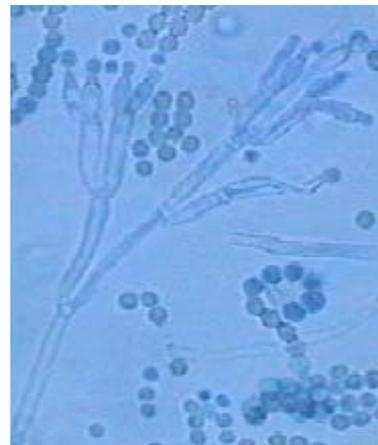


Figura 83: *Penicillium implicatum*. **83a.** *Penicillium implicatum* en medio Czapek (CzA) 7 días. **83b.** *Penicillium implicatum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.28 *Penicillium islandicum*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek alcanzan un diámetro de 2.7 cm en 7 días a 25°C. Frecuentemente con zonas de diversos colores; verde claro, amarillo-naranja, blanco grisáceo, con borde amarillo verdoso, de textura pulverulenta, y en el borde algodonoso. En el centro presenta relieve por la acumulación de esporas. Reverso de la colonia crema-verde oliva con centro café. Presenta exudación limitada en microgotas de color transparente.

Características microscópicas

Conidióforos cortos 50-70 μm de largo, la mayoría cuatriverticilados. Que constan de un verticilo terminal con ramas fialíferas en un número de 4 a 6 por verticilo, 12.2 x 2.8 μm ; fiálides paralelas muy juntas, en grupos de 2 a 3 muy cortas y gradualmente adelgazadas, 7.3 x 2.3 μm . Métulas ensanchadas, 18.5 x 2.8 μm . Conidios globosos a elípticos de color verde oscuro, 3.0-3.5 x 2.5-3.0 μm de paredes gruesas, en cadenas entrelazadas.

a.



b.



Figura 84: *Penicillium islandicum*. **84a.** *Penicillium islandicum* en medio Czapek (CzA) 7 días. **84b.** *Penicillium islandicum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.29 *Penicillium italicum*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapeck alcanzan un diámetro de 2-3 cm en 7 días a 25°C, aterciopeladas a pulverulentas, de color verde a verde pálido grisáceo. Reverso incoloro a gris. No presenta exudado.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes lisas, hialinos, terverticilados. Métulas de paredes lisas 15-20 x 3,5-4 µm, fiálides cilíndricas con cuellos cortos, 8-15 x 2-5 µm. Conidios globosos a subglobosos de paredes lisas, 4-5 x 2,5-3,5 µm.

a.



b.

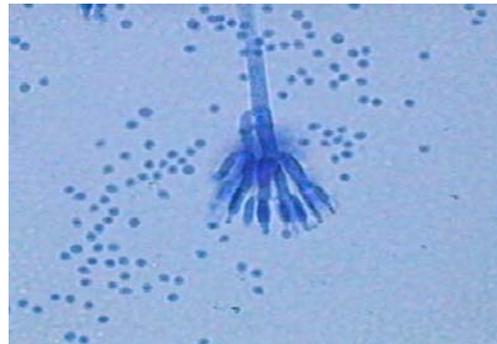


Figura 84: *Penicillium italicum*. **84a.** *Penicillium italicum* en medio Czapeck 7 días. **84b.** *Penicillium italicum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.30 *Penicillium javanicum*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapek creciendo con relativa rapidez, 3.2 cm en 7 días a 25°C. Delgadas, borde regular con superficie algodonosa, con la zona central más o menos levantada y surcada de manera radial. De color crema-blanco grisáceas, en el centro crema-amarillo claro. Reverso blanco y centro amarillo claro.

Características microscópicas

Conidióforos cortos de paredes lisas, monovercillados, con pequeñas cadenas de conidios en línea. Fiálides en grupos de 3 a 6 en forma de botella, 8-10 x 2-2.5 µm. Métulas engrosadas 12 x 2.7 µm. Conidios elípticos a subglobosos, hialinos, lisos, 3 x 2.7 µm.

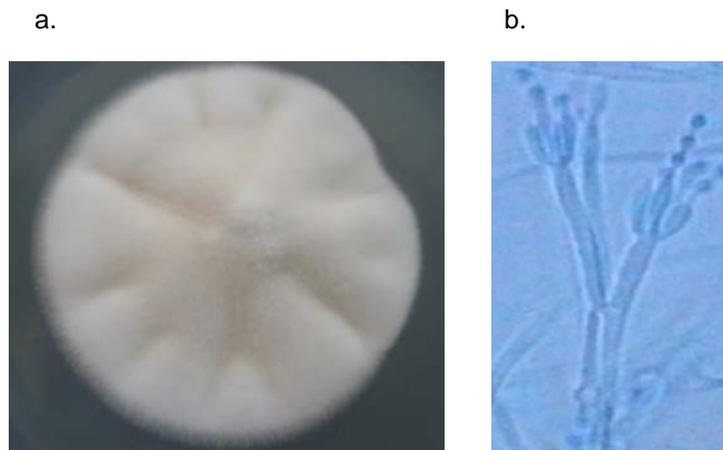


Figura 85: *Penicillium javanicum*. **85a.** *Penicillium javanicum* en medio Czapek (CzA) 6 días. **85b.** *Penicillium javanicum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.31 *Penicillium levitum*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek alcanzan un diámetro de 3.25 cm en 7 días a 25°C. Relativamente delgadas, con borde regular y ovaladas. Borde ancho de color blanco con textura algodonosa. En el centro matices de color crema-amarillo rígidas o pulverulenta. Presenta exudación transparente.

Características microscópicas

Conidióforos largos de paredes delgadas y lisas, 20-40 x 2.8-3.0 μm . Biverticilada. Métulas ensanchadas en grupos de 3 a 4 por rama, 14 x 3.0 μm . Fiálides 4 a 5 por verticilo, dispuestas irregularmente, 7-12 x 2.2-3.3 μm . Conidios globosos a subglobosos, de paredes lisas, 3.5-4 μm de diámetro, en cadenas divergentes muy cortas.

a.



b.



Figura 86: *Penicillium levitum*. **86** *Penicillium levitum* en medio Czapek (CzA) 6 días. **86** *Penicillium levitum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.32 *Penicillium melinii*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek crecen lentamente, alcanzando un diámetro de 1.05 cm en 7 días a 25°C. Aterciopeladas con la zona central ligeramente levantada, con algunas protuberancias, de color gris claro. Borde de la colonia blanco, 1 mm de ancho. Reverso crema-verde claro. Presenta exudación abundante color amarillo-naranja.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes granular-turbecular, generalmente menores a 100 µm de largo x 2-3.0 µm. Cuatriverticilado. Métulas de paredes lisas, 23 x 3.6 µm. Fiálides en 2 series. Fiálides primarias en grupos de 5 a 7 de 8.0 x 2.5 µm. Fiálides secundarias en forma de pico, 10-20 x 2.0-2.5 µm., con cadenas conidiales divergentes o entremezcladas. Conidios ásperos, 3.2-3.8 µm de diámetro.

a.



b.

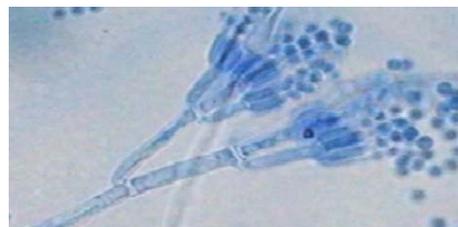


Figura 87 *Penicillium melinii*. **87** *Penicillium melinii* en medio PDA en 6 días.

87 *Penicillium melinii* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.33 *Penicillium miczynskii*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapeck aterciopeladas de textura compacta, alcanzan un diámetro de 3-3,5 cm en 15 días a 25°C, de color blanco que más tarde desarrolla color verde. Reverso blanco. Exudado como pequeñas gotas incoloras.

Características microscópicas

Conidióforos desiguales de paredes lisas, excepcionalmente ramificados con 3 a 5 métulas de longitud irregular, 8-15 x 2-2,2 μm , fiálides 7-9 x 1,5-2 μm . Conidios subglobosos 2,5-3 x 2-2,5 μm .

a.



b.

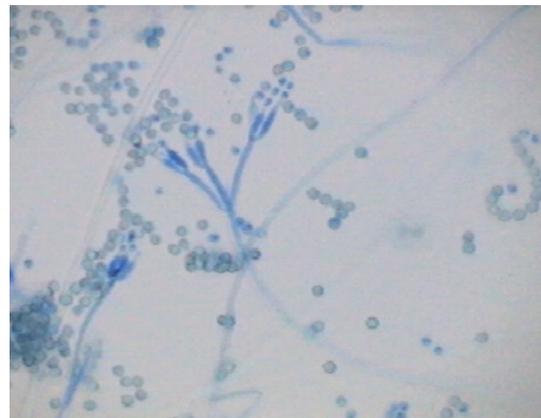


Figura 88: *Penicillium miczynskii*. **88a.** *Penicillium miczynskii* en medio Czapeck 15 días. **88b.** *Penicillium miczynskii* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.34 *Penicillium nalgioense*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapeck a 25°C durante 7 días alcanzan un diámetro de 2.3 a 3 cm. Surcadas radialmente, esporulación escasa, exudación y pigmento difusible ausente. Colonias blancas, gris-verde pálido con la edad, de textura algodonosa. Reverso crema-amarillo con centro oscuro.

Características microscópicas

Conidióforos tri-cuatriverticilados, hialinos, septados, con paredes rugosas. Métulas ensanchadas, 7.0-15 x 2.5-3.0 μm , que dan inicio a grupos de 2 a 6 fiálides. Fiálides en forma de botella, 8.0-10 x 2.0-2.5 μm . Conidios globosos a subglobosos, hialinos, 3.0-4.0 μm de diámetro.

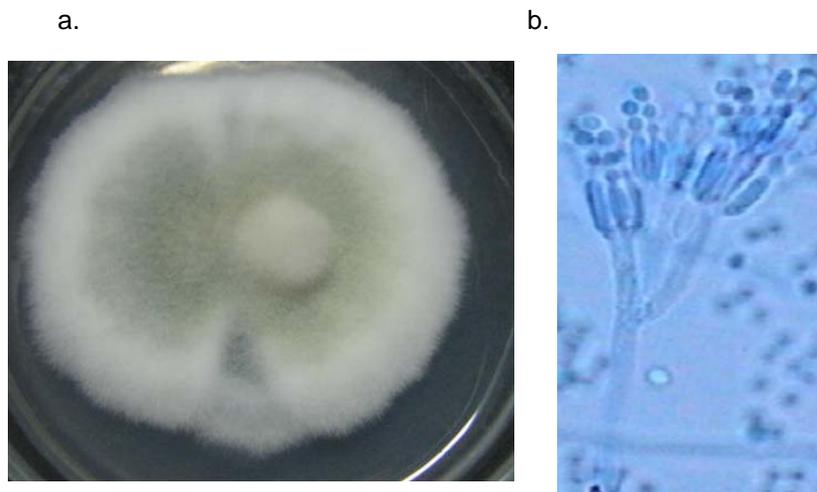


Figura 89: *Penicillium nalgioense*. **89a.** *Penicillium nalgioense* en medio Czapek (CzA) 7 días. **89b.** *Penicillium nalgioense* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.35 *Penicillium olsonii*

Las colonias en agar Czapeck crecen rápidamente alcanzando un diámetro de 2-2.5 cm en 7 días a 25°C, aterciopeladas a pulverulentas, de color verde grisáceo. Reverso blanco grisáceo. Exudado como pequeñas gotas incoloras.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes lisas, largos, terverticilados con múltiples ramas, métula 10-12 x 3-4 μm , fiálides en forma de botella con cuello corto, 9-10 x 2-3,2 μm . Conidios subglobosos a elipsoidales 3-4 x 2,5-3 μm .

a.



b.



Figura 90: *Penicillium olsonii*. **90a.** *Penicillium olsonii* en medio Czapeck 7 días. **90b.** *Penicillium olsonii* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.36 *Penicillium palitans*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapeck son aterciopeladas, de color verde, alcanzan un diámetro de 2-3 cm en 7 días a 25°C. Reverso color blanco al inicio, posteriormente amarillo. Exudado como pequeñas gotas incoloras.

Características microscópicas

Conidióforos terverticilados, métulas, 10-15 x 3-4 μm en grupos de 3 a 5, fiálides cilíndricas, 8-10 x 2,2-3 μm . Conidios de paredes lisas globosos a subglobosos, 3,5-4,5 μm de diámetro.

a.



b.

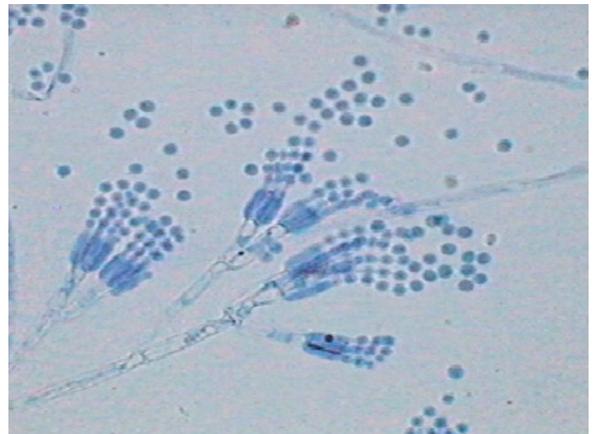


Figura 91: *Penicillium palitans*. **91a.** *Penicillium palitans* en medio Czapeck 7 días. **91b.** *Penicillium palitans* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.37 *Penicillium oxalicum*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek a 25°C, crecen rápidamente. Alcanzan un diámetro de 3.2 cm en 7 días. Colonias con producción abundante de conidios, color verde-gris oscuro de textura pulverulenta. Presenta exudado claro. El reverso de la colonia es crema amarillo a crema verdoso.

Características microscópicas

Conidióforos hialinos, cilíndricos de paredes lisas, (asimétricamente biverticilados), algunas veces septados. Métulas en grupos de 2 a 4 ensanchadas, 15-23 μm de largo. Fiálides en forma de botella, 10-15 μm de largo. Conidios largos, elípticos, hialinos, 3.2-5.0 μm de diámetro.

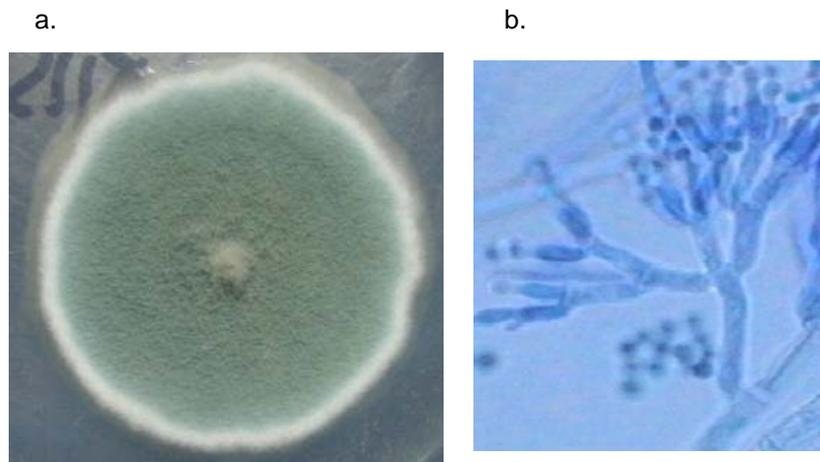


Figura 92: *Penicillium oxalicum*. **92a.** *Penicillium oxalicum* en medio PDA 6 días.

92b. *Penicillium oxalicum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.38 *Penicillium piscarium*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapek esparciéndose rápidamente, 4.0 cm de diámetro en 7 días. Colonias blancas, en el centro crema grisáceo, más o menos surcadas radialmente, con el área central por regla general levantada. Reverso blanco con centro café claro. No presenta exudación. Colonia redonda con borde regular.

Características microscópicas

Conidióforos lisos, de paredes delgadas, cortos 40-50 x 2.2-3.3 μm . Varían de monoverticilados a biverticilados. Métulas delgadas, 16 x 2.8 μm . Presentan fiálides en grupos de 3 a 5, con el ápice puntiagudo, 8-9.0 x 2.5 μm . Conidios globosos a elípticos, 3.5-3.6 x 2.8-3.3 μm .

a.



b.



Figura 93: *Penicillium piscarium*. **93a.** *Penicillium piscarium* en medio Czapek (CzA) 7 días. **93b.** *Penicillium piscarium* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.39 *Penicillium rugulosum*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapeck de 2.0 a 2.5 cm a 25°C, de color verde amarillento, más tarde verdes y finalmente de color verde oscuro, textura vellosa. Micelio joven blanco de textura algodonosa. Reverso de color amarillo a naranja brillante; medio de cultivo débilmente coloreado. Colonia redonda con borde irregular. Presenta exudación de color amarillo.

Características microscópicas

Conidióforos, hialinos, de paredes lisas, típicamente biverticilados. Fiálides en grupos de 3 a 6 (9-12 x 2 µm). Métulas ensanchadas, 12-15 x 3.0-3.2 µm. Cadenas conidiales largas, creciendo de forma ordenada, globosos y elípticos de color verde, rugosos, 3.4-3.8 x 2.5-3.0 µm.

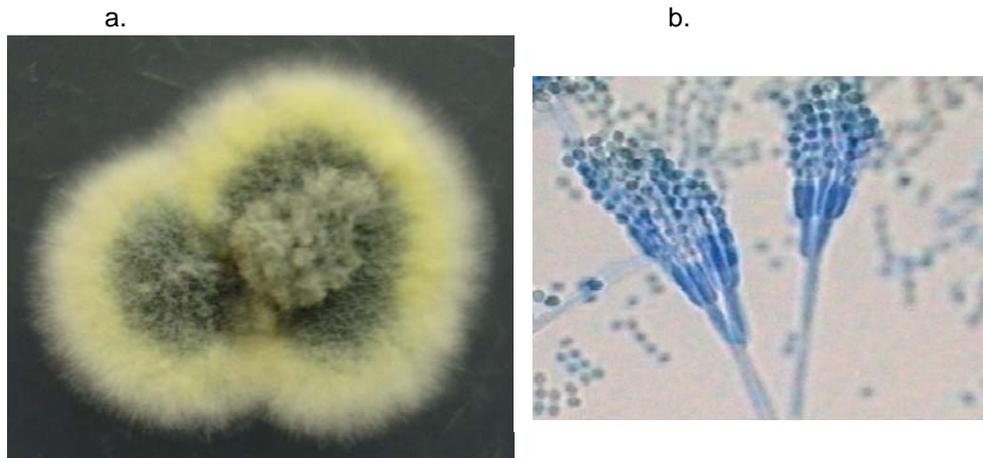


Figura 94: *Penicillium rugulosum*. **94a.** *Penicillium rugulosum* en medio Czapek (CzA) 7 días. **94b.** *Penicillium rugulosum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.40 *Penicillium simplicissimum*

Características macroscópicas

Colonias circulares en agar Czapek, margen ancho de color blanco-crema grisáceo. El centro levantado con zonas surcadas radialmente, color verde claro, amarillo-crema. Textura algodonosa, esparciéndose hasta alcanzar 3.5 cm de diámetro en 7 días. Reverso amarillo-crema. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes lisas, hialinas, que se dividen en 2 o 3 ramas. Monoverticilados. Presentan fiálides en grupos de 2 a 3, la mayoría cortas, 6.0-8.0 x 2.2 μm , produciendo cadenas de conidios divergentes o entremezclados. Conidios comúnmente 2.5-3.0 μm , globosos a subglobosos, color verde.

a.



b.



Figura 95: *Penicillium simplicissimum*. **95a.** *Penicillium simplicissimum* en medio PDA en 6 días. **95b.** *Penicillium simplicissimum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.41 *Penicillium spinulosum*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapeck aterciopeladas, micelio de color blanco con masa conidial color gris verdoso, alcanzan un diámetro de 4,5-5,5 cm en 15 días a 25°C. Reverso color blanco. Exudado en forma de pequeñas gotas incoloras.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes lisas a rugosas, monoverticilados, fiálides en forma de botella 6-10 x 2-3 μm . Conidios globosos, espinulosos, 3-3,5 μm de diámetro.

a.



b.

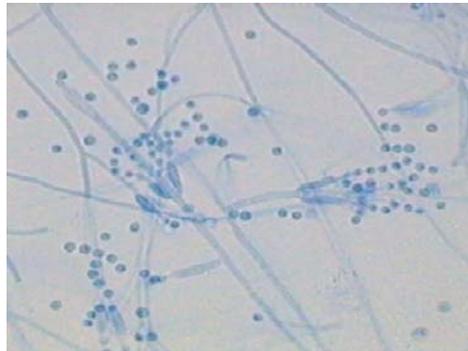


Figura 96: *Penicillium spinulosum* **96a.** *Penicillium spinulosum* en medio Czapeck 7 días. **96b.** *Penicillium spinulosum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.42 *Penicillium stoloniferum*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapek a 25°C, de color verde o verde-amarillo, cambiando a verde grisáceo o gris con la edad, de textura pulverulenta. Reverso blanco, verde claro. Colonia ovalada con borde irregular. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforos hasta de 80 μm de largo, hialinos, de paredes lisas, generalmente triverticilados. Métulas cilíndricas en grupos de 4 a 6, 12-14 x 3.0-3.2 μm . Fiálides engrosadas con el ápice puntiagudo, 8.0-10 x 3.0-3.2 μm . Cadenas conidiales divergentes. Conidios subglobosos, lisos, 2.8-3.4 μm , de color verde amarillento en conjunto.

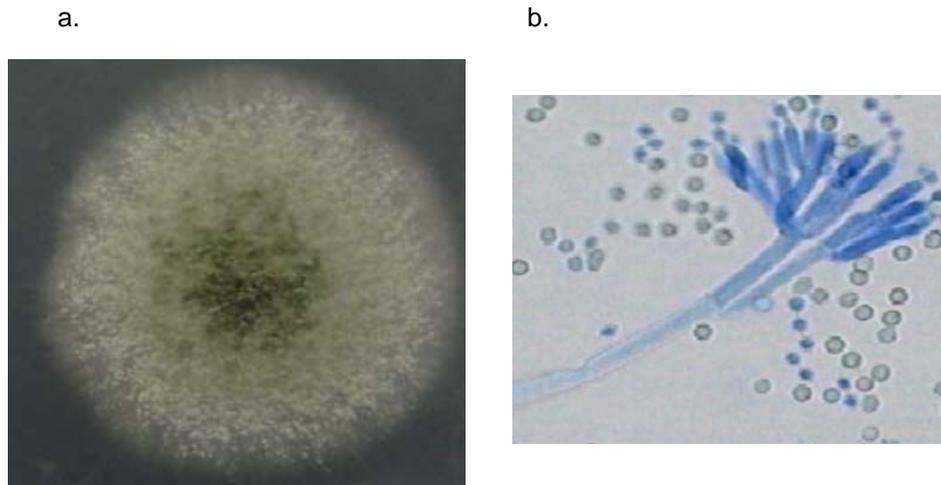


Figura 97: *Penicillium stoloniferum*. **97a.** *Penicillium stoloniferum* en medio PDA 6 días.

97b. *Penicillium stoloniferum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.43 *Penicillium striatum*

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek alcanzan un diámetro de 2.4 cm en 7 días a 25°C. De color blanco-crema con la zona central levantada por la acumulación de esporas, textura pulverulenta. Margen blanca, algodonosa, borde regular. Colonia ovalada. Presenta exudación transparente.

Características microscópicas

Conidióforos lisos, hialino, monoverticilados, 3.0-3.7 μm de ancho. Presenta fiálides escasas, 8.0-10 x 2.5-3.0 μm , con el ápice puntiagudo. Conidios globosos de color verde, 3-4.0 x 2.5-3.0 μm , lisos.



Figura 98: *Penicillium striatum*. **98a.** *Penicillium striatum* en medio Czapek (CzA) 7 días. **98b.** *Penicillium striatum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.44 *Penicillium terlikowskii*

Características macroscópicas

Colonias de color blanco y gris verdoso en agar Czapeck, aterciopeladas, alcanzan un diámetro de 3-4 cm en 15 días a 25°C. Reverso color blanco. Exudado como pequeñas gotas incoloras.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes lisas, monoverticilados, fiálides 7-9 x 2-2,5 µm. Conidios globosos a subglobosos, 2,5-3 µm de diámetro.

a.



b.



Figura 99: *Penicillium terlikowskii*. **99a.** *Penicillium terlikowskii* en medio Czapeck 7 días. **99b.** *Penicillium terlikowskii* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.45 *Penicillium verruculosum*

Características macroscópicas

Colonias de color blanco y gris verdoso en agar Czapeck, aterciopeladas, alcanzan un diámetro de 3-4 cm en 15 días a 25°C. Reverso color blanco. Exudado como pequeñas gotas incoloras.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes lisas, biverticilados, métulas 8-15 x 3-3,5 μm , fiálides en agrupaciones de 5 a 7, 8-10 x 2,2-3 μm . Conidios globosos a subglobosos, de 2,5-3,5 μm de diámetro.

a.



b.

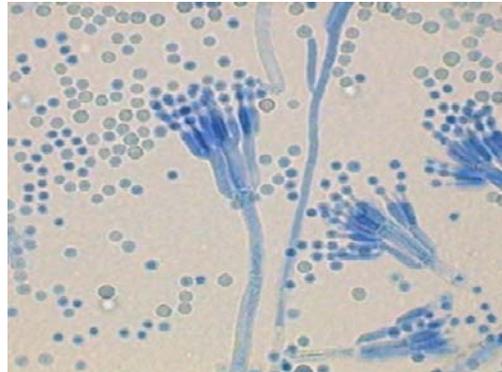


Figura 100: *Penicillium verruculosum*. **100a.** *Penicillium verruculosum* en medio Czapek 7 días. **100b.** *Penicillium verruculosum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.46 *Penicillium vinaceum*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapeck de crecimiento continuo y rápido, en 7 días alcanzan un diámetro de 3.5 cm a 25°C. Superficie algodonosa, con margen ancho de color blanco, irregular. Al principio son de color blanco, con el tiempo toman un color rojo rosáceo oscuro, blanco grisáceo. La zona central es más levantada, color blanco con textura algodonosa y pulverulenta. Reverso de la colonia, al principio blanco y con el tiempo se torna rojizo. No presenta exudación.

Características microscópicas

Conidióforos de paredes lisas, hialinas, 3-3.6 μm de ancho. Biverticilado. Presenta fiálides con el ápice puntiagudo, 6.5-11.5 x 2.0-2.5 μm , en grupos de 3 a 6. De 4 a 6 métulas, ensanchadas, 12 x 3.1 μm . Conidios globosos a elípticos, lisos, algunos puntiagudos, 2.5-3.5 μm de diámetro, de color verde.

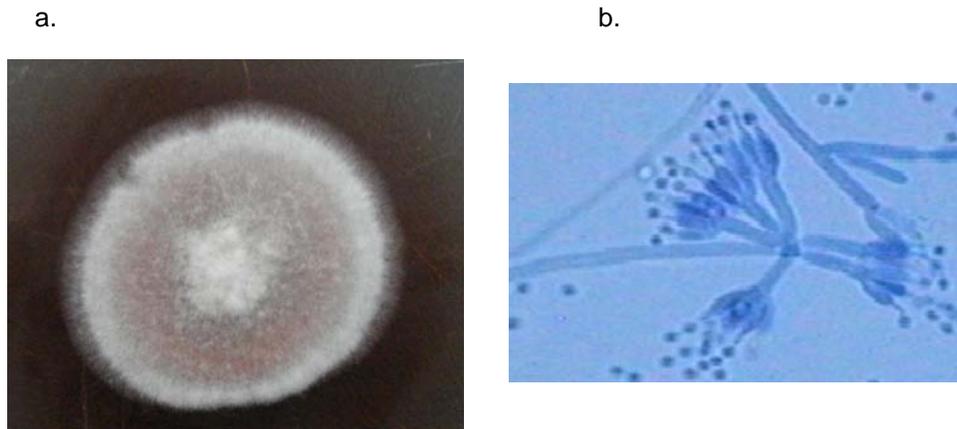


Figura 101: *Penicillium vinaceum*. **101a.** *Penicillium vinaceum* en medio Czapek (CzA) 7 días. **101b.** *Penicillium vinaceum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.12.47 *Penicillium viridicatum*

Características macroscópicas

Colonias en agar Czapek esparciéndose rápidamente, 7.5 cm en 7 días. Superficie algodonosa, amarillo grisáceo. El área central levantada de color verde oscuro y textura pulverulenta. Reverso crema, borde amarillo. No presenta exudación

Características microscópicas

Fructificación dividido en 3 series (Triverticilado). Conidióforos lisos, hialinos, 60-75 x 4-6.0 μm . Ramas primarias con longitud variable 17-30 x 3-4 μm , métulas de 13-20 x 3.5-4 μm , fiálides ensanchadas de 7.5-10.5 x 2.5-3 μm . Conidios lisos, globosos de color verde claro, 3.0-4.0 μm de diámetro.

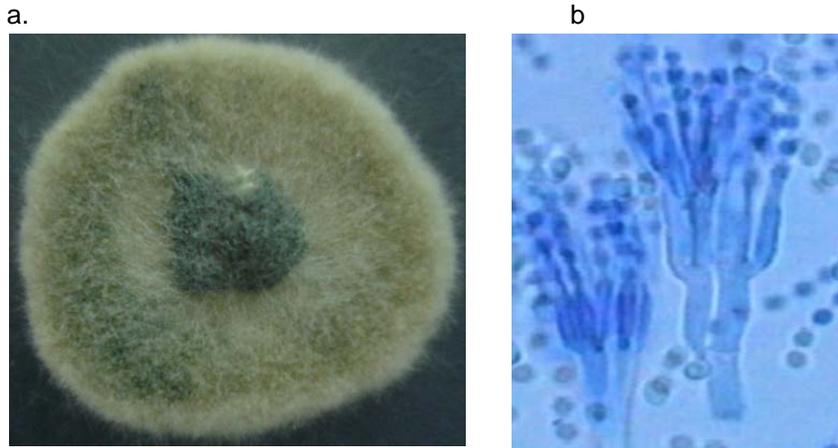


Figura 102: *Penicillium viridicatum*. **102a.** *Penicillium viridicatum* en medio Czapek (CzA) 7 días. **102b.** *Penicillium viridicatum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.13 GÉNERO: *Rhizopus*

Reino: *Fungi*

Phylum: *Zygomycota*

Clase: *Zygomycetes*

Orden: *Mucorales*

Familia: *Mucoraceae*

8.2.1.13.1 *Rhizopus oryzae*

Características macroscópicas

Las colonias son de color blanco tornándose café grisáceo con el tiempo, alcanzando una altura de 1 cm en agar Czapeck. De textura algodonosa, reverso incoloro. No presenta exudación.

Características microscópicas

Estolones lisos o ligeramente rugosos, incoloros o amarillo-cafés. Rizoides cafés, esporangióforos solitarios o en grupos de 5 de paredes con lisas, ligeramente cafés o hialinos. Esporangios globosos o subglobosos de color café oscuro, 50-200 μm de diámetro. Columnela ovoide o globosa, 30-120 μm de diámetro. Las esporangiosporas son globosas u ovoides, estriadas longitudinalmente, 4-10 μm .

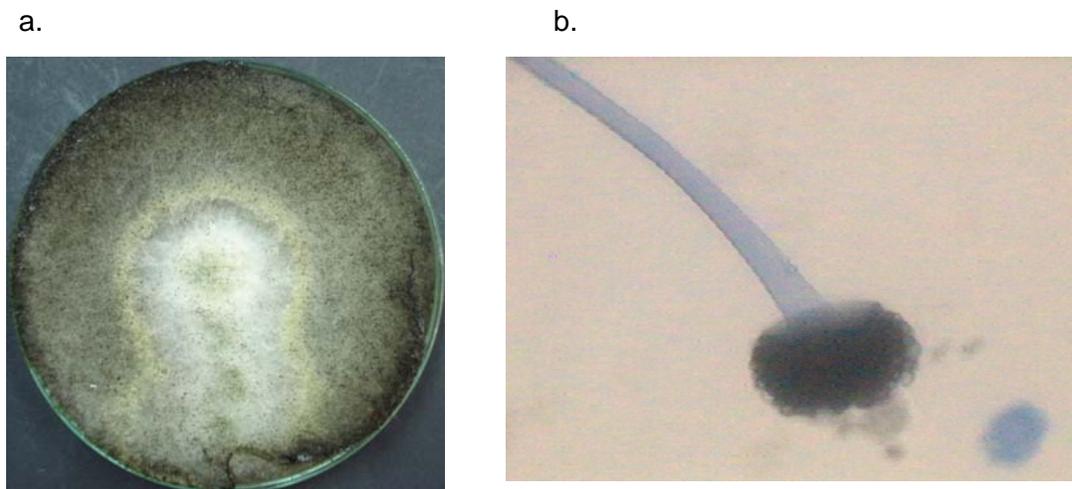


Figura 103: *Rhizopus oryzae*. **103a.** *Rhizopus oryzae* en medio Czapeck 15 días. **103b.** *Rhizopus oryzae* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.14 GÉNERO: *Sterigmatocystis*

Reino: *Fungi*

Phylum: *Ascomycota*

Clase: *Euascomycetes*

Orden: *Pleosporales*

Familia: *Pleosporaceae*

8.2.1.14.1 *Sterigmatocystis versicolor*

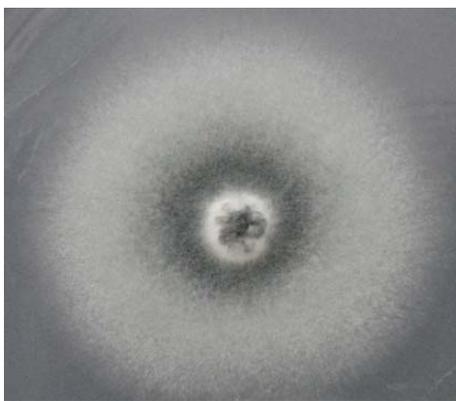
Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek a 25°C alcanzan un diámetro de 1.55 cm en 7 días. Pasan por diferentes tonalidades, primero blanco con micelio algodonoso, luego cambia a amarillo, amarillo-naranja a naranja-verde oscuro, textura pulverulenta en el centro. No presenta exudación. Colonia redonda.

Características microscópicas

Conidióforos hialinos 65-100 x 7.9 µm, de paredes lisas. Vesícula subglobosa a elipsoidal, 12-16 µm en diámetro. Fiálides crecen sobre las métulas, 5.5-8.0 x 2.5-3.0 µm. Métulas 5.0-7.5 x 2.0-2.5 µm. Conidios 3.4 µm, globosos a subglobosos de color verde.

a.



b.



Figura 104: *Sterigmatocystis versicolor*. **104a.** *Sterigmatocystis versicolor* en medio Czapek (CzA) 7 días. **104b.** *Sterigmatocystis versicolor* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

8.2.1.15 GÉNERO: *Trichoderma*

Reino: *Fungi*

Phylum: *Ascomycota*

Clase: *Sordariomycetes*

Orden: *Hypocreales*

Familia: *Hypocreaceae*

8.2.1.15.1 *Trichoderma harzianum*

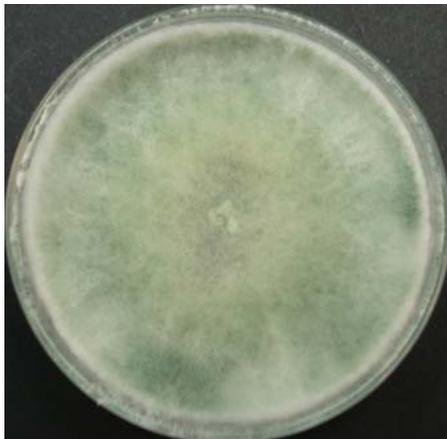
Características macroscópicas

Colonias en agar Czapeck aterciopeladas, de color blanco verdoso que se torna verde oliva con el tiempo, formándose anillos concéntricos. Alcanzan un diámetro de 9 cm en 7 días a 25°C. Revéz incoloro.

Características microscópicas

Los conidióforos se ramifican de forma piramidal, con ramas cortas en las puntas y más largas en la parte inferior. Las fiálides se encuentran en agrupaciones de 3 a 5, en forma de botella, 4-7 x 2,5-3,5 µm. Conidios subglobosos a ovoides, de paredes lisas, hialinos a verde pálido, 2,5-3,0 x 2,0-2,5 µm.

a.



b.

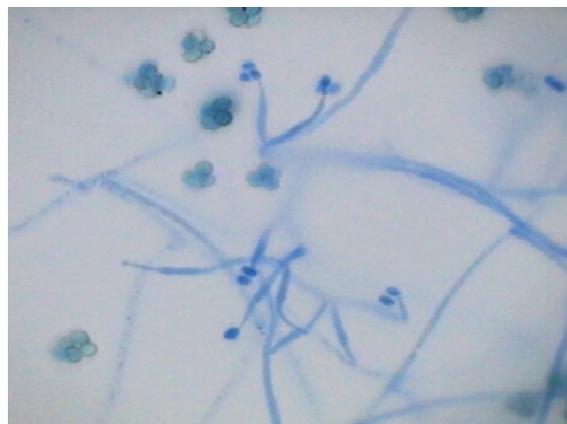


Figura 105: *Trichoderma harzianum*. **105a.** *Trichoderma harzianum* en medio Czapeck 7 días. **105b.** *Trichoderma harzianum* microscópicamente 100X

Fuente: Autores

Como se mencionó anteriormente, para la identificación de los microorganismos se utilizaron claves taxonómicas, ya que son un recurso de fácil acceso, siendo el estudio morfológico el punto clave para la identificación del género y posible especie. No obstante, en este estudio se obtuvieron tres cepas de *Penicillium* cuya especie no pudo ser determinada haciendo uso de las claves taxonómicas. Adicionalmente, 10 de las cepas aisladas de los dos páramos no se lograron identificar, ya que no presentaban estructuras morfológicas definidas que permitieran su clasificación. Por consiguiente, se recomienda hacer uso de pruebas complementarias para poder garantizar la exactitud en la identificación de los microorganismos aislados. Según Ciardo y colaboradores en el 2006, la identificación se puede realizar haciendo uso de la PCR (Reacción en cadena de Polimerasa), que incluye la longitud de los fragmentos de restricción polimórficos, ensayos de hibridación o la amplificación y secuenciación de una determinada parte del ADN. Así mismo, se puede recurrir a otra técnica molecular, como lo es la de perfil de ácidos grasos o análisis de lípidos (Madan *et al*, 2002), debido a que, según Mendoza, 2005, estas técnicas tienen la gran ventaja de ser específicas, sensibles y eficientes, permitiendo diferenciar especies muy relacionadas entre sí desde el punto de vista taxonómico, así como la identificación en un corto tiempo de hongos que desarrollan pocas o ninguna estructura fructífera.

Así mismo, según el estudio de Kirk y colaboradores en el 2004, se han aislado microorganismos por métodos como dilución en placa, que son rápidos, poco costosos y que proveen información de la población activa, sin embargo existen limitaciones como separar las esporas de las partículas de suelo o la selección de medios de cultivo para su crecimiento, que pueden permitir un mayor crecimiento de algunos microorganismos o su mayor esporulación, limitando el crecimiento de otros.

9. CONCLUSIONES

- Se aislaron 129 cepas axénicas de hongos filamentosos que corresponden a 15 géneros en total de las zonas de frailejones de los Páramos de Guasca y Cruz Verde.
- Los géneros de mayor incidencia en los dos páramos fueron *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp. con porcentajes de incidencia de 60 y 30% respectivamente, siendo éstos típicos de los ecosistemas paramunos.
- Géneros como *Alternaria* sp., *Byssochlamys* sp., *Cladosporium* sp., *Curvularia* sp., *Fusarium* sp., *Emericella* sp., *Eupenicillium* sp., *Mucor* sp., *Rhizopus* sp., *Sterigmatocystis* sp. y *Trichoderma* sp, fueron aislados en menor proporción, indicando que también son habitantes normales del suelo.
- En la técnica de dilución en placa se obtuvo un mayor número de aislamientos que en la técnica de siembra directa de suelo, lo que permitió obtener un estimativo de la población viable cultivable.
- La técnica de lavado de suelo resultó efectiva ya que posibilitó la obtención de hongos que rara vez a parecen en los métodos de dilución en placa, como son *Emericella* sp., *Microsporum* sp. y *Curvularia* sp.
- Las especies de hongos filamentosos aisladas de los páramos varía según el páramo estudiado y la población activa.

- El pH y la temperatura son factores esenciales en el momento de realizar el procesamiento del suelo, para evitar la alteración de las condiciones ambientales iniciales de la muestra a partir de la cual se realizará el aislamiento microbiano.
- Se logró el 100% de viabilidad en la conservación de las cepas de hongos filamentosos aisladas e identificadas, para su posterior utilización.

10. RECOMENDACIONES

- ❖ Complementar la identificación de hongos por medio de otras técnicas como el análisis de ácidos grasos y métodos basados en ADN y ARN.
- ❖ Realizar estudios evaluando diferentes temperaturas de incubación en el momento del aislamiento para lograr condiciones similares a las de los páramos.
- ❖ Utilizar otros métodos de aislamiento que permitan la obtención de la mayor variedad de géneros y especies, incluyendo métodos para la recuperación de microorganismos no cultivables como lo son la extracción de ADN directamente del suelo y la secuenciación de la subunidad pequeña de rADN.
- ❖ Para estudiar la diversidad microbiana del suelo se recomienda utilizar diferentes métodos según el tipo de microorganismos a aislar así como también métodos que ayuden a entender el vínculo entre la diversidad estructural y el funcionamiento de los ecosistemas.

BIBLIOGRAFIA

ALEXANDER, M. 1980. Introducción a la microbiología del suelo. Segunda edición. Editorial AGT S.A. México D.F. 491 pg.

ALEXOPOULOS, C., MIMS, C., BLACKWELL, M. 1996. Introductory mycology. Cuarta Edición. John Wiley & Sons. Nueva York. 869 pg.

ATLAS, R., BARTHA, R. 2005. Ecología microbiana y Microbiología ambiental. 4ta Edición. Pearson Educación, S.A. Madrid (España). 677 pg.

ARENAS, R. 1993. Micología Médica Ilustrada. Clínica, laboratorio y terapéutica. Primera Edición. McGraw Hill. México D.F. 397 pg.

ARENAS, R. 2003. Micología Médica Ilustrada. Segunda edición. McGraw Hill. México D.F. 352 pg.

ARÍSTEGUI, B. 2002. *Aspergillus fumigatus* Fresenius. Rev Iberoam Micol. <http://hongos-alergenicos.reviberoammicol.com/files/022.PDF>. [Consulta: 8 de mayo de 2008].

AYALA, M. 2003. Atlas de Micología. Servicio de Microbiología. Complejo Hospitalario de León. http://www.socalemi.org/atlas_hongos.htm. [Últimas actualizaciones: 21-11-2003].

BARNETT, H., HUNTER, B. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. 3 ed. Minnesota; Burgess Publishing Company.

BAYONA, M., VILLANUEVA, C. 1999. Hongos de Interés Industrial. Editorial PUJ. Bogotá D.C.

BENEDECK, T. 1962. An Castellani's Water Cultures and Benedeck's Mycoteca in Chloratoprend. Mycopatologia Aplicab. **17**: 254- 256.

BILES, J., HIGH, J. 2003. The Effect of Temperature, Media, and Light on the Growth of *Chaetomium globosum*. <http://oas.ucok.edu/OJAS/05/paper/biles.htm>. [Consulta: 8 de mayo de 2008].

BIOLOMICS. 2008. Centraalbureau Voor Schimmelcultures. Utrecht, The Netherlands. <http://www.cbs.knaw.nl/Aspergillus/BioloMICS.aspx>. [Consulta: 9 de abril de 2008].

BRISSIO, P. 2005. Evaluación preliminar del estado de contaminación en suelos de la provincia del Neuquén donde se efectúan actividades de explotación hidrocarburífera. *Escuela Superior de Salud y Ambiente Universidad Nacional del Comahue* <http://www.tesis.bioetica.org/pab4.htm>. [Consulta: 7 de junio de 2007].

BUENO, L., GALLARDO, R. 1998. Preservación de Hongos Filamentosos en Agua Destilada Estéril. *Revista Iberoamericana Micología*. **15**:166-168.

BURLAGE, R., ATLAS, R., STAHL, D., GEESEY, G. & SAYLER, G. 1998. *Techniques in Microbial Ecology*. Oxford University Press. 239-242 pg.

BURNS, R. 1996. *Fundamentos de Química*. Segunda edición. Editorial Prentice Hall Hispanoamericana. México D.F. 664 pg.

CABRERA, C., CHITIVA, A. 2001. Aislamiento e Identificación de Hongos Filamentosos del Suelo del Páramo de Guasca (Colombia) en Zona de Vegetación de Frailejones. *Microbiólogo Industrial*. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C. 130pg.

CAMACHO, S., HERNANDEZ, N. 2002. Aislamiento e Identificación de Población Bacteriana Aerobia Presente en la Zona de Frailejones en Muestras de Suelo del Páramo de Guasca-Cundinamarca (Colombia). *Microbiólogo Industrial*. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C. 147 pg.

CARLILE, M., WATKINSON, S., GOODAY, G. 2006. *The Fungi*. Segunda edición. Elsevier Academic Press. Londres. 588pg.

CARONE, D. 1986. *Micología*. Editorial Pueblo y Ecuación. La Habana. 327 pg.

CARRERA, E., PICHOTT, J., ALEXANDER, E. 1968. Estudio General de Clasificación de los Suelos de la Cuenca Alta del Río Bogotá para Fines Agrícolas. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. 4 **(1)**: 1-200.

CARDENAS, G., MORENO, G. 1993. Características foliares adaptativas en seis comunidades vegetales del Páramo de Cruz Verde, Colombia. *Biólogo*. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Departamento de Biología. Bogotá D.C. 148 pg.

CASAS, G. 1989. *Micología general*. Ediciones de la Biblioteca. Caracas, Venezuela. 488pg.

CASTELLANI, A. 1939. Viability of Some Pathogenic Fungi in Distilled Water. *J. Trop. Med. Hyg.* **42**: 256-226.

CEINGEBI-UNAM. 1999. *CONSERVACIÓN Y CONTROL DE CEPAS MICROBIANAS*. Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional Autónoma de

México. <http://pt7mdv.ceingebi.unam.mx/computo/pdfs/canovas/colecc~1.ppt>. [Consulta: 13 de junio de 2007].

CHITIVA, A., TORRENEGRA, R., CABRERA, C., DÍAZ, N., PINEDA, V. 2002. Contribución al estudio de microhongos filamentosos en los ecosistemas páramo de Guasca y El Tablazo. http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/gifuj/hongos_%20ecosistemas_%20paramo.pdf. [Consulta: 8 de Mayo de 2008]

CIARDO, D., SHAR, G., ALTWEGG, M., BOTTGER, E., BOSSHARD, P. 2007. Identification of Moulds in the Diagnostic Laboratory- and Algorithm Implementing Molecular and Phenotypic Methods. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. **59**: 49–60.

COCHRANE, V. 1963. *Physiology of Fungi*. John Wiley & Sons, Inc. Nueva York. 524 pg.

CONCYTEY. 2007. Consejo de Ciencia y Tecnología del estado de Yucatán. Revista Juvenil “Kanik”. <http://www.cienciaytecnologia.yucatan.gob.mx>. [Consulta: 6 de junio de 2007].

COREMIO, R., CORMACK, W. 2004. Algunos Micromicetes del Suelo y de Alimentos deteriorados en la Antártica de Argentina. *Revista Iberoamericana Micología*. **21**: 128-134.

CORREDOR, I. 2002. Evaluación del efecto de dos métodos de conservación sobre diferentes microorganismos con interés en control biológico. *Microbiólogo Agrícola y veterinaria*. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C. 134 pg.

CUATRECASAS, J. 1958. Aspectos de la Vegetación natural de Colombia. *Rev. Académica. Colombia. Ciencias Exactas*. **10(40)**: 221-268.

DEACON, J. 2006. *Fungal Biology*. Cuarta edición. Blackwell Publishing. Malden, Massachussets. 371 pg.

DEANA, A., 2008. Doctor Fungus. <http://www.doctorfungus.org/imageban/>. [Última actualización: 16 de abril de 2008].

DELGADO, M. 2001. Atlas de imágenes. Perfiles de suelos I. <http://www.um.es/edafologia/Imagenes3.htm>. [Consulta: 16 de abril de 2008]

DIEMER, M. 1996. Microclimatic Convergente of High-Elevation Tropical Páramo and Temperate-Zone Alpine Environments. *Journal of Vegetation Science*. Vol **7** No **6**: 821-830. <http://www.istor.org/stable/3236460>. [Consulta: 7 de mayo de 2008].

Department of Microbiology. 2007. Mount Sinai Hospital, Toronto, Canada. <http://microbiology.mtsinai.on.ca/miq/opfungi/index.shtml>. [Consulta: 9 de abril de 2008].

DIAZ, N. 2000. Información Personal. Grupo de Investigación en Biotransformación, Universidad Javeriana. Bogotá.

DIRECCIÓN GENERAL DE ASUNTOS AMBIENTALES. 2000. Guía para el muestro y análisis de suelo. <http://www.minem.gob.pe/archivos/dgaae/legislacion/guias/guiahidroxvii.pdf>. [Consulta: 8 de abril de 2008].

DIVO, A. 1990. Microbiología Médica. Editorial Interamericana. México D.F. 446 pg.

DOMSCH, K., GAMS., W., ANDERSON, T. 1980. Compendium of Soil Fungi. Academic Press. Londres. 859 pg.

ELLIS, D., HERMANIS, R. 2003. Image bank: Acremonium. http://www.doctorfungus.com/imageban/index_enlarge.pl [Consulta: 22 de abril de 2008]

FERRARIS, G. 2000. Muestreo y análisis de suelo. Facultad de Agronomía UBA. <http://www.elsitioagricola.com/articulos/ferraris/Muestreo%20y%20Analisis%20de%20Suelo%20%20Punto%20de%20Partida%20hacia%20un%20Diagnostico%20de%20Fertilidad.asp>. [Última actualización: 2006]. [Consulta: 8 de abril de 2008].

FINCH, H., FINCH, A. 1997. Los hongos comunes que atacan cultivos en América Latina. Segunda Edición. Editorial Trillas. México D.F. 188 pg.

GADRE, R., VAN DRIESSCHE, G., VAN BEEUMEN, J., BHAT, M. 2003. Purification, characterisation and mode of action of an endo-polygalacturonase from the psychrophilic fungus *Mucor flavus*. Enzyme and Microbial Technology **32**: 321–330.

GARCIA, L., VERÁSTEGUI, L. 2001. Determinación de Metabolitos Secundarios a partir de una cepa Nativa de *Aspergillus* sp. aislada del Páramo del Tablazo, Departamento de Cundinamarca. Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C. 72 pg.

GARCÍA, M., URUBURU, F. 2000. Colección Española de Cultivos Tipo (CECT). La conservación de cepas microbianas. Universidad de Valencia. Act. SEM.30: 12-16 <http://www.cect.org/docs/cons.pdf>. [Consulta: 13/06/07].

GAXIOLA, J., MADINAVEITIA, Y. 2007. Diversidad de géneros de hongos del suelo en tres campos con diferente condición agrícola en la Laguna, México. Revista Mexicana de Biodiversidad. **78**:383-390. http://www.ibiologia.unam.mx/pdf/publicaciones/revista_78_2/rmb-112c-.pdf. [Consulta: 7 de mayo de 2008].

GERDAY, C., AITTALEB, M., BENTAHIR, M., CHESSA, J., CLAVERIE, P., COLLINS, T., D'AMICO, S., DUMONT, J., GARSOUX, G., GEORLETTE, D., HOYOUX., A., LONHIENNE, T., MEUWIS., M., FELLER, G. 2000. Cold-adapted enzymes: from fundamentals to biotechnology. Tibtech **18**: 103-107.

GILMAN, J. 1963. Manual de los hongos del suelo. Compañía Editorial Continental S.A. México D.F. 572 pg.

GIRI, B., HOUNG, P., KUMARI, R., PRASAD, R., VARMA, A. 2005. Microbial diversity in soils. *Soil Biology* **3**: 19-55.

GOCHEVA, Y., KRUMOVA, E., SLOKOSKA, L., MITEVA, J., VASSILEV, S., ANGELOVA, M. 2006. Cell response of Antarctic and temperate strains of *Penicillium* spp. to different growth temperature. *Mycological research* **110**: 1347–1354.

GUALDRÓN, C., SUÁREZ, L., VALENCIA, H. 1997. Hongos del suelo aislados de zonas de vegetación natural del páramo de Chisacá, Colombia. *Caldasia* **19** (1-2): 235-245.

GUHL, E. 1982. Los páramos circundantes de la zona de Bogotá. Jardín Botánico José Celestino Mutis. Bogotá.

GUZMÁN, M. 1977. Micología médica. Instituto Nacional de Salud. Bogotá, Colombia. 386 pg.

HENAO, I., FRANCO, M., MARIN, G. 2006. Evaluación de métodos de conservación para *Aspergillus niger* con actividad enzimática amilolítica. *Universitas Scientiarum Revista de la Facultad de Ciencias*. Vol. 11, N° 2, 51-60.

HOOG, G. 2000. Atlas of Clinical Fungi. Segunda edición. Editorial Centraalbureau Voor Schimmelcultures. 1126 pg.

ICONTEC. Norma Técnica Colombiana. 4113-6. Gestión ambiental. Calidad de suelo. Muestreo. Guía para la recolección, manejo y almacenamiento de suelo para la evaluación de procesos microbianos aeróbicos en el laboratorio. Bogotá D.C. 5 pg.

Instituto Alexander Von Humboldt. CHM Colombia. Mecanismo de facilitación del convenio sobre Diversidad Biológica. <http://www.humboldt.org.co/chmcolombia/biodiversidad.htm>. [Consulta: 13 de junio de 2007].

Instituto Geográfico Agustín Codazzi (IGAC). 1984. Estudios físico químicos del suelo. Bogotá D.C.

Instituto Nacional de Salud. 2000. Manual de Procedimientos para la Investigación de brotes de infecciones intrahospitalarias producidas por bacterias mediante métodos de biología molecular. Serie de Normas técnicas N. 35. http://www.minsa.gob.pe/ogci/proyectosterminados/Proyecto_vigia/Doc14.pdf. [Consulta: 13 de junio de 2007].

KHALID, M., YANG, W., KISHEAR, N., RAJPUT, Z., ARIJO, A. 2006. Study of Cellulolytic Soil Fungi and two Nova Species and New Medium. *Journal of Zhejiang University Science*. 7(6): 459-466.

KAVANAGH, K., Ed. 2005. *Fungi Biology and Applications*. John Wiley & Sons, Ltd. Inglaterra. 297 pg.

KEARNEY, J. 2005. Guidelines on Processing and Clinical use of Skin Allografts. *Clinics in Dermatology* (23): 357–364.

KENDRICK, B. 2000. *The Fifth kingdom*. Third Edition. Focus Publishing, Massachussets, EUA. 373 pg.

KIRK, J., BEAUDETTE, L., HART, M., MOUTOGLIS, P., KLIRONOMOS, J., LEE, H., TREVORS, J. 2004. Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods* 58: 169– 188

KONEMAN, E. 2001. *Diagnóstico Microbiológico: texto y atlas color*. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina; Bogotá. 1432 pg.

KONEMAN, E. 1987. *Micología, Tercera edición*. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 70-73 pg.

KONEMAN, E., ROBERTS, G. 1997. *Micología: práctica de laboratorio*. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. 221 pg.

LEIVA, S., YANEZ, M., ZAROR, L., RODRIGUEZ, H., GARCIA, H. 2004. Antimicrobial Activity of Actinomycetes Isolated from Aquatic Environments in Southern Chile. *Rev. méd. Chile*. [online]. Vol.132, no.2: 151-159. <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003498872004000200003&Ing=en&nrm=iso>. ISSN 0034-9887. [Consulta: 6 de Junio de 2007].

LEPP, H. 2007. Two Major Groups. Classifying fungi into ascomycetes and basidiomycetes <http://www.cpbr.gov.au/fungi/ascomycetes-basidiomycetes.html> (Consulta: 17 de abril de 2008)

LEWIS, J., LEARMONTH, R., WATSON, K. 1994. Cryoprotection of Yeast by Alcohols During Rapid Freezing. *Cryobiology*. 31: 193-198.

LOUIS, L., LIM, G. 1988. Effect of Storage of Inoculum on Spore Germination of a Tropical Isolate of *Glomus clarum*. *Micology* 80 (2): 157-161.

LOZANO, C., SCHNETTER, R. 1976. Estudios ecológicos en el Páramo de Cruz Verde, Colombia II. Las comunidades vegetales. *Caldasia* 11 (54): 53-68

MADAN, R., PANKHURST, C., HAWKE, B., SMITH, S. 2002. Use of fatty acids for identification of AM fungi and estimation of the biomass of AM spores in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. **34**: 125-128.

MANGIATERRA, M., GIUSIANO, G., GONZÁLEZ, I. 2003. Algunos Microhongos Geofílicos de las Planicies Semiaridas del Noroeste de la Provincia de San Luis (Argentina). http://www.unne.edu.ar/med_regional/boletin/2006/micologia_algunosmicrohongos.pdf. [Consulta: 8 de mayo de 2008].

MARTINEZ, O., VALENZUELA., GODOY, R. 2005. Hongos aislados desde suelos de bosques de Araucaria-Nothofagus después de un incendio en el Parque Nacional Tolhuaca. *Boletín Micológico*. **20**: 35-39.

MARTINEZ, M. 1999. Manual de Microbiología de Suelos. P.U.J. Bogotá, Colombia.

MAYEA, S., NOVO, R., VALIÑO, A. 1991. Introducción a la microbiología del suelo. Editorial Pueblo y Educación. 188pg.

MENDOZA, M. 2005. Importancia de la identificación de levaduras. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. Vol 25. No. 1. http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S131525562005000100004&lng=en&nrm=iso. [Consulta: 8 de mayo de 2008].

MERCK KGaA. 2007. Indicaciones generales para el empleo de medios de cultivo deshidratados. Darmstadt, Germany. <http://www.merck.de/servlet/PB/menu/1660270/index.html>. [Consulta: 9 de junio de 2007].

MYCOBAND. 2008. Fungal Databases Nomenclature and Species Banks Online Taxonomic Novelties Submission. Administered by the International Mycological Association. <http://www.mycobank.org/MycoTaxo.aspx?Link=T&Rec=209842>. [Fecha de consulta: 9 de abril de 2008].

MORENO, Z. 2000. Correlación de la tasa de crecimiento radial y la tasa de crecimiento específico de hongos filamentosos aislados de la planta *Espeletia barclayana*. *Microbiólogo Industrial*. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C. 133 pg.

MUELLER, G., BILLS, G., FOSTER, M. 2004. Biodiversity of Fungi: inventory and monitoring methods. Elsevier Academic Press. Londres. 777 pg.

ORTEGA, L. 2002. Determinación de hongos filamentosos asociados a cráneos de colección del Instituto Alexander Von Humboldt, y evaluación in Vitro de sustancias biocidas para su control. *Microbiólogo Industrial*. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C. 74 pg.

OSPINA, M. 2003. El páramo de Sumapáz un ecosistema estratégico para Bogotá. Sociedad Geográfica de Colombia. Ponencia de posesión como Miembro

correspondiente de la Sociedad Geográfica de Colombia. www.sogeocol.edu.co. [Consulta: 13 de junio de 2007].

PEDROZO, J. 2001. Química y propiedades antimicrobianas de plantas autóctonas de páramos Colombianos. Postgrado. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C. 225 pg.

PELCZAR, M., REID, R. 1996. Microbiología. Cuarta Edición. Editorial McGraw Hill. México D.F. 458 pg.

PEREZ, F. 1984. Striated in an Andean Paramo of Venezuela: its Origin and Orientation. Arctic and Alpine Research. Vol 16, No. 3: 277-289.

PIERSON, F., WIGHT, J. 1991. Variability of Near-Surface Soil Temperature on Sagebrush Rangeland Journal of Range Management 44 (5): 491-497.

PITT, J. 1998. Images of aspergillosis and *Aspergillus* http://www.aspergillus.org.uk/indexhome.htm?secure/image_library/speciesindex.php~main [Consulta: 17 de abril de 2008]

PORTA, J., LOPEZ, M., ROQUERO, C. 1999. Edafología para la agricultura y el medio ambiente. Segunda edición. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid España. 849 pg.

PUERTO, S. 2005. Identificación y comparación de cuatro métodos de mantenimiento de la cepa *Penicillium* sp. perteneciente al cepario de micología de la Facultad de Ciencias de la Pontificia Universidad Javeriana. Microbióloga Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C. 100 pg.

RECHARTE, J., TORRES, J., MEDINA, G., PONCE, A., ECHEANDIA, E. 2000. II Conferencia Electrónica sobre Usos Sostenibles y Conservación del Ecosistema Páramo en los Andes: "Los Páramos como fuente de Agua, Mitos, Realidades, Retos y Acciones". Proyecto páramo. http://www.infoandina.org/apc-afiles/237543fdce333f3a56026e59e60adf7b/II_conferencia_paramos.pdf. [Consulta: 7 de junio de 2007].

REYES, P., MOLANO, J., GONZÁLEZ, F., CORTÉS, A., RANGE, O., FLÓREZ, A., IRIARTE, P., KRAUS, E. 1995. El páramo un ecosistema de alta montaña. Fundación Ecosistemas Andinos. Ecoan. Editorial Codice Ltda. Bogotá. 168 pg.

RIVERA, R., TORRES, D., MONTES, S. 2001. Páramos de Colombia. Banco de Occidente. Santiago de Cali Colombia. 206pg.

ROBINSON, C. 2001. Cold Adaptation in Arctic and Antarctic Fungi. *New Phytologist* 151 (2): 341-353.

ROBINSON, P. 1978. *Practical fungal physiology*. John Wileyu. 123 pg.

ROUSSOS, S., GAIME, P. 1996. Fisiología y Bioquímica de microorganismos utilizados en procesos de fermentación en medio sólido. Laboratoire de Biotechnologie PMC, Centre ORSTOM, BP 5045,3 4034 Montpellier cedex 1, FRANCE. 341-348pg. http://horizon.documentation.ird.fr/exl-doc/pleins_textes/pleins_textes_6/b_fdi_45-46/010006834.pdf. [Consulta: 6 de junio de 2007].

TORRENEGRA, R., RUEDA, L. 2005. Evaluación de ácidos grasos en especies de *Aspergillus* sp. como criterio taxonómico. Grupo de Investigación en Fitoquímica y Biotransformación de la Universidad Javeriana (GIFUJ y GIBUJ). http://www.javeriana.edu.co/gifuj/Acidos_grasos_de_hongos_filamentosos.pdf. [Consulta: 8 de mayo de 2008].

SALFELDER, K. 2000. Micosis. <http://www.saber.ula.ve/micosis/parser.php?XML=contenido/capitulo20/capitulo20F/contenidocapitulo.xml&XSL=xsl/figura grande.xsl&IDIOMA=es&ORDEN=3>. [Consulta: 17 de Abril de 2008]

SAMSON, R., HAEKSTRA, E., FRISVAD, J. FILTENBORG., O. 2004. *Introduction to Food and Airborne Fungi*. Séptima edición. Centraalbureau Voor Schimmelcultures. Utrecht, Países Bajos. 389 pg.

SAMSON, PITT. 1990. *Modern concepts in Penicillium and Aspergillus Classification*. Vol 185. Plenum Press. New York and London.

SÁNCHEZ, J., ROMERO, O. 2004. Hongos asociados a *Macleania rupestris* (H.B.K) A.C. Smith en los páramos El Granizo y Guasca, Colombia. Resumen. *Acta Biológica Colombiana* 9 (2): 78

SIMMONS, K. 2005. *Algae, fungus and mocees lab manual*. Universidad de Winnipeg. <http://io.uwinnipeg.ca/~simmons/2152web/2152/fungi1a.htm> [Consulta: 16 de abril de 2008]

SOLOMON, E., BERG, L., MARTIN, D., VILLEE, C. 1996. *Biología de Ville*. Tercera edición. Ed. Interamericana Mcgraw Hill. México D.F.

SOILMOISTURE EQUIPMENT, CORP. 1999. *Catalogo del equipo*. Kellog Ave. Goleta CA 93117 USA. <http://www.soilmoisture.com/PDF%20Files/SECCATSP.pdf>. 53 pg. [Consulta: 16 de abril de 2008].

STURM, H., RANGEL, O. 1985. *Ecología de los Páramos Andinos: Una visión Preliminar Integrada*. Universidad Nacional de Colombia. 1-292. Bogotá.

SUTTON, D. 2000. The Fungi. <http://www.doctorfungus.org/thefungi/chaetomium.htm> [Consulta: 17 de abril de 2008]

TAN, C., VAN INGEN, W., TALSMA, H., VAN, J., STEFFENSEN, C., VLUG, H., STALPERS, A. 1995. Freeze-Drying of Fungi: Influence of Composition and Glass Transition Temperature of the Protectant. *Cryobiology*. (32): 60-67.

UNIVERSIDAD DE ADELAIDE. 2006. Mycology online. http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/. [Consulta: 17 de abril de 2008]

UNIVERSIDAD DE ANGERS. 2006. La diversité chez les micromycètes. <http://www.med.univ-angers.fr/GEIHP/Galerie.html>. [Consulta: 17 de abril de 2008]

VALÁŠKOVÁ, V., BALDRIAN, P. 2006. Estimation of bound and free fractions of lignocellulose-degrading enzymes of wood-rotting fungi *Pleurotus ostreatus*, *Trametes versicolor* and *Piptoporus betulinus*. *Research in Microbiology* (157):119–124.

VARGAS, A., VILLAMIZAR, D. 2005. Estudio preliminar de la producción, extracción y purificación de T2 toxina por *Fusarium sporotrichioides* NRRL 3299 en dos medios sintéticos. *Microbiólogo Industrial*. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Bogotá D.C. 172 pg.

VALENCIA, E., CABRIALES, J. 2001. El suelo y sus habitantes microbianos, consideraciones ecológicas. Avance y perspectiva. Noviembre-Diciembre. Vol 20.

VALENCIA, H. 1979. La microbiología del suelo y sus perspectivas. *Boletín Informativo*. Departamento de Biología. (1): 1-18. Universidad Nacional de Colombia.

VANEGAS, M. 2001. Estructura poblacional y fenología de *Espeletia argentea* H. & B. en campos cultivados del páramo de Cruz verde. Maestría es Biología con énfasis en ecología. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá D.C. 192 pg.

VARGAS, O., ZULUAGA, S. 1980. Contribución al estado fisiológico de la región de Monserrate. Tesis de pregrado. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de ciencias. Departamento de Biología. Bogotá.

VILLENA, G., GUTIEREZ, M. 2003. biopelículas de *Aspergillus niger* para la producción de celulasas: algunos aspectos estructurales y fisiológicos *Revista Peruana de Biología* ISSN 1727-9933 versión on-line. 10 (1): 78-87. http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/biologia/v10_n1/bio_asper.htm. [Consulta: 6 de junio de 2007].

VISHNOI, S., NAIDU, J., SINGH, S., VISHNOI, R. 2005. Pathogenicity of *Curvularia geniculata* (*C. senegalensis*) for albino rats: study of clinical isolate from blood of a cancer patient. *Journal de Mycologie Médicale* (15): 97–102.

WARCUP, J. 1950. The Soil Plate Method for Isolation of Fungi from soil. *Nature* 166: 117-118. <http://www.nature.com/nature/journal/v166/n4211/abs/166117b0.html>. [Consulta: 8 de mayo de 2008].

ZAPATER, R. 1956. Atlas de diagnóstico micológico. Aplicación del Laboratorio. Segunda Edición. Editorial el ateneo. Buenos Aires, Argentina. 249 pg.

ZIMMER, C., PLATZ, T., CADEZ, N., GIFFHORN, F., KOHRING, G. 2006. A cold active (2R,3R)-di-O-benzoyl-tartrate hydrolyzing esterase from *Rhodotorula mucilaginosa*. *Appl Microbiol Biotechnol* 73:132–140.

ANEXOS

ANEXO 1: Medios de cultivos

Agar papa dextrosa (PDA)

Composición	g/L:
Papa	400
Glucosa	20
Sulfato de amonio	3
Agar agar	15
Agua destilada	1000ml
pH	5,6

Realizar una infusión de papa y hervir hasta lograr una solución con todos los componentes. Colocar en autoclave 15 psi/15 minutos. Poner suficiente medio en cajas de Petri de plástico estériles (20ml/caja). Permite el crecimiento micelial de un gran rango de hongos, es un medio apropiado para el aislamiento, cultivo y mantenimiento de una gran variedad de hongos.

Agar Czapeck (CzA)

Composición	g/L:
Sacarosa	30
Nitrato de sodio	3
Fosfato dipotásico	1
Sulfato de magnesio	0.5
Cloruro de potasio	0.5
Sulfato ferroso	0.01
Agar	15
Água destilada	1000mL
pH	7,3

Mezclar y hervir para disolver totalmente. Colocar en autoclave a 15 psi/15 minutos. Volcar la solución de agar en Placas de Petri de plástico estériles. Este medio es apropiado para la caracterización y mantenimiento de una gran variedad de hongos filamentosos.

Agar Extracto de Malta

Composición	g/L:
Extracto de malta	2.0-20.0
Extracto de levadura (opcional)	0.2-2.0
Agar	20
Água	1000mL
pH	5,6 ± 0,1

Disolver 48g/L, esterilizar con cuidado en autoclave 15 minutos/15 psi a 121°C. Este medio se usa para el aislamiento de hongos del suelo y de hojas en descomposición.

Agar Sabouraud

Composición	g/L:
Peptona	10
Glucosa	40
Agar	20
Agua destilada	1000mL
pH	6,0

El medio es usado para la caracterización de hongos filamentosos y levaduras.

Agar Extracto de Levadura

Extracto de levadura	1g
Buffer	2mL
Agar	20g
Agua destilada	1000mL
pH	7,0

Hervir hasta hacer una solución, esterilizar a 15 psi/15 minutos. Verter en placas de Petri de plástico estériles. Es un medio apropiado para hongos filamentosos y levaduras.

Agar YGC

Composición	g/L:
Extracto de levadura	5,0
Glucosa	20
Agar	15
Cloramfenicol (opcional)	0,1
pH:	6,6-6,8

Disolver 40g/L y esterilizar en autoclave 15 psi/15 minutos. Es utilizado para el crecimiento selectivo de hongos filamentosos y levaduras.

Agar OGYE

Composición	g/L:
Extracto de levadura	5
Dextrosa	20
Agar	12
Água destilada	1000ml
Sin antibiótico (es opcional: Oxitetraciclina 0,1 g/L)	
pH: 6,5-6,8	

Disolver 30 g/L, esterilizar en autoclave (15 minutos a 121°C), dejar enfriar hasta unos 50°C. Agar selectivo para el crecimiento de hongos y levaduras.

ANEXO 2: Tinción con azul de lactofenol

Tinciones:

Se utilizan colorantes para teñir las células y aumentar su contraste, de modo que se puedan observar con facilidad en el microscopio de campo claro. Para poder observar la estructura de los hongos filamentosos se utilizó la tinción con azul de lactofenol.

Tinción con azul de lactofenol:

Composición:	g/mL
Cristales de fenol	20
Azul de algodón	0,05
Ácido láctico	20
Glicerol	40mL
Água destilada	20mL

Agregue el ácido láctico y el glicerol al agua, mezcle fuertemente. Adicione los cristales de fenol y agite. Caliente suavemente con agitación constante. Finalmente, agregue azul de algodón y mezcle fuertemente.

ANEXO 3: Determinación de pH en el Páramo de Guasca

Número de repeticiones	Determinación de pH
1	5,5
2	5,6
3	4,8
4	5,3
5	5,07
6	4,89
7	5,65
8	4,91
9	6,08
10	4,78
11	5,7
12	5,67
13	4,8
14	4,76
15	5,8
16	5,6
17	5,45
18	5,58
19	4,93
20	5,67
21	5,53
22	6,1
23	5,48
24	4,87
25	5,88
Promedio	5,38

ANEXO 4: Determinación de pH en el Páramo de Cruz Verde

Número de repeticiones	Determinación de pH
1	5.21
2	5.2
3	4.59
4	5.45
5	4.88
6	4.95
7	5.9
8	4.86
9	5.7
10	5.02
11	5.04
12	4.87
13	4.67
14	4.6
15	4.1
16	5.5
17	5.05
18	5.1
19	5.35
20	5.2
21	5.12
22	5.3
23	5.45
24	4.5
25	5.05
Promedio	5.07

ANEXO 5: Cepas sin estructuras

Cepa: 1CV

Características macroscópicas

Las colonias crecen rápidamente en medio Czapek alcanzando un diámetro de 9 cm en 7 días a 25°C. Colonias aterciopeladas de color blanco. Reverso incoloro. No presenta exudación.

Características microscópicas

No presenta estructuras características.

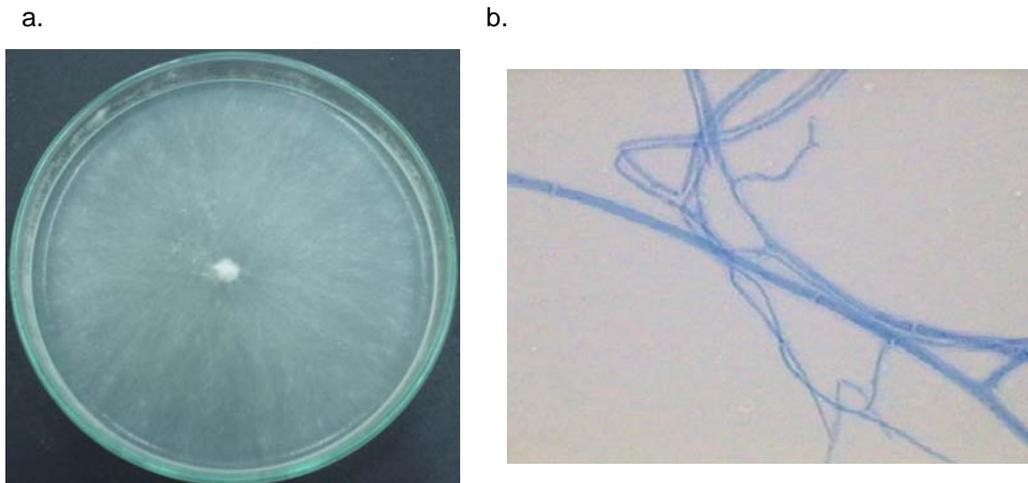


Figura 6: Cepas 1CV. **6a.** Cepas 1CV en medio Czapek 7 días.

6b. Cepas 1CV microscópicamente 100X

Fuente: Autores

Cepa: 6CV

Características macroscópicas

Colonias de textura algodonosa en medio Czapek a 25°C, que alcanzan un diámetro de 2.65 cm en 7 días. Colonia blanco con matices amarillos. Reverso amarillo verdoso con borde blanco. No presenta exudación. Colonia ovalada con borde irregular.

Características microscópicas

No presenta estructuras características.

a.



b.



Figura 3a: Cepa CV6Ns en medio Czapek (CzA) 7 días.

3b. Cepa CV6Ns microscópicamente 100X

Fuente: Autores

Cepa: 11CV

Características macroscópicas

Colonias aterciopeladas de color blanco que crecen rápidamente en medio Czapek alcanzando un diámetro de 9 cm en 7 días a 25°C. Reverso incoloro. No presenta exudación.

Características microscópicas

No presenta estructuras características.

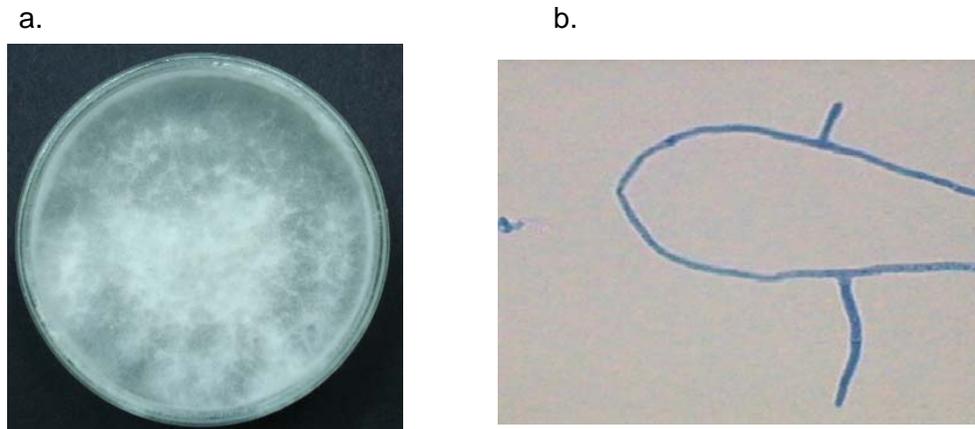


Figura 7a. Cepa 11CV en medio Czapeck 20 días.

7b. Cepa 11CV microscópicamente 100X

Fuente: Autores

Cepa: 15CV

Características macroscópicas

Colonias de textura aterciopelada en medio Czapek a 25°C, que alcanzan un diámetro de 6 cm en 7 días. Colonia blanco a piel. Reverso blanco. Exudación escasa como pequeñas gotas incoloras.

Características microscópicas

No presenta estructuras características.

a.



b.



Figura 8a. Cepa 15CV en medio Czapek 7 días.

8b. Cepa 15CV microscópicamente 100X

Fuente: Autores

Cepa: 24CV

Características macroscópicas

Las colonias en medio Czapek alcanzan un diámetro de 4 cm en 7 días a 25°C, con textura aterciopelada, de color blanco y el centro rosado. Reverso blanco a rosado fuerte. No presenta exudación.

Características microscópicas

No presenta estructuras características.

a.



b.



Figura 9a. Cepa 24CV en medio Czapek 20 días.

9b. Cepa 24CV microscópicamente 100X

Fuente: Autores

Cepa: 25CV

Características macroscópicas

Colonias aterciopeladas de color blanco que alcanzan un diámetro de 2,6 cm en 7 días a 25°C en medio Czapek. Reverso blanco. Presenta exudación como gotas pequeñas de color naranja.

Características microscópicas

No presenta estructuras características.

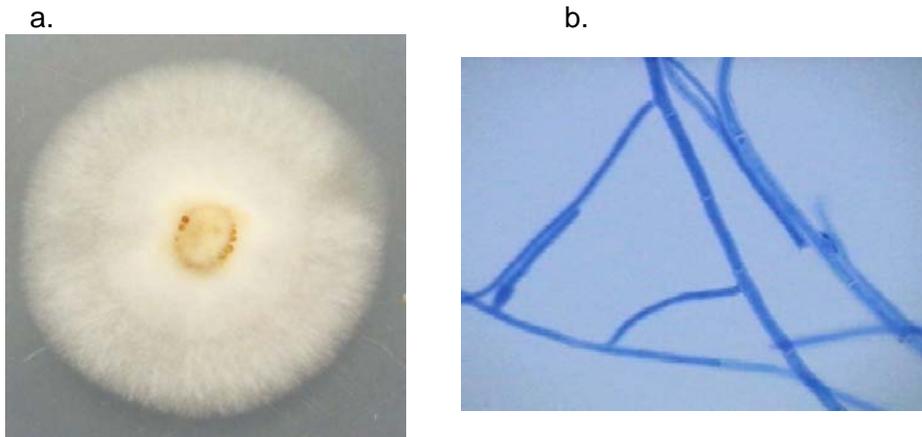


Figura 10a. Cepa 25CV en medio Czapeck 20 días.

10b. Cepa 25CV microscópicamente 100X

Fuente: Autores

Cepa: 27CV

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek crecen lentamente, con un diámetro de 2.6 cm en 7 días a 25°C, aterciopeladas de color blanco. Reverso blanco. No presenta exudación.

Características microscópicas

No presenta estructuras características.

a.



b.



Figura 11a. Cepa 27CV en medio Czapeck 20 días.

11b. Cepa 27CV microscópicamente 100X.

Fuente: Autores

Cepa: 32CV

Características macroscópicas

Las colonias en agar Czapek a 25°C, crecen de forma gradual, alcanzando un diámetro de 3.65 cm en 7 días. Colonia blanca de tipo algodonosa. Reverso crema con centro café claro. No presenta exudación. Colonia ovalada con borde irregular.

Características microscópicas

No presenta estructuras características.

a.



b.



Figura 4a: Cepa CV32Nd en medio Czapek (CzA) 7 días.

4b. Cepa CV32Nd microscópicamente 100X

Fuente: Autores

Cepa: 33CV

Características macroscópicas

Las colonias en medio Czapek alcanzan un diámetro de 5.5 cm en 7 días. Colonias algodonosas blancas, en el centro consistencia gelatinosa color crema. Reverso translúcido. No presenta exudación. Colonia ovalada con borde irregular.

Características microscópicas

No presenta estructuras características.

a.



b.

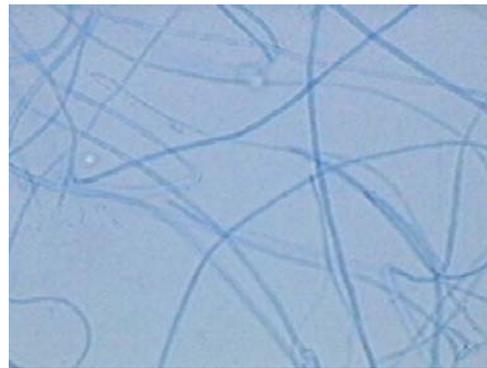


Figura 5a: Cepa CV33sd en medio Czapek (CzA) 7 días. **5b.** Cepa CV33sd microscópicamente 100X.

Fuente: Autores

Cepa: 34CV

Características macroscópicas

Colonias de textura algodonosa que alcanzan un diámetro de 2 en medio Czapek a 25°C, en 7 días. Colonia de color blanco y reverso blanco. No presenta exudación.

Características microscópicas

No presenta estructuras características.

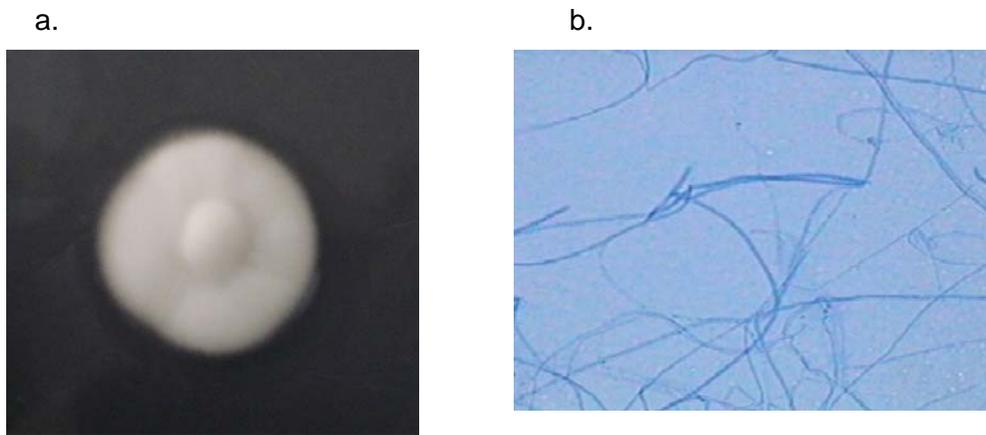


Figura 12a. Cepa 34CV en medio Czapeck 20 días.

12b. Cepa 34CV microscópicamente 100X

Fuente: Autores

Cepa: 36CV

Características macroscópicas

Colonias aterciopeladas en medio Czapek a 25°C, que alcanzan un diámetro de 5 cm en 7 días, de color naranja y centro grisáceo, aterciopeladas. Revés de color naranja. Exudación como pequeñas gotas incoloras.

Características microscópicas

No presenta estructuras características.

a.



b.

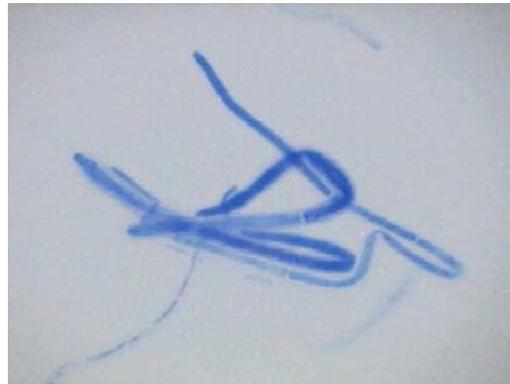


Figura 13a. Cepa 36CV en medio Czapeck 20 días.

13b. Cepa 36CV microscópicamente 100X

Fuente: Autores

Cepa: 10PG

Características macroscópicas

Colonias de textura algodonosa y color blanco en medio Czapek a 25°C, que alcanzan un diámetro de 4,5 cm en 7 días. Reverso color blanco. Presenta exudación en forma de pequeñas gotas incoloras.

Características microscópicas

No presenta estructuras características.

a.



b.

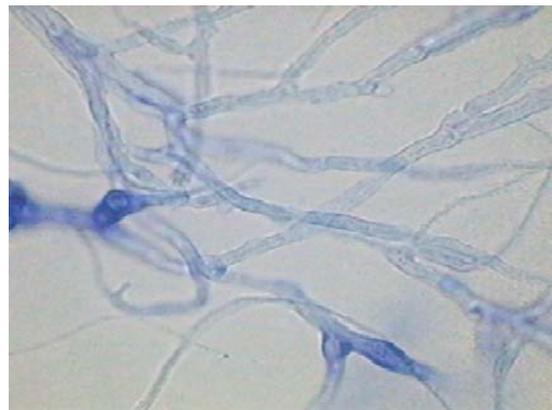


Figura 2a. Cepa 10PG en medio Czapeck 7 días.

b. Cepa 10PG microscópicamente 100X

Fuente: Autores

Cepa: 91PG

Características macroscópicas

Colonias que alcanzan un diámetro de 3,5 cm en 7 días en medio Czapek a 25°C de textura aterciopelada, de color blanco. Reverso amarillo café. Exudación abundante como gotas incoloras.

Características microscópicas

No presenta estructuras características.

a.



b.

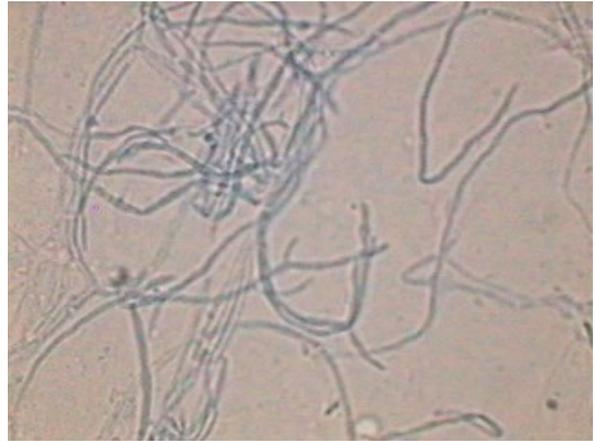


Figura 1 a. Cepa 91PG en medio YGC 7 días.

1b. Cepa 91PG microscópicamente 100X

Fuente: Autores

ANEXO 6: Relación de cepas sin estructuras aisladas según el método empleado en el Páramo de Guasca

Cepa	Método						Total	
	Dilución		Suelo		Lavado		No.TA	%TA
	No.A	%No.A	No.A	%No.A	No.A	%No.A		
10PG	1	50					1	50
91PG	1	50					1	50
Total Aislamientos por Método	2		0		0		2	
Total Géneros por Método	2		0		0		2	

ANEXO 7: Relación de cepas sin estructuras aisladas según el método empleado en el Páramo de Cruz Verde

Cepa	Método						Total	
	Dilución		Suelo		Lavado		No.TA	%TA
	No.A	%No.A	No.A	%No.A	No.A	%No.A		
1CV	1	12,5	1	33,33	1	50	3	23,08
6CV			1	33,33			1	7,69
11CV			1	33,33			1	7,69
15CV	1	12,5					1	7,69
24CV	1	12,5					1	7,69
25CV	1	12,5					1	7,69
27CV					1	50	1	7,69
32CV	1	12,5					1	7,69
33CV	1	12,5					1	7,69
34CV	1	12,5					1	7,69
36CV	1	12,5					1	7,69
Total Aislamientos por Método	8		3		2		13	
Total Géneros por Método	8		3		2		11	