

UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA



**CARACTERIZACIÓN TAXONÓMICA Y QUÍMICA DE HONGOS MACROMICETOS  
DEL JARDÍN BOTÁNICO DE LA UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA**

**MARCELA PATRICIA GÓMEZ ROJAS**

**KIARA JAIDINE GUTIERREZ QUICENO**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA  
FACULTAD DE TECNOLOGÍAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
PEREIRA  
2014**





**CARACTERIZACIÓN TAXONÓMICA Y QUÍMICA DE HONGOS MACROMICETOS  
DEL JARDÍN BOTÁNICO DE LA UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA**

**MARCELA PATRICIA GÓMEZ ROJAS**

**KIARA JAIDINE GUTIERREZ QUICENO**

**Trabajo de grado requisito parcial para optar al título de Tecnólogo Químico**

**Director**

**EDISON AUGUSTO LONDOÑO SÁNCHEZ**

**Prof. Biología y Química.**

**UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE PEREIRA  
FACULTAD DE TECNOLOGÍAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
PEREIRA  
2014**



**NOTA DE ACEPTACIÓN**

---

---

---

**PRESIDENTE                      DEL  
JURADO**

---

**JURADO**

---

**JURADO**

**PEREIRA, \_\_\_\_\_ DE \_\_\_\_\_ DE 2014.**



## AGRADECIMIENTOS

A:

Mis padres: José Honorio Gómez Galvis y María Cristina Rojas Echavarría, como una pequeña muestra de lo mucho que los amo, un reconocimiento a sus años de esfuerzo en mi formación y un homenaje de agradecimiento por todos los valores, principios y orientación recibida.

Mis centros de estudio: Escuela de Tecnología Química de la Universidad Tecnológica de Pereira, por haber cimentado los conocimientos que me hacen ser quien soy.

Dios: Por darme sabiduría e iluminarme para alcanzar mis metas.

Mi novio: Luis Edinson Castro Basto por ser un gran apoyo y por estar cuando lo necesito. Gracias por el amor y apoyo que me has dado.

Mis amigos y compañeros: A todos aquellos con los que compartí tantas experiencias y con quien deseo compartir muchas más. Gracias por todo amigos, especialmente a Kiara Jaidine Gutiérrez Quiceno, sin la compañía y trabajo de ella este proyecto no se hubiera culminado.

Mi asesor y director: respectivamente, Edison Augusto Londoño Sánchez, por su valiosa colaboración en la elaboración y redacción del presente estudio y Oscar Marino Mosquera Martínez, por ser el pilar más grande de conocimiento que he tenido en la Universidad Tecnológica de Pereira, por ser el amigo aquel que ha entregado todo por nosotras y por su inmensa colaboración, espero algún día llegar a ser al menos la mitad de lo que es, muchas gracias.

**Marcela Patricia Gómez Rojas.**



## AGRADECIMIENTOS

Le doy gracias a Dios por culminar esta etapa de mi vida, donde he conocido a grandes personas, de quienes he obtenido conocimientos y he aprendido amar mi profesión, a mis padres que son lo más importante de mi vida, que con su formación, amor y apoyo me han ayudado a cumplir mis sueños y proyectos.

Agradezco a nuestro director Edison Augusto Londoño Sánchez por su compañía, consejos y correcciones en la elaboración de este trabajo; a nuestro evaluador Oscar Marino Mosquera quien ha sido la persona más importante en el proceso de aprendizaje a lo largo de mi carrera y quien siempre con su ejemplo me ha dado motivos para seguir adelante con mi formación académica. Finalmente, gracias a mi compañera y amiga Marcela Patricia Gómez Rojas por su trabajo en la elaboración de este proyecto.

**Kiara Jaidine Gutiérrez Quiceno.**



## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1 Resultados de análisis de suelos.....	29
Tabla 2 Resultado análisis macroscópico.....	31
Tabla 3 Resultados de análisis microscópico.....	32
Tabla 4: Clasificación de los Hongos Macromicetos, relacionados con el tipo de suelo .....	36
Tabla 5: Comparación entre las muestras de Hongos Macromicetos en estudio y sus referencias bibliográficas.....	37



## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1 Ciclo de vida de <i>Chytridiomycota</i> .....	19
Figura 2 Zona de muestreo, Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira. ....	23
Figura 3 Esquema del proceso práctico del proyecto .....	24
Figura 4 Zona de muestreo del Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira. ....	25
Figura 5 Cortes tradiciones, para realizar el proceso de esporulación. ....	27
Figura 6 Dendograma de conglomerados de la banda espectral de 1600-1700 $\text{cm}^{-1}$ , obtenido por medio del software estadístico Infostat. ....	34
Figura 7 Dendograma de conglomerados de la banda espectral de 2800-3500 $\text{cm}^{-1}$ , obtenido por medio del software estadístico Infostat. ....	34
Figura 8 Análisis estadístico por componentes principales (PCA) usando software estadístico Infostat. ....	35





## LISTA DE ANEXOS

	<b>Pág.</b>
Anexo 1: Imágenes de las características macroscópicas y microscópicas de los hongos estudiados.....	43
Anexo 2. Espectros infrarrojos en Agilent Cary 630 FT-IR de los hongos estudiados .	45



## RESUMEN.

La caracterización taxonómica y química de Hongos Macromicetos, fue el objetivo central de esta investigación, debido a que datos referenciales confirman que este tipo de organismos no son de gran estudio e interés pero los que se han realizado proporcionaron información, sobre la importancia de este tipo de hongos en el área de la industria, la medicina, entre otros (Pérez Clavijo, 2011)

Para el desarrollo de este proyecto fueron tomados del Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira (JBUTP) algunos ejemplares de Hongos Macromicetos y posteriormente se analizaron a través de técnicas clásicas como análisis microscópico (por medio de tinciones) y macroscópico (con ayuda de claves dicotómicas) y técnicas recientes como espectroscopia infrarroja (por medio del equipo Agilent 630 ATR-FTIR, el cual proporciona resultados confiables de los grupos funcionales más representativos de cada uno de los hongos); logrando cumplir de esta manera el objetivo planteado. Además, con los ejemplares recolectados, se logró la caracterización taxonómica y su clasificación hasta **Especie**. Siendo la división *basidiomicete del reino funji, el único entre ellos*, clasificado en cuatro de sus familias (*Hymenochaetaceae, Inocybaceae, Sparassidaceae, Ganodermataceae*) y en su género y especie (*Ganoderma applanatum, Phellinus spp, Sparassis Crispa, Tubaria furfurácea, Phellinus Robiniae*). (Asturnatura, 2004)

Esta caracterización taxonómica y química, es de gran importancia debido a que es la base para realizar posteriormente ensayos de actividad biológica en áreas como la Bioprospección y la Biorremediación.

**Palabras claves:** Biorremediación, análisis macroscópico, análisis microscópico, espectroscopia infrarroja, *basideomicete*.



## TABLA DE CONTENIDO.

	Pág.
Lista de tablas .....	7
Lista de figuras.....	8
Lista de anexos.....	9
Resumen.....	10
Introducción.....	12
1. Planteamiento del problema.....	15
2. Justificación.....	16
3. Objetivos.....	17
3.1 General.....	17
3.2 Específicos.....	17
4. Marco teórico.....	18
4.1 Hongo.....	18
4.1.1 Hongo Macromiceto.....	18
4.1.2 Clasificación de los Hongos Macromicetos.....	18
4.1.2.1 <i>Chytridiomycota</i> .....	19
4.1.2.2 <i>Zygomycota</i> .....	19
4.1.2.3 <i>Ascomycota</i> .....	20
4.1.2.4 <i>Basidiomycota</i> .....	20
4.1.2.4.1 Ciclo de vida de los Basidiomicetes.....	20
4.1.2.4.2 Identificación de los Basidiomicetes.....	21
4.2 Espectroscopia Infrarroja.....	21
5. Parte experimental.....	22
5.1 Información general.....	22
5.1.1 Ubicación.....	22



	<b>Pag.</b>
5.1.2 Duración.....	22
5.1.3 Procedimiento.....	23
5.2 Recolección de muestras de suelo y muestras de estudio.....	24
5.3 Análisis de suelos.....	25
5.4 Identificación Macroscópica.....	25
5.5 Conservación de los Hongos Macromicetos.....	26
5.5.1 Purificación y esporulación de Hongos Macromicetos.....	26
5.6 Identificación Microscópica.....	26
5.7 Identificación mediante espectroscopia Infrarroja.....	27
6. Resultados y discusión.....	29
6.1 Resultados fisicoquímicos de las muestras de suelos.....	29
6.2 Resultados macroscópicos y microscópicos.....	30
6.3 Análisis estadística de los suelos con respecto a los hongos.....	35
6.4 Suelo y hongos.....	36
6.5 Comparación de Hongos Macromicetos.....	37
7. Conclusiones.....	38
8. Recomendaciones.....	39
9. Bibliografía.....	40
10. Anexos.....	43



## INTRODUCCIÓN.

Los Macromicetos o Macrohongos (prep. lat. *macro*=grande y *kethos*= setas), son hongos que poseen estructuras con esporas grandes, fáciles de observar y que se forman por encima o por debajo del suelo, pueden ser comestibles o venenosos, por lo general son saprofitos o parásitos de árboles y en algunas ocasiones viven en simbiosis con plantas formando ectomicorrizas. (Carrillo, 2003). A nivel mundial, los hongos son el segundo grupo de organismos más diverso después de los insectos, con aproximadamente 1,5 millones de especies, de las cuales solo se conoce el 4,5%. El conocimiento de estos organismos en Colombia es incipiente, ya que se tiene poco interés en el estudio de estos porque su identificación es una tarea dispendiosa. Los inventarios fúngicos permiten registrar el ambiente poco explorado de estos organismos, esta actividad ayuda al monitoreo de las regiones que presentan dicha diversidad e indican el grado de variabilidad fúngica (aparición y desaparición de especies de hongos) (Canceco Zorrilla, 2011). Los hongos en el suelo pueden desempeñar funciones vitales en los ecosistemas, además de la descomposición de la materia orgánica también está el reciclado de nutrientes y el mantenimiento de la rizósfera, entre otras. El impacto humano sobre estos organismos, como en otros muchos casos, altera su estructura (anatomía), dinámica (fisiología) y biodiversidad (metabolismo); sin embargo, la falta de buenos inventarios impide conocer cómo son afectados realmente, ya que esto requiere mucho trabajo a la hora de profundizar sobre el verdadero rol que pueden desempeñar en la naturaleza. Por otra parte, se han encontrado y analizado en ellos las concentraciones de 35 elementos químicos, incluyendo metales pesados y es cuestión de estudio evaluar las concentraciones a las cuales pueden utilizarse a nivel de control de plagas, biorremediación, farmacológico o interés industrial.

Los macromicetos se dividen en dos grandes grupos, **basidiomicetos** y **ascomicetos** (Mueller *et al.*, 2007). Esta clasificación se basa en las características de su heteromorfismo, formación de esporas, presencia de quitina en sus paredes y cuerpos fructíferos (Carranza Díaz, 2006). Los **ascomicetos** son hongos con micelio tabicado que producen ascosporas endógenas facilitando de esta manera la reproducción sexual, mientras que los **basidiomicetos** presentan una reproducción asexual que se da por esporas exógenas (conidios o conidioesporas). Con aproximadamente unas 64000 especies es la División (*phylum*) más grande del Reino Fungi, ya que pueden ser unicelulares y talófitos. (Starr, Taggart, Evers, & Starr, 2006).

Los macromicetos han sido parte de la cultura humana desde hace miles de años y aparecen descritos como alimento humano en las más importantes civilizaciones de la historia. Se les han atribuido muchísimas propiedades farmacéuticas, como por ejemplo anticancerígenas, antitumorales, hipocolesterolémicas, antivirales, antibacterianas, inmunomoduladoras, entre otras (Suárez Arangoa & Nieto, 2013). Dada la demanda comercial actual y la producción de hongos por cultivos en tierra y madera muerta, la identificación de los mismos por los métodos tradicionales resulta en algunos casos muy dispendioso, razón por la cual la biotecnología y las técnicas instrumentales (como la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier, FT IR) son fundamentales para el desarrollo de técnicas rentables y de fácil manejo que



permitan caracterizar, clasificar y reproducir fácilmente los Macrohongos, reduciendo tiempo y costos, además, impulsando de esta manera el interés comercial y académico de los mismos (Santos Cledir, Fraga Marcelo E., Kozakiewicz Zofia Kozakiewicz, & Nelson, 2010).



## 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.

El Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira (JBUTP), debido a que es un bosque tropical húmedo y su humedad relativa es lo suficientemente significativa para el hábitat de muchas variedades de organismos, es un lugar con una rica diversidad de flora y fauna que ha sido identificada en su mayor parte, pero existe una gran variedad de organismos como son los hongos, que hasta el momento no han sido objeto de estudio. Datos bibliográficos afirman que una gran variedad de hongos poseen características de interés biológico y químico a nivel de la biorremediación de suelos y citotoxicidad, algunos otros pueden ser comestibles, medicinales y/o alucinógenos, pero además, pueden ser patógenos tanto para especies vegetales como animales. Estas características podrían ser propias de uno o varios de los hongos que se encuentran aún sin clasificar en el JBUTP y que no se les ha dado gran importancia sabiendo que poseen un gran valor agregado en otras partes del mundo, debido a sus mismas características fitoquímicas.

Como se ha mencionado, a los hongos que se encuentran en el JBUTP no se les ha realizado ningún tipo de estudio, debido a esto, se ha considerado que es importante y pertinente iniciar con su identificación taxonómica y química, pues es la base para continuar realizando investigaciones sobre este tipo de organismos y demostrar con fines prácticos la importancia y las múltiples aplicaciones que pueden llegar a tener sus metabolitos.



## 2. JUSTIFICACIÓN.

Colombia es un país que se encuentra dentro de una zona tropical privilegiada del mundo; por su variedad de climas, permite el crecimiento y la generación de múltiples formas de vida, que hacen que se caracterice por su gran biodiversidad. En los bosques tropicales colombianos se ha encontrado un ambiente óptimo para el crecimiento de hongos silvestres, especialmente en la madera, pero con la abundancia de guaduales es común encontrar los hongos adheridos a estos. Algunos hongos, especialmente Macromicetos, pueden generar diferentes alternativas con miras a la obtención de fibras para diversos procesos industriales, terapéuticos y alimenticios o enfocados a otras investigaciones que permitan mejorar la calidad de vida, convirtiéndose en una excelente alternativa natural y sin efectos adversos tanto para el medio ambiente como para el ser humano. Razón por la cual es importante realizar estudios orientados al reconocimiento de la microbiota asociada al cultivo de guadua y diferentes ecosistemas como humedales y profundizar en los posibles beneficios industriales que puedan ofrecer estos organismos. (Gloria.María.Restrepo.F., Patricia.Eugenia.Vélez.A., Paula.Andrea.Botero.A., & Catalina.Pulido.V., 2005).

Desde siempre los hongos han intrigado al ser humano, que no era capaz de comprender su sistema de reproducción, sus propiedades alucinógenas, sus efectos mortales o sus grandes cualidades culinarias. A causa de esto, a través de la historia los hongos han sido estudiados, pues actualmente el Reino Fungi se cree que pueda tener aproximadamente 300000 especies. De estos, tan sólo encontramos descritas 28700 especies de hongos macroscópicos y otros tantos que no han sido estudiados. En definitiva, la Micología es una ciencia relativamente nueva que nos ayuda a conocer el complejo y singular mundo del Reino de los Hongos; disciplina que cada día se hace más necesaria conforme vamos conociendo su material de estudio, puesto que aumenta el uso, importancia y aplicación de estas espectaculares formas de vida (BARCO, PIEDRAHÍTA, & GREDOS)

Debido a que cada vez crece la variabilidad de los hongos, se hace más importante su estudio y es por eso que se debe iniciar con su identificación para posteriormente buscarles posibles aplicaciones. Para realizar su identificación se pueden llevar a cabo varias técnicas o métodos, uno de los más utilizados es la clasificación de especies mediante sus características morfofisiológicas, pero que presenta inconvenientes ya que no da una información de gran confiabilidad química, pero que sí ayuda como un punto de partida para establecer su acción sobre otro tipo de organismos. Ahora bien, con la incorporación de la Bioquímica y la Biología Molecular (por ejemplo, isoenzimas, y secuenciamiento de nucleótidos) en la taxonomía fúngica, se han podido resolver algunos de los problemas que acarreaban los métodos tradicionales. Pero hoy en día se ha descubierto que hay técnicas más rápidas y fiables tal como la espectroscopia infrarroja la cual es sencilla, rápida y sensible y ayuda a determinar dichas características. Además, la cantidad de información ya existente de bandas espectrales características de diferentes organismos, resulta de gran ayuda en la elucidación de diferentes especies de hongos (Cledir Santos, Marcelo E. Fraga, Zofia Kozakiewicz, & Lima, 2010).





### 3. OBJETIVOS.

#### 3.1 GENERAL:

Identificar mediante análisis Taxonómico y Químico, Hongos Macromicetos que se encuentran en el Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira.

#### 3.2 ESPECÍFICOS:

- Clasificar mediante tinciones de forma macro y microscópica los Hongos Macromicetos.
- Aislar por medio de agares específicos y elegir el mejor medio para el crecimiento de las muestras de hongos recolectadas.
- Caracterizar los hongos Macromicetos hallados en el JBUTP a través análisis por espectroscopia infrarroja con ATR (Attenuated Total Reflectance).



## 4. MARCO TEÓRICO.

### 4.1 Hongo:

Pueden ser organismos unicelulares o pluricelulares, eucarióticos, productores de esporas, carentes de clorofila, heterótrofos, se reproducen tanto sexual como asexualmente y usualmente son filamentosos, ramificados, con estructuras somáticas llamadas hifas y típicamente rodeados de paredes celulares. Las hifas son tubos largos y finos, por lo que tienen una gran superficie externa. Esto constituye una gran ventaja para los hongos, ya que obtienen su alimento absorbiendo materia orgánica desde el exterior a través de las paredes celulares (Cubas, 2007). Incluidos en este reino se encuentran los champiñones u hongos con forma de concha (setas), mildéus polvosos, mohos del pan, levaduras, morillas y trufas, por nombrar algunos (Suárez Arango, 2010).

Los hongos se reproducen por medio de esporas, cuando las condiciones son favorables la espora germina, surgiendo de ella una primera hifa, por cuya extensión y ramificación se va constituyendo un micelio. La velocidad de crecimiento de las hifas de un hongo es verdaderamente espectacular: En un hongo tropical llega hasta los 5 mm por minuto. Las esporas de los hongos se producen en esporangios, ya sea asexualmente o como resultado de un proceso de reproducción sexual.

En este último caso, la producción de esporas es precedida por la meiosis de las células, de la cual se originan las esporas mismas. Las esporas producidas a continuación de la meiosis se denominan meiosporas. Como la misma especie del hongo es capaz de reproducirse tanto asexual como sexualmente, las meiosporas tienen una capacidad de resistencia que les permite sobrevivir en las condiciones más adversas, mientras que las esporas producidas asexualmente cumplen sobre todo con el objetivo de propagar el hongo con la máxima rapidez y con la mayor extensión posible.

El micelio vegetativo el cual no cumple con las funciones reproductivas, tiene un aspecto muy simple, porque no es más que un conjunto de hifas dispuestas sin orden. La fantasía creativa de los hongos se manifiesta sólo en la construcción de cuerpos fructíferos, los cuales, como indica el nombre, sirven para portar los esporangios que producen las esporas (micología, 2014).

#### 4.1.1 Hongos Macromicetos:

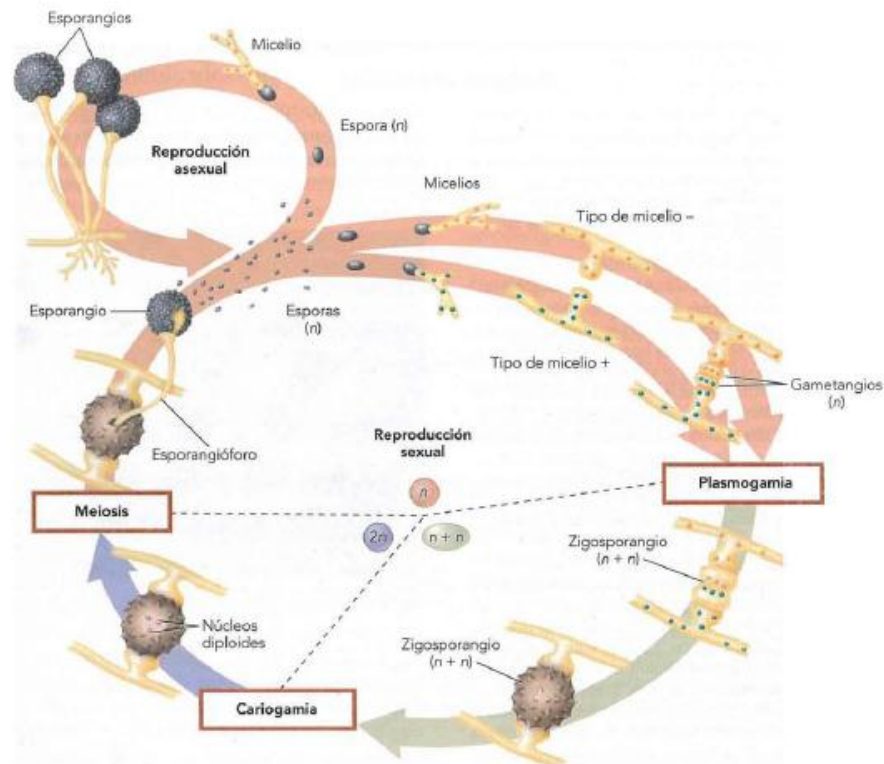
Son aquellos hongos cuyos carpóforos o cuerpos fructíferos pueden ser vistos a simple vista, comúnmente se dice que son organismos macroscópicos, sin embargo, esta afirmación es falsa, ya que es solamente el carpóforo el que puede ser visto a simple vista. Estos hongos están formados por hifas ramificadas que se reúnen en cordones y cuerpos de reproducción visibles, son saprófitos y pueden realizar simbiosis con plantas, formando ectomicorrizas o como parásitos sobre los árboles (Suárez Arango, 2010).

#### 4.1.2 Clasificación de los Hongos Macromicetos:

Todos los taxonomistas coinciden en que los hongos macromicetos se dividen en cuatro phylum: *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Ascomycota* y *Basidiomycota*.

##### 4.1.2.1 *Chytridiomycota*.

Sus 700 especies producen esporas y gametos que se impulsan por medio de flagelos. Son los únicos hongos con células flageladas en cualquier etapa de su ciclo vital y por esta razón, durante algún tiempo fueron clasificados como protistas; sin embargo, los análisis de sus secuencias de nucleótidos demuestran que estos organismos son hongos. También comparten varias enzimas y rutas bioquímicas importantes con los hongos y poseen el resto de las características del reino Fungi. La mayoría de los chytridiomicetos se componen de células esféricas o hifas cenocíticas con solo unos cuantos septos. En algunos de ellos, las hifas forman espigadas estructuras ramificadas, parecidas a las raques, denominadas rizoides, que crecen hacia el interior del suministro de alimento y mantienen el hongo en su sitio (**Figura 1**). Muy a menudo, estos hongos viven como mohos acuáticos o en el agua dulce, en hojas, ramas o animales muertos; otras especies son marinas y algunas viven en el suelo. Varias especies provocan enfermedades en cultivos de papa, como la sarna verrugosa, una grave enfermedad de este tubérculo (Starr et al., 2006).



**Figura 1** Ciclo de vida de *Chytridiomycota*.

La reproducción asexual implica la producción de esporas haploides en los esporangios. La reproducción sexual comienza con la fusión de los gametangios de diferentes tipos de unión (plasmogamial, seguida de la fusión nuclear cariogamial y de la meiosis).

**Fuente:** (Starr et al., 2006).



#### 4.1.2.2 Zygomycota.

Se han identificado más de 1000 especies de zigomicetos. La mayoría forma hifas cenocíticas, habitan en plantas y animales muertos, así como en cualquier otro tipo de materia orgánica. Algunos viven como endosimbiontes en el tracto digestivo de artrópodos, mientras que otros son los componentes fúngicos de las endomicorrizas. Estos hongos son los responsables por causar muchos tipos de podredumbre blanda en las frutas y unas pocas enfermedades parasíticas en los animales. Ejemplo de ellos tenemos el *Rhizopus*, que es uno de los numerosos hongos que suelen crecer en el pan, la fruta y otros alimentos húmedos, ricos en carbohidratos. Los micelios haploides de *Rhizopus* se extienden con rapidez por el alimento, absorbiendo los nutrientes. Los conservantes y preservantes en los alimentos, como el propionato de calcio o el benzoato de sodio, son bastante efectivos en la inhibición del crecimiento de este y otros tipos de hongos (al menos, por un tiempo). Al igual que otros zigomicetos, *Rhizopus* puede realizar tanto la reproducción asexual como la sexual y en ambas participan esporas. En un medio estable predomina la reproducción asexual. Los micelios extienden hifas especializadas, denominadas estolones, a lo largo de la superficie del alimento. Donde quiera que los estolones toquen la superficie, ahí crecen los rizoides en el alimento; estas estructuras desarrollan hifas verticales denominadas esporangióforos, cada una de las cuales forma un esporangio negro en la punta y se logran ver durante el crecimiento del moho en una rebanada de pan. (Starr et al., 2006).

#### 4.1.2.3 Ascomycota.

Estos hongos pueden ser unicelulares o estar formados por un micelio de paredes quitinosas, con septos transversales incompletos (presentando un poro central). Las hifas pueden ser uni o multinucleadas, homo o dicarióticas ramificadas. La principal característica de estos hongos es que como producto de su reproducción sexual se forman unos sacos o bolsas llamados ascos, los cuales, contienen en su interior a las esporas de origen sexual (ascosporas). Los cuerpos productores de ascos se denominan ascocarpos. En la gran mayoría de las especies se forman cuerpos fructíferos macro o microscópicos, que contienen a su vez uno o muchos ascocarpos; sin embargo, algunas especies no forman cuerpos fructíferos ni ascocarpos y los ascos quedan al descubierto y son diseminados en el micelio (Starr et al., 2006).

#### 4.1.2.4 Basidiomycota.

Las esporas que dan nombre a este grupo de hongos son las basidiosporas, producidas exógenamente en órganos especiales, los basidios. En los Basidiomicetes superiores se producen cuatro basidiosporas típicas y los basidios se encuentran en laminillas (*lamelas*) de los basidiocarpos carnosos. Los Basidiomicetes inferiores tienen un ciclo vital más complicado y su lugar en la clasificación taxonómica no es muy seguro. Un buen grupo de especies de *Agaricales* (hongos con laminillas) pueden desarrollarse en cultivos artificiales o sintéticos. Una actividad muy importante de los basidiomicetos es la descomposición de la madera, papel y otros derivados de productos naturales. Estos hongos, por lo tanto son capaces de producir celulasas y



enzimas capaces de catabolizar la lignina y utilizarla como fuente de carbono y energía. La descomposición de la lignina en la naturaleza es difícil y es realizada por un reducido grupo de hongos basidiomicetos, que producen la llamada “*podredumbre de la madera*”. Existen dos tipos de podredumbre, la marrón, en la que solamente se degrada la celulosa pero no la lignina y la blanca, en la que ambos polímeros son degradados eficientemente (Suárez Arango, 2010)

#### **4.1.2.4.1 Ciclo de vida de los basidiomicetos.**

La forma de reproducción de los hongos se da a través de esporas. Los hongos superiores poseen en el himenio células madre, encargadas de producir las esporas, llamadas basidios (en los basidiomicetos). Las esporas son lanzadas por el himenio al exterior, si se depositan en lugares húmedos y de condiciones favorables, darán origen al micelio, éste crecerá bajo tierra o leños dando lugar a una seta con basidios en su himenio y se producirán las esporas para que sean nuevamente liberadas al exterior y se complete el ciclo de reproducción (Suárez Arango, 2010).

#### **4.1.2.4.2 Identificación de los Basidiomicetos.**

En Colombia el estudio de los hongos macromicetos ha tenido muy poca relevancia, ya que solamente se han caracterizado especies en la ciudad de Villavicencio y en los departamentos de Caldas y Chocó. Las técnicas más comunes son las de identificación macro y microscópica; sin embargo, son técnicas muy dispendiosas y que poseen un porcentaje de error alto, a diferencia de las técnicas instrumentales que desde hace un tiempo han cobrado gran interés e importancia a la hora de identificar y clasificar especies; un ejemplo de ello es la espectroscopia de infrarrojo, que mediante la elucidación de grupos funcionales, clasifica a los organismos en diferentes niveles taxonómicos y tiene en cuenta el estado fisiológico de la forma de vida analizada, ya que el espectro refleja la composición bioquímica de las células en estudio (Santos Cledir et al., 2010).

### **4.2 Espectroscopia Infrarroja.**

Es una técnica confiable, rápida y amigable con el medio ambiente, debido a que el uso de reactivos es mínimo (*solvent less*). El fundamento de la técnica es un espectro infrarrojo (IR) que constituye un patrón altamente específico semejante a una “*huella digital*”, que representa la composición química global del analito y que, por lo tanto, permite su caracterización estructural. El espectro infrarrojo con transformada de Fourier (FT-IR) de una célula es el resultado de la absorción de todos los modos vibracionales de los enlaces químicos de las moléculas que la constituyen, principalmente macromoléculas como nucleótidos, DNA, RNA, proteínas, carbohidratos y lípidos (Kikot, 2012).

Debido a la complejidad inherente a la interpretación de los espectros, se han desarrollado sistemas de reconocimiento basados en técnicas de análisis estadístico multivariado que permiten la caracterización e identificación microbiana, así como la cuantificación de componentes celulares. El FT-IR combinada con técnicas de análisis multivariante ha sido propuesto en los últimos años como un método fisicoquímico alternativo para la identificación y caracterización molecular de células. Mediante esta metodología es posible analizar directamente espectros de células enteras, sin ningún tipo de tratamiento ni uso de reactivos especiales, tiene bajos costos operativos y lo que es más importante, permite obtener resultados en tiempos reducidos. La



aplicación de metodologías basadas en FT-IR ha sido capaz de identificar células (hongos) a nivel de **Género**, **Especie** y aún, de **cepa** (Kikot, 2012).

## 5. PARTE EXPERIMENTAL.

### 5.1 Información General.

#### 5.1.1 Ubicación.

El proceso investigativo se desarrolló en las instalaciones de la Universidad Tecnológica de Pereira, Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira (Figura 2), Escuela de Química y Laboratorio de Microbiología de la misma Universidad.

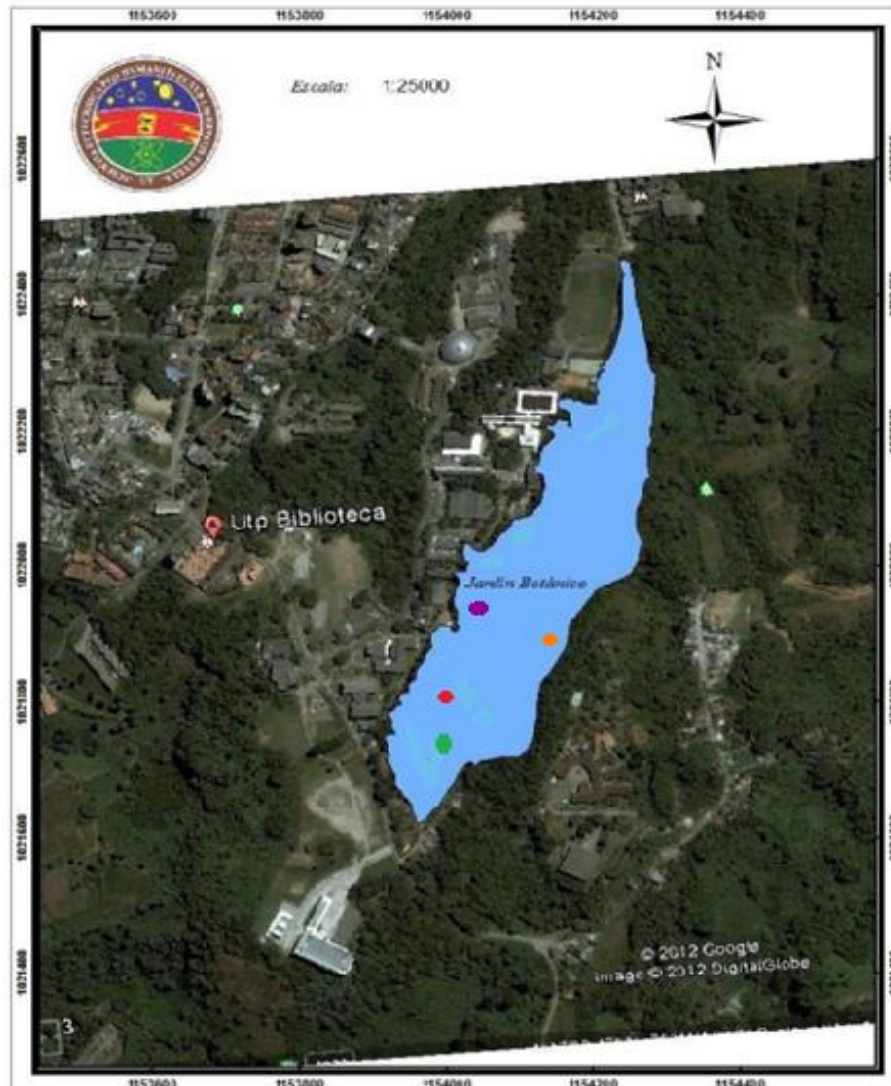


Figura 2 Zona de muestreo, Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira.



### 5.1.2 Duración.

El desarrollo de este proyecto se llevó a cabo en un lapso de tiempo de seis meses, comprendido entre Junio a Diciembre del año 2013.

### 5.1.3 Procedimiento.

El proceso realizado de forma general para la identificación de los Hongos Micromicetos y el análisis del suelo donde estos se encontraban, se muestra en la Figura 3.

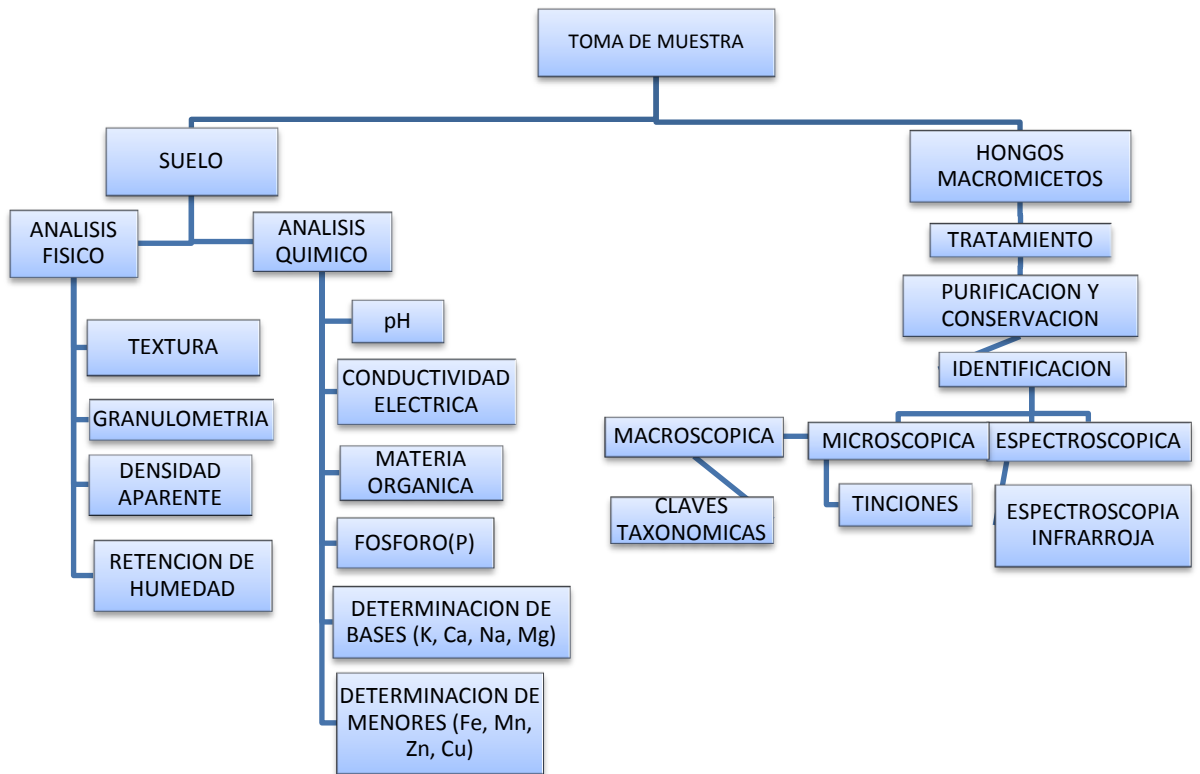


Figura 3. Esquema del proceso práctico del proyecto.

Fuente: Del autor.



## 5.2 Recolección de muestras de suelo y material de estudio.



**Figura 4.** Zona de muestreo del Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira.

**Fuente:** Del autor.

El desarrollo metodológico empezó con el estudio del terreno y selección de los puntos de muestreo en el Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira (JBUTP), el cual se encuentra ubicado en el sur oriente del área urbana del municipio de Pereira, con coordenadas geográficas  $4^{\circ}47'28,2''N-75^{\circ}41'24''-5W$  y características de Altitud 1442 m.s.n.m. temperatura media  $20^{\circ}C$  y precipitación media anual 2553 mm.

Se consideró como población fija el Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira, se seleccionó como unidad de muestreo y en forma de zigzag un cuadrado de (3x3) m. En el centro de este cuadrado se recolectaron las muestras de hongos y las muestras de suelos, que fueron tomadas de manera aleatoria dentro de dicho cuadrado, en total se tomaron 4 muestras de suelos y 5 muestras de hongos. Por las características de este muestreo se decidió usar un muestreo compuesto y sistemático con una distribución equidistante entre puntos muestreados a lo largo del cuadrado, del cual se tomaron 2 kg de muestras, a los cuales se les realizaron sus respectivos análisis.



### 5.3 Análisis de suelos.

Las muestras de suelo se recolectaron y se sometieron a secado durante tres días a temperatura ambiente, posterior a esto, se tamizaron en mallas de 2 mm de poro para eliminar hojarasca y otros residuos sólidos, finalmente se guardaron en recipientes de plástico para su conservación y manipulación.

A las muestras de suelo se les realizaron análisis fisicoquímico (pH, Materia orgánica, Nitrógeno orgánico, Fósforo, Potasio, Calcio, Hierro, Manganeso, Zinc, Cobre, Azufre, Aluminio, Conductividad eléctrica, Textura, Granulometría, Densidad aparente y Retención de humedad), empleando las metodologías descritas en el Manual de Laboratorio de Suelos de la Universidad Tecnológica de Pereira. (PEREIRA, 2011).

### 5.4 Identificación macroscópica.

Para la identificación macroscópica se necesitó de una buena observación y búsqueda de bases de datos que proporcionaran información confiable de las características de los diferentes tipo de Hongos hallados, para esto se utilizó la base de datos de azatorra y asturnatura, la cual posee información de 2354 especies, lo cual nos permitió obtener información de algunas partes de los hongos como: el himenio, sombrero, carne, pie, color y de su hábitat, logrando de este modo caracterizar hasta **Familia** los cinco hongos recolectados (Asturnatura, 2004).

Con la identificación macroscópica se inició el viaje al maravilloso mundo de los hongos. Es importante tener en cuenta que este mundo es un poco complejo, debido a que no hay la suficiente información para hacer búsquedas confiables, es por esto, que se continuó con la identificación micro y espectroscópica, para lo cual se realizó el proceso de esporulación y purificación de las muestras de hongos *in vitro*, buscando de este modo tener más información de los diferentes tipos de hongos hallados y así, obtener resultados lo más confiable posibles.

### 5.5 Esporulación y purificación de los hongos.

Los Hongos Macromicetos seleccionados aleatoriamente en el área recorrida del JBUTP, fueron cinco, a los cuales se les realizó el siguiente tratamiento de purificación y esporulación:

La purificación se hizo por medio de tres tipos de lavados:

1. Lavado general con agua, cada uno en un recipiente.
2. Se sumergen con solución Extrán al 2%, dejándolos por un tiempo de 3 a 5 minutos, según la textura de cada uno.
3. Finalmente se lavaron con solución de hipoclorito de sodio al 5% durante 2 minutos.

Para el proceso de esporulación se siguieron los siguientes pasos:

1. Con un bisturí se hicieron cortes a los hongos por su base, en el caso de los que tenían forma tradicional de seta (Figura 5), para los que no tienen forma tradicional se hizo el corte en el himenio y los que no tenían forma definida se les realizó un corte transversal .

2. los cortes obtenidos fueron depositados en tres tipos de agar, selectivos para el crecimiento de hongos (Papa Dextrosa, Rosa Bengala, y OGYE). (Ndong, Degreeef, & Kesel, 2011).



**Figura 5:** Cortes tradiciones, para realizar el proceso de esporulación.

**Fuente:** (Rizoazul, 2010).

### 5.5.1 Conservación de los hongos.

La etapa de esporulación es el inicio para la purificación de las muestras, es por esto que durante un tiempo aproximado de tres meses, se realizaron repiques sucesivos (siembra de esporas), en los diferentes tipos de agar selectivos para el crecimiento de hongos, (Papa Dextrosa, Rosa Bengala y OGYE), garantizando así la pureza de las muestras.

En la etapa de crecimiento de las esporas, estas fueron sometidas a incubación a una temperatura de 30° C, durante un periodo entre ocho y quince días aproximadamente, donde se observaban al microscopio y se determinaba la presencia de una única población. Para identificar la forma de dichas esporas se tiñeron con azul de lactofenol y posterior a esto las muestras que se encontraban puras eran conservadas en la nevera a una temperatura baja (-10°C), para detener el crecimiento de las esporas y evitar alguna contaminación (Ndong et al., 2011).

### 5.6 Identificación microscópica.

Inicialmente se le realizaron cortes pequeños y transversales, esto con el fin de observar diferentes características estructurales como las hifas, pigmentación, pellis y esporas, haciendo uso de los reactivos de *Melzer* para caracterizar el tipo de spora y el reactivo de azul de lactofenol.

En la obtención de las esporas como se mencionaba antes, se utilizan reactivos específicos para su caracterización, donde se presentan reacciones químicas de gran importancia, por ejemplo, a través de las tinciones con el reactivo *Melzer*, las esporas pueden ser clasificadas como amiloide, dextrinoide o inamiloide; también se pueden utilizar el ácido láctico y el azul de lactofenol para observar su ornamentación. (Ndong et al. 2011).

### 5.7 Identificación mediante espectroscopia infrarroja.

Para llevar a cabo el proceso de identificación por medio de técnicas espectroscópicas, en este caso utilizando espectroscopia infrarroja, fueron



seleccionados los repiques que no mostraban contaminación, garantizando así un mayor porcentaje de confiabilidad en los resultados obtenidos por el equipo ATR-FTIR. Después de esto, se hizo una siembra, en este caso utilizando tres tipos de caldos, Papa Dextrosa, Agua Peptonada y Caldo Nutritivo, para el crecimiento de los hongos en forma de pellets, esto debido a que las esporas son difíciles de manejar y pueden contaminar el ambiente o presentarse una contaminación cruzada entre los hongos. Al obtener los *pellets*, estos fueron leídos en el equipo infrarrojo de la escuela de Química de la Universidad Tecnológica de Pereira bajo las siguientes condiciones: método pantleggh-ATR, scan: 164, resolución  $4\text{cm}^{-1}$ , Estos resultados se analizaron teniendo en cuenta los grupos funcionales más representativos a través de análisis multivariado de conglomerados y de compuestos principales usando el software estadístico InfoStat (Fischer, Silvia Braun, Ralf Thissen, & Dott, 2005).



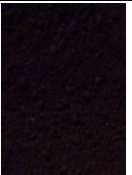
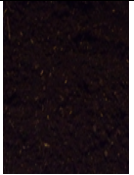
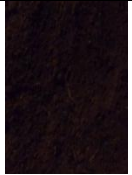
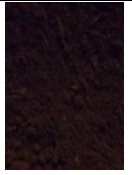
## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

### 6.1 Resultados fisicoquímicos de las muestras de suelos.

Es muy importante poder identificar fácilmente los árboles y plantas que forman los diversos bosques para poder localizar las setas en los distintos ecosistemas y hábitats donde crecen. Numerosas veces su desarrollo está asociado a determinados árboles y plantas con quien generalmente forman micorriza. Estas características junto con el conocimiento del tipo de suelo y la climatología del ecosistema son factores determinantes para el crecimiento de las setas. De acuerdo a los diferentes hábitats que se pueden dar se presentan las principales especies de setas que son frecuentes en estos hábitats (Rizoazul, 2010).

Debido a que el hábitat donde se puede hallar determinado grupo de Hongos Macroscópicos es importante, se realizó también muestreo de suelo, donde fueron hallados los cinco hongos, a los cuales se le hicieron análisis fisicoquímicos obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1: Resultados de análisis de suelos.**

Propiedades fisicoquímicas.	Muestras de suelos.				Índice de correlación ( $r^2$ )
	A	B	C	D	
Fotos					N/A
Materia orgánica (%)	26,9	26,1	18,3	26,2	N/A
pH	5,57	6,11	6,01	4,92	N/A
Fósforo (ppm)	16,4	14,9	15,5	14,4	0,9922
Aluminio (mEqAl <sup>3+</sup> /100g de suelo)	NA	NA	NA	8,5	N/A
Conductividad eléctrica (mS/cm)	183,4	240,9	177	41,6	N/A
Densidad aparente (g/cm <sup>3</sup> )	0,6192	0,5837	0,5563	0,4851	N/A



Capacidad de retención de agua (%)	90	85	80	70	N/A
Potasio (mEq/100g suelo)	0,418	0,235	0,256	0,29	0,9824
Calcio(mEq/100g suelo)	0,115	0,133	0,14	0,026	0,9972
Hierro(mEq/100g suelo)	0,004	0,003	0,001	0,006	0,9959
Manganeso(mEq/100g suelo)	-0,3596	-0,3346	-0,3811	-0,4073	0,9827
Zinc (mEq/100gsuelo)	1,9281	1,6992	1,3855	1,475	1
Cobre (mEq/100gsuelo)	0,048	0,066	0,094	0,012	0,9998






En los resultados obtenidos de las muestra de suelos, se observa que presentan similitud en muchos de los análisis realizados, por lo cual se puede decir que los hongos tendrán algunas características en común, aunque se dice que la relación que se encuentra entre el suelo y los hongos es denominada simbiosis porque los hongos degradan materia orgánica proporcionándole nutrientes al suelo.

## 6.2 Resultados macroscópicos, microscópicos y espectroscópicos.

El análisis macroscópico fue el inicio para la identificación de los hongos, este se hizo a través de una observación de las partes principales de los Hongos Macromicetos aislados, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 2.



Tabla 2: Resultado análisis macroscópico.

Muestra	HM-1	HM-2A	HM-2B	HM-3	HM-4
Fotos					
Sombrero	Perfil aplanado, superficie zonada, color rojilla a marrón.	N/A	Perfil aplanado, parte inferior porosa, los poros son redondos, color marrón.	Perfil deprimido, borde fostoneado, Pequeño color rojizo y crema.	Perfil aplanado, superficie zonada, color amarillo en ejemplares jóvenes y blanco en ejemplares viejos.
Pie	N/A	N/A	N/A	Esbelto y delgado.	N/A
Carne	Dura	Delgada y frágil.	Dura en su exterior con interior fibroso.	Escasa.	Dura.
Olor	No perceptible.	Aromático dulce muy fuerte,	No perceptible.	No perceptible.	Madera en descomposición.
Habitat	Madera en descomposición.	Madera en descomposición.	Madera en descomposición.	Gragario, y crece en tierra.	Árboles.

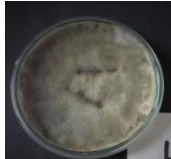





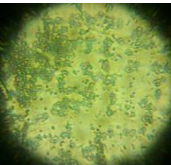
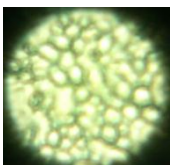
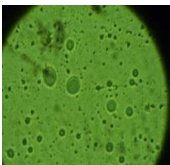
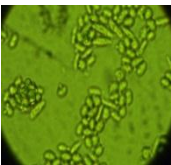


<b>Familia</b>	<i>Hymenochaetaceae</i>	<i>Sparassidaceae</i>	<i>Hymenochaetaceae</i>	<i>Inocybaceae</i>	<i>Ganodermataceae</i>
----------------	-------------------------	-----------------------	-------------------------	--------------------	------------------------

Al obtener estos resultados y haciendo uso de una base de datos (azarrota y asturnatura), se realizó la comparación de las características que estos hongos presentaron, logrando obtener su clasificación, mostrada en la tabla 2.

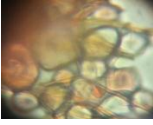

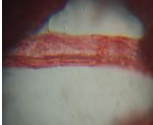
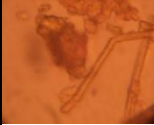

Los resultados morfológicos anteriores se hicieron para tener una información general del tipo de hongo recolectado, pero este método no da resultados contundentes, es por esto que se vio la necesidad de emplear otras técnicas, como análisis microscópico, utilizando en este proceso las esporas aisladas de los hongos, donde se pudo observar la morfología de estas y su reacción química con el reactivo de Melzer. Obteniéndose los resultados de la tabla 3.

**Tabla 3.** Resultados de análisis microscópico.

<b>Muestra</b>	<b>HM-1</b>	<b>HM-2<sup>a</sup></b>	<b>HM-2B</b>	<b>HM-3</b>	<b>HM-4</b>
<b>Fotos de esporas (Macroscópicas)</b>					
<b>Forma de la espora</b>	Elipse	Ovoide	Globosa	Elipse	Elipse
<b>Color de la espora</b>	Blanca, leucosporo	Blanca, leucosporo	Blanca, leucosporo	Blanca, leucosporo	Blanca, leucosporo
<b>Reacción frente a Melzer</b>	Ningún cambio bajo microscopio inamiloide	Ningún cambio, inamiloide	Ningún cambio, inamiloide	Ningún cambio, inamiloide	Ningún cambio, inamiloide
<b>Fotos de esporas con el reactivo de Melzer</b>					
<b>Sistema de hifas</b>	Dimacotimico	Tritimico	Dimacotimico	Monomitico	Tritimico





Tipo de hifas	Septada	No septada	Septada	No septada	Septada
Pigmentación de hifas	Citoplasmático	Necropigmentos	Citoplasmático	Cicloplasmáticos	Vacuolares
Fotos de hifas					
Genero	<i>Phellinus</i>	<i>Sparassis</i>	<i>Phellinus</i>	<i>Tubaria</i>	<i>Ganoderma</i>

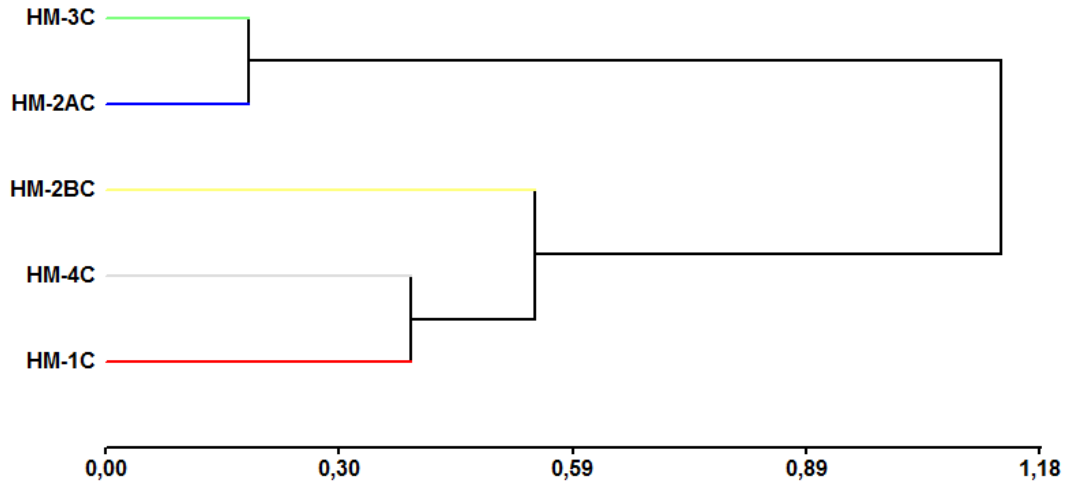
El tipo de esporas que presentan los hongos Macromicetos haciendo una revisión macroscópica (a simple vista) es característica para cada uno, sin embargo cambia su forma, color y textura dependiendo el medio en el cual sea sembrado, esto debido a que los nutrientes que le pueden proporcionar cada uno de los agares son diferentes, y por esto se pueden ver desarrolladas diferentes características, es por esto que los hongos presentan dimorfismo, lo que quiere decir que cambian constantemente sus características macro pero su morfología microscópica es igual.

A través de estos resultados microscópicos se concluyó que ninguno de los hongos reaccionó con el reactivo de Melzer. Esto fue un aporte para continuar profundizando en las características específicas de cada hongo, debido a esto se logró clasificar hasta **Género** cada uno de ellos, esta clasificación fue relacionada a través de la técnica de espectroscopia infrarroja, realizando análisis de conglomerados a los datos correspondientes de las longitudes de onda más representativas que van desde 1600-1700  $\text{cm}^{-1}$  y 2850-3500  $\text{cm}^{-1}$ , estas corresponden a los estiramientos del grupo  $>\text{C}=\text{O}$  del enlace peptídico y  $\text{OH}$  de carbohidratos. Siendo las bandas más intensa, por ser las proteínas y los carbohidratos componentes importantes en la biomasa celular. (Kikot, 2012), Obteniéndose como resultado del análisis estadístico los siguientes *clusters* (ver Figuras 6 y 7).



### Encadenamiento Simple (Single linkage)

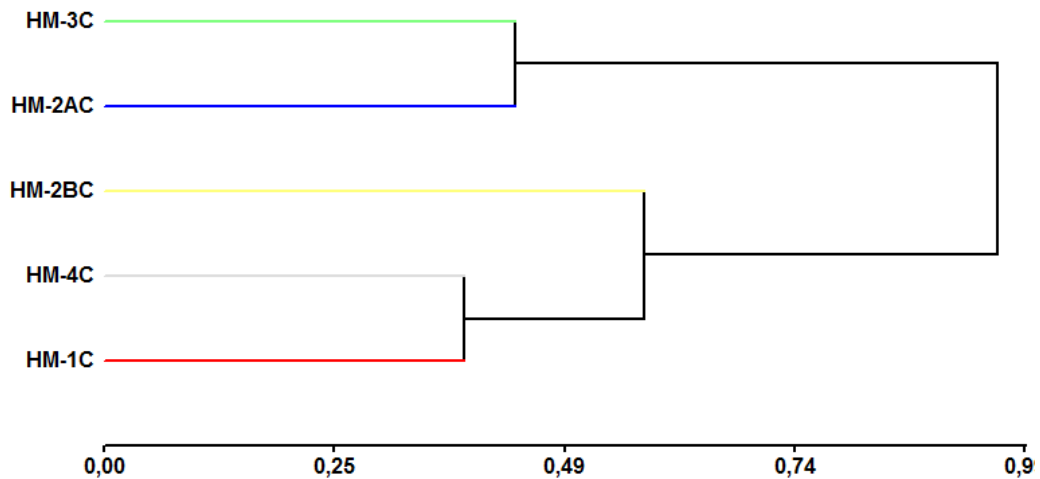
Distancia: (Euclidea)



**Figura 6:** Dendrograma de conglomerados de la banda espectral de  $1600-1700\text{ cm}^{-1}$ , obtenido por medio del software estadístico Infostat.

### Encadenamiento Simple (Single linkage)

Distancia: (Euclidea)



**Figura 7:** Dendrograma de conglomerados de la banda espectral de  $2800-3500\text{ cm}^{-1}$ , obtenido por medio del software estadístico Infostat.

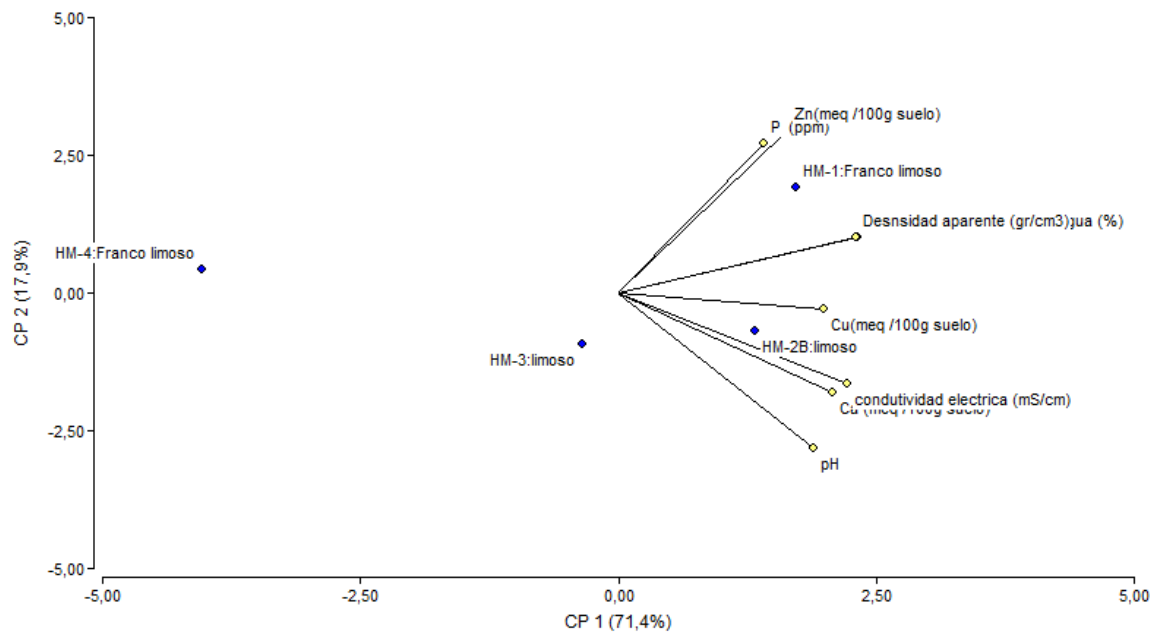
Los dendrogramas obtenidos muestran la división de familia, género y especie de los hongos recolectados, esta división fue comparada con la obtenida a través de los análisis morfológicos, y se observó que en un 80 % coincidieron, debido a que las muestras HM- 4 no se en cuenta en la misma familia del HM-1 Y HM-2B (*hymenochataceae*) como se observa en el dendrograma.



Esta identificación de los hongos, utilizando técnicas tradicionales (morfológicas y microscópicas) y espectroscópicas son de gran importancia tanto para el crecimiento de inventarios de especies de una región, posibles aplicaciones en la industria y problemas patógenos que pueden llevar en su estructura, por lo cual la búsqueda de métodos para la identificación deben ser simples, rápidos y certeros. Por lo que se ha encontrado que la FT-IR es una técnica muy usada en la identificación de células y su discriminación (Kikot, 2012) (Fischer, Silvia Braun, Ralf Thissen, & Dott, 2005), los resultados obtenidos mediante este método en contraste con las técnicas tradicionales de identificación, genera un buen patrón para confirmar datos existentes, por tanto el método puede emplearse para generar una base de datos que permita una clasificación relativa que sea capaz de abarcar la variación natural fenotípica de las poblaciones de hongos. Otro punto a tener en cuenta a la hora de diferenciar organismos por esta técnica es conocer la selección de las regiones espectrales que serán utilizadas para realizar el análisis de grupos. Estas regiones deben ser seleccionadas por intensidad y característica principal que los hongos poseen en su estructura morfológica, como fue realizada.

### 6.3 Análisis estadístico de los suelos con respecto a los hongos.

Con los resultados obtenidos de los análisis de suelos se buscó la relación que presentaban los hongos con respecto al lugar donde se encontraban, empleando el análisis estadístico de componente principal (PCA), mostrado en la Figura 8.



**Figura 8:** Análisis estadístico por componentes principales (PCA) usando software estadístico Infostat. La relación existente se basa en nutrición. No hay efectos relevantes observados.

Con el fin de describir una relación entre el análisis de los suelos donde se hallaban los hongos y su respectivo análisis morfológico se utilizó un análisis estadístico de



componentes principales (PCA), donde a partir de las medidas de la distancia entre los puntos, es decir, la proximidad espacial representados en el espacio de PC (Fig 9. ), se obtienen valores negativos y positivos de PC, que ayudan a clasificar en grupos a los hongos con respecto a una composición similar en cuanto a su nutrición y aporte de nutrientes, por tanto las poblaciones se agrupan en tres grupos basados en el promedio de vinculación. El grupo 1 incluyó el HM-1, HM-2A y HM-2B. Grupo 2 incluyó a la población HM-3 y el HM-4 forma un *cluster* individual donde sus características nutricionales son muy diferentes a las demás.

#### 6.4 SUELO Y HONGOS.

Se tomaron cinco muestras de hongos y cuatro muestras de suelo, debido a que dos de los hongos fueron recolectados en el mismo lugar, como se muestra en la tabla 4.










**Tabla 4:** Clasificación de los Hongos Macromicetos, relacionados con el tipo de suelo.

suelo	Muestras	División	Familia	Género	Especie
A	HM-1	<i>basidiomycete</i>	<i>Hymenochaetaceae</i>	<i>Phellinus</i>	<i>Robiniae</i>
B	HM-2A	<i>basidiomycete</i>	<i>Sparassidaceae</i>	<i>Sparassis</i>	<i>Crispa</i>
B	HM-2B	<i>basidiomycete</i>	<i>Hymenochaetaceae</i>	<i>Phellinus</i>	<i>spp</i>
C	HM-3	<i>basidiomycete</i>	<i>Inocybaceae,</i>	<i>Tubaria</i>	<i>furfurácea</i>
D	HM-4	<i>basidiomycete</i>	<i>Ganodermataceae</i>	<i>Ganoderma</i>	<i>applanatum</i>

#### 6.5 Comparación de los Hongos Macromicetos y

A través de los resultados se hizo una comparación entre las imágenes de referencia halladas en la base de datos y las muestras tomadas en el Jardín Botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira de los Hongos Macromicetos y a simple vista se puede observar una gran similitud, (Tabla 5).

**Tabla 5:** Comparación entre las muestras de Hongos Macromicetos en estudio y referencias halladas de estos.

MUESTRAS DE HONGOS	COMPARACION	
	ENSAYO	REFERENCIAS
HM-1		
HM-2A		
HM-2B		
HM-3		
HM-4		



## 7. CONCLUSIONES.

- Los objetivos planteados de identificación macro y microscópica se cumplieron, obteniendo resultados confiables hasta en un 80% de los hongos Macromicetos hallados y haciendo su clasificación taxonómica hasta **Especie** de cuatro de ellos y uno (HM-2B) hasta Género. Por lo tanto, se logró la recolección de cinco clases de hongos nativos del JB-UTP, pertenecientes a cuatro **Familias** taxonómicas.
- Durante el estudio e identificación de estos hongos, se dio a conocer que entre los agares utilizados (PDA, Rosa Bengala y OGYE) el que favoreció mejor su crecimiento fue el agar Rosa Bengala, ya que las esporas crecieron de forma más estables y definida, porque este agar presenta en su composición carbohidratos (Dextrosa) y grupos aminos (Peptona), los cuales son importantes para el crecimiento de los hongos que degradan materia orgánica.
- Mediante los análisis de sus características macro y microscópicas de los hongos y utilizando las bases de datos, quedó un hongo sin identificar (HM-2B), del cual se podría pensar que es un ejemplar no estudiado porque no se encuentra en las bases de datos e inventarios micológicos.
- Se logró implementar la técnica de FT-IR, la cual se ha utilizado en la identificación de células y su discriminación, esta técnica se caracteriza por ser fácil, rápida y confiable, por lo cual se pudo implementar en la discriminación de familias géneros y especies de los hongos recolectados.



## 8. RECOMENDACIONES.

- Para tener una mayor seguridad en la identificación del infrarrojo, se debe continuar con una identificación molecular, para establecer porcentajes de confiabilidad en cada técnica.
- La identificación de dichos hongos se realizó para que sea una ayuda a la hora de evaluar sus actividades biológicas, debido a que estos tienen un futuro promisorio para aplicaciones biotecnológicas; por tanto se deben realizar estudios de actividad biológica de los hongos estudiados, teniendo en cuenta el estudio del HM-2B especialmente, ya que no se ha realizado una identificación completa.



## 9. BIBLIOGRAFÍA.

- Asturnatura. (2004). guía de hongos y setas. from <http://www.asturnatura.com/guia-hongos-setas.html>
- BARCO, PIEDRAHÍTA, & GREDOS. Guía de educación ambiental de los hongos- Asociación Intermunicipal para el Desarrollo Rural de la Comarca In ASIDER (Ed.). Argentina.
- Canceco Zorrilla, Eduvigés. (2011). *Estudio de la diversidad de macromicetos silvestres en el municipio de San Gabriel Mixtepec, Oaxaca*. (biología licenciatura), Universidad del Mar, Puerto Escondido.
- Carranza Díaz, Zurisadai. (2006). *Selección e identificación de especies de hongos ectomicorrizógenos del estado de Hidalgo mas competentes en medio de cultivo sólido*. (Ingeniero agroindustrial Licenciatura), Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), México. Retrieved from <http://www.uaeh.edu.mx/docencia/Tesis/icap/licenciatura/documentos/Selección%20e%20identificación%20de%20especies.pdf>
- Carrillo, Leonor. (2003). *Los macromicetos* U. N. d. Salta (Ed.) *Los hongos de los alimentos y forrajes* (pp. 119-125). Retrieved from <http://www.unsa.edu.ar/matbib/hongos/>
- Cledir Santos, Marcelo E. Fraga, Zofia Kozakiewicz, & Lima, Nelson. (2010). Fourier transform infrared as a powerful technique for the identification and characterization of filamentous fungi and yeasts. *Research in Microbiology* 161 (2010) 168e175.
- Cubas, paloma. (2007). Hongos. from [www.aulados.net](http://www.aulados.net)
- Fischer, Guido, Silvia Braun, Ralf Thissen, & Dott, Wolfgang. (2005). FT-IR spectroscopy as a tool for rapid identification and intra-species characterization of airborne filamentous fungi. *Journal of Microbiological Methods* 64(63-77).
- Gloria.María.Restrepo.F., Patricia.Eugenia.Vélez.A., Paula.Andrea.Botero.A., & Catalina.Pulido.V. (2005). Reconocimiento de macromicetos asociados al cultivo de *Guadua angustifolia* en Caldas, Colombia. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología* 7 6
- Kikot, Gisele. (2012). *Caracterización bioquímica, fenotípica y molecular de aislamientos de Fusarium graminearum provenientes de la región pampeana*





en relación a la patogenicidad: seccion IV Diversidad fenotípica de aislamientos de *F. graminearum* aplicando espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FT-IR). (Doctorado doctoral), Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Micología, asociacion vallisoletana de. (2014). Los hongos y la reproduccion. 2014, from <http://www.asociacionvallisoletanademicologia.com>

Mueller, John P. Schmit, Patrick R. Leacock, Bart Buyck, Joaquín Cifuentes, Dennis E. Desjardin, Roy E. Halling, Kurt Hjortstam, Teresa Iturriaga, . . . Mario Rajchenberg, Scott A. . (2007). Global diversity and distribution of macrofungi. *Biodiversity and Conservation*, 16(1), 37-48. doi: 10.1007/s10531-006-9108-8

Ndong, Hugues Eyi, Degreeef, Jérôme, & Kesel, André De. (2011). Champignons comestibles des forêts denses d'Afrique centrale Taxonomie et identification. *Abc Taxa*, 10, 254.

PEREIRA, LABORATORIO DE ANÁLISIS QUÍMICO DE SUELOS Y FOLIARES UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE. (2011). Colombia Patent No.: UTP.

Pérez Clavijo, Margarita (2011). *APLICACIONES BIOTECNOLÓGICAS EN EL SECTOR AGROALIMENTARIO COMO FUENTE DE COMPETITIVIDAD EMPRESARIAL*. Paper presented at the HONGOS CULTIVADOS Y BIOTECNOLOGÍA, España.

Rizoazul. (2010). LAS SETAS Y SUS ECOSISTEMAS. 2013, from <http://www.micomania.rizoazul.com/micologia%20las%20setas%20y%20sus%20ecosistemas.html>

Santos Cledir, Fraga Marcelo E., Kozakiewicz Zofia Kozakiewicz, & Nelson, Lima. (2010). Fourier transform infrared as a powerful technique for the identification and characterization of filamentous fungi and yeasts. *Research in microbiology*, 161, 168-175.

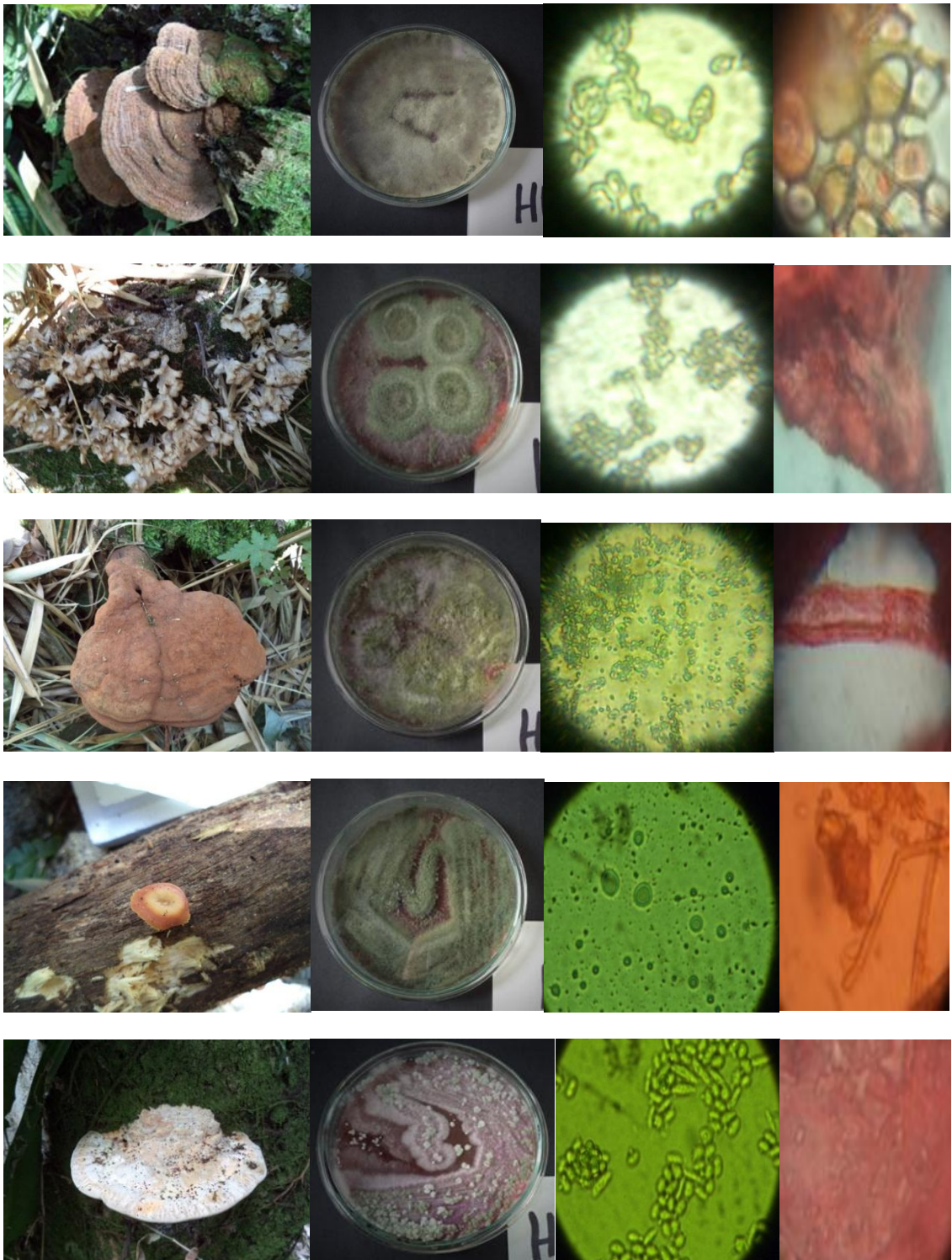
Starr, Cecie;, Taggart, Ralph;, Evers, Christine;, & Starr, Lisa. (2006). hongos. In C. I. Licona (Ed.), *Biología: la unidad y la diversidad de la vida* (Vol. 12, pp. 1003). Mexico: EDITEC S.A. de C.V.

Suárez Arango, Carolina (2010). *OBTENCIÓN IN VITRO DE MICELIO DE HONGOS COMESTIBLES, SHIITAKE (*Lentinula edodes*) Y ORELLANAS (*Pleurotus ostreatus* y *Pleurotus pulmonarius*) A PARTIR DE AISLAMIENTOS DE CUERPOS FRUCTÍFEROS, PARA LA PRODUCCIÓN DE SEMILLA*. (pregrado), Universidad Nacional de Bogota, Bogota, Colombia.



Suárez Arangoa, Carolina , & Nieto, Ivonne Jeannette. (2013). Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: una alternativa en la obtención de nutracéuticos. *Revista Iberoamericana de Micología*, 30(1), 8. doi: 10.1016/j.riam.2012.03.011

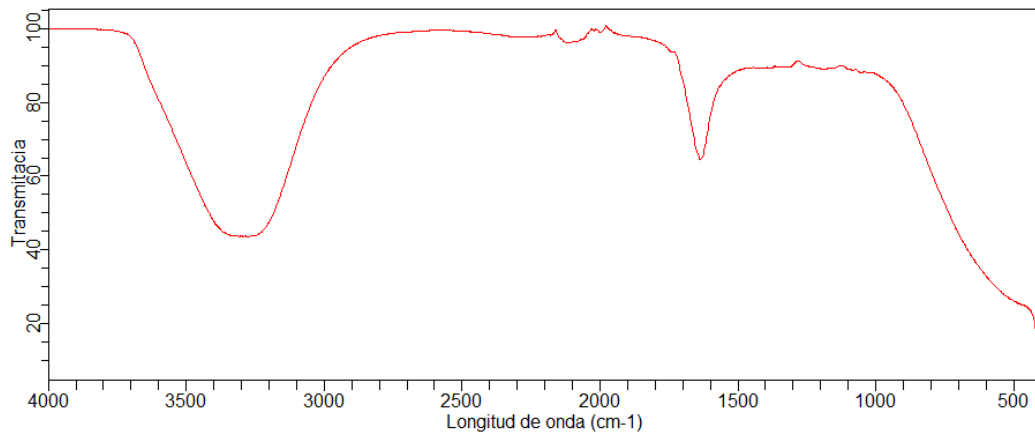
10. ANEXOS.



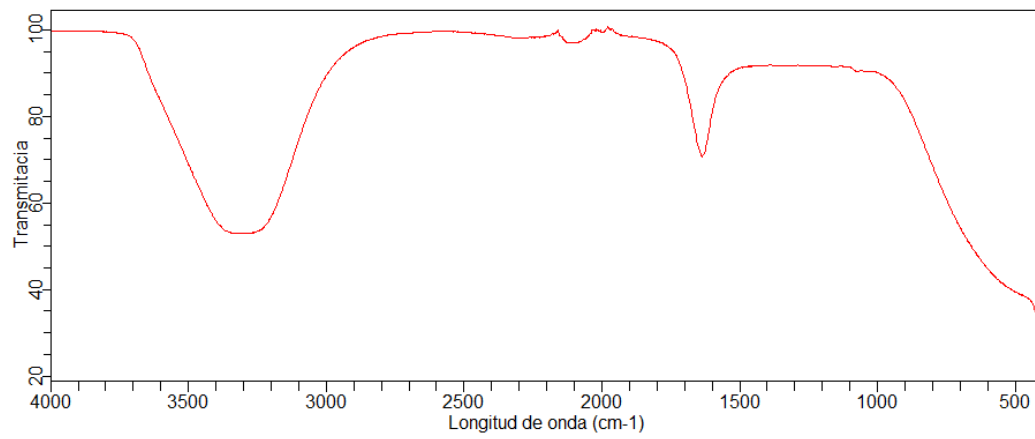
**Anexo 1:** Imágenes de las características macroscópicas y microscópicas de los hongos estudiados.



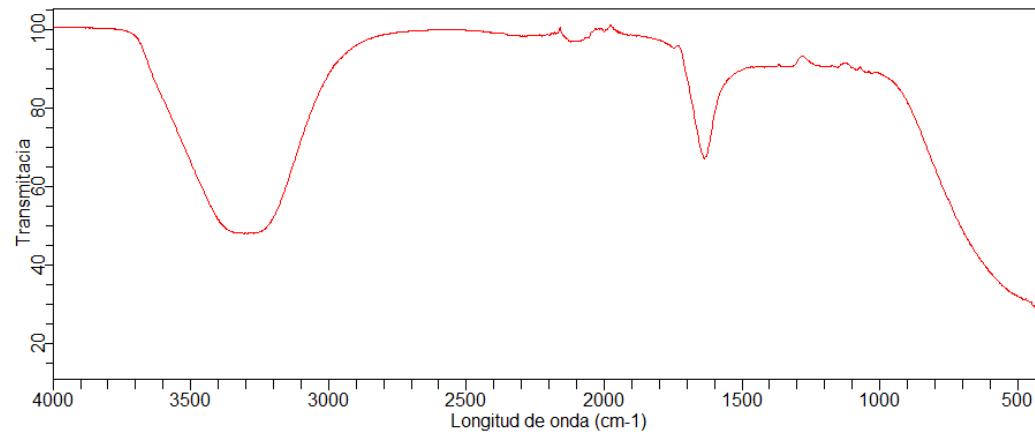
HM-1 en caldo PDA:



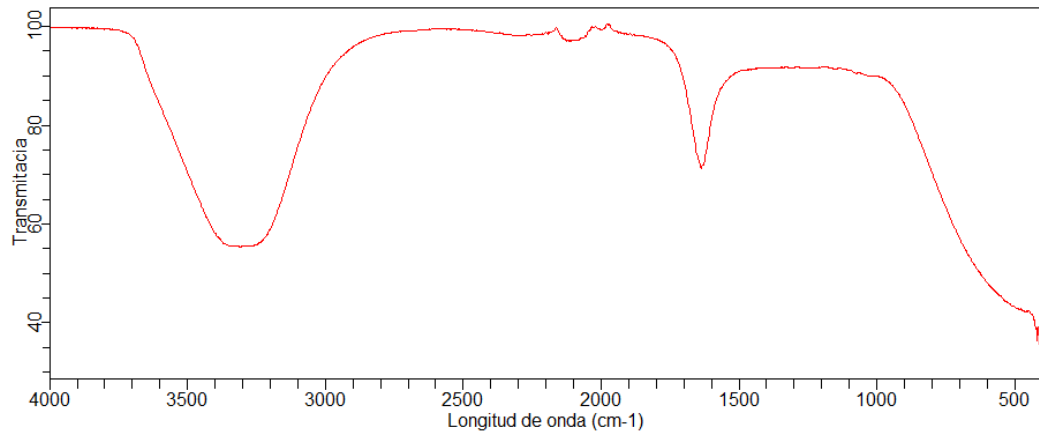
HM-2A en caldo PDA:



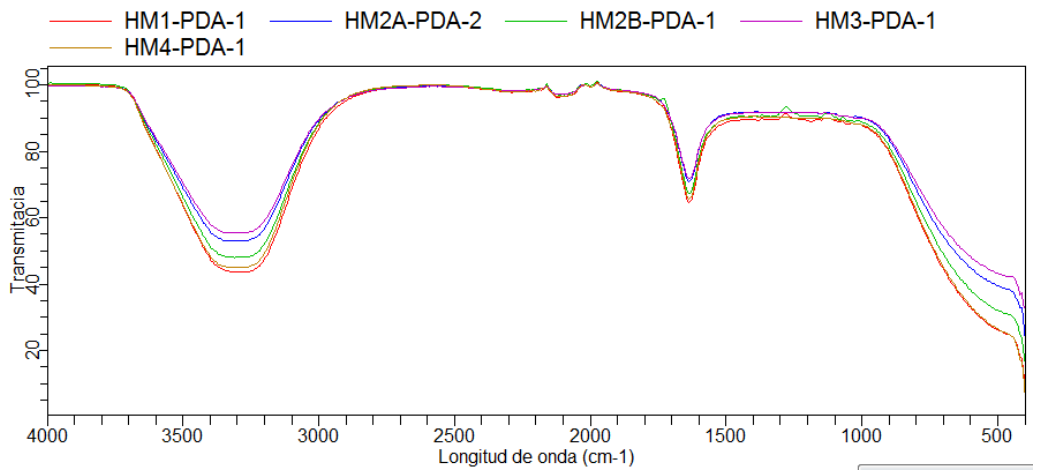
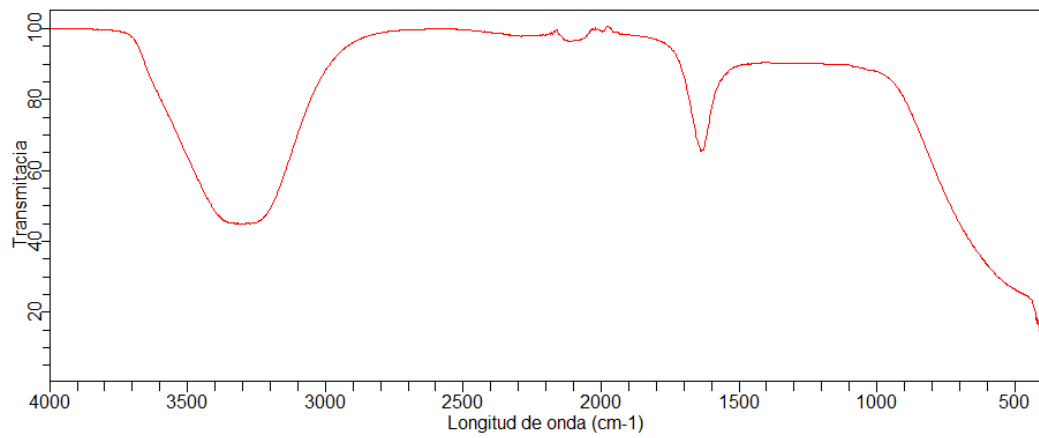
HM-2B en caldo PDA:



HM-3 en caldo PDA:



HM-4 en caldo PDA:



**Anexo 2.** Espectros infrarrojos en Agilent Cary 630 FT-IR de los hongos estudiados.