

**CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y METABÓLICA DE LOS HONGOS
FILAMENTOSOS ASOCIADOS A LA RIZOSFERA DE PLANTAS ARVENSES EN LA
ZONA CAFETERA**

SARA JEIN GIRALDO NARANJO ANDRES FELIPE VILLA RAMOS

**UNIVERSIDAD CATOLICA DE MANIZALES FACULTAD DE CIENCIAS DE
LA SALUD BACTERIOLOGIA MANIZALES – CALDAS**

DEDICATORIA

Primeramente a Dios por permitirnos llegar a este punto de nuestras vidas, por brindarnos la fortaleza necesaria y el valor para afrontar los retos.

A nuestras madres Celeny Naranjo Naranjo, Alba Lucia Ramos Londoño y Zorayda Naranjo Naranjo por su apoyo, su amor y comprensión incondicional.

A Juan Ramón Ramos bedoya y María Londoño

A David Felipe Sánchez Martínez

A nuestros hermanos y amigos por acompañarnos en este proceso.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a nuestro tutor Javier Guillermo Mantilla Afanador por su paciencia y dedicación tras la realización de este proyecto.

A la Dra. Martha Ramírez por sus valiosos aportes. A Tatiana Valenzuela por sus aportes, acompañamiento y apoyo durante la fase experimental.

Al Instituto de Microbiología y Biotecnología Agroindustrial, y a la Universidad Católica de Manizales.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	7
1. INTRODUCCION	9
2. MARCO TEORICO	11
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
4. JUSTIFICACION	21
5. OBJETIVOS	22
5.1. Objetivo	general
_____	22
5.2. Objetivos específicos	22
_____	22
6. METODOLOGIA	23
6.1. Lugar	de estudio
_____	23
6.1.1. Suelo conservado: Vereda El Águila	23
6.1.2. Suelo de uso agrícola: Vereda Alquería	24
6.2. Caracterización fisicoquímica de los suelos	24
6.3. Colecta y procesamiento del material vegetal	26
6.4. Caracterización macroscópica de los hongos filamentosos	27
6.5. Caracterización microscópica por microcultivos	28
6.6. Caracterización bioquímica de los hongos filamentosos asociados a la rizosfera de <i>X. daguense</i> , <i>O. burmannii</i> , <i>P. oleracea</i> y <i>A. absinthium</i>	29

6.6.1. Evaluación de la asimilación de fuentes nitrogenadas de los hongos filamentosos aislados de la rizosfera de las plantas arvenses.	30
6.6.2. Evaluación de la producción enzimática de los hongos filamentosos.	30
6.6.2.1. Determinación de proteasas.	30
6.6.2.2. Determinación de lipasas.	30
6.6.2.3. Determinación de endoglucanasas.	31
6.6.2.4. Determinación de quitinasas.	31
7. RESULTADOS	33
Caracterización morfológica macroscópica y microscópica de los hongos filamentosos.	33
7.2. Evaluación de la actividad metabólica	49
Análisis de las características bioquímicas de los asilamientos de hongos filamentosos.	48
8. DISCUSION	51
9. CONCLUSIONES	56
10. BIBLIOGRAFIA	59

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. _____ 48
LISTA DE TABLAS

Tabla 1.Caracterización fisicoquímica del suelo conservado. _____ 25

Tabla 2.Caracterización fisicoquímica del suelo de uso agrícola. _____ 26

Tabla 3.Lectura e interpretación de producción enzimática _____ 32

Tabla 4.Descripción macroscópica y microscópica de los aislamientos de hongos filamentosos de la rizosfera de las especies *Xanthosoma daguense* y *Oplismenus burmannii* de la vereda El Águila _____ 34

Tabla 5.Descripción macroscópica y microscópica de los aislamientos de hongos filamentosos de la rizosfera de las especies *Artemisia absinthium* y *Portulaca oleracea* de la vereda Alquería _____ 42

Tabla 6.Registro de asimilación de fuentes nitrogenadas y producción de enzimas (Lipasas, proteasas, endoglucanasas, Quitinasas) por los hongos filamentosos asociados a la rizosfera _ 47

Tabla 7.Porcentaje de morfotipos evaluados que manifestaron presencia o ausencia de actividad enzimática y consumo de fuentes nitrogenadas en suelos conservados. _____ 49

Tabla 8.Porcentaje de morfotipos evaluados que manifestaron presencia o ausencia de actividad enzimática y consumo de fuentes nitrogenadas en suelos intervenidos. _____50

Tabla 9.Paralelo de asimilación de fuentes nitrogenadas y producción de enzimas de los hongos filamentosos asociados a la rizosfera en suelos conservados y suelos de uso agrícola ____ 50

RESUMEN

En este trabajo, se contribuyó al conocimiento de la microbiota de la rizosfera de cuatro plantas no leguminosas, en un suelo conservado (*Oplismenus burmannii* y *Xanthosoma daguense*) y en un suelo de uso agrícola (*Artemisia absinthium* y *Portulaca oleracea*), tomando como objeto de estudio los hongos filamentosos, a fin de llevar a cabo una caracterización que pueda utilizarse como información para el estudio del componente microbiano en el suelo.

El desconocimiento de los microorganismos involucrados en los procesos de productividad en los ecosistemas de los suelos cafeteros, impide hacer un buen uso de ellos. Esto es porque las prácticas agrícolas tradicionales utilizadas para el manejo del suelo disminuyen el insumo de la materia orgánica afectando las funciones biológicas de los microorganismos.

En el presente estudio el aislamiento fúngico, se realizó en placas de agar específicos para su crecimiento como Agar Czapek, Agar Rosa Bengala, Agar Papa Dextrosa y Agar Sabouraud por siembra de superficie, adicionando Cloranfenicol, para inhibir el crecimiento de bacterias y se hizo caracterización macroscópica y microscópica. Para la caracterización bioquímica se evaluaron en medios de urea y peptona como fuentes de nitrógeno y medios específicos para producción enzimática de lipasas, proteinasas, celulasas y quitinasas.

De la población fúngica encontrada, fue posible identificar morfotipos presuntivos de los géneros *Cladosporium spp*, *Penicillium spp*, *Absidia spp*, *Cephalosporium spp* y *Aspergillus spp* en el bosque El Águila en el cual los suelos son conservados; *Alternaria sp*, *Paecilomyces sp* y *Pythium*

sp en la vereda Alquería en la que los suelos son de uso agrícola; y *Fusarium spp*, *Acremonium spp*, *Rhizopus spp*, *Phytophthora spp* y *Sclerotinia spp*, en ambos tipos de suelos.

Los suelos conservados presentaron mayor variedad y cantidad de morfotipos que los suelos de uso agrícola, al igual que la mayoría de resultados positivos en las pruebas bioquímicas realizadas para producción enzimática, aportando información acerca de la variedad fúngica encontrada en las rizósferas de dos zonas contrastantes.

Palabras clave: Hongos filamentosos, rizosfera, microbiota edáfica, eje cafetero.

1. INTRODUCCION

Los suelos del eje cafetero Colombiano, son de gran importancia en cuanto a biodiversidad y economía, ya que en su mayoría son derivados de cenizas volcánicas (Lizcano et al., 2006) así se referencia dotándolos de un alto potencial forestal (Broquen et al., 1995), contenido de materia orgánica y características físicas para la producción del café (Federación nacional de cafeteros de Colombia. 2010); la variedad del relieve proporciona climas y altitudes aptos para el buen desarrollo de muchos otros cultivos de interés agrícola.

El suelo consta con parámetros de evaluación físicos, químicos y biológicos, en este último se encuentra el componente microbiano, representado por una amplia variedad involucrada en procesos biogeoquímicos vitales en el funcionamiento del ecosistema, que en la mayoría de los casos son ignorados al hacer un uso inadecuado del suelo llevándolos a su deterioro (López, 2002). Debido a esto se hace necesario conocer el ambiente de biodegradación de los suelos de la zona cafetera desde el componente de la comunidad microbiana.

La comunidad edáfica, en su mayor parte conformada por microorganismos, provee al suelo equilibrio y mayor nivel de productividad, que es aportado por una serie de procesos realizados por el componente microbiano, dotado de una amplia capacidad metabólica, en conjunto con las raíces de las plantas y la micro fauna. La porosidad, aireación, movimiento de la tierra, solubilización de sustratos y degradación de materia orgánica son algunas de las funciones de la comunidad edáfica que le confieren estabilidad a los suelos (De la Peña 2009). El desconocimiento de dicho componente, y sus respectivas interacciones, ha llevado a hacer una sobreexplotación de

terrenos alterando el balance inicial; ya que la transformación y cambio en el uso de los suelos a causa de la intervención antrópica, son las principales causas de pérdida de fertilidad y microorganismos (Rodríguez et al., 2009).

Uno de los componentes bióticos del suelo a escala de los microorganismos son los hongos filamentosos debido a que forman parte de la comunidad microbiana, estos son el objeto de estudio. Conocer la composición de la comunidad de microorganismos rizosféricos y su respectiva función en el ecosistema, permite identificar el uso correcto de un suelo (Abril, 2003)

Los hongos filamentosos cuentan con una gran adaptabilidad fisiológica al medio donde se desarrollan, soportando mejor condiciones adversas de pH, azúcares y temperaturas que otros microorganismos (Cepero et al., 2012), aumentando la posibilidad de ser encontrados en terrenos agrícolas manejados con químicos como pesticidas, herbicidas, sales y fertilizantes capaces de modificar dichas características físicas en los suelos donde son aplicados (López, 2002).

El poder hacer un acercamiento al potencial bioquímico que poseen estos microorganismos tras ser aislados de habitats contrastantes, aportara información importante acerca del comportamiento y el rol que desempeñan en cada uno de los ecosistemas demostrando o no la existencia de un desbalance en los suelos. Según Chávez (2013) los agroquímicos afecta notablemente las comunidades de hongos, actinomicetos y solubilizadores de fosforo. Esta investigación guiada por el grupo de investigaciones biológicas GIBI y el semillero de conservación de hongos y bacterias (COHOBAC) de la Universidad Católica de Manizales, pretende evaluar la capacidad metabólica del componente fúngico en suelos contrastantes.

2. MARCO TEORICO

La abundancia del componente microbiano del suelo es importante para los ecosistemas, pero el manejo agronómico realizado en los cultivos ha venido afectando dicho componente en cuanto a variedad y densidad poblacional; donde las posibles consecuencias se manifiesten en la progresiva pérdida de fertilidad y empobrecimiento de los suelos (Olalde et al., 1998). Los manejos inapropiados llevan a la constante interrupción de los ciclos biogeoquímicos realizados por la biota edáfica, generando las consecuencias anteriormente mencionadas. Es por esto que los microorganismos del suelo pueden ser indicadores potenciales para evaluar el impacto y la restauración de los ecosistemas, ya que los parámetros microbianos reflejan mejor las alteraciones en los suelos que las especies taxonómicas mayores (Abril, 2013).

Debido a que los microorganismos juegan un papel fundamental en el equilibrio de los suelos, en las investigaciones realizadas se puede demostrar la manera en que contribuyen a dicho proceso.

La degradación de la **celulosa** por los microorganismos se ve afectada por factores ambientales como el nivel de nitrógeno, temperatura, humedad, pH y proporción de lignina, En los suelos bien aireados, la celulosa es mejor degradada y aprovechada por hongos y bacterias; en suelos ácidos, los hongos tienen más éxito y predominancia en donde la humedad se encuentra abajo del 60%. Los hongos causantes de podredumbre parda, degradan la celulosa y la hemicelulosa dejando lignina como residuo. La madera compuesta principalmente por **lignina** solo puede ser degradada por microorganismos en presencia de oxígeno y glucosa, los hongos causantes de la podredumbre

blanca son potentes degradadores de lignina, entre estos están *Pleurotus*, *Ganoderma*, *Xylaria* y *Stereum* (Carrillo, 2003; Faber et al., 2013).

La **pectina** presente en las paredes de las células vegetales es descompuesta por hongos que intervienen en procesos aerobios excretando pectinasas al medio capaces de liberar las fibras de celulosa del tejido vegetal, entre ellos están *Botrytis*, *Erwinia* y *Fusarium* (Carrillo, 2003). La **quitina** es la segunda sustancia más abundante en el planeta después de la celulosa, hace parte del exoesqueleto de los artrópodos y de la pared celular de los hongos filamentosos, los hongos del género *Mucor* y algunos *Aspergillus* poseen la capacidad de producir quitinasas confiriéndoles características entomopatógenas. Numerosos microorganismos edáficos, como los géneros *Aspergillus spp* y *Penicillium* pueden sintetizar sustancias **lipídicas** que contribuyen a la estabilidad estructural del suelo tras la impermeabilización de micro agregados (Tinoco, 2000). Géneros como *Penicillium* y el orden de los *Mucorales* pueden producir lipasas. Las enzimas liberadas al medio externo por parte de los hongos determinan los nutrientes que estos pueden utilizar y por tanto, su hábitat de crecimiento. Una variedad de actividades enzimáticas puede ser determinada, evaluando la habilidad del hongo para crecer en cultivos con sustratos específicos (Carrillo, 2003).

Con lo anterior resaltamos el importante papel de la biodiversidad microbiana del suelo en cuanto a la fertilidad, la rehabilitación, y la absorción de nutrientes en las plantas, procesos de biodegradación, control natural de plagas y enfermedades, en la rizósfera influyen el entorno de la raíz de varias maneras; pueden cambiar el potencial óxido reducción, influir en la capacidad de utilizar la humedad y nutrientes, producir inhibidores de crecimiento de patógenos o sustancias

promotoras de crecimiento en forma de exudados (Mukerji et al., 2005.).La solubilización de minerales, el control de patógenos y la liberación de sustancias son solo una pequeña parte de las funciones que desempeñan gracias a su amplia diversidad metabólica, que confiere la fertilidad del suelo y su constante mantenimiento.

Aunque Colombia está catalogado como uno de los países más biodiversos en el mundo, dicha biodiversidad aún no se conoce por completo ni es conservada sosteniblemente, ya que el aumento de asentamientos antrópicos transforman o destruyen el hábitat natural de miles de especies, generando una pérdida considerable de la biodiversidad (Forero et al., 2005). Esto también afecta la comunidad edáfica, de la cual la documentación y la información son escasas debido al poco interés sobre la temática. Actualmente, factores de la biota edáfica, son usados como criterios reveladores en el manejo de los suelos, creando una necesidad basada en llevar la producción agrícola hacia nuevas técnicas de manejo sostenible que permitan la recuperación de los mismos (Acuña et al., 2006).

Si bien todos los suelos son diferentes, comprenden en su composición, minerales, materia orgánica, fauna, flora, aire y agua; la variación en la cantidad de estos, es la encargada de proporcionar sus principales características la textura, la fertilidad entre otros (Ibáñez et al., 2004).

Los residuos depositados en la superficie, constituyen la mayor parte de la alimentación de las especies edáficas, de los cuales extraen nutrientes y energía para su desarrollo; esta materia orgánica, junto a los exudados radicales proporcionan al componente microbiano lo necesario para

llevar a cabo las dinámicas biogeoquímicas que ocurren en los suelos (humificación, transformación de nitrógeno, mezcla, desplazamiento y oxigenación de la tierra (Gallardo, 2001).

Las especies edáficas, en conjunto con la raíz de las plantas, se consideran el componente vivo gracias a las relaciones simbióticas y la interacción con otros componentes en el suelo. En los procesos de mineralización, el azufre del suelo en su mayor parte se encuentra formando compuestos orgánicos, pero solo es absorbido por las raíces en forma de sulfato, de igual manera sucede con minerales como nitrógeno, azufre, fósforo, potasio y magnesio; determinadas especies de hongos son capaces de realizar estos procesos bajo ciertas condiciones, casos similares ocurren con el carbono, y otros minerales en que los hongos y demás microorganismos aportan una serie de servicios indispensables en el sostenimiento de los ecosistemas, su constante interacción con el sistema edáfico forma un amplio sistema de actividad biológica, que se tornan en la modificación de la estructura del suelo y por consiguiente en la planta .

Las interacciones dadas en el suelo y el rizoplasma son importantes en la estabilidad de la comunidad microbiana, especialmente la de algunos grupos definidos con potencial bioquímico como los hongos, estos desempeñan un papel importante como indicadores de calidad de los suelos (Trejos et al., 2006). Estos indicadores suelen ser altamente sensibles a las alteraciones de su hábitat, en especial grupos de bacterias oxidadoras de amonio y hongos totales (Rodríguez et al., 2009).

Los hongos son conocidos como los principales descomponedores de la naturaleza, reduciendo y mineralizando la materia orgánica presente en la superficie del suelo gracias a su metabolismo,

capaz de generar enzimas en cantidades mayores que otros microorganismos, degradan estructuras complejas, a la vez que liberan al medio sustancias promotoras y reguladoras de crecimiento, metabolitos, proteínas y algunos nutrientes (Acuña et al., 2006). *Aspergillus* y *Penicillium*, capaces de sintetizar sustancias lipídicas que contribuyen a la estabilidad estructural del suelo, las proteínas de los organismos muertos son descompuestas por un gran número de hongos y bacterias, algunos de ellos pueden oxidar el nitrógeno amoniacal o el amonio hasta nitrato, y pueden reducir sulfatos para sintetizar aminoácidos azufrados y se distinguen entre los más grandes destructores de hemicelulosa (Carrillo, 2003).

Aparte de degradar compuestos orgánicos, se ha encontrado que los hongos ejercen control biológico de patógenos a través de la hidrólisis de la quitina. Entre ellos *Mucorspp* y algunos *Aspergillus spp*, *Trichoderma harzianum*, *Rhizoctonia sp*. Y *Paecilomyces sp* (He, 2007; Naik et al., 2010); se han realizado investigaciones sobre *Beauveria bassiana* y su capacidad de control del picudo negro de la platanera, la mosca blanca y la broca del café, obteniendo buenos resultados en países como Costa Rica, Venezuela, Francia, Colombia, Uganda y Cuba (Tinzaara, 2007).

Los hongos benefician los cultivos aumentando el número de raíces, disminuyendo fitopatógenos y aportando elementos básicos para la producción y el desarrollo (Peña et al., 2006). Es por eso que los hongos son una parte importante de la cadena alimenticia en el suelo, principalmente para la mesofauna que lo habita (Bonkowski, 2000).

Otro de los beneficios presentes en los cultivos son las arvenses nobles, el grupo de plantas que se conocen como **arvenses**son aquellas que no poseen valor comercial y crecen indiscriminadamente en los terrenos cultivados, limitando el crecimiento y producción debido a la

competencia por factores como luz, espacio, nutrientes y agua (Banco et al., 2007). Son clasificadas como agresivas, aquellas altas, de raíces abundantes y profundas de rápido crecimiento, afectando la producción, cantidad y calidad de las cosechas, aceleran el envejecimiento y dificultan el cultivo refugiando plagas y enfermedades (Cenicafe cartilla 9).

Las arvenses nobles son las que demandan menor competencia, cuentan con un porte bajo, crecimiento rastrero, raíz pobre y superficial. Benefician el suelo protegiéndolo de la erosión y reduciendo el impacto de los factores climáticos, aportan nutrientes y materia orgánica, retienen la humedad, proporcionan refugio y alimento a la fauna silvestre (Cenicafe cartilla 9).

La planta arvense *Xanthosoma daguense*, comúnmente conocida como Malanga, Macal, Quiscamote, Bore, Rascadera o Yautía, pertenece a la familia de las Aráceas. Son plantas herbáceas y perennes que cuentan con 3 a 18 segmentos, hojas grandes acorazonadas sagitadas desde 40 hasta 200 cm de largo, inflorescencia típica en espádice; algunas de amplio interés ornamental, de origen americano con amplia distribución en regiones tropicales y subtropicales especialmente en países como Colombia, Venezuela, Ecuador y Perú. Tiene un ciclo de crecimiento de 9 a 11 meses, donde produce un vástago subterráneo llamado cormo, rodeado por cormelos, ambos comestibles y ricos en almidón utilizados como ingrediente en sopas y guisados (Izco et al., 2014). La especie *Oplismenus burmannii* (pelillo, grama de conejo), perteneciente a la familia Poaceae. Originaria de Zimbabwe con distribución tropical en ambos hemisferios; es un pasto bajo de 10 a 30 cm de alto, hojas de 5 cm de largo y 1,5 cm de ancho, tallo vellosa, flores en forma de espiguillas de 2 a 4 cm, es usado como sombra en diversas plantaciones (Rojas et al., 2010).

Entre Otras especies de interés que se encuentran asociadas a los cultivos de interés agrícola, están *Artemisia absinthium* (Artemisa, Ajenjo, Hierba santa) es una planta perteneciente a la familia Asteraceae nativa de zonas templadas de Europa y Asia con amplia distribución mundial (preferencia por suelos ricos en nitrógeno), consta de tallos rectos de 80 a 120 cm altura, hojas dispuestas de forma espiralada de color verde grisáceo al anverso y blanco al reverso cubiertas de vello blanco plateado, flores amarillo pálido. Se le ha denominado “madre de todas las hierbas” por sus amplias propiedades medicinales, sin embargo posee sustancias tóxicas y alucinógenas que en su forma pura puede llegar a ser mortal (García,1974). *Portulaca oleracea* naturalmente conocida como verdolaga pertenece a la familia Portulacácea originaria de la india con distribución en zonas templadas del trópico, caracterizada por poseer tallos lisos y rojizos llegando a medir hasta 40 cm de, hojas de 0,5 a 3 cm de largo se alternan en conjuntos en el tallo hasta el extremo, sus flores son hermafroditas, solitarias o en inflorescencias cimosas o racemiformes, amarillas ubicadas en medio del manojito de hojas que abren por pocas horas durante las mañanas soleadas. Tolera suelos pobres, secos y compactos. En muchas regiones se consume como ensalada, también se le atribuyen propiedades medicinales debido a su alto contenido de omega 3, vitaminas y minerales, además de pigmentos potentemente antioxidantes (Izco et al., 2014).

La **rizósfera** ha sido definida por Hiltner (1904), como el volumen de suelo influenciado por la presencia de raíces de una planta viva, cuya extensión puede variar de acuerdo al tipo de suelo, la especie de planta y edad (Foster, 1998). Es un hábitat complejo que comprende la interacción suelo-raíz esencial para el bienestar y la supervivencia de la planta en ambientes hostiles; el 20% de la fotosíntesis de las plantas es invertido en la fijación de carbono y la nutrición de la microbiota rizosférica, siendo más activos los extremos radicales (Odell et al.,2008). Las raíces en crecimiento activo liberan compuestos orgánicos en el suelo, tales como células desprendidas, secreciones,

exudados que pueden llegar a contener entre 10 y 44% del carbono asimilado, lisados y otra serie de compuestos nutritivos, proporcionando la posibilidad de inducir muchos otros efectos (Buée et al., 2009) que proporcionan un ambiente propicio para el crecimiento de la comunidad rizosférica, densidad poblacional y estructura, diferentes al resto del suelo (Zhang et al., 2014).

Los Hongos son organismos aerobios saprofitos, ampliamente distribuidos en el suelo, se les atribuye gran potencial de descomposición de la materia orgánica. Los macromicetos, constan de múltiples formas, colores y tamaños, los cuales exigen ambientes húmedos para su desarrollo, su principal función es degradar la madera, generando podredumbre parda por degradación de hemicelulosa y celulosa, y podredumbre blanca por degradación de la lignina entre ellos se encuentran *Stereum*, *Phanerochaete*, *Pleurotus*, *Ganoderma*, *Polyporus*, *Xylaria* (Carrillo, 2003). Los hongos, aunque no son los organismos más importantes del suelo, aportan una parte significativa de la biomasa, debido a su gran tamaño. Además son los principales agentes de descomposición de moléculas complejas en ambientes ácidos. Son heterótrofos y además de lignina, usan pectina, polisacáridos, disacáridos y ácidos orgánicos como fuentes carbonadas para su desarrollo, usan el nitrógeno del amonio, proteínas y ácidos nucleicos (Benintende et al., 2004).

Las micorrizas son hongos de asociación simbiótica con las raíces de las plantas superiores, que aportan un aumento significativo en la disponibilidad de nutrientes escasos en el suelo como P, Fe, Cu, Ca, ZN, Mg y Mn. Estas son estimuladas por los exudados de la raíz.

Los micromicetos **u hongos filamentosos**, poseen la capacidad de desarrollarse en ambientes en los que los actinomicetos y bacterias no sobreviven, son capaces de degradar sustratos

complejos llevándolos a compuestos aprovechables por las raíces de las plantas, al tiempo que estas secretan sustancias de utilidad principalmente para las bacterias y demás microorganismos formando una relación simbiótica. Los hongos ocupan del 10 al 20% de la biomasa total de la microbiota edáfica (Calvo et al., 2008).

La población fúngica tiende a variar en terrenos con diferentes grados de humedad, donde a mayor porcentaje, se evidencia un aumento considerable en la cantidad total, directamente proporcional a la cantidad de hifas, e inversamente a la cantidad de esporas producidas.

En el presente trabajo, con el propósito de evidenciar las diferencias microbiológicas, se escogieron dos tipos de suelo, uno conservado de selva sub-andina, y otro intervenido con variedad de cultivos de interés agrícola para realizar el aislamiento y caracterización de la comunidad de hongos filamentosos.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Colombia es un país agrícola, pero los suelos son explotados de manera inapropiada, ya que el manejo agronómico de los cultivos se realiza con plaguicidas, herbicidas y fertilizantes que alteran la composición del componente microbiano. El no llevar un manejo sostenible del recurso suelo, induce la proliferación de microorganismos patógenos, y erosión. Actualmente no se conoce la diversidad metabólica de los microorganismos que contribuye al sostenimiento de las funciones del agroecosistema. Estudiar la microbiota edáfica fúngica a nivel de metabolismo permite tener

una aproximación a su función en los suelos y su rol en los agroecosistemas, haciendo uso sostenible del mismo.

4. JUSTIFICACION

Los hongos filamentosos son un grupo de microorganismos presentes en los suelos, en mayor cantidad en la rizósfera, y cumplen una amplia variedad de actividades metabólicas a partir del uso de sustratos provenientes de la materia orgánica. Por lo tanto, este proyecto busca caracterizar el grupo de hongos filamentosos de la microbiota total aislada de la rizósfera de *Xanthosoma daguense* y *Oplismenus burmannii* en suelos conservados y *Artemisia absinthium*, *Y Portulaca oleracea* en suelos de uso agrícola.

El poder conocer el potencial metabólico fúngico permite desarrollar estrategias de conservación y uso de los suelos, considerando el componente microbiano.

Caracterizar las especies de cada hábitat y la función que desempeñan en los mismos, permite abrir campo al aprovechamiento de los recursos biológicos existentes en la rizosfera a partir de la información obtenida de la diversidad funcional, el conocimiento de la actividad metabólica, puede ser usado para determinar potenciales indicadores biológicos del suelo.

La caracterización de la rizósfera de estas cuatro plantas ayudara a conocer la variedad de hongos filamentosos presentes en cada una de ellas, permitiendo abrir un paralelo entre ambos suelos que evidencie de manera contrastante, los efectos producidos por la mineralización en comparación con suelos no intervenidos, y los posibles efectos en la biodiversidad metabólica de la microbiota fúngica edáfica.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Caracterizar la morfología y el perfil bioquímico de los hongos filamentosos presentes en la rizósfera en cuatro especies de plantas arvenses *Xanthosoma daguense* y *Oplismenus burmannii* en suelos de uso agrícola y *Artemisia absinthium*, Y *Portulaca oleracea* suelos conservados.

5.2. Objetivos específicos

Caracterizar el componente microbiano de hongos filamentosos en las especies de plantas arvenses, *Xanthosoma daguense* y *Oplismenus burmannii* en suelos conservados y *Artemisia absinthium* Y *Portulaca oleracea* suelos de uso agrícola.

Evaluar la actividad metabólica de los hongos filamentosos de la rizosfera de las especies arvenses *Xanthosoma daguense*, *Oplismenus burmannii*, *Artemisia absinthium*, Y *Portulaca oleracea*.

Comparar la actividad metabólica de los hongos rizosféricos entre el suelo conservado y el suelo de uso agrícola.

6. METODOLOGÍA

6.1. Lugar de estudio

6.1.1. Suelo conservado: Vereda El Águila

El muestreo se realizó en la zona del km 6 en la vía Manizales-Neira, al Noroccidente del casco urbano de Manizales, en la vereda El Águila, departamento de Caldas, Colombia. Este bosque está localizado sobre la vertiente occidental de la cordillera Central Colombiana entre los $05^{\circ} 06' 480''N$ y $75^{\circ} 30' 566''W$, a una altitud entre 1800-2200 m y un área aproximada de 24 ha. Allí hay una quebrada llamada “La Caracola”, con una extensión de 2,5 Km.

El terreno es quebrado, forma un encañonamiento con pendientes de más de 70 grados de inclinación. El bosque El Águila corresponde a la zona de vida del Bosque húmedo Montano Bajo (Holdridge et al., 1971) y a la formación vegetal de la Selva Subandina (Cuatrecasas, 1958). Cuenta con dos periodos de lluvia (marzo-mayo y octubre-diciembre), con un promedio anual de 2.600 mm y una temperatura promedio entre 16 y 20°C. En el bosque El Águila hay un proceso de regeneración natural de la vegetación, que solo es interrumpido para reparar los caminos que llegan a la bocatoma, la cual abastece el acueducto vereda. Hay presencia de arbustos y árboles de hasta 25 m, algunas de las especies que componen este bosque son *Oreopanax pallidus*, *Saurauia brachybotrys*, *Acalypha diversifolia*, *Aphelandra lingua-bovis*, *Cecropia telenitida*. En este bosque han sido registradas especies de plantas amenazadas de extinción tales como *Anthurium rimbachii* (VU), *Comparentia falcata*, *Epidendrum smaragdinum*, *Erythroides major*, *Malaxis fastigiata*, *Ponthieva racemosa* y *Warczewiczella marginata* (Sierra et al., 2014) y hay registros de mariposas, ranas y mamíferos amenazados de extinción de acuerdo con la lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN). En este suelo se tomaron dos especies, *Xanthosoma daguense* y *Oplismenus burmannii* (Sierra, 2014).

6.1.2. Suelo de uso agrícola: Vereda Alquería

El municipio de Villamaria es el distrito agrícola del departamento de Caldas, Colombia, La colecta de las especies *Artemisia absinthium* y *Portulaca oleracea* se llevó a cabo en la vereda Alquería a 1823- 1836 m.s.n.m, (N 05° 01' 50.128" W 75° 31' 47.349"). Su topografía es pendiente y el área es dedicada al cultivo comercial de hortalizas lechuga, repollo, espinaca y cilantro y el manejo agronómico se basa en el uso de agroquímicos (Boorquez, 2015).

6.2. Caracterización fisicoquímica de los suelos

Se realizaron 3 muestreos en ambos suelos, conservado y de uso agrícola y se evaluaron variables fisicoquímicas. Tabla1 y Tabla 2.

Tabla 1. Caracterización fisicoquímica del suelo conservado

Suelo conservado vereda El Águila										
	unidades	muestra	cal	muestra	cal	muestra	cal	Niveles de Referencia		
		1		2		3				
pH		5,7	—	5,4		6,2		Bajo	Medio	Alto
nitrogeno	%	0,61		0,61		0,48				
clima medio	%	17,04	A	17,12	A	12,33	A	< 3,0	3,0 – 5,0	> 5,0
fosforo	mg/kg	10	B	11	B	6	B	< 20,0	20,0-40,0	> 40,0
potasio	cmol(+)/kg	0,32	M	0,16	B	0,27	M	<0,2	0,2- 0,4	>0,4

Calcio	cmol(+)/kg	9,47	A	10,29	A	11,8	A	<3	3,0 -6,0	>6,0
Magnesio	cmol(+)/kg	2,21	M	2,73	A	4,72	A	< 1,5	1,5 -2,5	>2,5
sodio	cmol(+)/kg	0,261	B	0,238	B	0,233	B	<0,5	0,5-1,0	> 1,0
Hierro	mg/kg	303	A	166	A	75	A	< 25	25,0- 50,0	>50,0
manganeso	mg/kg	62,1	A	59,04	A	35,01	A	<5,0	5,0 -10,0	>10,0
Zinc	mg/kg	30,67	A	10,04	A	6,69	A	<1,5	1,5 -3,0	> 3,0
Cobre	mg/kg	1,76	M	1,46	B	1,66	M	< 1,5	1,5 – 3,0	>3,0
Azufre	mg/kg	5,8	B	13,07	M	10,96	M	< 10,0	10,0 – 20,0	> 20,0
Boro	mg/kg	0,6	A	0,7	A	0,9	A	<0,2	0,2 -0,4	>0,4
Arena	%	66		71		71				
Limo	%	19		20		20		Calificación: B=bajo; M=Medio;		
Arcilla	%	15		9		9		A=Alto; ND= No Determinado		
Textura		F-A		F-A		F-A				

Fuente: Universidad de Caldas, laboratorio de química y fertilidad de suelos

Tabla 2. Caracterización físicoquímica del suelo de uso agrícola

Suelo intervenido Vereda Alquileria

	unidades	muestra 1	cal	muestra 2	cal	muestra 3	cal	Niveles de Referencia		
pH		5,3	—	5,6		5,9		Bajo	Medio	Alto
Nitrógeno	%	0,43		0,36		0,35				
clima medio	%	10,84	A	8,59	A	8,45	A	< 3,0	3,0 – 5,0	> 5,0
fosforo	mg/kg	154	M	24	M	204	A	< 20,0	20,0-40,0	> 40,0
Potasio	cmol(+)/kg	0,28	M	0,33	M	0,2	M	<0,2	0,2- 0,4	>0,4
Calcio	cmol(+)/kg	3,48	B	3,39	M	4,71	M	<3	3,0 -6,0	>6,0
Magnesio	cmol(+)/kg	0,64	B	0,67	B	1,15	B	< 1,5	1,5 -2,5	>2,5
sodio	cmol(+)/kg	0,176	A	0,182	B	0,183	B	<0,5	0,5-1,0	> 1,0
Hierro	mg/kg	150	A	183	A	143	A	< 25	25,0- 50,0	>50,0
manganeso	mg/kg	11,56	A	9,03	M	14,89	A	<5,0	5,0 -10,0	>10,0
Zinc	mg/kg	9,96	A	7,27	A	18,56	A	<1,5	1,5 -3,0	> 3,0
Cobre	mg/kg	5,09	A	6,09	A	7,16	A	< 1,5	1,5 – 3,0	>3,0
Azufre	mg/kg	28,36	A	23,62	A	32,82	A	< 10,0	10,0 – 20,0	> 20,0
Boro	mg/kg	1,3	A	1,4	A	1,4	A	<0,2	0,2 -0,4	>0,4
Arena	%	75		80		80				
Limo	%	15		20		20		Calificación: B=bajo; M=Medio;		
Arcilla	%	10		0		0		A=Alto; ND= No Determinado		

Textura

F-A

A-F

A-F

Fuente: Universidad de Caldas, laboratorio de química y fertilidad de suelos

6.3. Colecta y procesamiento del material vegetal

Se tomaron tres individuos por especie. Se usó una pala previamente descontaminada con hipoclorito de sodio al 5.2%. Se removió la planta del suelo cavando de acuerdo a la profundidad de la raíz y el espacio ocupado por la planta. Posteriormente, se transportaron los individuos de las especies por separado al interior de bolsas plásticas en neveras de icopor al laboratorio. El procesamiento se realizó inmediatamente las muestras llegaron al laboratorio. Se confirmó la identificación taxonómica en el herbario de la Universidad de Caldas de las especies de plantas *Xanthosoma daguense*, *Oplismenus burmannii* (suelo conservado,) *Artemisia absinthium* y *Portulaca oleracea* (suelo de uso agrícola).

Se tomaron los individuos y se separaron las raíces del resto de las plantas retirando el exceso de tierra y se mezclaron las rizósferas de los 3 individuos de la respectiva especie. Se pesaron 10 g de la rizosfera de cada una y se depositaron en un Erlenmeyer con 90 ml de agua destilada

estéril. Se mezcló en vortex por 15 minutos; Se hicieron diluciones seriadas 10^{-1} hasta 10^{-7} . Se realizaron inoculaciones de 0.1 ml en los medios de Agar Rosa Bengala, (dextrosa 10g, digerido enzimático 5g, cloranfenicol 1.0g, rosa bengala 0.05g, agar agar 15.5g, 1L de agua destilada) y agar Czapek (sucrosa 30g, nitrato de sodio 2.0g, glicerolfosfato de magnesio 0.5g, sulfato de potasio 0.35g, cloruro de potasio 0.5g, sulfato ferroso 0.01g, agar agar 15g, 1L de agua destilada) por duplicado realizando una siembra masiva con un rastrillo bacteriológico. Se incubaron a Temperatura ambiente ($17 - 22^{\circ}\text{C}$) durante 7-14 días.

6.4. Caracterización macroscópica de los hongos filamentosos

De los medios Rosa Bengala y Czapek, se aisló por separado cada una de las colonias diferentes en medio sólido PDA (Papa Dextrosa Agar) (extracto de papa 4.0 g, dextrosa 20 g, agar agar 15 g y 1L de agua destilada) por repique en picadura a temperatura ambiente. Con ayuda del estereoscopio se verificaron y anotaron las características morfológicas de cada colonia. Se utilizó una caja abierta de PDA como control negativo durante el procedimiento.

Cada espécimen se identificó inicialmente como “Morfotipo”, seguido del número de orden de aislamiento a partir de 01 seguidas del nombre de la planta. Ejemplo: Morfotipo10 *O.*

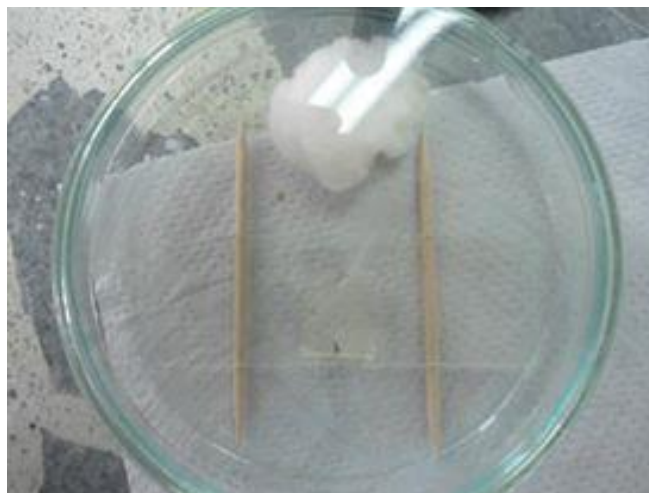
burmannii. Se incubaron a temperatura ambiente durante 7-14 días.

De los resultados obtenidos, se registraron características como color, textura, bordes, elevación en anverso y reverso.

6.5. Caracterización microscópica por microcultivos.

Por cada Morfotipo aislado se hizo un microcultivo para registrar las características microscópicas. En una caja Petri estéril se ubicaron 2 palillos de madera estériles paralelos como soporte para un portaobjetos estéril. Luego se cortó con un bisturí una porción de agar SBD (Sabouraud) de 1x1cm y se colocó sobre el portaobjetos. Luego con un estilete estéril se tomó una pequeña porción del hongo y se inocularon cuatro puntos en el agar de 1x1cm. Se colocó una laminilla estéril sobre el agar inoculado y una mota de algodón húmeda con agua estéril en un extremo de la caja. El microcultivo se incubó por 3 días a temperatura ambiente. El montaje se realizó en la cabina de flujo laminar.

Las laminillas de cada uno de los microcultivos fueron colocadas individualmente en un portaobjetos con una gota de azul de lactofenol y se llevaron al microscopio (Olympus CHS) Se registraron datos como ausencia o presencia de septos, pigmentos, fíbulas, somatogamia, ausencia o presencia de fialides, clamidosporas, ascas basidios, esporangios, rizoides, conidióforos y conidias de acuerdo a Barnett y Hunter (1972).



Montaje de la técnica para el microcultivo Fuente:
autores.

6.6. Caracterización bioquímica de los hongos filamentosos asociados a la rizosfera de *X. daguense*, *O. burmannii*, *P. oleracea* y *A. absinthium*

Para realizar el montaje, los hongos anteriormente aislados en PDA se sembraron en SBD (Sabouraud Dextrosa Agar) por un periodo de incubación de 7 días a temperatura ambiente con el fin de obtener una mejor esporulación, posteriormente, se extrajeron 3 discos del agar SBD de 5 mm de diámetro de cada especie para inocular por triplicado en los medios específicos. Todo el proceso se llevó a cabo en la cabina de extracción usando una caja abierta de PDA como control de siembra.

6.6.1. Evaluación de la asimilación de fuentes nitrogenadas de los hongos filamentosos.

En el agar Urea (fosfato diácido de amonio 1.0 g, cloruro de potasio 0.2 g, sulfato de magnesio heptahidratado 0.2 g, purpura de bromocresol 0.05 g, glucosa 10 g, agar agar 12 g, agua destilada

1L, solución acuosa de urea al 50%) la reacción positiva se presentó con viraje del medio de color púrpura a amarillo/naranja, y para el **Agar peptona** (fosfato diácido de amonio 1.0 g, cloruro de potasio 0.2 g, sulfato de magnesio heptahidratado 0.2 g, púrpura de bromocresol 0.05 g, glucosa 10 g, agar agar 12 g, agua destilada 1L, solución acuosa de peptona al 50%.) el viraje de color del medio de beige a púrpura/amarillo La inoculación se realizó con 3 discos centrales equidistantes en cada medio con el Morfotipo a evaluar.

6.6.2. Evaluación de la producción enzimática de los hongos filamentosos.

6.6.2.1. Determinación de proteasas: Se evaluó la hidrólisis de caseína en Agar calcio caseinato (peptona de carne 4.0 g, extracto de carne 2.0 g, peptona de caseína 2.0 g, caseinato de calcio 3.5 g, cloruro de calcio dihidratado 0.2 g, citrato tripotásico monohidratado 0.35 g, hidrogenosulfato de sodio 0.105 g, dihidrogenofosfato potásico 0.035 g, cloruro de sodio 5.0g, agar agar 13.0 g, leche desnatada en polvo, 1000 ml de agua destilada). La inoculación se realizó con 3 discos centrales equidistantes del Morfotipo a evaluar.

6.6.2.2. Determinación de lipasas: Se usó el medio tributirina (peptona de carne 2.5 g, peptona de caseína 2.5 g, extracto de levadura 3.0 g, agar agar 12.0 g, 1L de agua destilada) cuya asimilación fue juzgada por presencia o ausencia de crecimiento de la colonia. La inoculación se realizó con 3 discos centrales equidistantes del Morfotipo a evaluar.

6.6.2.3. Determinación de endoglucanasas: para evaluar la degradación de la celulosa en Agar CMC (Carboximetilcelulosa) (CMC 10 g, fosfato de potasio monobásico 1 g, sulfato de magnesio

0.5 g, sulfato ferroso heptahidrato 0.01 g, sulfato de manganeso monohidratado 0.01 g, nitrato de amonio 0.3 g, agar agar 12 g, 1L de agua destilada), La inoculación se realizó con 3 discos centrales equidistantes del Morfotipo a evaluar. Pasados 22 días de incubación se añadió rojo Congo durante 5 minutos como revelador de la reacción y se aclaró posteriormente con solución salina a una concentración de 1 M por 15 minutos.

6.6.2.4. Determinación de quitinasas: se empleó agar Quitosano, conformado por una base de Luria Bertani modificado, añadiendo Quitosano coloidal; (triptona 10 g, extracto de levadura 5 g, cloruro de sodio 5 g, agar agar 10 g, Quitosano coloidal 10 g, púrpura de bromocresol 0.15 g, 1L de agua destilada). La inoculación se realizó con 3 discos centrales equidistantes del Morfotipo a evaluar.

Los medios inoculados se revisaron a los 7 días de crecimiento a temperatura ambiente y se anotaron las características de cada uno en una tabla de seguimiento y su respectivo registro fotográfico, el proceso se repitió a los 14 días.

Tabla 3. Lectura e interpretación de producción enzimática

PRUEBA	LECTURA	INTERPRETACION
Determinación de fuente de nitrógeno	POSITIVO: viraje de color a amarillo, rojo o violeta alrededor de la colonia NEGATIVO: no hay viraje de color	POSITIVO: utiliza la correspondiente fuente de nitrógeno NEGATIVO: no utiliza la fuente de nitrógeno

Producción de lipasas	POSITIVO: crecimiento de la colonia NEGATIVO: no se evidencia crecimiento	POSITIVO: producción de lipasas NEGATIVO: no hay producción de lipasas
Producción de proteasas	POSITIVO: se observa halo de aclaramiento alrededor de la colonia NEGATIVO: no hay halo de aclaramiento	POSITIVO: produce proteasas NEGATIVO: no hay producción de proteasas
Producción de celulasas (revelación con Rojo de Congo)	POSITIVO: se observa halo de aclaramiento alrededor de la colonia NEGATIVO: no hay halo de aclaramiento	POSITIVO: producción de endoglucanasas NEGATIVO: no hay producción de endoglucanasas
Producción de quitinasas	POSITIVO: viraje de color a violeta alrededor de la colonia NEGATIVO: no hay viraje de color	POSITIVO: producción de quitinasas NEGATIVO: no hay producción de quitinasas

Fuente: (Patterson et al., 1994).

7. RESULTADOS

7.1 Caracterización morfológica macroscópica y microscópica de los hongos filamentosos aislados de la rizosfera de plantas arvenses.

De los suelos conservados del bosque El Águila, se obtuvieron 40 aislamientos de los cuales 18 pertenecen a la rizosfera de *X. daguense* y 22 son de la rizosfera de *O. burmannii*. De los 18 aislamientos de *X. daguense* fue posible identificar 11 morfotipos: 2 del género *Acremonium spp*, 2 del género *Penicillium spp*, 2 del genero *Cladosporium spp*, 2 del genero *Absidia spp*, uno del


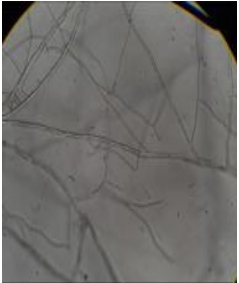

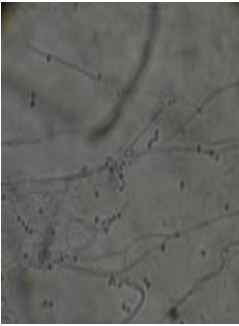


genero *Rhizopus sp*, uno del género *Phytophthora sp* y uno del género *Sclerotinia sp*. De los 22 aislamientos de *O. burmannii* fue posible identificar 17 morfotipos: 4 del genero *Cladosporium spp*, 3 del género *Penicillium spp*, 3 del genero *Fusarium spp*, 2 del género *Acremonium spp*, 2 del genero *Cephalosporium spp*, uno del genero *Phytophthora sp* y uno del genero *Aspergillus sp*.





De los suelos de uso agrícola en la vereda Alquería, se obtuvieron 22 aislamientos, 12 pertenecientes a *A. absinthium* y 10 pertenecientes a *P. oleracea*. De los 12 aislamientos de *A. absinthium* fue posible identificar 6 morfotipos: 3 del genero *Acremonium spp*, y uno de los géneros *Pythium sp*, *Sclerotinia sp*, y *Alternaria sp*. De los 10 aislamientos de *P. oleracea*, fue posible identificar 4 morfotipos pertenecientes a los géneros *Rizophus sp*, *Phytophthora sp*, *Paecilomyce ssp*, y *Fusarium sp*.

De los hongos filamentosos aislados de la rizosfera de *X. daguense* se identificaron los siguientes morfotipos presuntivos de los géneros *Acremonium spp*, *Penicillium spp*, *Cladosporium spp*, *Absidia spp*, *Rhizopus sp*, *Phytophthora sp* y *Sclerotinia sp*. De la rizosfera de la especie *O. burmannii* se identificaron morfotipos presuntivos de los géneros *Acremonium spp*, *Cephalosporium spp*, *fusarium spp*, *Penicillium spp*, *Cladosporium spp*, *Phytophthora sp* y *Aspergillus sp* (Tabla 4).



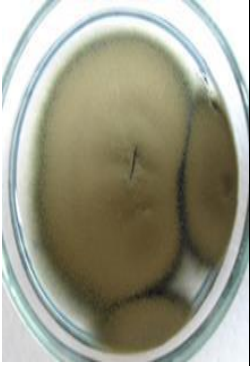

Tabla 4. Descripción macroscópica y microscópica de los aislamientos de hongos filamentosos y géneros presuntivos en la rizosfera de las especies *Xanthosoma daguense* y *Oplismenus burmannii* de la vereda El Águila, Neira Caldas.


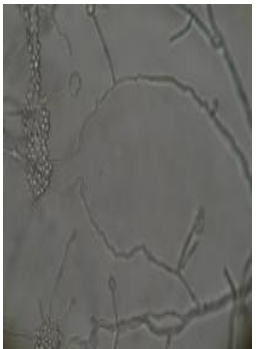

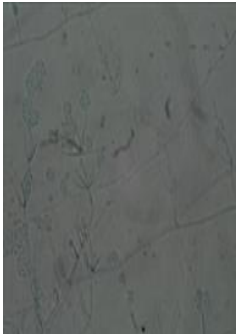

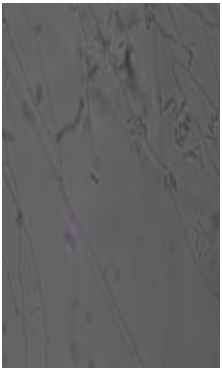
Aislamientos de hongos miceliares	DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA
-----------------------------------	--------------------------	--------------------------


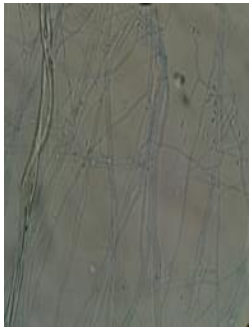



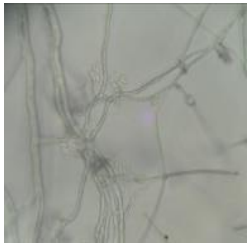
<p>Rizosfera <i>X.daguense</i>: Morfotipo 2 <i>X.daguense</i></p> <p>Género: <i>Rhizopus</i> sp. Orden: <i>Mucorales</i></p>	 <p>Colonia color blanco, plana, algodonosa; reverso color crema, amplio crecimiento.</p>	<p>Hifas gruesas, septadas, hialinas, de pared delgada, presencia de rizoides, conidias ovalada pequeñas.</p> 
<p>Rizosfera <i>X.daguense</i>: Morfotipo 3 <i>X.daguense</i></p> <p>Género: <i>Phytophthora</i> sp. Orden: <i>Peronosporales</i></p>	 <p>Colonia algodonosa, elevada de color blanco, reverso color crema de crecimiento irregular.</p>	<p>Hifas hialinas, cenocíticas, largas, esporas pequeñas en forma de limón distribuidas en solitario o en pares, conidióforos largos.</p> 
<p>Rizosfera <i>X.daguense</i>: Morfotipo 4 <i>X.daguense</i></p> <p>Género: <i>Absidia</i> sp. Orden: <i>Mucorales</i></p>	 <p>Colonia blanca, algodonosa, elevada; reverso color amarillo intenso, crecimiento lento.</p>	<p>Hifas hialinas cenocíticas, delgadas abundantes ramificaciones, conidióforos lisos largos, cabezuelas de 4 o 5 conidios redondas y pequeñas, esporas agrupadas en 4 o en solitario.</p> 


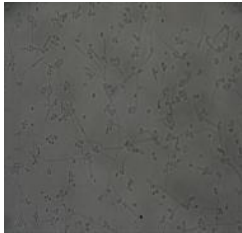
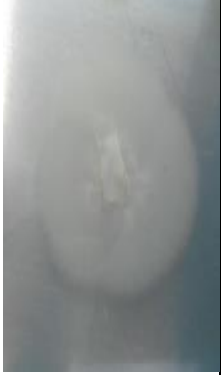
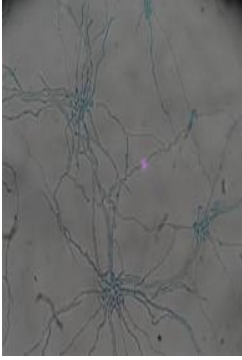

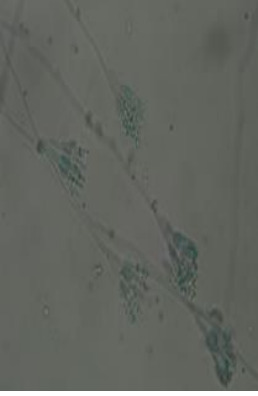
<p>Rizosfera <i>X.daguense</i>: Morfotipo5 <i>X. daguense</i></p> <p>Género: <i>Sclerotiniasp.</i> Orden: <i>Helotiales</i></p>	<p>Colonia blanca, algodonosa de amplio crecimiento, plana; reverso color crema, liso</p> 	<p>Hifas hialinas gruesas, septadas, e hifas delgadas y espiraladas con pequeños brotes. no se observan conidias</p> 
<p>Rizosfera <i>X.daguense</i>: Morfotipo8 <i>X. daguense</i></p> <p>Género: <i>Absidiasp.</i> Orden: <i>Mucorales</i></p>	<p>Colonia color blanco, aterciopelada, crecimiento irregular, bordes lisos; reverso color crema/naranja liso.</p> 	<p>Hifas hialinas, septadas, con esporangios pequeños en forma de embudo, no se observan conidias.</p> 


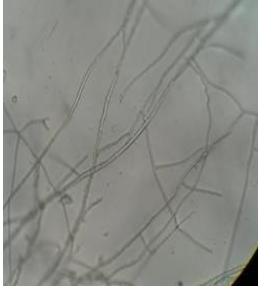

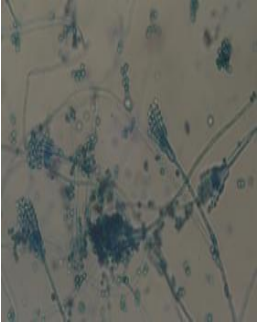
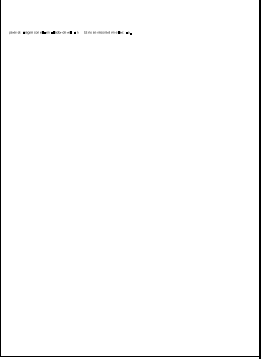
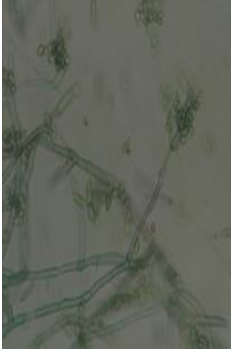
<p>Rizosfera <i>X.daguense</i>: Morfotipo19 <i>X. daguense</i></p> <p>Genero <i>Acremonium</i> sp. Orden: <i>Hypocreales</i></p>	<p>Colonia blanca, aterciopelada, plana, de bordes amarillos o cremosos, radiada; reverso liso color crema</p> 	<p>Hifas hialinas, septadas, delgadas con brotes pocas ramificaciones, conidióforos largos, lisos que finalizan en una cabezuela mucosa conformada por conidias pequeñas que van de redondas a ovales.</p> 
<p>Rizosfera <i>X.daguense</i>: Morfotipo22 <i>X. daguense</i></p> <p>Género: <i>Penicillium</i> sp. Orden: eurotiales</p>	<p>Colonias redondas medianas color verde azul, periferia blanca, crateriformes, pulverulentas; reverso amarillo crema, liso.</p> 	<p>Hifas hialinas septadas, ramificadas, conidióforos largos, lisos, presencia de méticas y fiálides, microconidias redondas en forma de cadena o en solitario.</p> 
<p>Rizosfera <i>X.daguense</i>: Morfotipo23 <i>X. daguense</i></p> <p>Género: <i>Cladosporium</i> sp. Orden: <i>Capnodiales</i></p>	<p>Colonia verde parda de centro grisáceo, aterciopelada, umbilicada, crateriforme, redondeada de bordes lisos; reversos negros y estriados.</p> 	<p>Hifas dematiáceas, septadas de pared gruesa, con brotes y ramificaciones, blastoconidiocistricas ovaladas y pequeñas generadas en racimos irregulares a través de un poro.</p> 

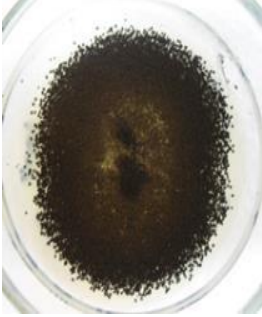



<p>Rizosfera <i>X.daguense</i>: Morfotipo25 <i>X. daguense</i></p> <p>Género: <i>Penicillium</i> sp. Orden: eurotiales</p>	<p>Colonia color café claro, opaco, pulverulenta,</p>  <p>de amplio crecimiento, producción de exudado color café/amarillo en poca cantidad, producción de pigmento con viraje de medio a café claro;</p> <p>reverso café oscuro o/liso</p>	<p>Hifas hialinas, septadas, ramificadas, conidióforo ramificado, presencia de metulas, fiálides y fialosporas redondas y pequeñas formando cadenas largas o en solitario.</p> 
<p>Rizosfera <i>X.daguense</i>: Morfotipo26 <i>X. daguense</i></p> <p>Género: <i>Cladosporium</i> sp. Orden: <i>Capnodiales</i></p>	<p>Colonia verde claro, pulverulenta, crateriforme, bordes de tonalidad más oscura, lisos; reverso negro, bordes color hueso, liso/poco estriado.</p> 	<p>Hifas dematiáceas de pared gruesa, septadas, conidióforos ramificados, conidias ovales, pigmentadas con cicatriz (blastosporas) solitarias o en racimos.</p> 




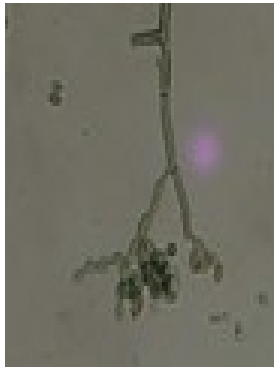

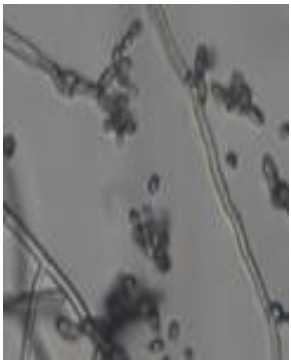
<p>Rizosfera <i>X.daguense</i>:Morfotipo31 <i>X. daguense</i></p> <p>Género: <i>Acremonium</i>sp. Orden: <i>Hypocreales</i></p>	 <p>Colonia beige, granu losa, borde s irregu lares, plana; reverso liso naranja pálido.</p>	<p>Hifas hialinas cenocíticas, torcidas con pocas ramificación que finalizan en pequeños brotes o cabezuelas de conidias elípticas; conidias pequeñas elípticas en poca cantidad.</p> 
<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfotipo10 <i>O. burmannii</i></p> <p>Género: <i>Acremonium</i> sp. Orden: <i>Hypocreales</i></p>	<p>Colonia blanca,</p>  <p>aterciopelada, crateriforme, bordes lisos; reverso color crema, rugoso</p>	<p>Hifas hialinas, cenocíticas ramificadas, conidióforos lisos con cabezuelas mucoides formadas por grupos de conidias ovoides. conidias agrupadas adjuntas las hifas</p> 
<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfotipo11 <i>O. burmannii</i></p> <p>Género: <i>Fusarium</i> sp. Orden: <i>Hypocreales</i></p>	 <p>Colonia blanca, algodonosa, flocosa, centro rojizo/púrpura; reverso color púrpura que se aclara a la periferia.</p>	<p>Hifas hialinas, septadas, con pocas ramificaciones, conidióforos cortos,</p>  <p>conidiassimpodiales alargadas y septadas.</p>


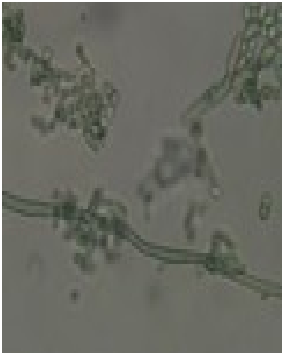
<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfotipo12 <i>O. burmannii</i></p> <p>Género: <i>Fusarium sp.</i> Orden: <i>Hypocreales</i></p>	<p>Colonia</p>  <p>blanca, algodonosa de amplio crecimiento, depresión central; reverso color crema, liso</p>	<p>Hifas hialinas, septadas, gruesas, ramificadas, conidias pequeñas muy curvas con extremos redondos ampliamente distribuidas.</p> 
<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfotipo14B <i>O. burmannii</i></p> <p>Género: <i>Acremonium sp.</i> Orden: <i>Hypocreales</i></p>	<p>Colonia de centro</p>  <p>pulverulento, con exteriores cremosos, de color café naranjado; reverso plano color ladrillo.</p>	<p>Hifas hialinas, cenocíticas, ramificadas, conidióforos lisos, mesoconidias alargadas, en forma de racimo formando cabezuelas mucoides, o grupos adjuntos a las hifas.</p> 
<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfotipo15 <i>O. burmannii</i></p> <p>Género: <i>Fusarium sp.</i> Orden: <i>Hypocreales</i></p>	 <p>Colonia blanca, flocosa, redonda, bordes dentados, centro púrpura; reverso blanco, púrpura central, liso.</p>	<p>Hifas gruesas cenocíticas, hialinas de pared gruesa, mesoconidias alargadas, algunas presentan septos transversales, solas o en grupos pequeños</p> 

<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfotipo17 <i>O. burmannii</i></p> <p>Género: <i>Cephalosporium sp.</i> Orden: moniliales</p>	<p>Colonia blanca,</p>  <p>aterciopelada plana, pequeña redonda; reverso naranja liso.</p>	<p>Hifas cenocíticas, hialinas, delgadas, poco ramificadas, esporas pequeñas con presencia de tubo germinal.</p> 
<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfotipo18 <i>O. burmannii</i></p> <p>Género: <i>Cephalosporium sp.</i> Orden: moniliales</p>	<p>Colonia blanca,</p>  <p>opalescente, opaca, cremosa, crateriforme, bordes lisos; reverso blanco opalescente estriado.</p>	<p>Hifas hialinas, delgadas, cenocíticas, distribuidas a manera de red, alineadas, abundantes microconidias elípticas o redondas agrupadas con presencia de tubo germinal.</p> 
<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfotipo24 <i>O. burmannii</i></p> <p>Especie: <i>Penicilliumrubrum.</i> Orden: eurotiales</p>	<p>Colonias color verde amarillento, pulverulentas, redondas de aproximadamente 15 mm de diámetro, crateriformes, amplio crecimiento, presencia de exudado en poca cantidad, produce pigmento virando el medio a rojo; reverso café estriado.</p> 	<p>Hifas hialinas, septadas, conidióforo ramificado, presencia de metulas, fiálides y fialosporas redondas y pequeñas formando cadenas o en solitario.</p> 

<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfofoto27 <i>O. burmannii</i></p> <p><i>Myceliasterilia.</i></p>	<p>Colonia color caoba, de apariencia filamentosa, plana, aterciopelada; reverso caoba intenso que se aclara a la periferia, crecimiento irregular.</p> 	<p>Hifas hialinas, gruesas, septadas, grosor variable con ramificaciones terminales en forma de palo de tambor, no se observan conidias.</p> 
<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfofoto28 <i>O. burmannii</i></p> <p>Género: <i>Penicillium</i> sp. Orden: eurotiales</p>	<p>Colonia granulosa, color verde claro central y aguamarina a la periferia, bordes lisos, blancos; reverso color crema.</p> 	<p>Hifas hialinas, septadas, Conidióforo ramificado, presencia de metulas, filídes y fialosporas redondas y pequeñas en grupos de 3 a 5 o en solitario</p> 
<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfofoto30 <i>O. burmannii</i></p> <p>Género: <i>Cladosporium</i> sp. Orden: <i>Capnodiales</i></p>	<p>Colonia verde claro, pulverulenta, cráter, elevación central de color más opaco; negro, reverso bordes estriado.</p> 	<p>Hifas dematiáceas, septadas de pared gruesa, con brotes y ramificación blastoconidias cicatrizales ovaladas y pequeñas generadas en racimos irregulares a través de un poro.</p> 

<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfotipo33 <i>O. burmannii</i></p> <p>Especie: <i>Aspergillus brasiliensis</i>. Orden: eurotiales</p>	<p>Colonia granulosa color negro de base amarillo crema, amplio crecimiento, muy esporulada, reverso color crema liso.</p> 	<p>Hifas hialinas, segmentadas, conidióforos lisos con cabezuelas radiadas pigmentadas, esporas redondas pequeñas, presencia de tubo germinal en algunas conidias.</p> 
<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i>:Morfotipo34 <i>O. burmannii</i></p> <p>Género: <i>Penicillium</i>sp. Orden: eurotiales</p>	<p>Colonia color verde claro amarillento opaco, con exudado beige/dorado de crecimiento irregular, mediana distribución, producción de pigmento virando el medio a amarillo; reverso amarillo intenso radiado. Diámetro de cada colonia 15 a 20 mm.</p> 	<p>Hifas hialinas, septadas, Conidióforo ramificado, presencia de mótulas, fiálides y abundantes fialosporas redondas y pequeñas.</p> 







<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i>: Morfotipo 35 <i>O. burmannii</i></p> <p>Género: <i>Phytophthora</i> sp. Orden: <i>Peronosporales</i></p>	<p>Colonia color blanco algo donosa, elevada, crecimiento irregular, bordes definidos, escaso crecimiento; reverso blanco estriado.</p> 	<p>Hifas hialinas, muy delgadas, septadas, muy pocas conidias redondas y pequeñas en solitario.</p> 
<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfotipo 35BO. <i>burmannii</i></p> <p>Género: <i>Cladosporium</i> sp. Orden: <i>Capnodiales</i></p>	<p>Colonia color verde pardo, pulverulenta, crecimiento irregular de pequeñas colonias crateriformes de mediana distribución con diámetro aproximado de 20 mm; reverso negro radiado</p> 	<p>Hifas dematiáceas de pared gruesa, septadas, conidióforos ramificados, conidias ovales, pigmentadas con cicatriz (blastosporas) solitarias o en racimos.</p> 
<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfotipo 36 <i>burmannii</i></p> <p>Género: <i>Cladosporium</i> sp. Orden: <i>Capnodiales</i></p>	<p>Colonia verde olivo, pulverulenta, bordes definidos, crecimiento irregular; reverso negro, periferia color crema, estriado.</p> 	<p>Hifas dematiáceas de pared gruesa, septadas, conidióforos ramificados, conidias ovales, pigmentadas con cicatriz (blastosporas) solitarias o en racimos.</p> 


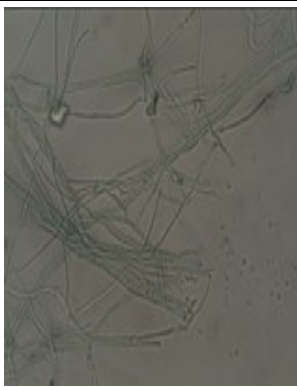
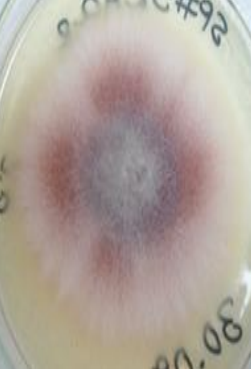


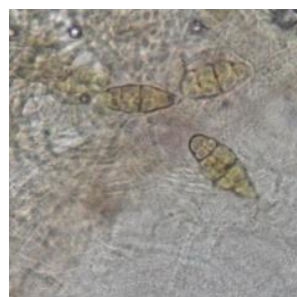
<p>Rizosfera <i>O. burmannii</i> Morfo37 <i>O. burmannii</i></p> <p>Género: <i>Cladosporium</i> sp. Orden: <i>Capnodiales</i>.</p>	<p>Colonia color verde claro, anillada, centro grisáceo, pulverulenta, flocosa, elevación media; reverso central café oscuro que se aclara a la periferia, bordes color crema, estriado central.</p>	 <p>Hifas dematiáceas de pared gruesa, septadas, conidióforos ramificados, conidias ovales, pigmentadas con cicatriz (blastosporas) solitarias o en racimos.</p> 
--	--	---


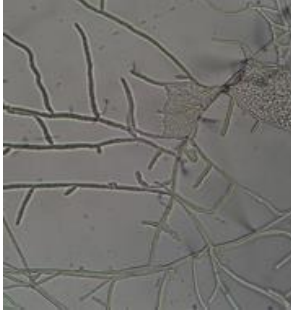
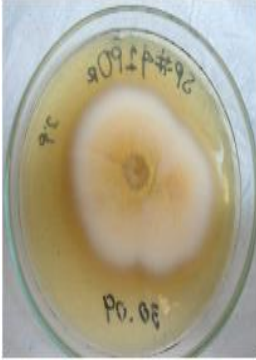


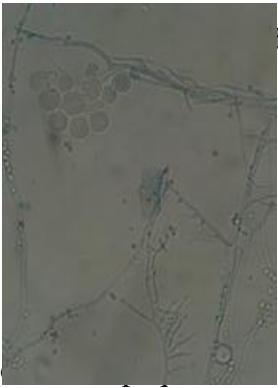
En los suelos del municipio de Villamaria, se aislaron de la rizosfera de *A. absinthium* morfotipos presuntivos de los géneros *Acremonium* spp, *Pythium* sp, *Sclerotinia* sp, y *Alternaria* sp. Por otro lado, en la rizosfera de *P. oleracea* se encontraron morfotipos presuntivos de los géneros *Fusarium* sp, *Paecilomyces* sp, *Rhizopus* sp, y *Phytophthora* sp. (Tabla 5).

Tabla 5. Descripción macroscópica y microscópica de los aislamientos de hongos filamentosos de la rizosfera de las especies *Artemisia absinthium* y *Portulaca oleracea* de la vereda Alquería, Villamaria Caldas

Aislamientos de hongos miceliares	DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA	DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA
-----------------------------------	--------------------------	--------------------------

<p>Rizosfera A. <i>absinthium</i> Morfotipo38 A. <i>absinthium</i></p> <p>Genero: <i>Pythium</i>sp. Orden: <i>Peronosporales</i></p>	<p>Colonia algodonosa, plana de amplio crecimiento en</p> <p>form a radial, color blanco; reverso color crema.</p>		<p>Hifas hialinas de diferentes gruesos, cenocíticas, presencia de fibulas, hifas terminales cortas y agudas, algunas anudadas que desprenden de 3 a 6 ramificaciones, no se observan conidias.</p>	
<p>Rizosfera A. <i>absinthium</i> Morfotipo48 A. <i>absinthium</i></p> <p>Genero: <i>Acremonium</i>sp. Orden: <i>Hypocreales</i></p>	<p>Colonia mediana, globosa, color blanco aterciopelada redonda, con reverso color hueso</p>		<p>Hifas hialinas delgadas de pared gruesa, cenocíticas, ramificaciones cortas que terminan en un brote pequeño, abunda ntes mesoconidias alargadas, agrupadas o aisladas</p>	
<p>Rizosfera A. <i>absinthium</i> Morfotipo50 A. <i>absinthium</i></p> <p>Genero: <i>Sclerotinia</i> sp. Orden: <i>Helotiales</i></p>	<p>Colonia color café oscuro central, anillada que toma tonalidad verde al exterior, aterciopelada, crecimiento irregular, bordes irregulares; reverso color café, liso</p>		<p>Hifas hialinas gruesas de pared gruesa poco septadas, pocas ramificaciones.</p>	

<p>Rizosfera <i>A. absinthium</i> Morfofoto51 <i>A. absinthium</i></p>	<p>Colonia café claro central que se aclara a la periferia (rosa/café a blanco) aterciopelado ; reverso negro central, rojo medio, amarillo externo, liso. Diámetro de 50*55 mm.</p>		<p>Hifas dematiáceas gruesas, septadas, retorcidas. Conidias pequeñas, redondas que emergen del interior de una hifa.</p>	
<p>Rizosfera <i>A. absinthium</i> Morfofoto52 <i>A. absinthium</i></p> <p>Genero: <i>Acremonium</i> sp. Orden: <i>Hypocreales</i></p>	<p>Colonia color púrpura central, rojo al medio y rosa a la periferia, algodonosa, redonda, bordes dentados; reverso púrpura al centro, rojo en medio y blanco a la periferia de apariencia filamentosa, diámetro de 70 mm</p>		<p>Hifas hialinas con septos gruesos brotes a lo largo de la hifa y terminaciones en palo de tambor, conidióforos lisos, cortos, con terminación en cabezuelas mucoides formadas por mesoconidias ovaladas, generalmente se agrupan en junto a las hifas en numerosos grupos.</p>	
<p>Rizosfera <i>A. absinthium</i> Morfofoto55 <i>A. absinthium</i></p> <p>Género: <i>Alternaria</i> sp. Orden: <i>Pleosporales</i></p>	<p>Colonia mediana aterciopelada, de color lila, con bordes irregulares, reverso café morado. Olor a queso.</p>		<p>Hifas dematiáceas, septadas, muy ramificadas con terminaciones redondas y cortas, macroconidias alargadas septadas longitudinal y transversalmente</p>	

<p>Rizosfera <i>A. absinthium</i> Morfotipo 57 <i>A. absinthium</i></p> <p>Genero: <i>Acremonium</i> sp. Orden: <i>Hypocreales</i></p>	<p>Colonia aterciopelada, color verde pardo, con crecimiento irregular con bordes lisos de color verde olivo, reverso de color negro.</p> 	<p>Hifas dematiáceas poco septadas, delgadas, ramificadas con terminaciones lisas, conidias pequeñas ovaladas emergentes de un poro terminal de una hifa, presentes en agrupaciones mucoides.</p> 
<p>Rizosfera <i>P. oleracea</i> Morfotipo 41 <i>P. oleracea</i></p>	<p>Colonia color mandarina central que se aclara a la periferia, aterciopelada, crecimiento irregular; reverso naranja, periferia amarillo, rugoso.</p> 	<p>Hifas hialinas septadas presencia de Somatogamia, no se observan conidias.</p> 
<p>Rizosfera <i>P. oleracea</i> Morfotipo 45 <i>P. oleracea</i></p> <p>Género: <i>Rhizopus</i> sp. Orden: <i>Mucorales</i></p>	<p>Colonia color negro grisáceo algodonosa/velosa de amplio crecimiento; reverso color crema, liso.</p> 	<p>Hifas hialinas, poco septadas con grupos de conidias pequeñas de forma que varía de redonda a ovaladas, sáculos.</p> 

<p>Rizosfera <i>P. oleracea</i> Morfotipo46 <i>P. oleracea</i></p> <p>Género: <i>Phytophthora</i> sp. Orden: <i>Peronosporales</i></p>	<p>Colonia blanca algodonosa, con bordes filamentosos, elevada y reverso de color crema</p>		<p>Hifas hialinas delgadas cenocíticas, con poco ramificadas, microconidias en forma de limonésiles alternas a cada lado de la hifa o solas.</p>	
<p>Rizosfera <i>P. oleracea</i> Morfotipo47 <i>P. oleracea</i></p> <p>Género: <i>Paecilomyces</i> sp. Orden: eurotiales</p>	<p>Colonia blanca aterciopelada, con poca elevación y presencia de exudados, de bordes poco definidos, reverso color hueso.</p>		<p>Hifas hialinas cenocíticas, delgadas, conidióforos con cabezas ramificadas de forma irregular, fialides de punta afilada en ocasiones solitarias o en pares, conidias pequeñas redondas.</p>	
<p>Rizosfera <i>P. oleracea</i> Morfotipo49 <i>P. oleracea</i></p> <p>Género: <i>Fusarium</i> sp. Orden: <i>Hypocreales</i></p>	<p>Colonia blanca, algodonosa, crecimiento escaso en forma ovoide, elevada; reverso color crema, rugosidad central</p>		<p>Hifas muy delgadas, hialinas, septadas de paredes gruesas, poco ramificadas, con segmentación, conidias generadas por fragmentación. Conidias alargadas en solitario.</p>	
<p>Rizosfera <i>P. oleracea</i> Morfotipo58 <i>P. oleracea</i></p>	<p>Colonia plana crateriforme aterciopelada a color salmón, poco crecimiento en forma</p>		<p>Hifas gruesas, hialinas o dematiáceas, septadas con ramificaciones. no se observan conidias</p>	

	irregular; reverso color crema rugoso.	
--	--	--

Los morfotipos compartidos en ambos suelos corresponden a especies de los géneros:

Rhizopus, en *X. daguense* y en *P. Oleracea*; *Phytophthora* en *X. daguense*, *O. burmannii* y *P. oleracea*; el género *Sclerotinia* en *X. daguense* y en *A. absinthium*; el género *Acremonium* en *X. daguense*, *O. burmannii* y *A. absinthium* y el género *Fusarium* en *O. burmannii* y *P. oleracea*.

Para los suelos conservados se aislaron morfotipos presuntivos del género *Absidia spp* provenientes de *X. daguense*; del género *Penicillium spp.* De *X. daguense* y *O. burmannii*; del género *Cladosporium spp* de *X. daguense* y *O. burmannii*; en *O. burmannii* se encontró el género *Cephalosporium spp*, y la especie *Aspergillus brasiliensis*.

En los suelos de uso agrícola se aislaron morfotipos presuntivos de los géneros *Pythium sp* y *Alternaria sp* provenientes de *A. absinthium*; y *Paecilomyces sp* en *P. oleracea*. Los morfotipos 41 y 58 que no se identificaron pertenecen a *P. oleracea* y el Morfotipo 51 corresponde a *A. absinthium* (Figura 1).

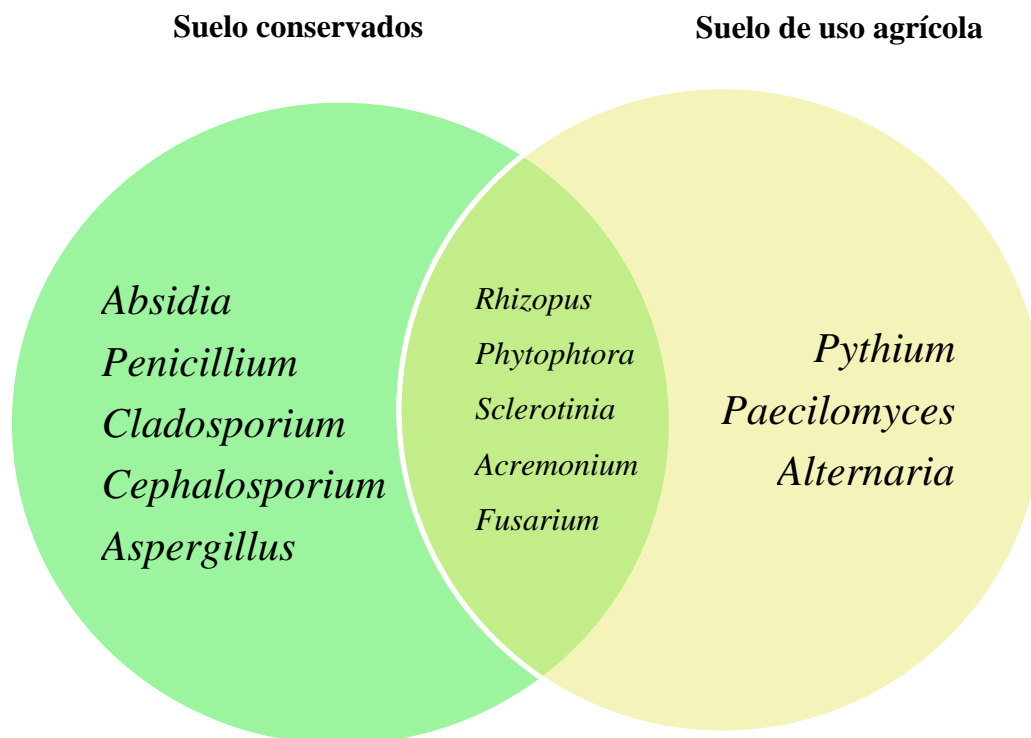


Figura 1. Géneros fúngicos compartidos en el suelo conservado y el suelo de uso agrícola

7.2. Evaluación de la actividad metabólica en el bosque El Águila y la vereda Alquería.

Fue posible analizar la actividad metabólica de un total de 23 morfotipos aislados de ambos suelos, el de la vereda el Águila con 15 morfotipos y el de la vereda Alquería con 8, La fuente de nitrógeno utilizada en mayor proporción fue la peptona. En la actividad enzimática, la producción de lipasas fue positiva para todos los morfotipos exceptuando el Morfotipo 58 de *P. oleracea*. El comportamiento en los medios Quitosanoy Carboximetilcelulosafue similar, contando con dos morfotipos más en los secretores de endoglucanasas. (Tablas 6 y 7) Consolidado Tabla 9.

Tabla 6. Registro de asimilación de fuentes nitrogenadas y producción de enzimas: Lipasas, proteasas, endoglucanasas, Quitinasas) por los hongos filamentosos asociados a la rizosfera de *X. daguense* y *O. burmannii* del bosque El Águila.

MORFOTIPO	Fuentes de nitrógeno		Evaluación de lipasas	Evaluación de proteasas	Evaluación de Endoglucanasas	Evaluación de quitinasas
	urea	peptona	tributirina	Calcio caseinato	CMC	quitosano
Morfotipo 02 <i>X. daguense</i> .	negativo	positivo	positivo	Positivo	positivo	positivo
Morfotipo 08 <i>X. daguense</i> .	negativo	positivo	positivo	Positivo	positivo	negativo
Morfotipo 19 <i>X. daguense</i> .	negativo	positivo	positivo	Negativo	positivo	negativo
Morfotipo 23 <i>X. daguense</i> .	negativo	positivo	positivo	Positivo	positivo	positivo
Morfotipo 25 <i>X. daguense</i> .	positivo	negativo	positivo	Positivo	negativo	positivo
Morfotipo 26 <i>X. daguense</i> .	negativo	positivo	positivo	Positivo	positivo	positivo
Morfotipo 10 <i>O. burmannii</i> .	negativo	positivo	positivo	Positivo	negativo	negativo
Morfotipo 11 <i>O. burmannii</i> .	negativo	positivo	positivo	Positivo	positivo	positivo
Morfotipo 15 <i>O. burmannii</i> .	negativo	positivo	positivo	Negativo	positivo	positivo
Morfotipo 24 <i>O. burmannii</i> .	positivo	negativo	positivo	Positivo	positivo	positivo
Morfotipo 27 <i>O. burmannii</i>	positivo	positivo	positivo	Negativo	positivo	negativo
Morfotipo 30 <i>O. burmannii</i> .	negativo	positivo	positivo	Positivo	positivo	positivo
Morfotipo 34 <i>O. burmannii</i> .	negativo	positivo	positivo	Positivo	positivo	positivo
Morfotipo 35 <i>O. burmannii</i>	negativo	positivo	positivo	Positivo	positivo	positivo
Morfotipo 36 <i>O. burmannii</i>	negativo	negativo	positivo	Positivo	positivo	positivo

Tabla 7. Registro de asimilación de fuentes nitrogenadas y producción de enzimas: Lipasas, proteasas, endoglucanasas, Quitinasas) por los hongos filamentosos asociados a la rizosfera de *P. oleracea* y *A. absinthium* del bosque El Águila.

MORFOTIPO	Fuentes de nitrógeno		Evaluación de lipasas	Evaluación de proteasas	Evaluación de Endoglucanasas	Evaluación de quitinasas
	urea	peptona	tributirina	Calcio caseinato	CMC	quitosano
Morfotipo 41 <i>P. oleracea</i> .	positivo	positivo	positivo	negativo	positivo	positivo
Morfotipo 45 <i>P. oleracea</i> .	negativo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
Morfotipo 47 <i>P. oleracea</i> .	negativo	positivo	positivo	negativo	positivo	positivo
Morfotipo 58 <i>P. oleracea</i> .	negativo	positivo	negativo	negativo	negativo	negativo
Morfotipo 48 <i>A. absinthium</i>	negativo	positivo	positivo	positivo	negativo	negativo
Morfotipo 51 <i>A. absinthium</i>	negativo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
Morfotipo 52 <i>A. absinthium</i>	negativo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo
Morfotipo 54 <i>A. absinthium</i>	negativo	positivo	positivo	positivo	positivo	positivo

Tabla 9. Paralelo de asimilación de fuentes nitrogenadas y producción de enzimas de los hongos filamentosos asociados a la rizosfera en suelos conservados y suelos de uso agrícola.

SUELOS CONSERVADOS					SUELOS INTERVENIDOS														
<i>Xanthosoma daguense</i>					<i>Opismenus burmannii</i>					<i>Artemisia absinthium</i>					<i>Portulaca oleracea</i>				
Morfotipo	F.N	C.C	CM	Q	Morfotipo	F.N	C.C	CM	Q	Morfotipo	F.N	C.C	CM	Q	Morfotipo	F.N	C.C	CM	Q
MORFOTIPO 2 <i>X. daguense</i>	DEP.				MORFOTIPO10 O. <i>burmannii</i>	DEP.				MORFOTIPO38 <i>A. absinthium</i>					MORFOTIPO41 <i>P. oleracea</i>	Ure			
MORFOTIPO3 <i>X. daguense</i>					MORFOTIPO11 O. <i>burmannii</i>	DEP.				MORFOTIPO40 <i>A. absinthium</i>					MORFOTIPO45 <i>P. oleracea</i>	Pep.			
MORFOTIPO4 <i>X. daguense</i>					MORFOTIPO12 O. <i>burmannii</i>					MORFOTIPO44 <i>A. absinthium</i>					MORFOTIPO46 <i>P. oleracea</i>				
MORFOTIPO5 <i>X. daguense</i>					MORFOTIPO14B <i>O. burmannii</i>					MORFOTIPO48 <i>A. absinthium</i>	DEP.				MORFOTIPO47 <i>P. oleracea</i>	DEP.			
MORFOTIPO8 <i>X. daguense</i>	DEP.				MORFOTIPO15 O. <i>burmannii</i>	DEP.				MORFOTIPO50 <i>A. absinthium</i>					MORFOTIPO49 <i>P. oleracea</i>				
MORFOTIPO19 <i>X. daguense</i>	DEP.				MORFOTIPO17 O. <i>burmannii</i>					MORFOTIPO51 <i>A. absinthium</i>	Pep.				MORFOTIPO58 <i>P. oleracea</i>	Pep.			
MORFOTIPO22 <i>X. daguense</i>					MORFOTIPO18 O. <i>burmannii</i>					MORFOTIPO52 <i>A. absinthium</i>	Pep.				MORFOTIPO59 <i>P. oleracea</i>				
MORFOTIPO23 <i>X. daguense</i>	DEP.				MORFOTIPO24 O. <i>burmannii</i>	ure				MORFOTIPO54 <i>A. absinthium</i>	DEP.								
MORFOTIPO25 <i>X. daguense</i>	ure				MORFOTIPO27 O. <i>burmannii</i>	Ure				MORFOTIPO55 <i>A. absinthium</i>									
MORFOTIPO26 <i>X. daguense</i>	DEP.				MORFOTIPO28 O. <i>burmannii</i>					MORFOTIPO57 <i>A. absinthium</i>									
MORFOTIPO31 <i>X. daguense</i>					MORFOTIPO30 O. <i>burmannii</i>	DEP.													
					MORFOTIPO33 O. <i>burmannii</i>														
					MORFOTIPO34 O. <i>burmannii</i>	Pep.													
					MORFOTIPO35 O. <i>burmannii</i>														
					MORFOTIPO35B O. <i>burmannii</i>	Pep.													
					MORFOTIPO36 O. <i>burmannii</i>	x													
					MORFOTIPO37 O. <i>burmannii</i>														

◆ positivo ◆ negativo ◆ intermedio

◆ SIN PRUEBAS

F.N: Fuente de Nitrógeno (peptona / urea)
C.C: Calcio Caseinato
CM: CMC/carboximetilcelulosa
Q: Quitosano Coloidal

8. DISCUSIÓN

Estudios realizados por López (2002) indican que el impacto generado por los agroquímicos empleados en los suelos de uso agrícola, pueden ser aprovechables o perjudiciales según el tipo y el microorganismo impactado, sin embargo, otros autores afirman la mínima alteración del componente microbiano durante poco tiempo (Tate et al., 1983 citados por López, 2002), siendo dichas investigaciones enfocadas principalmente a grupos bacterianos.

Los resultados encontrados indican una disminución en la variedad de hongos filamentosos en el suelo de uso agrícola; Abril (2003) demuestra el impacto generado por las prácticas agrícolas en los ecosistemas, manifestando una disminución de microorganismos frente a hábitats no intervenidos. En otro estudio sustentado por Chaves (2013) al evaluar la población microbiana en un suelo tratado con agroquímicos, donde los hongos fueron los más afectados disminuyendo drásticamente su biomasa, en cuanto a grupos microbianos como bacterias diazótrofes, y otros grupos funcionales, aumentaron su cantidad debido al aprovechamiento de los componentes presentes en los agroquímicos, las poblaciones de *Azotobacter* son favorecidas por la fertilización química mientras las de *Bacillus* se ven afectadas (González et al., 1999; Calvo et al., 2008).

En los suelos de uso agrícola la biomasa de algunos microorganismos se ve aumentada, mas disminuye la variedad taxonómica (Rodríguez et al., 2009). Un estudio realizado por el Agustín Codazzi (1993) (citado por Rodríguez et al., 2009) respalda lo anterior tras encontrar en los suelos de bosque mayor diversidad y riqueza biológica y en los suelos cultivados una mayor densidad poblacional de hongos, actinomicetos y bacterias en suelos del departamento de Caquetá.

La reducción de la microbiota edáfica se ha visto estrechamente asociada a tierras de baja productividad, por lo que dicha comunidad se ha catalogado como indicador de calidad de los suelos el impactados en los en los agroecosistemas (Faber et al., 2013).

El uso de indicadores biológicos como determinantes del impacto agronómico sobre la biodiversidad se mencionó por primera vez en el año 2002 por la OECD, sin embargo el concepto

se ha fortalecido, y las medidas biológicas son utilizadas como indicadores de impacto (Faber et al., 2013)

Según Van Bruggen & Semenov (2000) (citados por Abril (2003) y Mukerji (2006)) plantean el uso de grupos funcionales para evaluar la calidad de los suelos en lugar de especies taxonómicas ya que reflejan mejor los cambios, como es el caso de los grupos celulolíticos que reaccionan de forma inmediata frente a laboreos intensos de la tierra como pastoreos, y áreas intervenidas (Abril 2003).

En el presente estudio morfotipos fúngicos hallados en los suelos de la vereda el Águila, presentaron mayor diversidad taxonómica comparado con el suelo de uso agrícola de la vereda Alquería en el municipio de Villamaria; de ambos suelos, se aislaron morfotipos de órdenes taxonómicos correspondientes a: *Mucorales*, *Peronosporales*, *Helotiales*, *Hypocreales*, *Eurotiales*, *Capnodiales*, y *Pleosporales*.

De los morfotipos encontrados únicamente en los suelos conservados se halló el género *Absidia* spp perteneciente al orden de los *Mucorales*, este orden cuenta con especies de crecimiento y esporulación rápida, generalmente saprobios presentes en suelos, hummus, estiércol y materia orgánica. Éstos hongos manifiestan micelio ancho y poco septado o cenocítico, con reproducción sexual, y la asexual mediada por esporangiosporas. Algunas especies son usadas en fermentaciones y en la producción industrial de sustancias como amilasas, ácidos orgánicos y varios metabolitos secundarios. (Alexopolous et al., 1985). En el orden de los *Eurotiales*, se hallaron géneros de *Penicillium* spp y *Aspergillus* sp; los *eurotiales* son un grupo similar al orden de los Onygenales;

se caracteriza por poseer ascas libres sobre el micelio, las hifas componen una red o un muro sólido, las esporas son de formas ovaladas o globosas (Alexopolous et al., 1985). Los Eurotiales son de tendencia saprótrofa, aunque hay especies de importancia clínica, son xerofilicos y termotolerantes encontrados en muestras de suelo, aire y rizosfera (Cepero et al., 2012). También se hallaron varios morfotipos presuntivos del genero *Cladosporium spp* pertenecen al orden de los *Capnodiales*. Este orden fue establecido para ubicar a los hongos productores de fumagina; estos hongos viven de los exudados de insectos fitoparásitos, cuentan con un micelio pigmentado y septado, el cual recubre la planta con una capa oscura y mucilaginosa superficial, limitando la entrada de luz en las hojas. (Sierra, 2006; Cepero et al., 2012) Si bien son conocidos como fitopatogenos, en ambientes equilibrados permanecen sin causar daño. Se encontraron morfotipos presuntivos al género *Cephalosporium* del orden de los *Hypocreales*, caracterizado por tener estromas carnosos de colores pálidos a brillantes, ascas ovaladas a cilíndricas con poro apical más o menos engrosado en el ápice (Alexopolous et al., 1985), es monofiletico e incluye especies fitopatogenas, entomopatogenas, endófitas y saprofitas (Cepero et al., 2012).

En los suelos de uso agrícola se halló un Morfotipo presuntivo del género *Pythium*, género que corresponde al orden de los peronosporales, las especies de este orden son considerados como los más especializados en el filo Oomycota; lo componen organismos acuáticos, anfibios y terrestres, algunas fitopatogenas como los mildes vellosos o parasíticos en el caso de *Phytophthora* Bary. Poseen micelio cenocitico, delgado y con haustorios, estos últimos en especies parasitas. Poseen esporangios de formas redondas, ovaladas o en forma de limón (Cepero et al., 2012). Se aisló el Morfotipo del género *Alternaria sp*, que hace parte del orden *Pleosporales*, estos hongos cuentan con ascosporas casi siempre septadas de morfología variada, hialinas o dematiaceas, con o sin

envolturas gelatinosas (Sierra, 2006) comprende especies fitopatógenas, saprofitas terrestres o acuáticas y algunos forman líquenes (Alexopoulos et al., 1985). También se encontró una especie del género *Paecilomyces* del orden de los *Eurotiales*.

Entre los géneros compartidos por ambos tipos de suelo están: *Sclerotinia sp* del orden de los *Helotiales* que incluye hongos saprofitos capaces de desarrollarse sobre madera muerta, suelo y estiércol, siendo algunas especies capaces de producir enfermedades en cultivos de importancia económica (Cepero et al., 2012); varias especies de *Acremonium spp* y *Fusarium spp* del orden de los *Hypocreales*, *Phytophthora spp* del orden de los *Peronosporales*, y *Rhizopus spp* del orden de los *Mucorales*.

En el análisis bioquímico se encontraron más morfotipos productores de proteasas en el suelo conservado del bosque El Águila que en el suelo intervenido, al igual que los productores de endoglucanasas y lipasas con un menor rango de diferencia; los productores de quitinasas mostraron comportamiento similar en ambos suelos. En cuanto a las fuentes nitrogenadas, se vio mayor aprovechamiento de la peptona por los morfotipos del suelo de uso agrícola y el aprovechamiento de la urea por los morfotipos del suelo conservado.

En los suelos conservados se recuperaron 28 morfotipos, *Oplismenus burmannii* presentó más morfotipos que *Xanthosoma daguense*, con diversas especies de los géneros *Cladosporium*, *Acremonium* y *Penicillium*. En el suelo de uso agrícola se aislaron 17 morfotipos de los cuales 3 corresponden al género *Acremonium spp* siendo este predominante.

En análisis comparativo de los resultados obtenidos en los suelos intervenidos, los morfotipos evaluados bioquímicamente de la arvense *P. oleracea* manifestaron menor potencial enzimático que los de *A. absintium* probablemente por la cercanía de la primera a los cultivos existentes en el lote, a diferencia de la segunda que estaba localizada en un lote sin plantaciones agrícolas; relacionándose mejor con lo propuesto por Abril (2003) y Chaves (2013).

9. CONCLUSIONES

- ❖ En los suelos conservados se identificó mayor número de taxones a nivel de los generos *Absidia spp*, *Penicillium spp*, *Cladosporium spp*, *Cephalosporium spp*, y *Aspergillus sp*.
- ❖ Las especies halladas en los suelos de uso agrícola y los suelos conservados, pertenecen a los géneros *Rhizopus spp*, *Phytophthora spp*, *Sclerotinia spp*, *Acremonium spp*, y *Fusarium spp*.
- ❖ Los morfotipos fúngicos aislados de los suelos conservados presentaron mayor capacidad de producción de proteasas que los de los suelos intervenidos.
- ❖ En el suelo conservado se encontró predominancia de los géneros *Cladosporium* y *Penicillium* con un amplio potencial celulolítico y quitinolítico que no fue hallado en el suelo intervenido.

❖ En el suelo intervenido se identificaron menos taxones, correspondientes a los generos *Pythium sp*, *Paecilomyces sp*, y *Alternaria sp*.

BIBLIOGRAFIA

- Abril, A. (2003). ¿Son los microorganismos edáficos buenos indicadores de impacto productivo en los ecosistemas? *Ecología Austral*, 13, 195–204.
- Adriana, L., Ramírez, G., Alejandro, J., Bran, P., & Uribe, M. A. (n.d.). evaluación in vitro de celulasas producidas por cepas nativas de *Trichoderma reesei*, *Cladosporium herbarum* y *Aspergillus niger*., 7–15.
- Amoroso, M. J. (1996). Aislamiento de microorganismos presentes en suelos contaminados con Boro, 4(1).
- Arguello-Navarro, A., & Moreno-Rozo, L. (2014). Evaluación del potencial biofertilizante de bacterias diazótrofes aisladas de suelos con cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.). *Acta Agronómica*, 63(3), 238–245. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169931322006>
- Azaz, A. D. (2002). Comparison of Soil Fungi Flora in Burnt and Unburnt Forest Soils in the Vicinity of Karg † cak (Alanya , Turkey), 26, 409–416.
- Baluška, F., & Mancuso, S. (2013). Microorganism and filamentous fungi drive evolution of plant synapses. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 3(August), 1–10. <http://doi.org/10.3389/fcimb.2013.00044>
- Banco, Y., & Leyva, Á. (2007). Las Arvenses En El Agroecosistema Y Sus Beneficios Naturales. *Cultivos Tropicales*, 28, 21–28.
- Barnett, H., & Hunter, B. (1979). Illustrated genera of imperfect fungi. Third edition.

- Broquen, P., Giardin, J., & Frugoni, P. (1995). Evaluación de algunas propiedades de suelos derivados de cenizas volcánicas asociadas con forestaciones de coníferas exóticas (SO de la provincia de Neuquén - R. Argentina). *Bosque*, 16(2), 69–79.
- Cabrera, G. (2012). La macrofauna edáfica como indicador biológico del estado de conservación/perturbación del suelo. Resultados obtenidos en Cuba. *Pastos Y Forrajes*, 35(4), 349–364.
- Carrillo, L. (2003). Actividad microbiana. In *Microbiología Agrícola* (pp. 1–28).
- Cepero, M. C., Restrepo, S., & Franco, A. E. (2012). Biología de hongos. Colombia: Universidad de los Andes. Retrieved from <http://www.ebrary.com>
- Chaves-Bedoya, G., Ortíz-Moreno, M. L., & Ortiz-Rojas, L. Y. (2013). Efecto de la aplicación de agroquímicos en un cultivo de arroz sobre los microorganismos del suelo = Effect of agrochemicals on soil microorganisms of a rice culture. *Acta Agronómica*. Retrieved from http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/30023/43103
- De la Peña, E. (2009). Efectos de la biota edáfica en las interacciones planta-insecto a nivel foliar. *Revista Científica Y Técnica de Ecología Y Medio Ambiente*, 18(2), 64–78.
- Durán-Medina, E., Mas, J., & Velázquez, A. (2007). Cambios en las coberturas de vegetación y usos del suelo en regiones con manejo forestal comunitario y áreas naturales protegidas de México. Ecología y cambio de uso del suelo. *Comunitarios de México. INE*, 267–300.
- Retrieved from <http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/libros/532/cap10.pdf>
- Faber, J. H., Creamer, R. E., Mulder, C., Rombke, J., Rutgers, M., Sousa, J. P., Griffiths, B. S. (2013). The practicalities and pitfalls of establishing a policy-relevant and cost-effective soil

biological monitoring scheme. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 9(2), 276–284. <http://doi.org/10.1002/ieam.1398>

Fallis, A. (2013a). Manejo de las arvenses en los cafetales. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699. <http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Felipe, A., & Osorio, B. (2015). Clave y reconocimiento de *Artemisia absinthium* L ., *Erigeron bonariensis* L . y *Portulaca oleracea* L .

Gallardo, A., Covelo, F., Morillas, L., & Delgado, M. (2009). Ciclos de nutrientes y procesos edáficos en los ecosistemas terrestres: especificidades del caso mediterráneo y sus implicaciones para las relaciones, 18(2), 4–19.

Gallardo Lancho, J. F. (2001). Uso de microorganismos en la agricultura materia organica: ¿mito o realidad?

Garcia, V., & Marin, G. (1991). Nota Tecnica IDENTIFICACION DE HONG OS FILAMENTOSOS Y LEVADURAS AISLADOS DURANTE LA FERMENTACION DE ALMENDRAS DE CACAO (*Thebroma cacao*) EN COSTA RICA Ij*, 15, 177–180.

Greslebin, A. G., & Rajchenberg, M. (2001). The genus *Tulasnella* with a new species in the Patagonian Andes forests of Argentina. *Mycological Research*, 105, 1149–1151.

[http://doi.org/10.1016/S0953-7562\(08\)61980-2](http://doi.org/10.1016/S0953-7562(08)61980-2)

Ibañez, C., Paloqueme, S., & Fontúrbel, F. (2004). Elementos principales del suelo, geodinámica y dinámica de los principales componentes del suelo. ... *F. Ibañez, C Y Abruzzese (eds ...*, 1–54. Retrieved from [http://www.ongvinculos.cl/biblio/huertos/FORMACION DE SUELOS.pdf](http://www.ongvinculos.cl/biblio/huertos/FORMACION_DE_SUELOS.pdf)

- Julca-Otiniano, A., Meneses-Florián, L., Blas-Sevillano, R., & Bello-Amez, S. (2006). La Materia Orgánica, Importancia y Experiencias de su Uso en la Agricultura. *IDESIA (Chile)*, 24(1), 49–61. <http://doi.org/10.4067/S0718-34292006000100009>
- K.G. Mukerji, C. Manoharachary, J. S. (Eds. .(2006). *Microbial Activity in the Rhizosphere*.
- Kurtzman, C. P., Fell, J. W., Boekhout, T., & Robert, V. (2011). *Methods for isolation, phenotypic characterization and maintenance of yeasts. The Yeasts* (Vol. 1).Elsevier B.V. <http://doi.org/10.1016/B978-0-444-52149-1.00007-0>
- Lisseth, D., Moreno, T., Marina, L., &Forero, L. (2014). Microbial Populations Associated with the Rhizosphere and Phyllosphere Plants of Cape Gooseberry (*Physalisperuviana* L .) Poblaciones microbianas asociadas a la rizósfera y filósfera de plantas de uchuva (*Physalis peruviana* L .), (2), 27–38.
- Lizcano, A., & Herrera, M. C. (2006). Suelos derivados de cenizas volcánicas en colombia. *Rev. Int. de Desastres Naturales, Accidentes E Infraestructura Civil*, 6(2), 167–198. <http://doi.org/Quimica>
- López, R. (2002). *Degradacion del suelo: Causas, procesos, evaluación e investigación*.
- Lugo-Trampe, Á., & Trujillo-Murillo, K. D. C. (2010). *Medicina Universitaria. Medicina*, 12(54), 187–192. Retrieved from www.elsevier.es/en/node/2090153
- Meneses, L. R. (2008). ESTUDIO DE LAS POBLACIONES MICROBIANAS DE LA RIZÓSFERA DEL CULTIVO DE PAPA (*Solanumtuberosum*) EN ZONAS

ALTOANDINAS A STUDY OF POTATO (*Solanumtuberosum*) CROP RHIZOSPHERE
MICROBIAL, 7.

Microbiologia, departamento de. (2013). Laboratorio de microbiología e inmunología 2013, 47–
55.

Fondo Nacional del café. (2014). Variabilidad del suelo en lotes cafeteros.

Olalde, V., & Aguilera, L. (1998). Microorganisms and Biodiversity. *Terra Larinoamericana*, 16,
289–292.

Paterson, R.R.M.; Bridge, P.D (1994). Biochemical techniques for filamentous fungi. IMI
Technical Handbooks N. 1. International Mycological Institute. CAB International.

Ramírez, C. C., De, N. M., Salcido, F., Darío, R., & Cano, P. (2011). De Quitina Y Quitosana,
21(3), 14–23.

Ramos Zapata, J. A. (2004). Microorganismos del suelo. *Técnicas De Muestreo Para
Manejadores De Recursos Naturales*, 508.

Rodríguez, J., Camargo, J., Niño, J., Pineda, a, Arias, L., Echeverry, M., & Miranda, C. (2009).
Valoración de la Biodiversidad en la Ecorregión del Eje Cafetero. *Centro de Investigaciones
Y Estudios En Biodiversidad Y Recursos Genéticos. CIEBREG. Pereira, Colombia*, 237.

Samson, R. & Hoekstra, E. (2000) Introduction to food and airborne
fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht. Sixth edition.

Sierra Lopez, D. (2006). Contribución Al Estudio De Los Ascomicetes Bitunicados De Cataluña.

Acta BotanicaBarcinonensia, 50, 5–434. Retrieved from
http://apps.webofknowledge.com/full_record.do?product=CABI&search_mode=GeneralSearch&qid=1&SID=S1eG2qoMEuTfoRID5ve&page=4&doc=80&cacheurlFromRightClick=no

Usda. (1999). Guía para la Evaluación de la Calidad y Salud del Suelo. *Instituto de Calidad de Suelos, Departamento de Agricultura de Los Estados Unidos*, 88.

Vera, D., Pérez, H., & Valencia, H. (2002). AISLAMIENTO DE HONGOS SOLUBILIZADORES DE FOSFATOS DE LA RIZOSFERA DE ARAZÁ (*Eugenia stipitata*, Myrtaceae). *Acta Biológica Colombiana*, 7(1), 33–40.

<http://doi.org/10.1016/j.riam.2009.03.005>

Vibha, B., & Neelam, G. (2012). Importance of Exploration of Microbial Biodiversity. *ISCA Journal of Biological Sciences*, 1(3), 78–83.

Zhang, C., Liu, G., Xue, S., & Wang, G. (2015). Changes in rhizospheric microbial community structure and function during the natural recovery of abandoned cropland on the Loess Plateau, China. *Ecological Engineering*, 75, 161–171.

<http://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2014.11.059>

Botero, M., Ambosio, P., Velez, P., Castaño, J., & Rivillas, C. (2003). Microorganismos del suelo identificados en un sistema agroforestal ISBN 958-97273 – 5 – 2. Manizales. Corpoica

Izco, J., Barreno, E., Brugués, M., Costa, M., De Vesa, J., Fernandez, F., Gallardo, T., Llimona, X., Prada, C., Talavera, & S., Valdez, V. (2014). *Botanica* 2 edición. Editorial Mc Graw Hill interamericana pag (94) 2014.

Garcia, B. (1974). *Flora nacional de Colombia. Botánica medica 1974. Tomo 3.* Instituto de ciencias naturales Universidad Nacional. Bogotá.c Colombia