

CARACTERIZACIÓN CULTURAL DE DOS CEPAS DE HONGOS PERTENECIENTES A LOS GÉNEROS *BELTRANIA* Y *BELTRANIELLA*, EN DIFERENTES MEDIOS DE CULTIVOS.

Beatriz Ramos García, Rafael F. Castañeda Ruíz, Yarelis Ortiz Núñez, Liuba Plana Pérez, Nirva González López, Mirta Caraballo Fernández, Aliana Sosa León, Irma Marrero Granado, Doris García Vázquez y Rayza Garvey Coronaux.

RESUMEN

En la búsqueda de sustancias naturales, con actividad antifúngica a partir de especies de hongos anamórficos, ubicados en la micoteca del INIFAT, se realizó la caracterización cultural de dos cepas (2432 y 3528), pertenecientes a los géneros *Beltrania* y *Beltraniella*. Para ello se estudió el comportamiento de las mismas en seis medios de cultivo diferentes (Agar-Avena, Agar-Malta, Agar-Zanahoria, Agar-Maíz, Agar-Papa-Dextrosa y Agar-Arroz), bajo iguales condiciones de temperatura y humedad, realizándose mediciones diarias del crecimiento de las colonias. Para la caracterización cultural se evaluaron los siguientes parámetros: color, forma, superficie, bordes y altura. También se determinó a los 13 días la presencia de conidios por observación al microscopio óptico. Los resultados mostraron un mejor desarrollo morfológico en el medio PDA para ambas cepas. El medio de arroz resultó el menos favorable para el crecimiento y desarrollo de las mismas. En cuanto a la producción de conidios la 2432 solo mostró una ligera presencia de estos en el medio de avena, mientras que la 3528 produjo abundantes conidios en este mismo medio y aceptable en los medios de maíz y papa. Estos resultados constituyen un aporte a los estudios encaminados a la obtención de bioproductos de origen microbiano para su uso dentro del manejo agroecológico de plagas.

Palabras clave: caracterización, medio de cultivo, conidios.

Cultural characterization of tow strains belonging to the *Beltrania* and *Beltraniella* genus on different mediums.

ABSTRACT

In the search for natural substances, with antifungal activity of anamorphic fungus species was carried out a cultural characterization of tow strains (2432 and 3528), belonging to the *Beltrania* and *Beltraniella* genus located in the INIFAT micoteca. The aim of this paper was to optimize the production of bioactive substances. During the experiments six different mediums are studied (OA,

Ing. Beatriz Ramos García, especialista del Grupo de Agrobiotecnología del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt", (INIFAT), La Habana, Cuba.e- mail: labhongo4@inifat.co.cu

PDA, MA, CA, Rice and CMA), below equaling conditions of temperature and humidity, being carried out daily mensurations of the growth of the colonies. For the cultural characterization the following parameters were sized: color, forms, surface, borders and height. To the 13 days also It determines the conidiums presence for observation to the optic microscope. The results showed a better morphologic development in the Potato medium for both strains. The means of Rice was the less one favorable for the growth and development of the tow strains. As soon as the conidiums production, the 2432 strain alone it showed a slight presence of these in the Oat means, while the 3528 strain produced abundant in this same medium and acceptable in the Corn and Potato mediums. These results constitute a contribution to the studies guided to the obtaining of bioproducts of microbial origin for their use in the agroecology handling of plagues.

Key words: characterization, culture medium, conidiums.

INTRODUCCIÓN

Los hongos han sido reconocidos como una fuente promisoría de metabolitos secundarios altamente prolifera. Esencialmente se han caracterizado por sus propiedades biológicas, las cuales han sido aplicadas en la salud humana, animal y la protección vegetal (Gamboa *et al.*, 2008). A pesar de su importancia y elevado número han sido poco estudiados, Hawksworth (1993) estima que deben existir aproximadamente 1 500 000 especies. De ellos, solo entre el 8-10 porciento han sido descubiertos y descritos (Abdel-Azeem, 2010). La colección de Cultivos Puros de Hongos del INIFAT registrada desde el 2001 como la 853 de la Federación Mundial de Colecciones de Cultivos (World Federation for Culture Collection (WFCC) posee hoy entre hongos nuevos y pocos comunes 1032 cepas disponibles para ser sometidas a la pesquisa de metabolitos secundarios con posible utilidad en la agricultura por su actividad

fungicida (Castañeda, 2008). Para estos estudios es de gran importancia conocer los tipos de sustratos en los cuales el hongo crece y se desarrolla y las condiciones de hábitat en las cuales al ser sometido muestran diferentes expresiones fenotípicas. Debido a que los diferentes sustratos y hábitats modifican los caracteres del hongo, es importante estudiar cómo es su comportamiento en los diferentes medios y establecer el más adecuado para su estudio. En este trabajo se caracterizaron culturalmente dos cepas de hongos pertenecientes a los géneros *Beltrania* (2432) y *Beltraniella* (3528), las cuales resultan de gran interés por presentar potencial antifúngico (Plana, 2011).

MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Microbiología del INIFAT. Se emplearon las cepas 2432de *Beltrania* y 3528 de *Beltraniella*, conservadas en la colección

del INIFAT (WFCC 853). Las mismas fueron transferidas para su revitalización, a placas de Petri de 9 cm de diámetro que contenían medio PDA, se incubaron en cámara húmeda a 28 °C durante siete días, una vez colonizadas las placas se le realizaron ponches de 0.7 cm por cada cepa sembrada. Los medios de cultivos empleados para estudiar las cepas de hongos fueron: Medio Agar- Avena (OA), Agar-Malta (MA), Agar-Zanahoria (CA), Agar-Maíz (CMA), Agar-Papa-Dextrosa (PDA), y Agar-Arroz (Rice). Para la caracterización cultural se utilizaron placas de Petri de 9cm de diámetro que contenían los diferentes medios de cultivos, se realizaron cinco réplicas por cada medio. Las placas fueron inoculadas centralmente con un disco de 0.7cm de diámetro, proveniente del cultivo revitalizado. Se incubaron a temperatura ambiente que osciló entre 26 y 27 °C y una humedad relativa que varió entre 66-75%, durante 13 días. Se realizaron mediciones diarias del diámetro de las colonias así como la caracterización cualitativa de las colonias sobre la base de indicadores tales como: color del micelio, textura superficial, bordes y estructura interna según criterios establecidos (Fey *et al.*, 1976), a los 10 días de sembradas. Otro factor a que se tuvo en cuenta fue la producción de conidios, evaluando a los 13 días de sembrada la presencia de los mismos, mediante preparaciones microscópicas de las muestras y su observación al microscopio óptico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados mostraron diferencias en la evaluación de los caracteres cualitativos de las colonias en los distintos medios de cultivos empleados. La mayoría de las colonias tienen aspecto filamentosos, este por su posición puede ser profundo y aéreo, el primero se encuentra sumergido en el sustrato desempeñando las funciones de absorción y sostén (micelio vegetativo) y el micelio aéreo que emerge del sustrato donde se desarrolla, siendo este el que da lugar a las hifas o cuerpos fructíferos formadoras de conidios por lo que también se le conoce como micelio reproductivo, dando lugar a la formación de colonias con características típicas de la especie.

Las formas de las colonias variaron, en algunos casos fueron circulares y en otras festonadas. La coloración de la colonia también varió desde blanco, translúcidas hasta el verde olivo oscuro; los bordes oscilaron de regulares a irregulares; la textura mostró un aspecto rugoso en algunos medios y lisa en el resto; la estructura interna varió desde granos muy finos, hasta granos gruesos. La altura de las colonias se comportó de igual forma en los seis medios estudiados. (Tabla 1, Figuras 1 y 2).

Las colonias de las cepas 2432 y 3528 mostraron su mayor crecimiento, en el medio de PDA (Figura 3), el cual es un medio rico en nutrientes y de fácil elaboración. Al poder contar con un medio que acelere el crecimiento de la cepa podemos reducir el tiempo en los estudios encaminados a la

obtención de los bioproductos. De ahí la importancia del estudio de las características de los cultivos in vitro, donde la variación de los nutrientes y las condiciones de incubación

son utilizadas como estrategia para inducir o estimular una mayor producción de compuestos bioactivos (Keller *et al.*, 2005).

Tabla 1. Caracterización cultural de las cepas en los diferentes medios de cultivo.

Cepa	Medio de cultivo	Forma de la colonia	Color del micelio	Bordes	Textura	Estructura interna
2432	Malta	Circular	Verde olivo oscuro	Regulares	Lisa	De granos finos y compacta
	Avena	Festonada	Verde olivo	Irregulares	Lisa	De granos finos con ornamentaciones
	Maíz	Circular	Verde olivo claro	Regulares	Lisa	De granos finos y compacta
	Arroz	Irregulares	Traslucida con centro verde olivo	Irregulares	Lisa	De granos muy finos micelio escaso
	Zanahoria	Circular	Gris Claro	Irregulares	Rugosa	De granos finos y compacta
	Papa	Circular	Pardo Olivo claro con ornamentaciones en gris	Regulares	Rugosa	De granos fino y compacta
3528	Malta	Circular	Blanca translucida	Regulares	Rugosa	De granos gruesos
	Avena	Circular	Verde olivo oscuro	Regulares	Lisa	De granos gruesos
	Maíz	Circular	Traslucida con verde olivo claro	Regulares	Lisa	De granos finos
	Arroz	Irregulares	Traslucida con centro pardo	Irregulares	Lisa	De granos muy finos micelio escaso
	Zanahoria	Circular	Gris claro	Irregulares	Rugosa	De granos gruesos
	Papa	Circular	Pardo Olivo claro con ornamentaciones en gris	Regulares	Rugosa	De granos gruesos

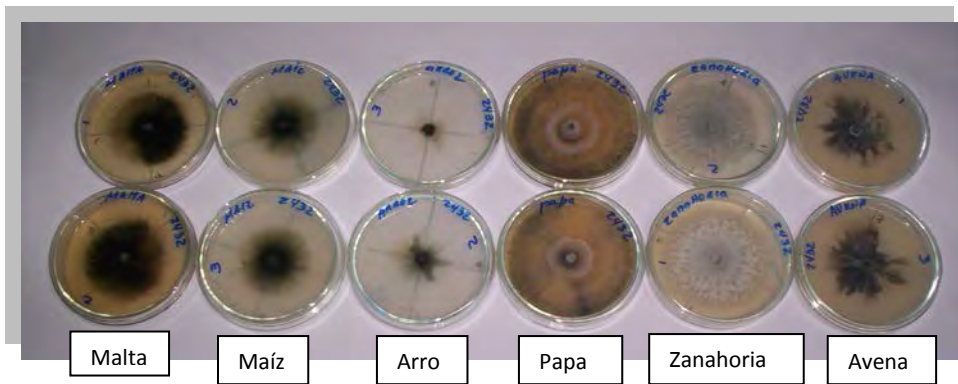


Figura 1. Colonias de la Cepa **2432**, cultivadas en diferentes medios de cultivos

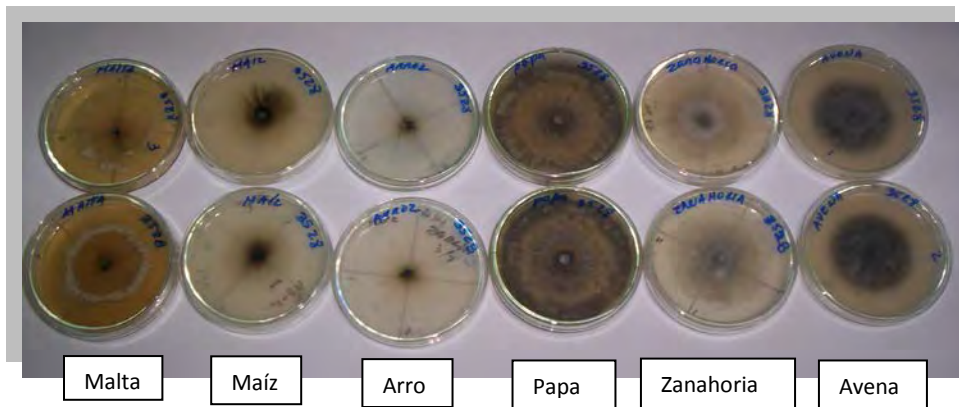


Figura 2. Colonias de la Cepa **3528**, cultivadas en diferentes medios de cultivos

La presencia de conidios y sus células conidiogénicas, son características básicas que se utilizan para la identificación de los hongos y la determinación del género y especie, sin la presencia de estas estructuras no es imposible realizar los trabajos de identificación y selección de dichas cepas, de ahí la importancia de estas estructuras.

El comportamiento de la producción de conidios se evaluó mediante la observación al microscopio óptico, mostrando resultados positivos en las colonias sembradas en medio de avena para la 2432 y para la 3528 en los

medios de avena, maíz, papa y zanahoria (Tabla 2).

De estos resultados podemos definir que el medio de cultivo más adecuado para los estudios con dichas cepas es el medio de PDA. El estudio de estos géneros resulta de gran interés ya que han sido reportados por sus propiedades antimicrobianas. (Reyes *et al.*, 2008; Plana, 2008).

CONCLUSIONES

- El medio de papa fue el más adecuado para la expresión morfológica de las cepas 2432 y 3528.

- El medio de avena es el único que propició la producción de conidios en la cepa 2432.
- La cepa 3528 produjo conidios en los medios de Avena, Zanahoria, Maíz y Papa.

- El medio de Arroz no debe ser utilizado para el trabajo con las cepas 2432 y 3528.

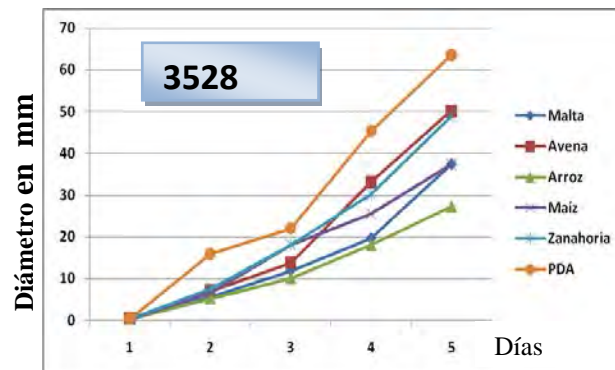
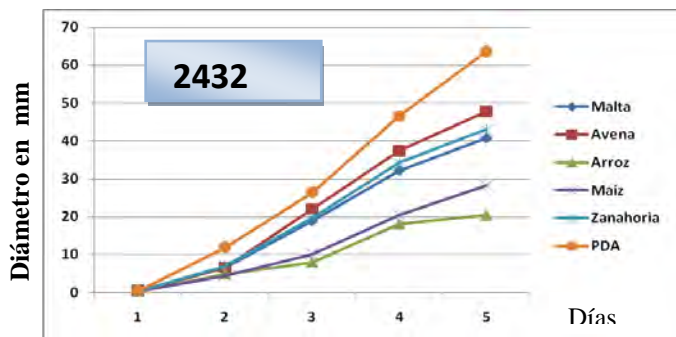


Figura 3. Cinética de crecimiento diario de las colonias de las cepas 2432 y 3528, en los diferentes medios de cultivos.

Tabla 2. Producción de conidios a los 13 días de sembrada las tres cepas, en los diferentes medios de cultivos.

Cepa	2432	3528
Medio de Cultivo	Producción de conidios	
Agar-Malta	No produjo	No produjo
Agar-Avena	Escasos	Abundantes
Agar-Maíz	No produjo	Produjo
Agar-Arroz	No produjo	No produjo
Agar-Zanahoria	No produjo	Escasos
Agar-Papa	No produjo	Produjo

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abdel-Azeem, A. M. (2010): The history, fungal biodiversity, conservation, and future perspectives for mycology in Egypt. IMA Fungus 1(2): 123-142.

Bernal, A., B. Martínez y M. Díaz. (2005): Caracterización cultural de tres aislamientos de *Cladosporium fulvum* Cooke. Centro Agrícola, año 32. No. 3- jul-sep. Pp93-95.

- Castañeda, R.F. (2008): Una visión de los hongos anamórficos. Congreso Internacional de Micología, Argentina, 2008.
- Daza, P. (2001): Evaluación de la capacidad biotransformadora de la cepa nativa *Aspergillus niger* sobre la Voacangina e identificación de metabolitos secundarios. Universidad Javeriana, facultad de ciencias. Maestría de microbiología industrial. Bogotá.
- Fey, D., R. J. Oldfield and R.C. Bridger. (1976): A colour atlas of pathogenic fungi. Edit Barry. G. Wolfe Medical Publication Ltd., London, 168pp.
- Gamboa, M.M., y de la Rosa, S. (2008): Potencial biológico y creatividad química de los hongos microscópicos del Trópico Americano. En: Heredia, G. (Ed). Tópicos sobre biodiversidad, ecología y usos de los hongos microscópicos en Iberoamérica. Parte III, Cap. 13, México, pp.254-272.
- Hawksworth, D.L. (1993): The tropical fungal biota: census, pertinence, prophylaxis, and prognosis. En S. Isaac, J.C. Frankland, R. Watling and A.J.S Whalley. Aspects of tropical Mycology Cambridge University Press. Cambridge, pp 256-293.
- Keller, N.P., Turner, G. and Turner, J.W. (2005): Fungal secondary metabolism— from biochemistry to genomics. Nature Reviews Microbiology 3: 937–947.
- Plana, L., Castañeda, R.F., Ortíz, Y., González, N., Caraballo, M., Ramos, B. and Sosa, A. (2009): Fracciones metabólicas con actividad fungicida de 4 cepas de hongos de los géneros *Beltraniella* y *Trimmatostroma*. XVIII Congreso Italo-Latunoamericano de Etnomedicina. VIII Taller Internacional Química de los Productos Naturales. 390 pp.
- Reyes, M., Heredia, G. y Gamboa, M. M. (2008): Biological profile of anamorphic fungi from southeast Mexico. *Rev. Mex. Mic* [online]. Vol.28, n.spe, pp. 49-56. ISSN 0187-3180.

Fecha recibido: 28 de febrero de 2014.

Fecha aceptado: 19 de septiembre de 2014.