

# ANALISIS DE LA METODOLOGIA EMPLEADA EN EL AISLAMIENTO DE HONGOS EN SUELOS DE LA REGION INTERSERRANA (Partido de Coronel Suárez)

Marta N. Cabello

Instituto de Botánica "Spegazzini", 53 N° 477. 1900. La Plata

## INTRODUCCION

Los métodos utilizados para el estudio de los hongos del suelo han ido variando en el transcurso del tiempo. El método de dilución fue ampliamente usado para el aislamiento y enumeración de especies fúngicas que formaban la comunidad en muestras de suelo.

Warcup (1950) introdujo el método de placas de suelo que representa una rápida y fácil variante del anterior.

Sin embargo la mayoría de los hongos aislados con el empleo de las mencionadas técnicas no proveen información de las especies presentes en el suelo en estado metabólico activo dado que las colonias desarrolladas proceden de esporas u otros propágulos (Warcup, 1957).

Con el objeto de aislar los hongos presentes en el suelo como micelio activo, Williams *et al.* (1965) idearon el método de lavado de suelos. Esta técnica involucra lavados en series, de pequeñas muestras de suelo, los que remueven gran número de esporas.

En recientes estudios de hongos de suelo en nuestro país se han usado los métodos de dilución (Gasoni y Rimolo, 1983) y de lavado de suelos (Godeas, 1983; Cabello, en prensa).

Con la presente contribución se pretende dar a conocer un amplio espectro de especies fúngicas las cuales fueron aisladas de 3 suelos de la región interserrana mediante el empleo de 6 técnicas diferentes y mostrar, además, la ventaja que ofrece el método de lavado de suelos en relación al mayor número de hongos obtenidos con su aplicación.

## MATERIALES Y METODOS

La descripción del área de muestreo fue hecha en una contribución anterior (Cabello, 1983).

Las muestras de suelo fueron procesadas en el laboratorio utilizando las siguientes metodologías: a) inoculación directa (Waksman, 1916); b) dilución de suelos (Waksman, 1927; Garret, 1951); c) placas de sue-

lo (Warcup, 1950), d) lavado de suelos (Parkinson y Williams, 1961; Hering, 1966); e) obtención de hongos de raíces y detritos vegetales (Harley y Waid, 1955); f) aislamiento de hongos celulolíticos (técnica ideada por Verona y Lipidi según Cabral y Kerschen, 1977).

Los medios de cultivo utilizados fueron: Czapek-Dox, agar harina de maíz (CM), agar malta y agar papa glucosado (APG) (fórmulas según Aisworth, 1971).

## RESULTADOS Y DISCUSION

En la tabla 1 se muestra el número de cepas que se obtuvo como resultado de la aplicación de las diferentes técnicas de aislamiento. De un total de 2374 cepas aisladas en los 3 suelos el 80% de las mismas se aisló con el uso de la técnica de lavado. El método de inoculación directa fue el que dio menor resultado ya que mediante su empleo no se aislaron cepas en el suelo Argiudol ni en el Hapludol aislándose únicamente 7 en el Natracuol.

TABLA 1: Número de cepas aisladas en tres suelos usando distintas técnicas de aislamiento

Tipo de suelo	Natracuol	Argiudol	Hapludol
<b>Metodología</b>			
Inoculación directa	7	0	0
Método de dilución	37	40	70
Método de placas	40	95	40
Método de lavado	487	521	909
Método para el aislamiento de hongos celulolíticos	15	20	20
Método de obtención de hongos de raíces y detritos vegetales	28	30	15
TOTALES	614	706	1054

En la tabla 2 se pueden observar las especies que se aislaron en los 3 suelos con la aplicación de las diferentes técnicas.

La mayor parte de los Zygomycetes fue aislada por el método de lavado, de placas y algo menos por dilución.

La mayoría de los Hyphomycetes se aisló por el método de lavado pero especies como *Arthrobotrys*

*conoides*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Curvularia pallescens*, *Drechslera halodes*, *Drechslera indica*, *Drechslera psorokiniana*, *Fusarium aquaeductum*, *Metarhizium anisopliae*, *Myrothecium leucotrichum*, *Stachybotrys chartarum* y *Trichotecium roseum* no hubieran sido aislados de no haberse utilizado el método de dilución y placas entre otros. Esto no quiere decir que no sea posible aislarlas por el método de lavado.

TABLA 2: Especies aisladas en relación con la metodología empleada.

Los numeros de las columnas se refieren a:

- 1- Método de inoculación directa.
- 2- Método de dilución directa.
- 3- Método de placas de suelo.
- 4- Método de lavado de suelo.
- 5- Método de aislamiento de hongos celulolíticos.
- 6- Aislamiento de hongos de raíces y detritos vegetales.

METODOLOGIA	1	2	3	4	5	6
<b>ORGANISMOS</b>						
<b>Zygomycetes</b>						
1. <i>Absidia californica</i>				x		
2. <i>Absidia cylindrospora</i>	x	x	x	x		
3. <i>Absidia spinosa</i>			x	x		
4. <i>Coemansia pectinata</i>			x	x		
5. <i>Cunninghamella elegans</i>			x	x		
6. <i>Gongronella butleri</i>		x	x	x		
7. <i>Mortierella alpina</i>				x		
8. <i>Mortierella bainieri</i>	x	x	x		x	
9. <i>Mortierella sp.</i>				x		
10. <i>Mucor hiemalis</i>	x	x	x	x		x
11. <i>Mucor sp.</i>	x	x	x			x
12. <i>Rhizopus nigricans</i>	x	x	x	x		x
13. <i>Syncephalastrum racemosum</i>				x		
14. <i>Zygorhynchus moelleri</i>		x	x			
<b>Hyphomycetes</b>						
15. <i>Acremonium butyri</i>		x	x	x		
16. <i>Acremonium kiliense</i>			x	x	x	x
17. <i>Acremonium terricola</i>				x		
18. <i>Acremonium A11</i>				x	x	
19. <i>Acremonium A20</i>				x		
20. <i>Acremonium A22</i>				x		
21. <i>Acremonium A26</i>				x		
22. <i>Acremonium A38</i>				x		
23. <i>Alternaria alternata</i>		x	x	x	x	
24. <i>Arthrinium phaeospermum</i>				x		
25. <i>Arthrobotrys conoides</i>			x		x	
26. <i>Aspergillus flavus</i>		x		x		
27. <i>Aspergillus fumigatus</i>		x	x	x	x	

TABLA 2 (continuación)						
28. <i>Aspergillus niger</i>		x			x	
29. <i>Aspergillus terreus</i>		x	x		x	
30. <i>Aspergillus ustus</i>					x	
31. <i>Botrytis cinerea</i>					x	
32. <i>Chrysosporium</i> sp1					x	
33. <i>Chrysosporium</i> sp2					x	
34. <i>Cladosporium cladosporioides</i>		x	x		x	
35. <i>Cladosporium sphaerospermum</i>		x				
36. <i>Curvularia lunata</i>			x		x	
37. <i>Curvularia pallescens</i>		x				
38. <i>Cylindrocarpon candidum</i>					x	
39. <i>Cylindrocarpon didymum</i>			x		x	x
40. <i>Cylindrocarpon obtusisporum</i>					x	
41. <i>Doratomyces asperulus</i>			x		x	
42. <i>Drechslera halodes</i>			x			
43. <i>Drechslera indica</i>			x			
44. <i>Drechslera psorokiniana</i>			x			
45. <i>Epicoccum purpurascens</i>					x	
46. <i>Exophiala</i> A45					x	
47. <i>Exophiala</i> sp.					x	
48. <i>Fusarium acuminatum</i>					x	
49. <i>Fusarium aquaeductum</i>		x				
50. <i>Fusarium avenaceum</i>					x	
51. <i>Fusarium aff. dimerum</i>		x	x		x	
52. <i>Fusarium heterosporum</i>					x	
53. <i>Fusarium lateritium</i>					x	
54. <i>Fusarium oxysporum</i>	x	x	x		x	x
55. <i>Fusarium semitectum</i>		x	x		x	
56. <i>Fusarium solani</i>					x	
57. <i>Geomyces pannorum</i>					x	
58. <i>Geotrichum candidum</i>					x	
59. <i>Gliocladium roseum</i>		x	x		x	x
60. <i>Gliomastix murorum</i>		x	x		x	
61. <i>Gonytrichum macrocladum</i>					x	
62. <i>Humicola fuscoatra</i>		x	x		x	
63. <i>Humicola grisea</i>					x	
64. <i>Idriella lunata</i>			x		x	
65. <i>Metarhizium anisopliae</i>		x				
66. <i>Monocillium indicum</i>					x	
67. <i>Myrothecium cinctum</i>		x	x		x	
68. <i>Myrothecium leucotrichum</i>		x			x	
69. <i>Myrothecium verrucaria</i>			x		x	
70. <i>Nematoctonus</i> sp.					x	
71. <i>Paecilomyces lilacinus</i>			x		x	x
72. <i>Paecilomyces marquandii</i>					x	
73. <i>Paecilomyces</i> sp.					x	
74. <i>Papulaspora sepedonioides</i>					x	
75. <i>Phialospora</i> sp1					x	
76. <i>Phialospora</i> sp2					x	
77. <i>Penicillium decumbens</i>			x		x	x
78. <i>Penicillium expansum</i>					x	
79. <i>Penicillium funiculosum</i>			x		x	x
80. <i>Penicillium megasporum</i>					x	
81. <i>Penicillium pulvillorum</i>		x	x		x	x
82. <i>Penicillium thomii</i>		x	x		x	
83. <i>Penicillium varians</i>		x	x		x	x
84. <i>Penicillium</i> A7					x	
85. <i>Penicillium</i> A30					x	
86. <i>Penicillium</i> A41					x	
87. <i>Penicillium</i> H5					x	

TABLA 2 (continuación)						
88. <i>Penicillium</i> N45					X	
89. <i>Penicillium</i> N65					X	
90. <i>Periconia macrospinoso</i>					X	X
91. <i>Rhinochadiella atrovirens</i>					X	
92. <i>Rhinochadiella spinifera</i>					X	
93. <i>Scytalidium lignicola</i>					X	
94. <i>Stachybotrys chartarum</i>		X	X			X
95. <i>Trichoderma aureoviride</i>		X			X	
96. <i>Trichoderma hamatum</i>		X	X		X	X
97. <i>Trichoderma harzianum</i>		X	X		X	X
98. <i>Trichoderma koningii</i>		X	X		X	X
99. <i>Trichoderma polysporum</i>			X		X	X
100. <i>Trichoderma saturnisporum</i>					X	
101. <i>Trichoderma viride</i>					X	
102. <i>Trichothecium roseum</i>			X			
103. <i>Verticillium nigrescens</i>					X	
104. <i>Verticillium psalliotae</i>					X	
105. <i>Verticillium tenerum</i>			X		X	
106. <i>Volutella ciliata</i>			X		X	X
107. <i>Wardomyces inflatus</i>					X	
<b>Coelomycetes</b>						
108. <i>Libertella</i> sp.					X	
109. <i>Microsphaeropsis olivacea</i>			X		X	
110. <i>Pestalotiopsis guepini</i>			X			
111. <i>Phoma</i> sp.					X	
112. <i>Robillarda</i> sp.					X	
113. <i>Truncatella angustata</i>			X		X	
<b>Ascomycetes</b>						
114. <i>Aphanoascus</i> sp.					X	
115. <i>Chaetomium globosum</i>					X	X
116. <i>Chaetomium indicum</i>					X	X
117. <i>Chaetomium udagawae</i>			X			
118. <i>Gelasinospora reticulisporea</i>			X			
119. <i>Gyomoascus roseus</i>					X	
120. <i>Melanospora argentinensis</i>		X	X			
121. <i>Melanospora</i> sp.					X	
122. <i>Microthecium ciliatum</i>			X			
123. <i>Neocosmospora africana</i>					X	
124. <i>Podospora</i> sp.			X			
125. <i>Sordaria fimicola</i>			X		X	
126. <i>Thielavia terricola</i>			X			
127. <i>Thielavia terricola</i> var. <i>minor</i>			X		X	
<b>Basidiomycetes</b>						
128. <i>Limnoperdon incarnatum</i>					X	
129. <i>Sistotrema</i> sp.					X	
<b>Micelios estériles</b>						
130. Micelio estéril cenocítico	X	X	X	X		
131. Micelio estéril dematiáceo			X	X		X
132. Micelio estéril hialino				X		X
133. Micelio estéril N3				X		
<b>TOTALES</b>	<b>7</b>	<b>36</b>	<b>60</b>	<b>113</b>	<b>21</b>	<b>13</b>

De las 6 especies de Coelomycetes 5 fueron aisladas por el método de lavado.

Las 2 metodologías más eficaces para el aislamiento de Ascomycetes fueron placas y lavado de suelos, mientras que esta última técnica resultó ser la única que permitió el aislamiento de las 2 especies de Basidiomycetes: *Sistotrema* sp. y *Limnoperdon incarnatum*.

El número total de organismos aislados, 133, resulta superior al número encontrado por Godeas (1983) quien aisló 48 especies en suelos de bosque.

Algunas de las cuales no se habrían aislado con el uso exclusivo de esta metodología; resulta indispensable la aplicación de muchas técnicas si se desea obtener un panorama completo de la micoflora de suelos.

De un total de 133 organismos aislados el mayor número corresponde a los Hyphomycetes los que representan el 69.92% del total; los Ascomycetes y los Zygomycetes representan el 10.52% ; los Coelomycetes el 4.51% y los Basidiomycetes el 1.5% . Se registró un 3% de micelios estériles.

### CONCLUSIONES

El método de lavado demostró ser más adecuado para el aislamiento de especies fúngicas del suelo aunque no deben menospreciarse los restantes métodos que también aportaron buen número de especies, al-

### AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi agradecimiento a la Dra. Irma Gamundí de Amos y a la Dra. Angélica M. Arambarri de Tournier por sus valiosas sugerencias y la lectura crítica de este manuscrito.

### REFERENCIAS

- Ainsworth, G.C., 1971. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi. 6<sup>o</sup> ed., Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey. 663 pp.
- Cabello, M.N., 1983. Micoflora del suelo de la región interserrana (Partido de Coronel Suárez, Provincia de Buenos Aires). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 22: 7-20.
- Cabral, D y P. Kerschen, 1977. Micoflora del suelo de la Argentina. VII. Nueva especie del género *Chaetobolisia* Speg. (Spaeropsidales). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 18:115-120.
- Garret, S.D., 1951. Ecological groups of soil fungi: a survey of substrate relationships. *New Phytol.* 50:149-166.
- Gasoni, L. y M. Rimolo, 1983. Evolución de la micoflora en campos anegables de la Pampa Deprimida. *Ciencia del Suelo* 1: 197-203.
- Godeas, A.M., 1983. Estudio cuali y cuantitativo de los hongos del suelo del bosque de *Nothofagus dombeyi*. *Ciencia del Suelo* 1. 21-31.
- Harley, J.L. y J. S. Waid, 1955. A method of studying mycelia on living roots and other surfaces in the soil. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 38: 104-118.
- Hering, T.F., 1966. An automatic soil washing apparatus for fungal isolation. *Plant and Soil* 25: 195-200.
- Parkinson, D y S. T. Williams, 1961. A method for isolating fungi from soil microhabitats. *Plant and Soil* 13: 347-355.
- Waksman S.A., 1916. Soil fungi and their activities. *Soil Science* 2: 103-156.
- Waksman, S. A., 1927. *Principles of soil microbiology*. Williams & Williams Co. Baltimore.
- Warcup, J. H., 1950. The soil plate method for isolation of fungi from soil. *Nature (London)* 166: 117-118.
- Wařcup, J.H., 1957. Studies on the occurrence and activity of fungi in a wheat field soil. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 40: 237-262.
- Williams, S.T., D. Parkinson & N.A. Burges, 1965. An examination of the soil washing technique by its application to several soils. *Plant and Soil* 22: 167-186.