

Aislamiento e Identificación de Microhongos Terrestres de Punta Fort William, Antártida

N. I. Ordóñez, A. Ordóñez, W. B. Cárdenas,
Laboratorio de Biomedicina, FIMCM, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Km. 30.5 vía Perimetral,
Guayaquil, Ecuador, niordone@espol.edu.ec, asordone@espol.edu.ec, wbcarden@espol.edu.ec

Resumen

Microhongos terrestres fueron aislados de seis muestras de suelo de Punta Fort William, Isla Greenwich, recolectadas durante el verano antártico del 2008. Los aislados fueron clasificados en psicrófilos o psicotrofos de acuerdo a su crecimiento en 4 °C o 25 °C, respectivamente. Se obtuvieron un total de 269 aislados que se catalogaron en 6 géneros: Geomyces (36,6%), Antarctomyces (26%), Thelebolus (12%), Mucor (24,2%), Mrakia (0,7%) y Cladosporium (0,4%). De los géneros identificados, sólo Geomyces y Cladosporium mostraron crecimiento a 25 °C. Los géneros Geomyces y Antarctomyces fueron los taxones más frecuentes.

Palabras Claves: *Antártida, Microhongos Terrestres, Psicrófilos, Isla Greenwich.*

Abstract

Terrestrial microfungi were isolated from six soil samples from Punta Fort William, Greenwich Island collected during the Antarctic summer of 2008. The isolates were classified into psychrophiles or psychrotrophs based on their ability to grow at 4 °C or 25 °C, respectively. A total of 269 isolates were obtained and grouped into 6 genera: Geomyces (36,6%), Antarctomyces (26%), Thelebolus (12%), Mucor (24,2%), Mrakia (0,7%) and Cladosporium (0,4%). Among the identified genera, only Geomyces and Cladosporium showed growth at 25 °C. Geomyces and Antarctomyces were the most frequent taxa.

Keywords: *Antarctica, Terrestrial Microfungi, Psychrophile, Greenwich Island.*

1. Introducción

Se estima que de 1,5 millones de especies de hongos existentes en el mundo, tan solo cerca del 5% han sido descritas, y en un número más reducido (0,3%) se ha estudiado su actividad biológica [1]. Los hongos son de gran importancia para el ecosistema y tienen variadas aplicaciones biotecnológicas en la salud, industria, agricultura y como fuentes de nuevas enzimas. [2].

Los microhongos están presentes en casi todos los ecosistemas y cumplen con muchas funciones ecológicas importantes, particularmente están asociados con el ciclo del carbono [3], además en la descomposición y mineralización de nutrientes de material orgánico, y sus funciones incluyen la volatilización del hidrógeno y oxígeno, la reducción en volumen de la materia orgánica, la fragmentación de las macromoléculas y el incremento de la homogeneidad del sustrato, favoreciendo así la asimilación de nutrientes por organismos detritívoros [4]. De igual manera, los hongos favorecen el crecimiento y nutrición de las plantas [5, 6, 7].

Las condiciones ambientales extremas de la Antártida, que incluyen bajas temperaturas, escasa precipitación pluviométrica en la gran meseta interior, fuertes e incesantes vientos y dramáticos efectos estacionales [8], constituyen un reto para el desarrollo de microorganismos. Dichas condiciones obligaron a las diferentes especies actualmente presentes en el continente blanco a desarrollar mecanismos de protección a través de un proceso largo de adaptación [9].

Durante las dos últimas décadas, ha existido un gran interés por estudiar a los microorganismos adaptados a climas fríos, generalmente conocidos como psicrófilos, el principal motivo es que son una fuente potencial de extremo-enzimas con un gran valor biotecnológico. [2, 9, 10]. La mayoría de los microhongos que son capaces de crecer a bajas temperaturas tienen adaptaciones especiales en sus enzimas, membranas y otros componentes celulares, que les permiten tener tasas de crecimiento comparables a la de los organismos mesófilos en climas cálidos [11]. Estas incluyen incremento en la concentración de trehalosa tanto en las esporas como en las células [12], aumento

en la concentración de polioles en la membrana [13] y la secreción de proteínas y enzimas anti-congelantes [14].

La Punta Fort William está localizada en la Isla Greenwich, la cual forma parte del conjunto de Islas Shetland del Sur ($62^{\circ} 27'$ de latitud Sur y $59^{\circ} 42'$ de longitud Oeste), ubicadas en la región conocida como Antártida Marítima [15]. El verano antártico es relativamente corto, empieza a finales de Diciembre y se extiende hasta Marzo. Durante este período climático existe una intensa actividad biológica [16].

El presente estudio tiene como objetivo crear una línea base de los microhongos terrestres presentes en Punta Fort William, que servirá para realizar estudios comparativos interanuales de las comunidades microfúngicas y aislar cepas para posteriores estudios fisiológicos y moleculares, además de investigar su potencial antimicrobiano frente a organismos patógenos.

2. Materiales y Métodos

El área de estudio comprende el sector de la península Punta Fort William (Isla Greenwich, Antártida), donde se encuentra la Estación Científica Pedro Vicente Maldonado. El muestreo se lo realizó durante el verano antártico del 2008.

Los microhongos presentes en el suelo (0,1 a 0,3 g) fueron aislados por el método de Warcup (1950) [17], en medio sólido de patata-dextrosa agar (PDA) con cloranfenicol (100 ug/mL). Luego de 7 a 12 días de incubación a 4°C , se procedió a aislar las cepas, a 4°C y 25°C para discriminar entre psicrófilos y psicrotrofos, respectivamente. Las cepas se preservaron en tubos de ensayo con PDA y cloranfenicol (100 ug/mL) a 4°C , para futuras investigaciones. La identificación a nivel de género de los diferentes aislados se basó en observaciones de sus características microscópicas y macroscópicas, ayudados de manuales y artículos publicados con claves taxonómicas.

2.1 Recolección de Muestras

Se trazó una transecta lineal denominada GIT1 (Isla Greenwich-Transecto1) a lo largo del área de Punta Fort William, con una longitud de 0.91 km.

A lo largo de la transecta GIT1 se recolectaron 6 muestras de suelo cuya ubicación se detalla en la Fig. 1 y Tabla 1. En cada sitio se recolectaron cinco réplicas en un radio de 5 m al punto georeferenciado del sitio de muestreo. Los primeros 10 cm de suelo de cada réplica se recolectaron con una espátula estéril, luego las réplicas se mezclaron y cernieron con un tamiz de ojo de malla de 2mm. Finalmente se guardaron en fundas estériles de polietileno (Whirl-Pack) y se las

conservó a 0°C hasta su análisis en el laboratorio. Las muestras se etiquetaron con el nombre de la transecta y la distancia del sitio de muestreo con respecto al punto de inicio (i.e. GT1-0). Además se registró la hora, fecha, posición geográfica y temperatura del suelo en los diferentes puntos de muestreo.



Fig. 1. Posición de la transecta lineal GIT1 y de los puntos de muestreo en Punta Fort William, Isla Greenwich. La ubicación de la estación PEVIMA está señalada con un círculo. Fuente: la transecta fue sobrepuesta sobre una imagen obtenida de Google EarthTM

Tabla 1. Posición geográfica de los sitios de muestreo en Punta Fort William, Antártida.

MUESTRAS DE SUELO	LATITUD	LONGITUD
GIT1-0	S $62^{\circ}26'56.2''$	O $59^{\circ}43'35.0''$
GIT1-205	S $62^{\circ}27'00.5''$	O $59^{\circ}44'01.3''$
GIT1-500	S $62^{\circ}27'01.3''$	O $59^{\circ}44'09.1''$
GIT1-700	S $62^{\circ}27'04.6''$	O $59^{\circ}44'20.7''$
GIT1-800	S $62^{\circ}27'07.2''$	O $59^{\circ}44'75.3''$
GIT1-972.5	S $62^{\circ}27'09.5''$	O $59^{\circ}44'33.1''$

3. Resultados y discusión.

Se recuperó un total de 269 aislados, agrupados en 6 géneros: *Geomyces* (36,6%); *Antarctomyces* (26%), donde se propusieron dos variantes *Antarctomyces* sp1 y *Antarctomyces* sp2 según la forma redonda o elipsoidal de sus ascos; *Thelebolus* (12%), se identificó a *T. microsporius* (Berk. & Broome) Kimbr. 1967, además dos aislados fueron relacionados a esta familia: Asco sp1 y Asco sp2; *Mucor* (24,2%) se definió tres variantes *Mucor* sp1, *Mucor* sp2 y *Mucor* sp3, según la apariencia de sus estructuras reproductoras; *Mrakia frigida* (0,7%) y *Cladosporium sphaerospermum* (0,4%) (Fig. 2).

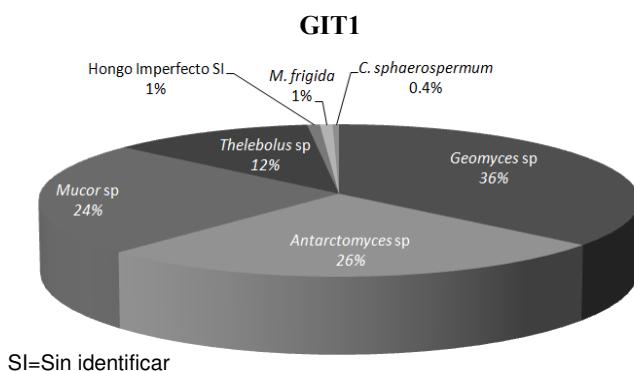


Fig. 2 Porcentaje de Ocurrencia de los diversos aislados para las seis muestras de suelo.

Se midió el diámetro más largo de las esporas de cada uno de los aislados, utilizando el programa Motic Image Plus, y una cámara de microscopio (Moticam 480), evidenciándose que las esporas con mayor tamaño están relacionadas al género *Thelebolus*, en especial a la variante denominada Asco sp1, cuyo rango para sus ascosporas se encontró entre 9,11 y 7,13 μm . Mientras, que las angiosporas del género *Mucor*, se ubican entre las más pequeñas, con 3,61 y 2,91 μm (Fig. 3).

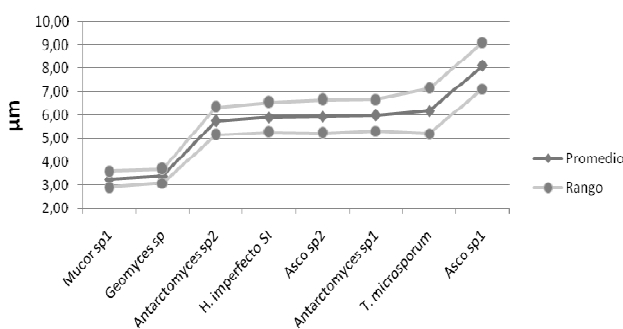


Fig. 3 Comparación del tamaño de las esporas de los aislados encontrados.

El género *Geomyces* que representa el 36,6 % de los aislados, fue reportado en 17 réplicas de 5 muestras de suelo, siendo más frecuente en GIT1-700, GIT1-0 y GIT1-500, no fue reportado para la muestra GIT1-800. El género *Antarctomyces* se lo encontró en 15 réplicas de 5 muestras de suelo, principalmente en GIT1-0 y GIT1-500, con la excepción de GIT1-205. El género más frecuente entre todas las réplicas fue *Mucor* aunque solo fue reportado para 4 muestras de suelo. De igual manera otro género frecuente resultó ser *Thelebolus* reportado en 17 réplicas de 4 muestras de suelo. Otro resultado interesante es que la muestra GIT1-700 reporta la mayor frecuencia de géneros, cinco en total, y estos incluyen a: *Geomyces*, *Antarctomyces*, *Mucor*, *Mrakia* y *Cladosporium*. No se reportaron menos de tres géneros por muestra. (Tabla 2).

4. Conclusiones

Los microhongos psicrófilos predominaron entre las muestras de suelo analizadas, pero a su vez se encontró que *Geomyces*, el género más frecuente y con mayor porcentaje de ocurrencia, fue psicrotrofo. Esta presencia de microhongos psicrófilos y psicrotrofos es común dentro del ambiente antártico [11]. De los 6 géneros reportados, además de la cepa no identificada, solo en dos de ellos *Geomyces* y *Cladosporium* se encontró crecimiento a 25 $^{\circ}\text{C}$, por lo que se podrían tratar de microorganismos psicrotrofos. Para los géneros *Antarctomyces*, *Thelebolus*, *Mucor* y *Mrakia* solo se reportó crecimiento a 4 $^{\circ}\text{C}$, lo mismo ocurrió para la cepa no identificada, por lo que se los cataloga como microorganismos psicrófilos.

5. Agradecimientos

Un especial agradecimiento al Instituto Antártico Ecuatoriano (INAE) por patrocinar este estudio, al Dr. Muñoz por prestarnos sus equipos y al Programa de Investigación Antártico de Malasia por darnos la oportunidad de ser parte de su proyecto. Finalmente, a todos los integrantes de la XIII Expedición Científica del Ecuador a la Antártida.

6. Referencias

- [1] Hawksworth, D. L. "The fungal dimensión of biodiversity: magnitude, significance and conservation". *Mycological Research*, 1991, pp. 641-655.
- [2] Margesin R., Schinner F. "Biotechnological Applications of Cold-Adapted Organisms". Springer Verlag, Berlin, 1999, p. 338.

- [3] Christensen, M. "A view of fungal ecology". *Mycologia*, 1989, Vol. 81: pp. 1-19.
- [4] Allegrucci, N., Cazau, C., Cabello N., y Angélica M. "Análisis de las Comunidades de Microhongos de la Hojarasca de *Scutia buxifolia* (Rhamnaceae) en el Este de la Provincia de Buenos Aires, Argentina". *Darwiniana*, 2005, Vol. 43: pp. 1-9.
- [5] Stewart, W. "The importance to sustainable agriculture of biodiversity among invertebrates and microorganisms". *The biodiversity of microorganisms and invertebrates: Its role in sustainable agriculture*. Redwood Press, Melksham, UK, 1991, p. 328.
- [6] Tate, R. L. III. *Soil Microbiology*, Second Edition, Edit. John Wiley and Sons, Inc., NY, 2000, pp. 508.
- [7] Luna, M., Vega, C., Franco, M. O., Vásquez, S., Trujillo, N., Ramírez, E. y Dendooven, L. Actividad microbiana en suelos, *Avance y perspectiva*, 2002, Vol. 21, pp. 328-332.
- [8] Retamales, J. La antártica nuestra. Una introducción a su conocimiento. Instituto Antártico Chileno. 2006, pp. 23-33.
- [9] Russell, N. Antarctic micro-organisms: coming in from the cold. *Culture*. Imperial College London, UK. Vol. 27 No. 2. Septiembre 2006, pp. 1-4.
- [10] Margensin, R., y Schinner, F. "Properties of cold-adapted microorganisms and their potential role in biotechnology". *Journal of Biotechnology*. 1994. Vol. 33. Pp. 1-14.
- [11] Robinson, C., Cold adaptation in Arctic and Antarctic fungi. *New Phytologist*. 2001. Pp. 341-353.
- [12] Lewis, DH., & Smith, DC. Sugar alcohols (polyols) in fungi and green plants I. Distribution, physiology and metabolism. *New Phytologist*. Vol. 66. 1967. Pp. 143-184.
- [13] Cooke, RC., & Whipps, JM. *Ecophysiology of fungi*. Oxford. UK:Blackwell. 1993. Pp. 123-127.
- [14] Gómez, J. & Steiner, W. The Biocatalytic Potential of Extremophiles and Extremozymes. *Food Technol. Biotechnol.* Vol. 42. 2004. Pp. 223-235.
- [15] Serrano, E. "Hielo, montañas, mar y fauna: El turismo en las islas Shetland del Sur (Antártida marítima)". *RGA*, 2004, pp. 9-23.
- [16] Antezana, T., Ray, K. y Morales, C. "Ecosistema Antártico: naturaleza, efecto y conservación". Universidad de Concepción. *AMB. y DES*. 1984. Vol. 1. N° 1. Pp. 147-151.
- [17] Warcup, J. H. "The soil plate method of isolation of fungi from soil". *Nature*, 1950, Lond. Vol. 166, p. 117.

Tabla 2. Frecuencia de ocurrencia de los diferentes géneros aislados.

Muestra de Suelo	Géneros						
GIT1	<i>Geomyces</i>	<i>Antarctomyces</i>	<i>Mucor</i>	<i>Thelebolus</i>	<i>Mrakia</i>	Hongo Imperfecto SI	<i>Cladosporium</i>
0	++++	+++++	-	+++++	-	++	-
205	++	-	++++	+++	-	-	-
500	++++	++++	+++++	++++	-	-	-
700	+++++	+	++++	-	+	-	+
800	-	+++	+++++	+++	-	-	-
972,5	++	++	-	++	-	-	-
Ocurrencia del Género en las 30 replicas	17	15	18	17	1	2	1
Ocurrencia del Género en las 6 muestras	5	5	4	4	1	1	1

