

ESTUDIO DE LOS
HONGOS FILAMENTOSOS
DE LOS SUELOS DE
VIÑEDOS DE REQUENA

Ganadora del Accésit especialidad C
III Concurso de Cultura: Bacteriología

Montserrat Aguiló Borrás

INTRODUCCION

En España son escasos los trabajos realizados sobre el estudio de los hongos filamentosos y levaduras presentes en el suelo. Solamente podemos mencionar y según referencias bibliográficas consultadas los elaborados por Mosca (1960, 1960), Lundqvist (1960), Calvo y cols. (1980), Guarro y cols (1980, 1981, 1981), Guarro y Calvo (1983 y 1984) así como el publicado por Larrondo y Calvo (1990).

En cuanto a la bibliografía internacional cabe destacar los trabajos de Ajello y cols. (1965) en Bélgica, Al Doory (1967) y Huang y Scmit (1974) en Estados Unidos de América, Tolba y Al Ani (1959) en Irak, Seth (1970) en Japón, Minoura y cols. (1977, 1977) en Nepal o el de Wright y cols (1971) en Argentina.

En el presente estudio se ha investigado la flora fúngica, especialmente Penicillium y Aspergillus de 30 muestras obtenidas de suelos de viñedos (Vitis vinifera L.).

El área muestreada corresponde a la comarca de Requena-Utiel, zona muy concreta que ha permitido establecer con más profundidad y exactitud el contenido fúngico del suelo y en su caso la capacidad queratinofílica de diversas cepas.

Muchos de los estudios realizados hasta el presente en diversas áreas del mundo sobre micoflora del suelo se refieren a zonas muy

extensas y en consecuencia el número de muestras analizadas es generalmente muy escaso en relación con el área estudiada, por otro lado los resultados se hacen extensivos a todo el país, en nuestro caso y dado a que el área estudiada es muy concreta se ha podido profundizar más en los muestreos y en los resultados obtenidos.

La elección de suelos de viñedos es consecuencia de que estos son característicos de la mayor parte de los terrenos cultivados en la comarca de Requena y que por tanto intervienen en la economía de nuestro País, siendo por ello muy adecuado el estudio de las modificaciones biológicas que se establecen en estos suelos y que pueden alterar parcial o totalmente la calidad y rendimiento de los mismos.

MATERIAL Y METODOS

Se han analizado 30 muestras procedentes de suelos de viñas (Vitis vinifera L.) todos radicados en la comarca de Requena de la provincia de Valencia (España) y zona próxima a Utiel.

En la Tabla 1 se indican los lugares de los cuales se han recogido las muestras.

Las muestras se recogieron en el mes de diciembre de 1992 a una profundidad comprendida entre los 3 y 5 cm. de la superficie del suelo.

En cada muestreo se realizó un agujero con una sonda estéril y con una espátula previamente

flameada, se recogieron muestras de los cuatro lados del agujero. A continuación las muestras fueron transportadas al laboratorio en condiciones de esterilidad. Los análisis se efectuaron a las 48 horas de su recogida, manteniendo las muestras en nevera hasta el momento de su estudio.

En total se analizaron 250 gramos por muestra investigada.

Los hongos fueron aislados por el método de dilución en placa, iniciándose por una dilución 1:10 preparada con 50 gramos de suelo. Un mililitro de la suspensión inicial se utilizó para preparar la dilución 1:100 y así sucesivamente.

La siembra de las placas se realizó depositando sobre cada una de ellas 0.1 ml. de la dilución adecuada y repartiéndola uniformemente con el asa de Digrafsky.

Se prepararon cinco placas por dilución y transcurrido el período de incubación (siete días a 28°C) se procedió al conteo de aquellas que poseían menos de 300 colonias pero más de 10 en cada una de las cinco placas correspondientes a la dilución, siguiendo la técnica descrita por Guarro y cols. (1981).

El medio de cultivo empleado fue agar extracto de malta al 2% acondicionado de 30 p.p.m. de clorhidrato de tetraciclina. Las placas fueron incubadas a 28°C durante siete días en condiciones de aerobiosis.

Para el aislamiento de cultivos puros se procedió a la observa-

ción de las colonias desarrolladas, aislándose aquellas que se observaban diferentes.

Para la determinación taxonómica de las cepas aisladas hemos utilizado los Tratados de Raper y Thom (1968) para las cepas de género Penicillium, Raper y Fenell (1949) para las especies del género Aspergillus, Zycha (1935) para los mucorales y Ellis (1965) para géneros Dematiáceos, entre otros.

En relación con la determinación de la actividad queratinofílica de los diferentes hongos filamentosos presentes en el suelo se ha seguido la técnica de Vanbreuseghem (1952).

TABLA 1.- RELACION DE LOS LUGARES DE LOS CUALES SE HAN OBTENIDO LAS MUESTRAS.

- 1.- Los Duques
- 2.- El Rebollar
- 3.- Casas de Eufemia
- 4.- Los Isidros
- 5.- Penen de Albosa
- 6.- Requena
- 7.- San Antonio
- 8.- Villar de Olmos
- 9.- La Portera
- 10.- Los Ruices
- 11.- Casas del Río
- 12.- Hortunas
- 13.- Los Pedrones
- 14.- El Pontón
- 15.- El Derramador
- 16.- El Azagador
- 17.- Roma

- 18.- Utiel
- 19.- Barrio Arroyo
- 20.- Los Corrales de Utiel
- 21.- Calderón
- 22.- Campo Arcís
- 23.- Fuenterrobles
- 24.- Las Casas de Utiel
- 25.- Camporrobles
- 26.- Villargordo del Cabriel
- 27.- San Juan
- 28.- Caudete de las Fuentes
- 19.- Venta del Moro
- 30.- Las Cuevas de Utiel

RESULTADOS Y DISCUSION

Los géneros Aspergillus y Penicillium han presentado como era de sospechar por la ubicuidad de los mismos los porcentajes más elevados de aislamiento. Ambos géneros se aislaron en todas las muestras.

El número de colonias del género Aspergillus fue más elevado que el de las relativas al género Penicillium en todos los suelos estudiados, datos que están en concordancia con los obtenidos por Moubasher y Moustafa en suelos de Egipto, pero que no coinciden con los realizados por Larrondo y Calvo (1990) en suelos de viñedos de La Conca de Barberá de Cataluña.

En la Tabla 2 se exponen los valores relativos al número de unidades formadoras de colonias fúngicas por gramo de suelo seco.

Los recuentos de partículas fúngicas viables por gramo de suelo

seco presentaron valores entre 22.000 y 764.000.

En la tabla 3 se resumen los géneros identificados en las muestras de suelos analizadas, la mayoría de ellos han sido citados como géneros de amplia distribución en la mayoría de los hábitats y cuya presencia en la atmósfera ha sido ampliamente citada.

Entre los géneros citados y como ya hemos indicado destaca la presencia de numerosas especies de los géneros Aspergillus y Penicillium.

En la Tabla 4 se resume la relación de especies del género Penicillium identificadas, señalando el porcentaje de muestras en que fueron aisladas. Cabe destacar que Penicillium viridicatum fue aislado a partir de todas las muestras.

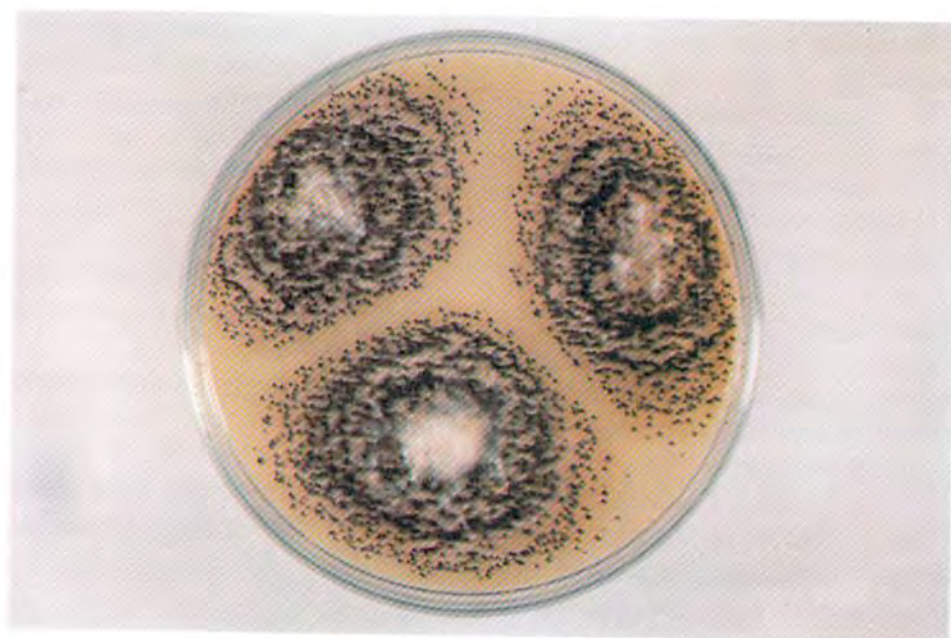
Las especies correspondientes al género Aspergillus se indican en la Tabla 5 observándose que las especies predominantes fueron Aspergillus niger y Aspergillus ochraceus.

Las especies correspondientes a los demás géneros aislados se detallan en la Tabla 6.

Se pudieron aislar hongos filamentosos con capacidad queratinofílica del 93.3% de las muestras investigadas. La relación de hongos filamentosos detectados



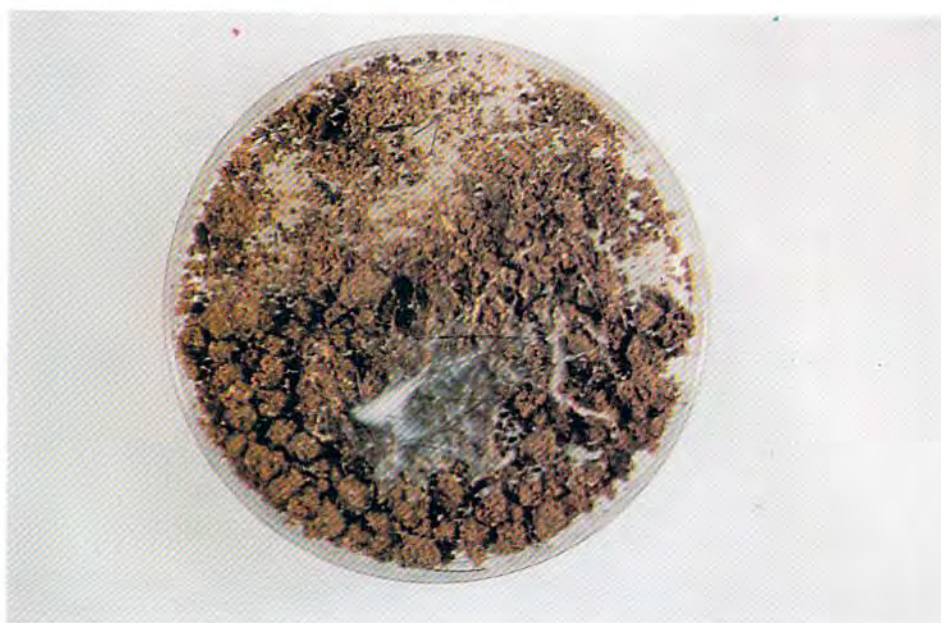
Fotografía 1.- Penicillium viridicatum



Fotografía 2.- Aspergillus flavus



Fotografía 3.- Acremonium strictum



Fotografía 4.- Desarrollo de hongos queratinofilicos:
Microsporum gypseum y Chrysosporium keratinophilum

se sumaliza en la Tabla 7.

**TABLA 2.- NUMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS
RELATIVAS A GRAMO DE SUELO SECO PARA CADA UNA DE LAS
MUESTRAS ESTUDIADAS**

NUMERO DE MUESTRA	NUMERO DE U.F.C/G DE SUELO SECO
1	170.000
2	22.000
3	27.000
4	280.000
5	150.000
6	97.000
7	207.000
8	82.000
9	110.000
10	65.000
11	227.000
12	184.000
13	97.000
14	312.000
15	307.000
16	82.000
17	134.000
18	137.000
19	140.000
20	77.000
21	512.000
22	67.000
23	54.000
24	41.000
25	367.000
26	43.000
27	251.000
28	287.000
29	764.000
30	143.000

TABLA 3.- RELACION DE GENEROS IDENTIFICADOS

<u>Absidia</u>	<u>Scopulariosis</u>
<u>Penicillium</u>	<u>Ulocladium</u>
<u>Fusarium</u>	<u>Alternaria</u>
<u>Trichoderma</u>	<u>Acremonium</u>
<u>Stachybotrys</u>	<u>Aureobasidium</u>
<u>Geotrichum</u>	<u>Arthrrium</u>
<u>Mucor</u>	<u>Gliomastix</u>
<u>Phoma</u>	<u>Cylindrocarpon</u>
<u>Cladosporium</u>	<u>Chrysosporium</u>
<u>Verticillium</u>	<u>Aspergillus</u>
<u>Microsporum</u>	<u>Rhizopus</u>

TABLA 4.- ESPECIES DEL GENERO Penicillium IDENTIFICADAS Y PORCENTAJE DE MUESTRAS EN QUE SE PRESENTARON

ESPECIE	% DE MUESTRAS
<u>P. viridicatum</u>	100.0
<u>P. decumbens</u>	13.3
<u>P. chrysogenum</u>	6.6
<u>P. nalgiovensis</u>	3.3
<u>P. meleagrinum</u>	3.3
<u>P. palitans</u>	3.3
<u>P. janthinellum</u>	3.3
<u>Hamigera avellana</u>	3.3

TABLA 5.- ESPECIES DEL GENERO Aspergillus IDENTIFICADAS Y PORCENTAJE DE MUESTRAS EN QUE SE AISLARON

ESPECIE	% DE MUESTRAS
<u>A. niger</u>	93.3
<u>A. ochraceus</u>	80.0
<u>A. versicolor</u>	59.9
<u>A. flavus</u>	20.0
<u>A. niveus</u>	20.0
<u>A. fumigatus</u>	16.6
<u>A. glaucus</u>	16.6
<u>A. terreus</u>	13.3

TABLA 6.- ESPECIES IDENTIFICADAS Y PORCENTAJE DE MUESTRAS EN QUE SE AISLARON

ESPECIE	% DE MUESTRAS
<u>Absidia glauca</u>	3.3
<u>Acremonium strictum</u>	59.9
<u>Acremonium charticola</u>	6.6
<u>Acremonium roseum</u>	6.6
<u>Alternaria alternata</u>	73.3
<u>Arthrimum phaeospermum</u>	3.3
<u>Aureobasidium pullulans</u>	50.0
<u>Cladosporium herbarum</u>	73.3
<u>Cylindrocarpon olidum</u>	3.3
<u>Fusarium moniliiforme</u>	86.6
<u>Geotrichum candidum</u>	3.3
<u>Gliomastix murorum</u>	3.3
<u>Mucor plumbeus</u>	16.6
<u>Mucor racemosus</u>	20.0
<u>Mucor hiemalis</u>	3.3
<u>Phoma herbarum</u>	3.3
<u>Rhizopus arrhizus</u>	86.6
<u>Scopulariopsis brevicaulis</u>	3.3
<u>Trichoderma viride</u>	39.9
<u>Ulocladium chartarum</u>	3.3
<u>Verticillum nigrescens</u>	3.3

TABLA 7.- ESPECIES QUERATINOFILICAS IDENTIFICADAS Y PORCENTAJE DE MUESTRAS EN QUE SE AISLARON

ESPECIE	% DE MUESTRAS
<u>Crysosporium keratinophilum</u>	43.3
<u>Crhysosporium asperatum</u>	23.3
<u>Crhysosporium merdarium</u>	3.3
<u>Crhysosporium tropicum</u>	29.8
<u>Fusarium moniliforme</u>	3.3
<u>Microsporum gypseum</u>	40.0
<u>Mucor racemosus</u>	3.3
<u>Penicillium viridicatum</u>	3.3
<u>Verticillum nigrescens</u>	40.0

"Creemos importante señalar que todos los géneros fúngicos aislados a partir de las muestras ensayadas, así como las proporciones en las que fueron aislados, son considerados como habituales en los suelos de viñedos.

Podemos indicar que, aunque no ha sido hallada ninguna capa de Botrytis Cinerea, considerada como una de las más peligrosas como causantes de alteraciones en los viñedos, si podemos constatar la prevalencia de especies de los géneros Penicillium, Aspegillus, Mucor y

Cladosporium que pueden incidir de forma notable en la fermentación del mosto, alterando los caracteres organolépticos y disminuyendo su estabilidad físico-química.

Asimismo, podemos destacar la presencia de Microsporum gypseum, hongo queratino-fílico, frecuentemente aislado a partir de muestras de suelos y cuya capacidad como agente etiológico de dermatofitosis ha sido descrita anteriormente (Vanbreugsehem, 1952; Guarro et. al. 1981)".

BIBLIOGRAFIA

Ajello, L.; Varsavski, E.; Austwick, P. K. C. - 1965. Keratinophilic fungi from Belgian soils. Trans. Br. mycol. Soc. 38: 369-386.

Al Doory, Y.- 1967. The occurrence of keratinophilic fungi in Texas soil. Mycopath. Mycol. appl. 33: 105-112.

Calvo, M. A.; Guarro, J.; Punsola, L.; Martínez, J.; Torres, J. M.; Alayeto, J.; Ruiz, J. M. - 1980. Estudis sobre l'ecologia dels Micromicets a Catalunya. Libro resúmenes del XI^o Congreso de Metges i Biòlegs de Llengua Catalana.

Ellis, M. B. - 1965. Dematiaceous Hyphomycetes. VI. Mycol. Pap. 103: 1-46.

Guarro, J.; Calvo, M. A.; Ramírez, C. - 1980. Soil Ascomycetes (Sphaeriales) from Catalunya (Spain). I. Nova Hedwigia. Band XXXII. Braunschweig.

Guarro, J.; Calvo, M. A.; Ramírez, C. - 1981. Soil Ascomycetes from Catalunya (Spain). II Nova Hedwigia. Band XXXIV. Braunschweig. J. Cramer.

Guarro, J.; Calvo, M. A. - 1981. Contribución al estudio de los Ascomycetes del suelo de Cataluña. Anales jard. Bot. Madrid. 38: 7-18,

Guarro, J.; Calvo, M. A. - 1983. A new Ascomycete from soil of Cataluña (Spain). Nova Hedwigia. Band XXXIV. Braunschweig. J. Cramer.

Guarro, J.; Punsola, L.; Calvo, M. A. - 1981. Keratinophilic fungi from soil of Tarragona, Catalunya, Mycopathologia. 76: 69-71.

Huang, L. H.; Smith, J. A. - 1974. Ohio Ascomycetes notes II. Talaromyces from soils of southern Ohio. J. Sci. 75: 75-81.

Larrondo, J.; Calvo, M. A. - 1990. The antimicrobial capacity of Penicillium and Aspergillus strains isolated from vineyard soils.

Lundqvist, N. - 1960. Coprophilous Ascomycetes from Northern Spain. Svensk Botanisk Tidskrift 54: 523-529.