UNIVERSIDAD ESTATAL
PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
ESCUELA DE BIOLOGÍA MARINA

Tema:

"IDENTIFICACIÓN DE HONGOS MARINOS EN EL MANGLAR DE PALMAR, PROVINCIA DE SANTA ELENA – ECUADOR."

TESIS DE GRADO

PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE BIÓLOGO MARINO

Tclgo. HUMBERTO EDUARDO PANCHANA TIRCIO

LA LIBERTAD – ECUADOR

2009

UNIVERSIDAD ESTATAL
PENÍNSULA DE SANTA ELENA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
ESCUELA DE BIOLOGÍA MARINA

"IDENTIFICACIÓN DE HONGOS MARINOS EN EL MANGLAR DE PALMAR, PROVINCIA DE SANTA ELENA – ECUADOR."

TESIS DE GRADO

Previa a la obtención del Título de:

Biólogo Marino

Tclgo. HUMBERTO EDUARDO PANCHANA TIRCIO

LA LIBERTAD – ECUADOR

2009

DECLARACIÓN EXPRESA

"La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Universidad Estatal Península de Santa Elena."

_____

Humberto Eduardo Panchana Tircio

ÍNDICE GENERAL

Declaración expresa……II
Índice General……..……...III
Resumen……...XI
Agradecimientos……XII
Dedicatoria……XIII
Tribunal de Grado……XIV
Abreviaturas……XV
Glosario……..XVI
Introducción…….……XXX
Formulación del problema…….……..XXXII
Justificación……..XXXIII
Objetivo General……..……....XXXV
Objetivos Específicos…….XXXVI
Idea a defender……..XXXVI

CAPÍTULO I

LITORAL ECUATORIANO: ZONAS ESTUARINAS Y DE MANGLARES DEL ECUADOR.

1.1 Generalidades..... 1
1.2 Zonas estuarinas 3
1.3 Manglares del Ecuador 5
1.3.1 Población de las periferias de manglares 8

1.3.2 Descripción del entorno del manglar de Palmar 9
1.3.3 Aspectos socio-económicos de la comuna Palmar..... 10
1.3.4 Variedades de manglar presentes en la comuna Palmar..... 12
1.3.4.1 Mangle Rojo..... 13
1.3.4.2 Mangle Negro 15
1.3.4.3 Mangle Blanco 18
1.3.4.4 Mangle Gelí..... 19
1.3.5 Características de la zona intermareal del manglar de Palmar..... 21
1.3.6 Biodiversidad presente en el manglar de Palmar..... 22

CAPÍTULO II

REINO FUNGI: HONGOS

2.1 Generalidades..... 23
2.2 Distribución ecológica del reino fungi..... 25
2.3 Requerimientos nutricionales y formas de identificación 26
2.4 Tipos de hongos 27
2.4.1 Hongos micorrízicos 27
2.4.2 Hongos saprófitos..... 29
2.4.3 Hongos parásitos..... 30
2.5 Clasificación del reino fungi 30
2.5.1 Phylum Ascomycota 31

2.5.2 Phylum Basidiomycota..... 32
2.5.3 Phylum Chytridiomycota 33
2.5.4 Phylum Zygomycota 35
2.5.5 Phylum Deuteromycota……..……..36
2.6 Hongos en los océanos 37
2.7 Breve descripción de hongos marinos 40
2.8 Distribución geográfica y ecológica de hongos marinos 45
2.9 Importancia de hongos marinos y registros en ecosistemas estuarinos 48

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1 Área de estudio..... 56
3.1.1 Ficha informativa del área de estudio 56
3.1.2 Estaciones de muestreo 58
3.2 Materiales y reactivos 60
3.2.1 Materiales 60
3.2.2 Reactivos 62
3.2.3 Medios de cultivo 62
3.3 Metodología 63
3.3.1 Selección de áreas de muestreo……..…….63

3.3.2 Tipo de muestreo efectuado……..……..64

3.3.3 Recolección de muestras..... 64

3.3.4 Traslado de muestras 67

3.3.5 Procesamiento de muestras 68

3.3.6 Descripción de los medios de cultivo seleccionados para el estudio……...……...70

3.3.6.1 Papa Dextrosa Agar……..……..……..……70

3.3.6.2 Corn Meal Agar……..71

3.3.7 Preparación de medios de cultivo acondicionados 72

3.3.8 Cultivo y aislamiento de cepas de hongos marinos 74

3.3.8.1 Cultivo de cepas 74

3.3.8.2 Aislamiento y diferenciación taxonómica de los cultivos..... 78

3.3.9 Sistema de Codificación utilizado……...……..79

3.3.10 Creación de un banco de datos 79

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1 Selección de estaciones de muestreo……..……...81

4.2 Géneros de hongos marinos identificados…….....83

4.2.1 Teleomorfos..... 83

4.2.1.1 Descripción de *Payosphaeria* sp..... 84

4.2.1.2 Descripción de *Rhizophila* sp. 85
4.2.1.3 Descripción de *Lignincola* sp. 85
4.2.1.4 Descripción de *Tirispora* sp. 86
4.2.1.5 Descripción de *Leptosphaeria* sp. 86
4.2.2 Anamorfo 87
4.2.2.1 Descripción de ***Phialophorophoma litoralis*** 87
4.3 Codificación registrada de cada género identificado……..88

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones 89
5.1.1 Selección de áreas de muestreo……89
5.1.2 Medios de cultivo 89
5.1.3 Evaluación de características morfológicas 91
5.1.4 Banco de datos 92
5.1.5 Utilización de la codificación efectuada……93
5.2 Recomendaciones 94
5.3 Bibliografía……96

ANEXOS

ANEXO I

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I: Datos estadísticos de zonas de manglares en la región norte de Sudamérica……103

Tabla II: Actividades económicas desarrolladas en la comuna Palmar (Año 2005), por Población Económicamente Activa……103

Tabla III: Estaciones de muestreo……104

Tabla IV: Orden seguido en el sistema de codificación de muestras según la estación correspondiente…….....104

Tabla V: Géneros de hongos marinos identificados durante el estudio..105

Tabla VI: Matriz de identificación de hongos marinos del manglar de Palmar…….……...106

Tabla VII: Codificación registrada de cada género identificado……106

Tabla VIII: Número de aislamientos de hongos marinos obtenidos por estación de muestreo……...107

Tabla IX: Biodiversidad presente en el manglar de la comuna Palmar...107

ANEXO II

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Zonas de manglares del Ecuador……112

Gráfico 2: Forma de las estructuras reproductivas……112

Gráfico 3: Formas y organismos del Phylum Basidiomycota……113

Gráfico 4: Ciclo de colonización de organismos fúngicos……..……113

Gráfico 5: Vista interna de un cuerpo fructífero……...114

Gráfico 6: Porcentaje de organismos de los phylum identificados……...114

Gráfico 7: Número de géneros de hongos marinos identificados de acuerdo a las estaciones de muestreo……115

ANEXO III

ÍNDICE DE FOTOS

Foto 1: Comuna Palmar (Vista panorámica)……....116

Foto 2: ***Rhizophora mangle***……..….116

Foto 3: ***Avicennia germinans***……..……...117

Foto 4: ***Laguncularia racemosa***……...117

Foto 5: ***Conocarpus erectus***……118

Foto 6: Hongo micorrízico en cultivo……118

Foto 7: Hongo Zygomycete……119

Foto 8: Área de estudio, siguiendo el perfil estuarino……119

Foto 9: Primera estación de muestreo……..120

Foto 10: Cuarta estación de muestreo……..120

Foto 11: Séptima estación de muestreo……...121

Foto 12: Selección de material lignificado……121

Foto 13: Primer muestreo……122

Foto 14: Verificación de los puntos de muestreo……122

Foto 15: Segundo muestreo……123

Foto 16: Traslado de muestras……...……..……123

Foto 17: Instalación de primeras cámaras húmedas……..124

Foto 18: Pruebas con cámaras húmedas con sustrato particulado (Arena)……124

Foto 19: Agares PDA y CMA……..125

Foto 20: Preparación de agar……125

Foto 21: Cultivo contaminado……126

Foto 22: Colonización y proliferación de cuerpos fructíferos……126

Foto 23: Caja petri sembrada y codificada……...127

Foto 24: Preparación de solución con antibiótico……127

Foto 25: Muestras en solución de buffer fosfato (placas portaobjeto)….128

Foto 26: Ascosporas del género Payosphaeria (100x)……..128

Foto 27: Ascospora del género Rhizophila (100x)……..129

Foto 28: Ascosporas del género Lignincola (100x)……129

Foto 29: Ascosporas del género Tirispora (40x)……..130

Foto 30: Ascosporas del género Leptosphaeria (100x)……130

Foto 31: Conidios de ***Phialophorophoma litoralis*** (10x)……131

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se desarrolló mediante el uso de dos medios diferenciales de cultivo (Corn meal agar y Potato dextrosa agar), y uno opcional (arena para sustratos de hongos arenícolas) que se descartó luego de que no cumpliera las expectativas. Por medio de esta metodología se logró identificar 6 géneros y una especie de hongos marinos que se encontraron en el ecosistema estuarino y son los primeros registros dentro del manglar de Palmar. Se analizaron aspectos morfológicos mediante matrices de identificación que contemplaron formas, estructuras reproductoras, longitudes de conidias, presencia de septos, y apéndices. Basado en codificaciones registradas se verificó que se obtuvieron aislamientos con su respectiva identificación dentro de las estaciones 1, 2, 3, 4, 5, mientras en las 6, 7, 8 no se lograron identificar microorganismos fúngicos. De los géneros y la especie identificados el 83,3 % pertenece al phylum Ascomycota (el mayor de los phylum del Reino Fungi), y el 16,7 % pertenece al phylum Deuteromycota (phylum no oficializado debido a las características de los organismos que lo integran). Las estaciones más representativas en cuanto a resultados de identificaciones fueron la 2 y la 3, aunque no se descarta que las estaciones cercanas a estas obtengan mejores resultados ya que las características del medio son similares. En cuanto a porcentajes de aparición dentro del estudio se obtuvo al género Tirispora con un total de 38,46 %, seguida del género Phialophorophoma con un 23,08 %, Lignícola con 15,38 %, Rhizophila con 11,54 %, los que tuvieron menor porcentaje de aparición dentro de los aislamientos e identificaciones fueron los géneros Payosphaeria y Leptosphaeria con 7,69 y 3,85 % respectivamente.

AGRADECIMIENTOS

A los directivos y docentes de la Facultad de Ciencias del Mar, que impartieron sus conocimientos durante mi permanencia en la institución.

Al Dr. Xavier Álvarez Montero, por haber guiado el presente trabajo de investigación durante su duración.

A los directivos de las instituciones, Escuela Superior Politécnica del Litoral, y Universidad Estatal de Guayaquil, por haberme facilitado sus instalaciones para poder realizar este proyecto de investigación.

A Dios por prestarme vida para poder cristalizar mis metas.

A mis padres por haberme brindado su ayuda durante la ejecución de este trabajo.

A los esposos, Roberto Mero y Petita Avila, por otorgarme apoyo inestimable en momentos difíciles y poder culminar mis propósitos.

A la Blga. Ángela Reyes por ser partícipe en la culminación de este trabajo.

DEDICATORIA

A Dios y a mis padres, Humberto Panchana y Elizabeth Tircio, quienes con perseverancia y esfuerzo han forjado futuros prometedores para sus hijos.

Humberto Panchana Tircio

TRIBUNAL DE GRADO

Ing. GONZALO TAMAYO C.
DECANO DE LA FACULTAD CIENCIAS DEL MAR

Blgo. RICHARD DUQUE M.
DIRECTOR DE ESCUELA DE BIOLOGÍA MARINA

Blga. ANGELA REYES
PROFESOR TUTOR

Blga. MAYRA CUENCA
DOCENTE DE ÁREA

Ab. MILTON ZAMBRANO C. Msc.
SECRETARIO GENERAL - PROCURADOR

ABREVIATURAS

Atm	Atmósfera.
CAN	Comunidad Andina de Naciones.
C-CONDEM	Corporación Coordinadora Nacional para la Defensa del Ecosistema Manglar del Ecuador.
CENAIM	Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas.
CLIRSEN	Centro de Levantamientos Integrados por Sensores Remotos.
CMA	Corn Meal Agar.
ECOLAP	Instituto de Ecología Aplicada.
ECOCIENCIA	Fundación Ecuatoriana de Ecología y Ciencia.
ESPOL	Escuela Superior Politécnica del Litoral.
g	Gramos.
Has	Hectáreas.
INEC	Instituto Ecuatoriano de Estadísticas y Censo.
INEFAN	Instituto Ecuatoriano Forestal y de Áreas Naturales.
Km	Kilómetros.
msnm	Metros sobre el nivel del mar.
PDA	Papa Dextrosa Agar.
pH	Potencial Hidrógeno.
WRI	World Resources Institute.

GLOSARIO

Afloramientos: Movimientos verticales ascendentes de masas de agua frías y ricas en nutrientes (nitratos, fosfatos, silicatos, etc.) desde el fondo marino hacia la superficie, producidos principalmente por vientos que soplan sobre la superficie, y responsables de mejorar la producción biológica.

Amilasas: Denominada también ptialina o tialina, es un enzima hidrolasa que tiene la función de digerir el glucógeno y el almidón para formar azúcares simples, se produce principalmente en las glándulas salivares (sobre todo en las glándulas parótidas) y en el páncreas.

Anaeróbico: Proceso fisiológico que se desarrolla en ausencia de oxígeno.

Anamorfos: Estado imperfecto de un hongo el cual solo se reproduce en forma asexual.

Aniptodera: Es un género de hongos de la familia Halosphaeriaceae. El género se compone de nueve especies.

Antibióticos: Es una sustancia química producida por un ser vivo o derivada sintética de ella que a bajas concentraciones mata por su acción

bactericida o impide el crecimiento por su acción bacteriostática de ciertas clases de microorganismos sensibles, y que por su efecto se utiliza en medicina humana, animal u horticultura para tratar una infección provocada por dichos gérmenes.

Antitumorales: Sustancias o procesos que impiden el crecimiento anormal de las células.

Antivirales: Sustancias favorables para el tratamiento de infecciones producidas por virus. Tal como los antibióticos (específicos para bacteria), existen antivirales específicos para distintos tipos de virus.

Área radicular: Área de un organismo vegetal inherente a la raíz.

Ascas: Órgano reproductor de los hongos ascomicetos en cuyo interior se forman las ascosporas.

Ascocarpo: Cuerpo fructífero en los ascomicetos que lleva las ascas, puede ser apotecio, peritecio o cleistotecio.

Ascomicetos: Son hongos con micelio tabicado que producen ascosporas endógenas. Hay unas 12.500 especies. Pueden ser unicelulares y talófitos.

Ascosporas: Son esporas sexuales, se producen en las ascas.

Bacto-Agar: Medio de cultivo utilizado para aislamientos microbiológicos, se caracteriza por su contenido de calcio y magnesio y es recomendado especialmente para aplicaciones clínicas y estudios bacteriológicos.

Basidios: Es una estructura microscópica productora de esporas encontrado en los himenóforos de los cuerpos de fructificación de hongos basidiomycetes.

Biocidas: Sustancias químicas sintéticas, naturales o de origen biológico o físico y están destinados a destruir, contrarrestar, neutralizar, impedir la acción o ejercer un control de otro tipo sobre cualquier microorganismo considerado nocivo para el hombre.

Biodiversidad: O diversidad biológica. Se refiere a la variedad y variabilidad de los organismos, la variabilidad genética dentro de cada especie, y la variedad de procesos y funciones en un ecosistema.

Briostatina: Sustancia en estudio para el tratamiento de cáncer y ciertas afecciones del cerebro como la enfermedad de Alzheimer y el derrame cerebral. Se une a una enzima que participa en la formación de las células y podría ayudar a que los medicamentos anticancerosos sean más eficaces. La briostatina 1 se obtiene de un organismo marino. Es un tipo de modulador de la proteína cinasa C.

Buffer fosfato: Sustancia utilizada como amortiguador de niveles de pH proporcionando el medio adecuado para que se lleven a cabo reacciones específicas.

Cadena trófica: Es el proceso de transferencia de energía alimenticia a través de una serie de organismos, en el que cada uno se alimenta del precedente y es alimento del siguiente. También conocida como cadena alimenticia, es la corriente de energía y nutrientes que se establece entre las distintas especies de un ecosistema en relación con su nutrición.

Cámara húmeda: Una cámara húmeda es un sistema capaz de reproducir una atmósfera saturada de humedad relativa con un punto de rocío tal que a la temperatura de ensayo se produce la condensación del vapor de agua existente en el interior.

Carpóforo: Prolongación alargada del tálamo que soporta en la parte superior al gineceo y posteriormente al fruto.

Célula eucariótica: Células que tienen su material hereditario fundamental (su información genética) encerrado dentro de una doble membrana, la envoltura nuclear, que delimita un núcleo celular.

Celulosa: Es un polisacárido compuesto exclusivamente de moléculas de glucosa; es pues un homopolisacárido (compuesto por un solo tipo de monosacárido); es rígido, insoluble en agua, y contiene desde varios

cientos hasta varios miles de unidades de β-glucosa. La celulosa es la biomolécula orgánica más abundante ya que forma la mayor parte de la biomasa terrestre.

Cepa: Es una variante genotípica de una especie e, incluso de un taxón, usualmente propagada clonalmente, debido al interés en la conservación de sus cualidades definitorias.

Cloranfenicol: Antibiótico que fue obtenido por vez primera de un hongo del suelo de la familia de los actinomicetales, ***Streptomyces venezuelae***, más tarde se elaboraría a partir de otras especies de Streptomyces y en la actualidad se produce por síntesis.

Colonizar: Es el proceso en la biología por la cual una especie se separa en nuevas áreas, es decir donde una especie se mueve en nuevos espacios en un sitio particular, quizás como resultado de un cambio en condiciones) o en una escala grande, es decir donde una especie amplía la gama para abarcar nuevas áreas; aquí (a escalas mayores), el término extensión de la gama es de uso frecuente.

Conidios: Es una espora asexual inmóvil formada directamente a partir de una hifa o célula conidiógena o esporógena.

Corn Meal Agar: Medio de cultivo utilizado para promover el desarrollo de hifas fúngicas.

Cucullosporella: Es un género de hongos de la familia Halosphaeriacea. Se trata de un género monotípico, contiene una sola especie ***Mangrovei cucullosporella.***

Cuerpo fructífero: Conocido también como esporocarpo de los hongos basidiomicetos y ascomicetos, es una estructura multicelular sobre la que se forman otras estructuras productoras de esporas.

Didemnina B: Pertenece a una serie de compuestos aislados del rudicado caribeño ***Tridemnum solidum***. Químicamente, las didemninas son depsipéptidos cíclicos que se diferencian en el radical unido a la cadena D-MeLeu.

Detritus: Son residuos generalmente sólidos, que provienen de la descomposición de fuentes orgánicas y minerales. Aunque es materia orgánica putrefacta, hay seres vivos que se alimentan de ella. Generalmente viven en agua estancada, pantanos y se denominan saprófagos o saprófitos.

Detritívoros: Los detritívoros obtienen su alimentación de detritos o materia orgánica en descomposición. Los detritívoros constituyen una parte importante de los ecosistemas porque constituyen una parte importante de los ecosistemas porque contribuyen a la descomposición y al reciclado de los nutrientes.

Dicótomas: Dícese de la ramificación en que el punto vegetativo se divide en dos equivalentes, de manera que se produce una horcadura de ramas iguales.

Dimorfismo: Se entiende por dimorfismo la existencia de dos formas o dos aspectos anatómicos diferentes en una misma especie animal o vegetal.

Ecosistema: Es un sistema natural que está formado por un conjunto de organismos vivos (biocenosis) y el medio físico en donde se relacionan (biotopo).

Espora: Designa una célula reproductora asexual, generalmente haploide y unicelular.

Esporangio: El esporangio es la estructura de las plantas, hongos o algas que produce y contiene las esporas. Se encuentran esporangios en las angiospermas, gimnospermas, helechos y sus parientes, en las briófitas, algas y hongos.

Esporulación: Es tanto un tipo de reproducción mediante esporas, como el término inutilizado para designar la mala formación (esporogénesis), y liberación de esporas.

Estuarios: Es la parte más ancha y profunda de la desembocadura de un río en el mar abierto o en el océano, generalmente en zonas donde las mareas tienen amplitud u oscilación.

Filamentosa: Estructura vegetal o fúngica alargada a manera de hilos.

Filogenético: Se refiere a derivado de la historia evolutiva de un organismo.

Follaje: Conjunto de hojas de los árboles y de otras plantas.

Fungicidas: Sustancias tóxicas que se emplean para impedir el crecimiento o para matar los hongos y mohos perjudiciales para las plantas, los animales o el hombre.

Glicerol: O glicerina ($C_3H_8O_3$) (del griego *Glykos*, dulce) es un alcohol con tres grupos hidroxilos (–OH).

Halófilo: Es el adjetivo que se aplica a los organismos que viven en medios con presencia de gran cantidad de sales.

Heterótrofo: Organismos que no pueden fabricar sus alimentos y dependen de los autótrofos o de otros heterótrofos.

Hifas: Elementos filamentosos cilíndricos característicos de la mayoría de los hongos. Están constituidos por una fila de células alargadas envueltas por la pared celular que reunidas, forman el micelio (en sentido amplio).

Hidrocoria: Es el mecanismo de dispersión de los propágulos a través del agua; las semillas están adaptadas a este efecto, a través de membranas que garanticen la impermeabilidad, y cámaras de aire o aceite que permitan la flotación; el coco (***Cocos nucifera***), por ejemplo, es más ligero que el agua, lo que le permite flotar largamente en la superficie.

Himenio: Es la parte fértil del basidiocarpo de los basidiomicetos y de los ascocarpos de los ascomicetos, formada por los basidios o ascas dependiendo de la clase del hongo y (cuando existen) por los filamentos estériles que los conectan al basidiocarpo o al ascocarpo (estos filamentos se llaman cistidios en los basidiomicetos).

Hojarasca: Conjunto de hojas caídas de los árboles.

Inmunosupresores: Sustancia química que produce la inmunosupresión del sistema inmunitario. Puede ser exógeno como los fármacos inmunosupresores o endógeno como el cortisol.

Lentícelas: Es una protuberancia del tronco y ramas de las plantas leñosas que se ve a simple vista y que tiene un orificio lenticular; se utiliza

para el intercambio de gases en sustitución de los estomas de la epidermis ya desaparecida.

Levaduras: Se denomina levadura a cualquiera de los diversos hongos microscópicos unicelulares que son importantes por su capacidad para realizar la descomposición mediante fermentación de diversos cuerpos orgánicos, principalmente los azúcares o hidratos de carbono, produciendo distintas sustancias.

Lignocelulósicos: Compuestos formados por lignina y celulosa.

Lignícola: Organismo que se alimenta de madera, por ejemplo la carcoma y ciertas especies de termites.

Lignina: La lignina es un polímero presente en las paredes celulares de organismos del Reino Plantae y también en las Dinophytas.

Mangle: Es un arbusto o árbol de las rizofóreas, de tres a cuatro metros de altura, aunque a veces alcanza unos 15 m o más. Sus ramas largas y extendidas dan unos vástagos que descienden hasta tocar el suelo y arraigar en él.

Manglícola: Especie que habita en ecosistemas de manglar.

Metabolitos: Un metabolito es cualquier molécula utilizada o producida durante el metabolismo.

Micelio: El micelio es la masa de hifas que constituye el cuerpo vegetativo de un hongo. Dependiendo de su crecimiento se clasifican en reproductores (aéreos) o vegetativos.

Micorrízicos: Se dice de los hongos que forman micorrizas, estas se definen como la asociación simbiótica entre las hifas de ciertos hongos con las raíces de determinadas plantas vasculares.

Microflora: Representada por hongos, algas unicelulares y vegetales microscópicos.

Mitospóricos: Grupo de hongos del que no se conoce su ciclo de reproducción sexual. Sólo se reconoce la reproducción asexual.

Neumatóforos: Los neumatóforos son un tipo de raíz que crece hacia arriba (geotropismo negativo), presente en ciertas plantas asociadas a cuerpos de agua.

Nicho ecológico: Es un término que describe la posición relacional de una especie o población en un ecosistema o el espacio concreto que ocupa en el ecosistema.

Ophiodeira: Es un género de hongos de la familia Halosphaeriaceae.

Ostiolo: Denominación que reciben las aberturas de los más diversos órganos y estructuras vivas. Poro de los cuerpos fructíferos a través de los que se liberan las esporas y los gametos en hongos y algas respectivamente. También de los peritecios en líquenes. En zoología es una abertura por la que penetra el agua al interior de las esponjas. También se conocen como poros inhalantes u ostios. Son mucho más numerosos que los ósculos.

Ósmosis: Es un fenómeno físico relacionado con el comportamiento de un fluido como solvente de una solución ante una membrana semipermeable para el solvente pero no para los solutos. Tal comportamiento entraña una difusión simple a través de la membrana, sin "gasto de energía". La ósmosis del agua es un fenómeno biológico importante para la fisiología celular de los seres vivos.

Papa Dextrosa Agar: Medio para el cultivo y enumeración de levaduras y mohos a partir de alimentos y otros materiales. Los hidratos de carbono y la infusión de papa favorecen el crecimiento de levaduras y hongos, en tanto que por el bajo rango de pH, la flora acompañante se reduce significativamente.

Pectinasas: Son enzimas que rompen los enlaces peptídicos de las proteínas. Usan una molécula de agua para hacerlo y por lo tanto se clasifican como hidrolasas

Perennifolio: El término perennifolio procede del latín *perennis*, duradero, perenne, y de *folium*, hoja. Esta flora también recibe el nombre de *semperverente* o siempreverde ya que, pese a que existe en zonas de estaciones frías, siempre mantiene el follaje.

Plántulas: Se denomina plántula a cierta etapa del desarrollo del esporófito, que comienza cuando la semilla sale de su dormancia y germina, y termina cuando el esporofito desarrolla sus primeras hojas no cotiledonares.

Propágulos: Son una modalidad de reproducción asexual en vegetales, por la que se obtienen nuevas plantas y órganos individualizados. Los tejidos de la porción separada deben recuperar la condición de meristemos para producir todo el conjunto de órganos de la planta.

Proteasas: Enzima que fragmenta las proteínas en partes más pequeñas.

Pseudomicelio: Brote que no se separa de célula madre, se alargan formando cadenas de células elongadas.

Raíces fúlcreas: Se les conoce con el nombre de raíces zancudas. Son raíces visibles como “patas de araña”, sobre las cuales se apoya el tronco o fuste.

Saprobios: Son aquellos organismos que obtienen alimento disuelto a partir de los cuerpos muertos o en descomposición de otros organismos. Ejemplos de éstos son muchos hongos, bacterias y algunas orquídeas. Los saprobios ponen a disposición de las especies autótrofas, los elementos contenidos en la materia muerta.

Simbiontes: Organismos de diferentes especies relacionados íntimamente.

Somera: Se dice referente a la parte superficial de un lecho.

Saprobiontes: Organismo que vive en medios en descomposición ricos en materia orgánica y pobres en oxígeno.

Saprófitos: Es un organismo heterótrofo vegetal que obtiene su energía de materia orgánica muerta o de los detritos desechados por otros seres vivos, de los cuales extrae los compuestos orgánicos que requiere como nutrientes.

Septo: En anatomía septo, del (lat. *septum*, tabique, pared), a veces transcito *septum* o *séptum* es una pared que divide de un modo completo o incompleto una cavidad o estructura en otras más pequeñas.

Subículo: Poción de micelio algodonoso, laxo en forma de costra, en la base de un cuerpo fructífero.

Sustrato: Material de origen orgánico o inorgánico, que fue sometido a un tratamiento cuarentenario, que sirve como soporte para plántulas, y se encuentra libre de plagas, ejemplo: vermiculita, agrolita, peat-moss, tezontle, arena lavada, etc.

Tabicación: Proceso de dividir en tabiques o septos.

Talo: En botánica, el talo es un cuerpo vegetal relativamente simple, no diferenciado en raíz, tallo y hojas. Corresponde a algas, hongos, líquenes y bacterias.

Trasgresión marina: Es el avance del mar sobre un terreno continental. Se produce por hundimientos de la costa y/o la elevación relativa del nivel del mar (fundición de glaciares).

Xilano: Polisacárido constituido por una cadena lineal de residuos de xilosa y diversas ramificaciones y sustituciones. El xilano es el polisacárido más abundante después de la celulosa.

Zigosporangio: Es un órgano en forma de bolsa donde se diferencian las zoosporas, aquí se lleva a cabo la meiosis de las células madre de las zoosporas, formando zoosporas haploides (n) que se desarrollaran produciendo una planta.

INTRODUCCIÓN.

Los ecosistemas de manglar están considerados entre uno de los mayores productores del mundo, estos ecosistemas cubren aproximadamente entre el 65 al 70 % de la línea costera mundial y su distribución está limitada a zonas tropicales y subtropicales. (Contreras, 1985).

Los mangles generalmente colonizan zonas costeras semi-cerradas y someras, puesto que aquí existe protección contra la acción de las olas, vientos fuertes y mareas. En algunos casos, estas áreas están localizadas en estuarios, que son cuerpos de agua costeros semi-cerrados donde el agua de mar y río se mezclan, pero también existen bosques de manglar que no reciben el aporte de agua continental.

Se estima además que los ecosistemas de manglar albergan las dos terceras partes de las poblaciones de peces juveniles del mundo, y son áreas de anidación y alimentación de aves costeras. El árbol de manglar es la base de aportación de energía para estos ecosistemas acuáticos. La dependencia de diferentes especies de peces en los ecosistemas de manglar como lugares de crianza ha sido ampliamente reportada (Bell *et al*., 1984; Robertson y Duke, 1990; Robertson y Duke, 1987; Robertson y Duke, 1990; Thayer *et al*., 1987).

Las hojas y madera del mangle están compuestas principalmente de componentes lignocelulósicos que puede ser degradado únicamente por microorganismos selectivos (Alongi *et al*., 1989).

La degradación del material vegetal del mangle se inicia con la colonización por hongos y bacterias. En cuanto a los hongos que colonizan los manglares se les ha encontrado actividad de pectinasas, proteasas, y amilasa, así como capacidad para degradar compuestos lignocelulósicos (Ranghukumar *et al*., 1994).

La descomposición de la materia vegetal del mangle, genera el detritus que se puede definir como materia orgánica en proceso de descomposición, rico en contenido calórico, proteico y carga microbiana (Odum y Heald, 1975). Es posible que además de bacterias y hongos, otros organismos que colonizan el material vegetal (protozoarios y microalgas) también contribuyan a la generación del detritus (Holguín *et al*., 2001).

Los hongos marinos no constituyen un grupo filogenético, ya que en él se incluyen hongos de diferentes grupos, con una clara predominancia de ascomicetos y sus anamorfos (Kohlmeyer & Kohlmeyer, 1979). La gran mayoría son saprofitos, aunque también se pueden encontrar parásitos, e incluso simbiontes con algas (Kohlmeyer, 1974; Kohlmeyer & Demoulin, 1981).

La comunidad de Palmar se encuentra en la zona norte de la Península de Santa Elena, a unos 40 Km aproximadamente desde el Cantón La Libertad. En Palmar viven alrededor de 1000 familias, que dependen casi exclusivamente de la pesca, junto a la comunidad existe un estero formado por los ríos Miñai, Grande y Chunqui donde se halla un remanente de manglar formado principalmente por especies de mangle

conocidos comúnmente como rojo y blanco, pero también se encuentran otras especies en menor proporción.

Antes de la devastación del ecosistema por parte de la industria camaronera, el bosque de mangle era mucho más extenso, superando las 200 Has.

Posteriormente los recursos naturales se redujeron terriblemente mientras surgían camaroneras y aumentaba la contaminación. (C-CONDEM, 2006).

Para defender este ecosistema en el año 1999 nació la “Asociación para uso, manejo y conservación del manglar de Palmar” que hoy día cuenta con 33 socios, más de la mitad de los cuales son cangrejeros. (C-CONDEM, 2006).

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

Los hongos juegan un papel preponderante en el proceso de descomposición del material vegetal de mangle, ya que sintetizan las enzimas necesarias para degradar lignina, celulosa, xilano y otros componentes de esta planta, además de ellos mismos producir otros elementos conocidos como metabolitos de mucha utilidad en la actualidad en diferentes campos, principalmente en uso medicinal, pero no se ha realizado un estudio que nos permita conocer ¿Cuántos géneros de hongos podemos encontrar en el ecosistema del manglar de Palmar?, ni

en ningún otro ecosistema estuarino del Ecuador, que haya sido registrado.

La colonización de madera de mangle por hongos marinos, por lo general, se restringe a las capas externas de la madera, debido a sus altos requerimientos de oxígeno, los hongos juegan un papel importante como base ya que pre-condicionan la superficie de la madera para su posterior descomposición.(Ranghukumar *et al*., 1994).

Otros microorganismos, como las bacterias actúan de manera conjunta con los hongos, siendo incluso su acción posterior a la descomposición iniciada por organismos fúngicos, que prácticamente son el primer eslabón de la cadena trófica en este tipo de ecosistemas (estuarios).

Estas características nos dan a conocer lo importante que es la presencia de hongos en los ecosistemas de manglar, y nos permiten entender mejor los ciclos de descomposición de la materia y el funcionamiento de estas zonas, pero no todos los géneros de hongos se desarrollan en un mismo sustrato, por lo que la distribución de estos puede estar marcado por la presencia de un sustrato en una zona específica que delimitará las estaciones de trabajo de este proyecto.

Los actuales avances tecnológicos han encontrado diversas utilidades para los microorganismos fúngicos, pero la falta de información sobre su diversidad y distribución en el Ecuador hace necesario llevar a cabo este proyecto de tesis, que otorgará información valiosa en este campo

(hongos del manglar de Palmar), que podrá impulsar el desarrollo biotecnológico no solo en la provincia de Santa Elena sino para el Ecuador.

JUSTIFICACIÓN.

Como se conoce el ecosistema de manglar es de vital importancia económica y ambiental tanto en el Ecuador como en el mundo. (C-CONDEM, 2006).

El manglar de Palmar, es una zona de producción de la que dependen no solo personas que habitan en el sector, sino también habitantes de poblaciones vecinas que encuentran aquí un medio para subsistir. A pesar de su pequeña superficie, la importancia de esta área es incalculable.

Es el último remanente considerable de manglares de la península de Santa Elena; es un pilar fundamental para la vida de las especies migratorias y propias de manglar, especies marinas que desarrollan sus etapas juveniles entre las raíces de mangle, especies terrestres y aves que en ese ecosistema buscan alimento y protección.

La gran biodiversidad de especies que alberga el manglar de Palmar ha sido fuente de estudio para varias tesis de la Universidad de la Península de Santa Elena. (C-CONDEM, 2006).

Por otro lado, hongos aislados de hojas muertas de mangle, presentan actividad de pectinasas, proteasas y amilasas (enzima que degrada el almidón) (Ranghukumar *et al*., 1994). Los hongos inician la descomposición del material vegetal y permiten la colonización de bacterias y levaduras, liberando productos utilizables por éstas (Matondkar *et al.*, 1981).

La presencia de hongos es pieza fundamental en estas áreas, porque estos inician el proceso de transformación de la materia muerta para que sea aprovechada luego por otros microorganismos como son las bacterias y producir así un enriquecimiento del medio con nutrientes aprovechados por organismos productores que sostienen a este ecosistema (Ranghukumar *et al*., 1994), aun así el estudio de estos organismos en el manglar de Palmar y otros manglares del Ecuador, es escaso por no decir nulo, aun siendo este estudio de mucha importancia ambiental, no solo por aportar a la ampliación en el conocimiento de la biodiversidad del Ecuador, sino por las diversas ramas de la investigación que se verían beneficiadas por esto, como las industrias farmacéuticas y el campo de la medicina.

El presente proyecto de tesis propone un estudio y levantamiento de información para la identificación taxonómica de hongos en el manglar de Palmar, Provincia de Santa Elena, y crear una base de datos con organismos y sus características que nos permita adentrarnos en los conocimientos sobre la biodiversidad con respecto a hongos marinos que integran la microflora con la que cuenta este ecosistema, lo que sentará bases para iniciar nuevos proyectos en campos como la biotecnología en esta zona, ya que por medio de estos microorganismos se obtienen

metabolitos de interés para múltiples industrias (alimenticia, detergentes, farmacéutica) como antibióticos (rifampicina), fungicidas (griseofulvina), inmunosupresores (ciclosporina), enzimas (proteasas, lipasas, amilasas, celulasas, etc.), biocidas (massarinolinas A, B y C), antitumorales (micosporulona) y antivirales (flutimida).

OBJETIVO GENERAL.

Identificar hongos marinos en el manglar de Palmar-Provincia de Santa Elena, mediante la recolección, aislamiento y cultivo para su posterior caracterización y clasificación taxonómica.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Establecer 8 estaciones para monitoreos en el manglar de Palmar, siguiendo el perfil estuarino.

- Utilizar la metodología empleada por Aisyah Alias (Isolation, Identification, and bioactivity of Antartic and Mangrove Fungi, Siti Aisyah Alias, agosto, 2008) para el aislamiento y cultivo de las cepas de hongos marinos recolectadas en el manglar de Palmar-Provincia de Santa Elena, Ecuador.

- Identificar taxonómicamente las cepas de hongos marinos aislados utilizando literatura especializada como son los manuales de identificación para hongos marinos de E. M. Leaño, V.V. Sarma, y

J. Kohlmeyer mediante análisis microscópico de las diferentes estructuras.

- Usar una codificación clasificadora de uso interno (laboratorio), dada por el número de estación en la que fueron localizadas las cepas, para la diferenciación de las diferentes especies identificadas, anexando detalles de nomenclatura de los códigos.

- Construir un banco de datos, mediante el uso de la codificación mencionada, que permita detallar la información obtenida de la biodiversidad de especies de hongos marinos presentes en el manglar de Palmar-Provincia de Santa Elena, Ecuador.

IDEA A DEFENDER.

Mediante el aislamiento e identificación de hongos marinos del manglar de Palmar, Provincia de Santa Elena-Ecuador, se obtendrá información muy valiosa sobre estos organismos fúngicos que son parte de la microflora aun no estudiada de este sector, que servirá de base para futuros trabajos de investigación en campos del desarrollo biotecnológico aplicable a diferentes industrias (una de ellas es que metabolitos provenientes de hongos acuáticos, en especial de ecosistemas de manglar se están incorporando a programas de preselección como potenciales productores de fármacos con nuevos modos de acción), que traerá beneficios en el progreso naciente de la provincia de Santa Elena y el Ecuador.

CAPÍTULO I

LITORAL ECUATORIANO: ZONAS ESTUARINAS Y DE MANGLARES DEL ECUADOR.

1.1. GENERALIDADES.

El Ecuador ejerce jurisdicción sobre la franja de 200 millas paralela a la línea costera continental y el territorio insular del Archipiélago de Galápagos. Éste territorio marino cubre entonces 1.095.000 Km^2, de los cuales al continente corresponden 238.000 Km^2 y a la Provincia de Galápagos 857.446 Km^2. La costa continental del Ecuador tiene una longitud aproximada de 1.256 Km (CAN, WRI, 2001).

En el mar ecuatoriano se presentan aguas tropicales cálidas procedentes del norte de la línea ecuatorial y aguas subtropicales provenientes del sur.

Gracias a esto, en pocos grados de latitud, se pasa de la selva tropical; localizada al norte del Ecuador (Esmeraldas) con fuertes precipitaciones anuales y altas temperaturas, a la aridez de la zona central (sur de Manabí; noroeste de Guayas), condiciones que se interrumpen en la cuenca del Guayas con altas temperaturas y abundantes precipitaciones en la temporada lluviosa. Además hay que tomar en cuenta que en el litoral ecuatoriano desaguan 67 cuencas hidrográficas de las 79 reportadas para el país (CAN, WRI, 2001). Gráfico 1, Anexo II.

Tenemos además que el rasgo más sobresaliente en la región submarina, es el margen continental (plataforma, talud y elevación continental) que bordea al continente y representa la transición con los fondos oceánicos.

En Ecuador éste esquema se diferencia por la presencia de la dorsal de Carnegie que es una cordillera submarina importante cuyas cimas las constituyen las Islas Galápagos, y por la prolongación de la fosa Perú-Chile que alcanza más de 4.000 metros de profundidad.

Por otro lado, en el país se registra una alta diversidad de ecosistemas marinos, que incluyen: islas, bajos o terrazas arrecifales, bancos o barreras aluviales, plataforma continental de fondos suaves, plataforma continental de fondos duros, el talud continental, el cañón submarino, la planicie abisal, la cordillera submarina y la fosa oceánica. Además, se da la presencia de áreas de afloramientos y celdas temporales de masa de agua como hábitats marinos asociados (WRI, 2001). Tabla I, Anexo I.

En resumen, la franja costera registra: playas, costas rocosas, acantilados, bahías, estuarios, lagunas costeras, islas de barrera, planicies intermareales, deltas, dunas y planicies costeras.

La plataforma continental frente al Ecuador tiene pocas irregularidades topográficas, alcanzando su mayor estrechamiento y pendiente frente a las salientes costeras como son la Puntilla de Santa Elena, Cabo de San Lorenzo y Cabo de San Francisco; mientras que su mayor extensión y menor pendiente se encuentra en el Golfo de Guayaquil y la costa norte

de Manabí. Solo el Golfo de Guayaquil tiene 12.000 Km^2 que representa casi la mitad de la plataforma continental ecuatoriana (CAN, WRI, 2001).

Además, el lecho de la plataforma posee una gran diversidad de hábitats, que tienen su origen desde la última trasgresión oceánica (avance del mar hacia el continente) ocurrida en el período cuaternario (hace aproximadamente 2 millones de años), y en un proceso dinámico caracterizado por el aporte permanente de los sedimentos que proveniente de los ríos y redistribución por la compleja circulación regional y local.

1.2. ZONAS ESTUARINAS.

Los estuarios son zonas de mezcla de los sistemas fluviales y marinos que ejemplifican la interdependencia mar - tierra y cumplen una función indispensable en los diferentes ciclos de peces, crustáceos y moluscos, así como una multiplicidad de servicios ambientales: captación de carbono, filtros naturales de aguas contaminadas, control de la erosión, etc. (Salm y Clark 1989).

Las lagunas costeras, generalmente asociadas a zonas estuarinas, están separadas del mar por barreras o playas pero comunicados a través de varios canales angostos. Estas reciben el aporte de las aguas marinas como la de los sedimentos de los ríos, además representan uno de los humedales reservorio de un alto potencial de Diversidad Biológica, en los

cuales se forman sistemas altamente productivos, que sirven de hábitat permanente o periódico a muchas especies marinas y migratorias.

Por otro lado, en lo que respecta a la diversidad de especies en el ecosistema estuarino para el Ecuador el estado del conocimiento es marginal, con la excepción del estuario interior del Golfo de Guayaquil que cuenta con una buena base de información para ciertas áreas.

Hurtado *et al* (2000) en su estudio de la biodiversidad marina del Ecuador cita el estudio de la biodiversidad estuarina para el Pacífico Centro-Oriental (que incluye a Ecuador y Colombia) de Matthes y Kapetsky (1988). De aquí se tiene que en los estuarios de esta región se encuentran en estimativa actual 299 especies de peces, 179 especies de moluscos y 40 especies de crustáceos.

Aproximadamente el 40 % de la fauna asociada, utiliza el estuario durante las primeras etapas de su ciclo de vida como refugio, particularmente los peces (62 %), los crustáceos (48 %), y moluscos (1,7 %) lo que confirma su importante función como área “nodriza” o “semillero” de la biota marina.

Las áreas de mayor biodiversidad de especies son las bahías, lagunas y canales principales del estuario, en donde se ha registrado el 93 % de la fauna asociada y los ambientes rocosos-arenosos de las zonas intermareales donde se han localizado el 81 % de la biodiversidad de especies. Mientras que aguas arriba del estuario se localizan aproximadamente un 13,5 % de las especies (Hurtado *et al*., 2000).

1.3. MANGLARES DEL ECUADOR.

En el Ecuador, la extracción de mangles para la producción de carbón, la ocupación con fines de vivienda, la construcción de estanques para la producción de camarones y las obras civiles, son las causas identificadas para la reducción de las áreas de manglar y como consecuencia de ello la generación de presiones sobre la biodiversidad propia de los ambientes estuarinos (ESPOL, 2009).

Nuestro país, en el área continental contó con una extensión original de 362.802 hectáreas de manglar declaradas como bosque protector en el año 1987, pero que se redujo drásticamente en la siguiente década.

Las especies de manglar que se encuentran en el ecosistema de la costa ecuatoriana son:

- Mangle Rojo (***Rhizophora mangle***).
- Mangle Negro (***Avicennia germinans***).
- Mangle Blanco (***Laguncularia racemosa***).
- Mangle Jelí o Botón (***Conocarpus erectus***).
- Mangle Piñuelo (***Pelliciera rhizophorae***)
- Mangle Nato (***Mora megistosperma***).

Además, son parte de éste tipo de ecosistemas otras especies arbustivas como la Rancocha (***Acrostichum aureum***), y se define como parte del ecosistema manglar al manglillo o mangle enano que son todas las formaciones de manglares que se desarrollan sobre sustratos inadecuados, suelos especialmente pobres o salinos con poco intercambio de mareas, y que no sobrepasan los 5 metros de altura.

Tenemos como punto referencial intermedio de zonas de manglar, que para el año 1999, según datos comparativos, con el Estudio Multi-temporal de Manglares, Camaroneras y Salinas, realizado por el Centro de Levantamientos Integrados por Sensores Remotos (CLIRSEN) se registra una cobertura total de manglares y salinas (ecosistema manglar) de 154.087,31 hectáreas.

Para el año 2005, el Mapa Forestal del Ecuador Continental elaborado por el Centro de Levantamientos Integrados por Sensores Remotos (CLIRSEN), da cuenta de la existencia de 108.000 hectáreas sobrevivientes de bosque de manglar en el Ecuador. Comparada esta extensión con la original, en 18 años se evidencia la pérdida del 70,23 % del ecosistema de manglar.

Por otro lado, el incremento del nivel del mar derivado de los cambios climáticos a nivel global también se considera ahora una amenaza a la extensión y productividad de éste ecosistema. Al incrementarse el nivel del mar, la morfología costera sufriría cambios por diversas circunstancias como por ejemplo inundaciones, afectando directamente las actividades propias de las zonas y alterando los componentes de la cadena trófica.

Adicionalmente, durante los eventos "El Niño", al incrementarse temporalmente el nivel del mar, los manglares reciben la influencia de las altas mareas que superan los promedios considerados normales.

Se considera que la diversidad de especies en los ecosistemas de manglar es alta, pero poco estudiada en el Ecuador. Tenemos como ejemplo, que para la Reserva Ecológica Manglares Churute se ha descrito una estratificación, según nichos ecológicos, bien diferenciados (INEFAN/Fundación Natura/ECOLAP, 1996). Por ejemplo: enterrados en el fango viven bivalvos tales como: conchas (***Anadara*** **sp.**) y en madrigueras vive el cangrejo rojo (***Ucides occidentalis***) sobre la superficie del fango habitan gasterópodos. En las raíces aéreas del manglar viven los ostiones (***Cassostrea columbiensis***) y crustáceos tales como: (cirripedos, ***Balanus*** **sp.**), y cangrejos de la familia Graspidae.

En las ramas y follajes de los bosques también se encuentran caracoles del género Littorina. Además, en la hojarasca producida por el manglar vive gran densidad de organismos detritívoros.

En la zona de transición, entre el manglar y los canales de los esteros vive el mejillón (***Mytella guayanensis***), enterrado en un suelo desprovisto de vegetación y afectado por las altas y bajas mareas del estuario. Algunos peces existentes son: róbalos (***Centropomus armatus***, ***Centropomus unionensis***); lisa (***Mujil curema***); chame (***Dormitator latifrons***); bagres (***Bagre panamensis***, ***Netuma platypobon***); sábalo (***Brycon*** **sp.**); bocachico (***Ichthyolephas humeralis***); corvina (***Cynoscion*** **sp.**, ***Isopisthius*** **sp.**) (Hurtado *et al*., 2000).

Por otro lado, estudios de la Reserva Cayapas-Mataje, muestran que los vertebrados terrestres están igualmente bien representados (ECOCIENCIA, 1995). Las aves es el grupo mejor representado, tanto por la gran diversidad de especies residentes como por aves migratorias que utilizan los manglares y humedales como hábitats de invernación. Se registran 44 especies de aves, incluyendo 4 especies amenazadas, y al menos 19 especies de aves migratorias (Ortiz *et al*., 1990).

Además los mamíferos (24 especies registradas), si bien residen en los bosques de tierra firme, éstos se desplazan hacia las zonas de manglar en busca de alimento, por lo que dependen de los ecotonos entre los bosques de mangle y los bosques de tierra firme para cumplir sus funciones vitales.

Entre los reptiles más representativos se registran al menos 5 especies entre los cuales se incluye una especie en peligro de extinción: el lagarto (***Crocodrylus acutus***), éste grupo es el menos diverso de los encontrados en estas zonas (Hurtado *et al*., 2000).

1.3.1. POBLACIÓN DE LAS PERIFERIAS DE MANGLARES.

Las comunidades locales de la costa ecuatoriana se han articulado ancestralmente al ecosistema manglar. Se trata, conforme al Censo de población realizado por el INEC en el año 2001, de 1.003.828 personas que habitan en zonas que pertenecen al ecosistema manglar a lo largo del perfil costanero del Ecuador.

El 36 % de ellas se encuentran en la provincia de El Oro, el 35 % en la provincia de Guayas (incluido en ese entonces la actual provincia de Santa Elena), el 19 % en la provincia de Manabí y el 10 % en la provincia de Esmeraldas.

En cuanto a la distribución por etnias se pueden encontrar en su mayoría, familias afro-ecuatorianas, indígenas y mestizas, usuarias ancestrales del ecosistema manglar dedicadas a actividades de pesca artesanal, recolección de moluscos, crustáceos, madera para carbón y plantas medicinales.

1.3.2. DESCRIPCIÓN DEL ENTORNO DEL MANGLAR DE PALMAR.

La comuna Palmar se encuentra en la franja costera ubicada en la comuna del mismo nombre y que pertenecen a la península de Santa Elena situada al noroeste de la cuenca hidrográfica del río Guayas, dentro de la región costera del Ecuador y al oeste de Guayaquil.

Actualmente Palmar tiene una extensa playa de 2½ Km aproximadamente, el ancho de la misma en la zona activa es de 50 metros, la zona pasiva de 10 metros, y la zona de construcción de 20 metros.

La playa tiene un corte natural en los dos extremos, al norte existen acantilados bajos con vegetación de bosque seco y al sur se puede

observar una zona rocosa, la arena es fina y de coloración gris (ESPOL, León C., Sánchez M., Montoya R., 2007). Foto 1, Anexo III.

Además, anexo a la playa se encuentra el bosque de manglar denominado con el mismo nombre de la comuna, con una extensión aproximada de 36,86 hectáreas (ESPOL, 2007), el cual posee considerable biodiversidad de especies de flora y fauna tanto terrestres como acuáticas propias de éste tipo de ecosistemas.

Esta zona posee un clima más que todo desértico árido, también un rango medio de biodiversidad en especies de aves y variedad de anfibios (ESPOL, 2007), debido a que su parte oeste esta directamente en contacto con el océano Pacífico.

Por otro lado, las coordenadas geográficas de la comuna son 2°, 12’ de Latitud Sur y 79°, 53’ de longitud oeste (ESPOL, 2007), y sus límites están rodeados por piscinas del sector camaronero, que por su expansión han mermado la población de manglar.

1.3.3. ASPECTOS SOCIO-ECONÓMICOS DE LA COMUNA PALMAR.

La comuna de Palmar, de acuerdo al VI Censo de Población y V de Vivienda del año 2001 a Julio del 2002, registraba 4962 habitantes aproximadamente; y de acuerdo al crecimiento anual del 3,76 % en toda

la Península de Santa Elena (ESPOL, 2007), se calcula que en el 2010 Palmar cuenta con 6800 habitantes aproximadamente, representando el 20,14 % de la parroquia Colonche.

Las principales actividades económicas en Palmar son: Pesca artesanal, acuicultura tanto para laboratorios como para camaroneras, servicio doméstico, producción de huevos de codornices y talleres artesanales principalmente de tagua, concha perla, caña, madera, coco y piolas.

Tenemos como referencia, que los pobladores de esta comuna, aprovechando las características topográficas, climáticas y de estar sobre la línea de costa del medio, han logrado que éste sector desarrolle actividades acuícola basadas principalmente en producir larvas de camarón de la especie de camarón blanco (***Litopenaeus vannamei***) (ESPOL, 2005).

Además la zona de Palmar se ha visto favorecida con la presencia de la estación experimental CENAIM – ESPOL, ya que se ha logrado dar asesoría y ayuda a las actividades acuícolas del sector. En definitiva, aunque ancestralmente la actividad de pesca artesanal representa el mayor sustento de la comuna, la acuicultura en el sector representa un aceptable porcentaje de todas las ramas de actividades realizadas al 2005 por PEA (ESPOL, 2005, UPSE, 2005) Tabla II, Anexo I.

En cuanto a la actividad agrícola es mínima, los productos que se cultivan son de ciclo corto como: sandía, melón, camote, también se trabaja en

otros productos como leche, queso y nata (ESPOL, León C., Sánchez M., Montoya R., 2007).

Otra actividad adicional que realizan los habitantes de esta zona es el secado de pescado para la producción de harinas. Éste proceso es realizado de manera rudimentario y su principal mercado son las fabricas de alimento balanceado. En otro ámbito, la comuna posee servicio público de alumbrado (89,41 %) y agua potable por tubería (4,59 %) o por distribución de tanqueros u otros (70,4 %), (ESPOL, León C., Sánchez M., Montoya R., 2007).

1.3.4. VARIEDADES DE MANGLAR PRESENTES EN LA COMUNA PALMAR.

Dentro de éste ecosistema estuarino encontramos 4 variedades de manglar en los que se incluyen:

- Mangle rojo (***Rhizophora mangle***).
- Mangle negro (***Avicennia germinans***).
- Mangle Blanco (***Laguncularia racemosa***)
- Mangle Jelí o Botón (***Conocarpus erectus***).

1.3.4.1. MANGLE ROJO (*Rhizophora mangle*).

Reino: Plantae.
Subreino: Tracheobionta.
Superdivisión: Spermatophyta.
División: Magnoliophyta.
Clase: Magnoliopsida.
Subclase: Rosidae.
Orden: Rhizophorales.
Familia: Rhizophoraceae.
Género: *Rhizophora.*
Especie: *mangle.*
Nombre Científico: ***Rhizophora mangle****.*

Rhizophora mangle o mangle rojo es una especie que pertenece a la familia Rhizophoraceae, la cual cuenta con alrededor de 120 especies distribuidas en 16 géneros, siendo el género Rhizophora el mejor conocido, dominando las partes más anegadas de los ecosistemas manglar (Prahl, 1990). Los árboles son de 4 a 10 metros de alto, su forma es de árbol o arbusto perennifolio, halófilo, en el tronco se encuentran apoyadas numerosas raíces aéreas simples o dicotómicamente ramificadas con numerosas lenticelas o aberturas hidrófobas permeables al aire y no al agua, los cuales se abren y se cierran de acuerdo al nivel de inundación presente, la corteza es de color olivo pálido con manchas grises, sin embargo en el interior es de color rojizo, su textura es de lisa a levemente rugosa con apariencia fibrosa. Las hojas son simples, opuestas, pecioladas, de hoja redondeada, elípticas a oblongas, estas se aglomeran en las puntas de las ramas, su color es verde oscuro en el haz y amarillentas en el envés. (Prahl, 1990).

Las flores son pequeñas, de 2,5 cm de diámetro con cuatro sépalos lanceados, gruesos y coriáceos. La flor tiene cuatro pétalos blancos amarillentos. Foto 2, Anexo III.

Además, tiene de dos a cuatro flores por tallo o pedúnculo. Los frutos se presentan en forma de baya de color pardo, coriácea, dura, piriforme, farinosa, el desarrollo de las semillas se lleva a cabo en el interior del fruto por “viviparidad”, los propágulos son frecuentemente curvos, de color verde a pardo en la parte inferior y presentan numerosas lenticelas y por ultimo sus raíces son fúlcreas, ramificadas, curvas y arqueadas (Prahl, 1990).

Por otro lado, con el fin de tolerar las condiciones a las cuales se encuentran expuestas, las plantas han desarrollado estrategias de adaptación fisiológicas y anatómicas como una marcada tolerancia a las altas concentraciones de sal, adaptaciones para ocupar suelos inestables, para intercambiar gases en sustratos anaeróbicos y embriones capaces de flotar que se dispersan transportados por agua (Prahl, 1990).Gracias a estas modificaciones, el mangle rojo deja entrar el agua con cantidades bajas de sal a través de membranas situadas en las raíces, realizando filtraciones, ello se logra manteniendo diferencias de presión negativas en el interior del tejido a través de un proceso conocido como ósmosis (Prahl, 1989).

Sin embargo, todos los mangles excluyen alguna porción de sal cuando se absorbe el agua a través de las raíces, otra parte de esto se concentra

al interior en el tejido de la planta, variando las cantidades acumuladas de acuerdo a cada especie.

Rhizophora mangle es la especie que mejor está adaptada a esta situación por poseer raíces en forma de zancos, lo que le permite estabilizarse sobre planos lodosos, es común verlo a orillas de ciénagas, esteros o caños siempre procurando aumentar su área radicular para poder desarrollarse y colonizar nuevos espacios; es el sistema radicular más conocido, ya que se distingue por una maraña de raíces difícil de sobrepasar.

1.3.4.2. MANGLE NEGRO (*Avicennia germinans*).

Reino: Plantae.
Subreino: Tracheobionta.
Superdivisión: Spermatophyta.
División: Magnoliophyta.
Clase: Magnoliopsida.
Subclase: Asteridae.
Orden: Lamiales.
Familia: Verbenaceae.
Género: *Avicennia.*
Especie: *germinans.*
Nombre Científico: ***Avicennia germinans****.*

Avicennia germinans es una especie perteneciente a la familia Verbenaceae, estos árboles tuvieron su origen y propagación al este de

Latinoamérica, América Central y el Caribe. Sus especímenes llegan a promedios de alturas entre 15 y 30 metros, con diámetros normales de 20 a 60 centímetros.

Cuenta con neumatóforos (raíces arqueadas que quedan expuestas durante el bajamar, algunas de ellas son aéreas y se prolongan por encima de las aguas). Tolerante a la sombra, crece en rodales puros en la parte más alta del manglar, cerca de sitios cenagosos más alejados de la inundación y con niveles de salinidad menores que el resto de las especies que se localizan en el manglar, en suelos sedimentarios de arcilla y limo (Prahl, 1990). La sucesión vegetal de éste tipo de vegetación se da de la orilla del estero o una laguna hacia tierra adentro. Foto 3, Anexo III.

Además, tiene hojas perennes, con presencia de flores y frutos durante todo el año, las polinizaciones se dan generalmente por insectos como abejas, y la dispersión de los frutos es por hidrocoria, las semillas germinan generalmente dentro del fruto cuando éste aun se encuentra adherido al árbol (criptovivípara) (Prahl, 1990).

Otro de los aspectos es su presencia en metros sobre el nivel del mar (msnm), que va desde los 0 a 15 metros, sus raíces buscan suelos profundos, con texturas francas, arenosas o arcillosas, de drenajes pobres a permanentemente inundados, prefieren suelos de pH alcalino con carga orgánica de 2 a 25 %, y salinidad optima para su desarrollo de 40 ppm aunque el rango de presencia y crecimiento va desde 0 a 100 ppm,

siendo así que es la especie de mangle con mayor tolerancia analizada a la salinidad alta.

Los medios que forman su hábitat mantienen temperaturas medias de 22 a 28 °C, con precipitaciones medias anuales de 1375 mm^3, son poco tolerables a los fuertes vientos y temperatura fría, sin embargo de todas las especies es la más tolerable a las bajas temperaturas, con el límite de los -11°C en los que no sobrevive, las exposiciones por más de 48 horas a altas temperaturas son letales para las plántulas, los manglares no dependen totalmente de las lluvias para su sobrevivencia, porque pueden extraer agua dulce a partir del mar, mediante sus glándulas excretoras de sal. Además, cuando se presentan fuertes precipitaciones se reduce la hipersalinidad (Prahl, 1990). Su propagación se la realiza a través de propágulos, pero según las características del ecosistema, en el manejo de manglares es más sencillo utilizar el método de regeneración natural-manual.

Cuando se lleva a cabo esta práctica es recomendable dejar 12 árboles semilleros por hectárea, con una distribución homogénea. Las semillas son recalcitrantes, por ello no pueden ser deshidratadas ni almacenadas a bajas temperaturas, éste tipo de semillas pierde la viabilidad rápidamente (10 a 12 días), razón por la cual deben ser sembradas inmediatamente. Todas las especies de Avicennia son cosmopólitas al sur del Trópico de Cáncer (Prahl, 1990).

1.3.4.3. MANGLE BLANCO (*Laguncularia racemosa*).

Reino: Plantae.
Subreino: Tracheobionta.
Superdivisión: Spermatophyta.
División: Magnoliophyta.
Clase: Magnoliopsida.
Subclase: Rosidae
Orden: Myrtales.
Familia: Combretaceae.
Género: *Laguncularia.*
Especie: *racemosa.*
Nombre Científico: ***Laguncularia racemosa****.*

Laguncularia racemosa o mangle blanco, es una planta fanerógama en la familia Combretácea, nativa de las costas de África occidental de Senegal a Camerún, costas del Atlántico de América desde Bermuda, Florida, Bahamas, México, Caribe hasta el sur de Brasil; y costas del Pacífico de América desde México al noroeste de Perú, incluyendo las Galápagos (Pequeño, 1983).

Es un árbol mangle que alcanza entre 12 a 18 metros de altura, la corteza es grisácea parda a rojiza, rugosa y fisurada. Sus neumatóforos y/o raíces aéreas pueden estar presentes, dependiendo de las condiciones ambientales.

Las hojas son opuestas, elípticas, 4 a 10 cm por 2,5 a 5 cm, redondeadas en ambos extremos, enteras, suaves, correosas en textura, ligeramente

carnosas, sin venas visibles, y amarillas-verdosas. Peciolo duro, rojizo, de 10 a 13 mm de longitud, con dos glándulas pequeñas cerca de la lámina que exuda sal. Foto 4, Anexo III.

Además posee flores blancas, campanuladas mayormente bisexuales, de cerca de 5 mm de largo, los pétalos son 5, la base de 1 mm redondeado, blanquecino largo, y estambres. El pistilo con ovario inferior con 2 óvulos, estilo delgado, y el estigma diminuto (Pequeño, 1983).

El fruto es en forma de drupa de color rojizo pardo, de 12 a 20 mm de largo, con rayas longitudinales, y su única semilla es vivípara. Crece en áreas costeras de bahías, lagos, esteros, típicamente más adentro que otras especies de mangles, sobre de la línea de marea (Pequeño, 1983).

1.3.4.4. MANGLE GELÍ (*Conocarpus erectus*).

Reino: Plantae.
Subreino: Tracheobionta.
Superdivisión: Spermatophyta.
División: Magnoliophyta.
Clase: Magnoliopsida.
Subclase: Rosidae.
Orden: Myrtales.
Familia: Combretaceae.
Género: *Conocarpus.*
Especie: *erectus.*
Nombre Científico: ***Conocarpus erectus****.*

***Conocarpus erectus**,* es un manglar de arbustos y árboles en la familia Combretacea de las dos especies del género Conocarpus, que crecen en las costas en las regiones tropicales y subtropicales de todo el mundo, incluyendo Florida, las Bermudas, las Bahamas, el Caribe, América Central y del Sur de México a Brasil en la costa atlántica y desde México a Ecuador en la costa del Pacífico, África occidental, Melanesia y Polinesia (Pequeño, 1983). Foto 5, Anexo III.

Es por lo general una forma densa de arbusto multi-troncal de 1 a 4 metros de altura, pero puede crecer hasta convertirse en un árbol de hasta 20 metros de altura o más, con un tronco de hasta 1 metro de diámetro. La corteza es gruesa y tiene amplias placas delgadas de escalas grises a café.

Las ramas son frágiles, y en sentido estricto o en ángulo de alas en sección transversal. Las hojas están dispuestas alternativamente, simple y oblongas, de 2 a 7 cm de longitud (raramente de 10 cm de largo) y un grosor de 1 a 3 cm, con una disminución en la punta. Son de color verde oscuro y brillante en la parte superior, pálido y con pelos finos de seda por debajo, y tiene dos glándulas de sal en la base de cada hoja. Las flores son de 5 a 8 mm de diámetro, sin pétalos, que se producen en pequeñas panículas de flores. Las cabezas de semilla se rompen en la fase de madurez, y las semillas son dispersadas por el agua. (Pequeño, 1983).

1.3.5. CARACTERÍSTICAS DE LA ZONA INTERMAREAL DEL MANGLAR DE PALMAR.

En esta zona se escogió los puntos más sobresalientes en el margen del estero por tener interacción continua de la línea de tierra con el cuerpo de agua, esto facilita el arribo a la costa de un mayor número de cepas de hongos marinos. Los principales factores climatológicos que inciden en la zona de estudio son:

- La corriente fría de Humboldt;
- La corriente cálida del Niño y;
- Los desplazamientos de la zona de convergencia intertropical.

La temperatura media anual oscila entre los 24,5 °C, la mínima absoluta es de 15,6 °C y una máxima de 39,5 °C, con una humedad relativa promedio del 90 %.

Además, las precipitaciones oscilan entre 62,5 y 125 milímetros cúbicos como media. La corriente de Humboldt determina la precipitación y la temperatura. Los meses de sequía (ecológicamente secos) son 6, al igual que los meses de precipitaciones. (ESPOL, 2007).

1.3.6. BIODIVERSIDAD PRESENTE EN EL MANGLAR DE PALMAR.

El manglar de Palmar en un ecosistema rico en biodiversidad por ser la cuna de varias especies que buscan en él la reproducción y desarrollo de sus descendientes (ESPOL, 2007), enlistándose a continuación gran parte de la fauna presente:

Avifauna: Fragatas, pelícanos, gaviotas, garcilla bueyera, garceta grande, garcilla estriada, gallinazo aura, gallinazo negro, garrapatero, canario maría, colibrí, paloma tierrera, cucube, martín pescador, garzas y aves migratorias como flamingos, petreles y piqueros.

Mamíferos: Cuchucho tejón, zarigüeya, rata, ratón de campo y armadillo.

Reptiles: Iguanas, lagartijas, sapo común, culebras equis y matacaballos.

Crustáceos: Camarón, cangrejo rojo y azul, cangrejo de mangle, jaiba azul y verde.

Moluscos: Concha prieta, concha abanico, ostiones.

Peces: Lisa, róbalo, bagre, chame. Tabla IX, Anexo I.

CAPÍTULO II

REINO FUNGI: HONGOS.

2.1. GENERALIDADES.

El reino fungi incluye organismos con células eucarióticas (con núcleo y demás organelos membranosos: Aparato de golgi, mitocondrias, retículo endoplasmático, etc.), carecen de clorofila (son aclorofílicos, no realizan la fotosíntesis, por lo que son heterótrofos y necesitan un aporte de carbono y nitrógeno fijado orgánicamente), tienen una pared celular rígida bien definida de quitina; normalmente son inmóviles, no presentan tallos, raíces, hojas, ni vasos conductores como presentan las plantas, sino por una red de delgados filamentos llamados hifas, que en conjunto forman una estructura denominada micelio. Pueden ser unicelulares o multicelulares y microscópicas o macroscópicas. Se reproducen asexual o sexualmente por esporas (Carrillo, 2003).

Su carácter de heterótrofos, los separa del reino plantae; y la presencia de esporas y de pared celular en su estructura constitutiva, del reino animalia.

Algunos hongos presentan dimorfismo, es decir bajo ciertas circunstancias ambientales se desarrollan como levaduras, en tanto que cuando se cambia la temperatura o la concentración o tipo de algún nutriente, se desarrollan en forma filamentosa.

Estos organismos están conformados por estructuras como:

El Micelio.- Esta estructura se encuentra bajo tierra, bajo el humus, rodeando las raíces, sobre hojas o madera muerta, incluso sobre otros hongos, plantas o animales. Está conformado por una serie de filamentos entrelazados, en general de color blanco, que puede crecer en todas direcciones (Barco, Piedrahita, Gredos, 2005).

Sin embargo, en las levaduras el talo unicelular desempeña las funciones vegetativas reproductivas, estas se reproducen asexualmente por bipartición o por gemación y en la reproducción sexual dos células levaduriformes se unen y como resultado forman ascosporas en algunas levaduras la gema o brote formado queda adherido a la célula madre, los brotes sucesivos dan lugar a la formación de un talo de transición (pluricelular) denominado pseudomicelio.

El Carpóforo o seta.- Esta estructura es llamada también cuerpo fructífero, se encuentra al extremo de los micelios; una parte del carpóforo es fértil, el himenio, que puede ser en forma de láminas, tubos, pliegues, aguijones, o incluso lisa.

En el himenio se producen las esporas, que van a permitir la difusión de la especie. Un solo carpóforo puede producir decenas de millares de esporas, y en algunas especies hasta billones de ellas, cuando la espora madura cae del carpóforo en el sustrato, si las condiciones son las adecuadas germina produciéndose un filamento finísimo (filamento primario), que al entrar en contacto con otro filamento primario producido

por una espora de signo sexual contrario, se fusionan y forman un nuevo filamento (filamento secundario), que formará un nuevo hongo, un nuevo micelio, que en condiciones favorables formará un nuevo cuerpo fructífero, para continuar su expansión (Barco, Piedrahita, Gredos, 2005).

En la industria farmacéutica cada vez tienen más importancia, ya que a partir de los hongos se fabrican antibióticos, drogas, tonificantes, etc., se nutren de materia vegetal viva o muerta.

2.2. DISTRIBUCIÓN ECOLÓGICA DEL REINO FUNGI.

Los hongos tienen hábitats muy diversos, algunos son acuáticos viviendo principalmente en agua dulce, pero también se conocen marinos; la mayoría son terrestres y habitan en el suelo, sobre materia orgánica muerta (saprofitos), desempeñando una actividad crucial en la mineralización del carbono orgánico, otros son parásitos de vegetales, ocasionando la mayoría de las enfermedades significativas económicamente de plantas cultivadas, y también parásitos de animales incluyendo el hombre.

Actualmente se estima que el Reino Fungi puede tener 300.000 especies aproximadamente. De estos tan sólo encontramos descritas 28.700 especies de hongos macroscópicos, 24.000 especies de mohos, tizones y royas, y 13.500 especies de líquenes (asociación simbiótica de hongos y algas). De las especies no descritas se cree que muchas habitan en la selva pluvial o pluvisiva tropical. (Acta Botánica Mexicana, 2006).

Sin embargo se sabe que los hongos están presentes en todo el planeta, incluidos los círculos polares ártico y antártico.

Los hongos se encuentran también en todos los ecosistemas marinos, desde las zonas costeras hasta las profundidades oceánicas, incluyendo los sedimentos de las zonas abismales.

2.3. REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES Y FORMAS DE IDENTIFICACIÓN.

Cuando se compara a los hongos con las bacterias, en general estos tienen requerimientos nutricionales muy simples, pero su desarrollo es más lento, por lo que requieren mayor tiempo de incubación para su cultivo, la diversidad más notable la presentan en sus propiedades morfológicas y en sus ciclos sexuales siendo estas características los criterios que se emplean en la identificación y clasificación, las características estructurales incluyen: Tipo de talo, morfología microscópica del micelio tanto aéreo como profundo, tipo de hifas diferenciación y disposición o agrupación de las mismas tipo de hifas reproductivas asexuales, estructura y modo de formación del cuerpo fructífero sexual, tipo de espora (forma, tamaño, aspecto externo, agrupación, tabicación, color, movilidad, tipo y numero de flagelos); composición de la pared celular, además, evaluar otras características fisiológicas y reacciones metabólicas especialmente sobre azucares, de éste modo, el estudio de los hongos implica el examen microscópico, la observación del aspecto macroscópico de sus colonias y la determinación

de sus propiedades fisiológicas, especialmente su actividad frente a sus diferentes azúcares.

2.4. TIPOS DE HONGOS.

Los organismos fúngicos, según sea el substrato en el que se encuentren se dividen en:

- Micorrízicos.
- Parásitos.
- Saprófitos.

2.4.1. HONGOS MICORRÍZICOS.

Define una relación simbiótica entre las hifas de ciertos hongos y las raíces de las plantas. Éste tipo de hongos se caracterizan porque forman una especie de guante que envuelve la raíz del árbol, penetrando en su estructura, pero no sus células, que llegan a formar un contacto viviente entre el árbol y los hongos (Revista Mexicana de Micología, Heredia Abarca, Castañeda Ruiz, Becerra Hernández, Arias Motta, 2006). Foto 6, Anexo III.

Muchas veces, los hongos micorrízicos contribuyen a que ciertos arboles crezcan en terrenos carentes de nutrientes, de manera que son estos los que permiten a sus raíces absorber mayor humedad y suministran

sustancias nutritivas que recogen antes que las raíces de los vegetales lleguen a estas, y a su vez el huésped le otorga los carbohidratos que los organismos fúngicos necesitan para su desarrollo.

Por otro lado, el 99 % de las plantas, necesitan a éste tipo de hongos simbiontes asociados íntimamente a sus raíces para sobrevivir, sin ellos la vida vegetal tendría dificultades para sostenerse y quizás fuese diferente a como la conocemos en la actualidad. Se conoce también que la variedad de hongos micorrízicos que acompaña las diferentes especies vegetales varía con la edad de los arboles (Heredia Abarca, Castañeda Ruiz, Becerra Hernández, Arias Motta, 2006).

A éste tipo de organismos fúngicos pertenecen las especies más apreciadas, como por ejemplo: ***Tuber melanosporum***, ***Amanita caesarea***, ***Boletus edulis***, y ***Lactarium deliciosus***, los tres últimos mencionados solo aparecen cuando los arboles de las especies forestales que micorrizan han superado las fases iniciales de su desarrollo.

La desaparición de las especies fúngicas micorrízicas tendría un efecto inmediato en la salud del organismo simbionte por ocasionar esto, la disminución de la captación de agua y nutrientes, menor defensa ante ataques de patógenos por las raíces, menor estabilidad, etc. (Allegrucci, Cazau, Cabello, Arambarri, 2005).

2.4.2. HONGOS SAPRÓFITOS.

Los hongos saprófitos (*sapros*= putrefacto; *fyton*= planta), son los que se alimentan y vive sobre materia orgánica en descomposición, es decir sobre materia muerta, (restos orgánicos de plantas y animales que contiene el suelo, partes muertas de la madera de un árbol o excrementos de animales).

Esta variedad de hongos, son los más frecuentes, ya que intervienen en la mineralización de los restos orgánicos que posteriormente formarán parte del humus. Son los principales responsables de la descomposición de la materia orgánica y del reciclado de nutrientes.

Por otro lado la pérdida de los hongos saprófitos podría ocasionar la sobreacumulación del humus y alterar los ciclos biogeoquímicos de la materia, ya que modificaría la permeabilidad, agregación, intercambio iónico, y capacidad de retención de agua del suelo (Allegrucci, Cazau, Cabello, Arambarri, 2005).

Además, estos desempeñan un papel de bioindicadores del estado de los bosques o del nivel de contaminación. Constituyen la fuente de alimentación de numerosos organismos vertebrados e invertebrados, y por último, además de su valor científico, por ser la fuente de metabolitos con diferentes aplicaciones industriales o farmacéuticas, tienen un potencial valor económico, por pertenecer a éste grupo especies de características comestibles (Allegrucci, Cazau, Cabello, Arambarri, 2005).

2.4.3. HONGOS PARÁSITOS.

Los hongos parásitos se alojan o colonizan sobre algún ser vivo que los hospede, viviendo a expensas de éste sin ofrecerle ningún beneficio a cambio, pueden provocarles enfermedades, e inclusive la muerte contribuyendo así al proceso de selección natural (por ejemplo, aniquilan a los arboles más débiles de bosques), o simplemente viven a expensas de otros organismos. A nivel mundial, los hongos constituyen el 90 % de los parásitos que afectan a los vegetales, se ha llegado a afirmar que estos, cada año destruyen más del 15 % de la producción vegetal del mundo (Heredia Abarca, Castañeda Ruiz, Becerra Hernández, Arias Motta, 2006).

En otros estudios se comprobó, que esta variedad de hongos, son capaces de vencer las defensas que oponen las células de los organismos atacados, debido a la gran cantidad de enzimas, toxinas y antibióticos que producen.

2.5. CLASIFICACIÓN DEL REINO FUNGI.

De acuerdo con el Diccionario de Hongos (Hawksworth *et al*., 1995), éste reino tiene aproximadamente 103 órdenes, 484 familias, 4979 géneros y unas 70.000 especies descritas.

Éste reino se divide en cuatro grupos o filos: Ascomycota, Basidiomycota, Chytridiomycota y Zygomycota, pero se incluye además un quinto phylum

no reconocido oficialmente (Deuteromycota) debido a las características que presenta y la inconformidad de especialistas para que integre uno de los 4 phylum del reino (Dictionary of Fungi, IX Edition, 2001).

2.5.1. PHYLUM ASCOMYCOTA.

Es el grupo más grande, cuenta con aproximadamente el 75 % de los hongos descritos a nivel mundial, incluye a la mayoría de hongos que se asocian con algas para formar líquenes, y la mayoría de hongos que presentan carencias de evidencias morfológicas en la reproducción sexual.

Estos hongos poseen formas muy variadas: De copa, botón, disco, colmena y dedos, entre otras. Agrupa una gran cantidad de hongos patógenos de plantas y animales y aquellos que crecen sobre alimentos, además algunos que se pueden encontrar sobre cuero, tela, papel, vidrio, lentes de cámaras, paredes, etc. (Raju, 1992).

Sin embargo, la característica principal, además de su forma, es la presencia de estructuras reproductoras microscópicas llamadas ascas, que dan origen a las esporas. Las ascas están formadas por una célula especializada con forma de saco en cuyo interior se forman las esporas. A las esporas producidas por las ascas también se les llama ascosporas. Gráfico 2, Anexo II.

Por otro lado, los líquenes pueden incluirse en el reino de los hongos porque tienen el mismo tipo de reproducción y el 99 % de las especies conocidas pertenecen al Phylum Ascomycota (Ascolíquenes) y solamente 1 % al Phylum Basidiomycota (Wu y Kimbrough, 1992; Raju, 1992).

Dentro de éste phylum también se encuentran dos de los hongos más renombrados por las utilidades prestadas al hombre, siendo estos ***Saccharomyces cerevisiae*** que es la levadura utilizada en el comercio e industria de alimentos, y ***Penicillium chrysogenum*** que es el hongo productor de penicilina, pero de igual manera están presentes especies perjudiciales como ***Aspergillus flavus*** productor de la aflatoxina, un compuesto potencialmente tóxico, y ***Candida albicans*** causante de el salpullido del pañal, y de graves afectaciones vaginales (Taylor, 1995).

2.5.2. PHYLUM BASIDIOMYCOTA.

Basidiomycota es junto al phylum Ascomycota los grupos más grandes del reino fungi, son conocidos como los hongos de mayor tamaño del reino. Éste phylum incluye aquellos hongos con forma de sombrilla, de coral, las orejas de palo, los gelatinosos, globosos y algunas levaduras, entre otros los hongos venenosos que producen sustancias alucinógenas y otras toxinas mortales para el hombre, y uno en especial: El hongo patogénico humano ***Cryptococcus* sp**.

También incluye los que tienen aspecto polvoriento o como manchas y crecen sobre diversas estructuras de las plantas (flores, frutos, hojas, tallo o raíces). Algunos tienen importancia económica, como las royas y los

carbones, otros en cambio afectan al hombre porque frecuentemente los que pertenecen a éste phylum atacan y colonizan la madera de las edificaciones causando rápida descomposición y pérdidas económicas consecuentes.

A nivel microscópico tenemos que su característica principal es la presencia de estructuras reproductoras especializadas o basidios, las cuales dan origen a las esporas pero en forma externa, generalmente en grupos de cuatro, aunque en algunas especies pueden encontrarse dos y seis esporas por basidio. Las esporas se conocen como basidiósporas. Gráfico 2, Anexo II.

Éste phylum contiene aproximadamente el 30 % de especies descritas de hongos verdaderos (Kirk *et al.,* 2001). Los Basidiomycota están presente en todos los ambientes, ya que encontramos terrestres, dulceacuícolas, y marinos, con diferentes formas (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979; Hibbett y Carpeta, 2001). Gráfico 3, Anexo II.

2.5.3. PHYLUM CHYTRIDIOMYCOTA.

Es la tercera división del reino fungi, su nombre deriva del griego *chytridion*, que significa “olla pequeña”, haciendo referencia a la forma de las estructuras de sus esporas cuando aun no están abiertas.

Éste phylum está formado principalmente por hongos acuáticos microscópicos, aunque algunos pueden crecer también sobre materia

orgánica en descomposición u organismos vivos como gusanos, insectos, plantas y otros hongos. En éste caso, las esporas, llamadas "zoosporas", poseen flagelos que les permiten moverse en medios líquidos, siendo esta la característica especial de éste phylum (Del Boca *et al*., 2005).

Sin embargo Chytridiomycota es el phylum de hongos conocidos más primitivos, son principalmente saprobios, la composición de la pared celular es de quitina y queratina, siendo estos unicelulares y pluricelulares. Otra de sus características es que en su base forman una estructura a manera de micelio pero que no tiene las características normales de la estructura de otros phylum, por lo que se lo denomina falso micelio.

La mayor parte de los chytridiomycotas son dulceacuícolas, siendo estos aproximadamente 1000 especies, en 127 géneros, distribuidos en 5 órdenes (Del Boca *et al*., 2005).

En muchos de los casos en los que éste tipo de hongos parasitan a su huésped les resultan mortales, y en casos específicos han llevado al declive de especies como es el caso del Chytridiosis del salmón, que ha llevado a pérdidas globales dramáticas de salmónidos, y otro como el Dendrobatidis de los Batrachochytridium, que se ha implicado en el declive global y extinción de anfibios, particularmente en ranas de América y Australia, descubriéndose luego que éste tipo de hongos es susceptible a las temperaturas altas, ya que solo resultó mortal en organismos que se encontraban en climas templados y frescos en los que

se desarrolló con facilidad como latitudes altas y áreas montañosas (Del Boca *et al*., 2005).

2.5.4. PHYLUM ZYGOMYCOTA.

Los hongos de éste phylum son también llamados hongos de cigoto, su nombre proviene de la estructura zigosporangia, donde se forman las esporas esféricas resistentes durante la reproducción sexual.

Éste phylum tiene aproximadamente 1060 especies conocidas; son de hábitats principalmente terrestres, algunos son parásitos de plantas, insectos y animales pequeños, mientras que la mayoría forma relaciones simbióticas con plantas. (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979; Hibbett y Carpeta, 2001).

Un ejemplo claro de éste phylum es un miembro de los Mucorales, el hongo negro del pan, que se desarrolla sobre fuentes de alimentos introduciendo sus hifas en la superficie hasta alcanzar el nivel que le permita absorber los nutrientes que necesita. Foto 7, Anexo III.

Una de sus características es que en su fase asexual forma esporangios bulbosos de color negro, cada una de estas encierra centenares de esporas haploides, a pesar de esto algunos zygomycotas dispersan sus esporas de una manera más precisa que permitiéndoles simplemente flotar sin propósito fijo en las corrientes aéreas; por ejemplo ***Pilobolus***

sp., un hongo que se desarrolla en el estiércol animal dirige las curvaturas de sus esporangioforos hacia la luz por medio de un pigmento fotosensible ligero, y entonces los expulsa gracias a un fuerte chorro explosivo de citoplasma de gran presión (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979; Hibbett y Carpeta, 2001).

A éste phylum generalmente se lo coloca cerca de la base del árbol filogenético fúngico, compuesto por hongos microscópicos que pueden desarrollarse sobre materia orgánica en descomposición, también se pueden encontrar en el tracto digestivo de algunas especies de artrópodos, como los insectos. (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979; Hibbett y Carpeta, 2001).

2.5.5. PHYLUM DEUTEROMYCOTA.

Deuteromycota (De definición griega que significa “segundos hongos”) hasta ahora han sido considerados un phylum formal del reino fungi. El término se utiliza solamente de manera informal para denotar la especie de los hongos que se reproducen asexualmente, aunque se los asocia a miembros de los phylum Ascomycota y Basidiomycota.

A los miembros de este phylum se los llama comúnmente imperfecti de los hongos u hongos imperfectos. El phylum Deuteromycota no cabe comúnmente en clasificaciones taxonómicas de hongos que se basan en conceptos biológicos de la especie o características morfológicas de estructuras sexuales, porque su forma sexual de reproducción nunca se

ha observado; por lo tanto de estos “hongos imperfectos” solamente se conoce su forma de reproducción asexual.

Hay cerca de 2500 especies que se han clasificado en el phylum Deuteromycota, incluso hongos que producen penicilina antibiótica, y dentro de los perjudiciales los que causan pie del atleta e infestaciones de levadura son hongos imperfectos. Además, hay un número de este grupo que son comestibles, incluyendo los que proporcionan las características distintivas del queso Roquefort y del Camembert (Kendrick, 1981).

Aunque más informal, nombres conocidos para hongos del phylum Deuteromycota (Deuteromycetes), son hongos anamorfos u hongos mitospóricos, pero éstos son términos sin fila taxonómica. Cabe recalcar que aunque no es un phylum reconocido oficialmente en la actualidad, muchos de los hongos de este grupo aun no encajan en ninguna fila de la clasificación fúngica actual.

2.6. HONGOS EN LOS OCÉANOS.

Los océanos poseen la mayor riqueza filogenética sobre la tierra, presentando el mayor número de animales, plantas y microorganismos (hongos, bacterias, etc.).

Ellos han desarrollado una serie de estrategias metabólicas y fisiológicas, que les permitan sobrevivir en éste medio extremo, lo cual puede

significar la producción de metabolitos estructuralmente distintos a los encontrados en sus contrapartes terrestres (Jensen & Fenical, 1994).

En la última década la micodiversidad ha recibido particular atención, debido al elevado número de especies existentes en el planeta y la pequeña proporción de especies descritas hasta el momento, además por su importancia en el funcionamiento de los ecosistemas y el interés en la obtención de nuevos productos a partir de ambientes naturales (Wall, 1999).

La microbiología marina es una ciencia relativamente nueva y uno de los grupos menos estudiados son los hongos marinos. La existencia de los hongos en los mares se conoce desde el siglo XIX, pero no es hasta 1944 con la publicación del libro “Hongos marinos, su taxonomía y biología” de Barghoorn y Linder, que resurge con más fuerza el interés en éste campo.

De las cerca de 900 variedades de hongos marinos conocidas en el mundo, 358 fueron registradas en ecosistemas de manglares, y los ascomicetos fueron los más comunes dentro de los identificados (Jones and Kuthubutheen, 1989; Kohlmeyer and Volkmann-Kohlmeyer, 1991; Alias *et al*., 1995; Jones and Alias, 1996; Jones and Mitchell, 1996).

Además, los hongos de los océanos poseen una importancia ecológica relevante, fundamentalmente en las zonas costeras, porque juegan un papel primordial como descomponedores primarios de todos los sustratos orgánicos entre los que se encuentran los compuestos lignocelulósicos

que no pueden ser utilizados por otros organismos, y cuya acumulación pudiera ser una causa de contaminación en diversos ecosistemas marinos.

A pesar de que existen hongos presentes en todos los océanos, a medida que nos alejamos de las costas hacia el mar abierto, el número de hongos marinos comienza a disminuir gradualmente. En las zonas costeras, donde abunda la materia orgánica, encontramos una amplia distribución de estos microorganismos. Sin embargo, el océano es muy pobre en sustratos y los hongos que habitan en esta zona dependen de algas o del plancton para obtener nutrientes. En estas regiones abundan las levaduras y los hongos inferiores (Militoris, 1995; Ranghukumar, *et al*., 1995). Por lo tanto, dichos microorganismos contribuyen al reciclaje de nutrimentos, la mineralización de las fuentes de carbono absorbidas de sus alrededores y al movimiento de materia y energía en su medio ambiente (Liberra y Lindeguist, 1995).

A nivel mundial, en los últimos 10 años se han incrementado las investigaciones sobre la taxonomía, diversidad, distribución, ecología y biotecnología de los hongos en los océanos (Jones y Michell, 1996; Kohlmeyer y Volkmann-Kohlmeyer, 1997; Biabani y Laatsch, 1998; González *et al.,* 1998; Daferner, 1999; Sponga *et al.*, 1999). Sin embargo, los pocos estudios sobre aspectos fisiológicos realizados en éste grupo, han sido dirigidos hacia determinadas especies (Abbanat, 1998).

Actualmente, se considera que el estudio de los metabolitos bioáctivos obtenidos a partir de microorganismos marinos es una rica fuente para el descubrimiento de nuevas drogas de uso médico.

La lista de compuestos obtenidos a partir de microorganismos acuáticos incluyen antimicrobianos, anti cancerígenos y anti inflamatorios, muchos de los cuales pertenecen a clases químicas no descritas en microorganismos terrestres. Ejemplos de ello son dos productos naturales marinos de naturaleza anti cancerígena, como son la briostatina y didemnina B (Pettit *et al*., 1982; Rinehart *et al.,* 1981), estando ambos ya en etapa de evaluación clínica (Jensen & Fenical, 1994).

2.7. BREVE DESCRIPCIÓN DE HONGOS MARINOS.

Durante los primeros cien años de investigación en hongos marinos se realizaron algunas descripciones de estos organismos, pero los intereses se limitaron a determinadas especies sin hacer referencia al hábitat marino, excepciones fueron los trabajos publicados por los hermanos Crouan en 1867, quienes describieron 5 especies de hongos marinos asociados con algas (Kohlmeyer, 1974; Sutherland, 1915; 1916).

En la micología marina los estudios han sido dirigidos en dos líneas fundamentales: la primera en hongos que habitan en el mangle, madera de deriva, y otros sustratos de la zona litoral, donde se realizan observaciones directas de los cuerpos de fructificación sin el empleo de medios de cultivo selectivos. La segunda línea se desarrolla a partir de

aislamientos en sedimentos, arena y agua, mediante el empleo de técnicas de cultivo. El método de observación directa ha sido el más aceptado y empleado por un gran número de investigadores a nivel mundial (Hyde y Pointing, 2000).

La mayor parte de los hongos marinos son saprobiontes, es decir, que viven asociados a partículas de la materia orgánica o sobre sustratos naturales como: algas, fanerógamas marinas, madera intermareal, hojas, raíces, frutos y ramas de arbustos costeros. También se han logrado aislar de partículas de arena, conchas calcáreas de animales marinos, de arrecifes coralinos y foraminíferos (Kohlmeyer, 1985; Kohlmeyer y Volkmann-Kohlmeyer, 1992; Enríquez, *et al.,* 2001).

Algunas especies son parásitas de plantas y animales marinos llegando en ocasiones a causar enfermedades al hospedero (Gloer, 1993; Liberra y Lindequist, 1995; Konig y Wright, 1995).

Un gran número de especies se han encontrado colonizando diversos sustratos, por ejemplo, ***Corollospora marítima*** Werdermann ha sido aislada de madera, granos de arena, algas, material coralino, foraminíferos y fanerógamas marinas, siendo por esto muy frecuentes y cosmopólitas con un amplio rango de distribución geográfica (Kohlmeyer, 1985; Kohlmeyer y Volkmann-Kohlmeyer, 1992; Enríquez, *et al.,* 2001).

Existen especies que solo viven en hospederos específicos, como ***Mycareola dilseae*** Maire *et al.,* Chemin en el alga roja ***Dilsea carnosa****,* y

por lo tanto, se encuentran restringidas al rango de distribución de sus hospederos. No se conocen especies endémicas de hongos marinos, con excepción de los parásitos o simbiontes de algas endémicas (Volkmann-Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1993).

Los ascomicetes marinos, fundamentalmente los de la familia Halosphaeriaceae, poseen ascosporas con apéndices o cubiertas gelatinosas (Spatafora, *et al*., 1998). En esta familia se han observado una gran variedad de apéndices, estos pueden tener formas de espinas, fibras, tubos o capas y su consistencia puede variar de gelatinosa y mucilaginosa a reseca (Jones, 1994).

Estas estructuras aumentan la superficie de la espora y disminuyen su coeficiente de sedimentación, lo que permite mantenerlas suspendidas en el agua e incrementar su capacidad para adherirse al sustrato hasta la penetración del tubo germinativo (Jones, 1995; Spatafora*, et al.,* 1998).

En los géneros Aniptodera, Cucullosporella, Halosarpheira *y* Ophiodeira las ascosporas tienen sus apéndices en forma de capa, los cuales se pueden encontrar en ambos extremos de la ascospora como en ***Aniptodera mangrovei*** Hyde o en solo uno como ***Ophiodeira monosemeia*** Kohlmeyer. Por otra parte la forma fibrilar de los apéndices se encuentra en pocos géneros como en Nereiospora, donde se ubican tanto en los polos, como en la zona central de la ascospora (Hyde, *et al*., 2000).

Los ascocarpos en ocasiones se encuentran embebidos en las conchas de carbonato de calcio de los animales marinos, en algas verdes calcificadas (Kohlmeyer, 1984). La membrana de los foraminíferos está constituida por mucopolisacáridos que aparentemente sirven como nutriente a los ascocarpos en desarrollo. En el interior de los sustratos calcáreos los ascocarpos están bien protegidos hasta la maduración de las ascosporas (Kohlmeyer, 1985).

Los hongos mitospóricos marinos liberan sus conidios de forma pasiva y aunque no se conoce el mecanismo exacto, probablemente se desprenden de la célula conidiógena cuando maduran. En los hifomicetes ***Cirrenalia* sp.**, ***Zalerium* sp.**, y ***Varicosporina ramulosa*** Kohlmeyer, los conidios se despegan fácilmente por los puntos de unión de las hifas. En algunas especies, como ***Cytospora rhizophoreae*** Kohlmeyer, que vive en las raíces de mangle, los conidios salen a través del picnidio formando agregados que se disuelven al contacto con el agua (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979).

Los apéndices y los conidios tetrarradiados en los hongos mitospóricos marinos son poco comunes. En la especie ***Robillarda rhizophorae*** Kohlmeyer, se han descrito conidios elipsoidales que presentan tres apéndices radiales unidos al ápice; en ***Camarosporum palliatum*** Kohlmeyer se observan conidios con una capa gelatinosa en cada terminación y los géneros Varicosporina, Clavatospora y Orbimyces poseen conidios tetrarradiados (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979; Hyde y Sarma, 2000).

Los hongos marinos constituyen un grupo de microorganismos capaces de biosintetizar metabolitos con estructuras novedosas. Las poblaciones microbianas, en general, producen compuestos que desfavorecen el crecimiento de otras poblaciones, tales como ácido láctico, ácidos grasos, ácido sulfúrico, amoniaco, etanol u otros alcoholes de bajo peso molecular (Atlas y Bortha 2002).

Los antibióticos, producidos de forma natural por estas poblaciones, podrían suministrar beneficios en el control de enfermedades, tanto en acuicultura como en patología humana y animal (Lodeiros *et al*., 1989, Riquelme *et al*., 1997, Castillo *et al*., 2000, 2001); en éste contexto los hongos tropicales se están incorporando a los programas de preselección como potenciales productores de fármacos con nuevos modos de acción (De La Rosa y Gamboa 2003).

Las investigaciones realizadas por Lin *et al*., (2002), Chen *et al*., (2003), Krohn y Díaz (2004) revelaron la presencia de metabolitos secundarios provenientes de los hongos marinos, aislados de mangles, entre ellos: ***Verruculina enalia*** 2606, ***Kandelia candel*** 1893 y ***Xylaria* sp.**, con potentes y diversas actividades: antifúngicas, antitumorales, e inhibitorias de la acetilcolina esterasa, respectivamente. Esto es indicativo de que los manglares y los sedimentos asociados a estos ecosistemas, representan microambientes.

2.8. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y ECOLÓGICA DE HONGOS MARINOS.

Hasta el momento ha sido muy difícil de establecer un rango de distribución geográfica de los hongos marinos. Hughes (1974), propuso 5 regiones: ártica, templada, subtropical, tropical y antártica, teniendo en cuenta la temperatura como uno de los principales factores que controlan la distribución de los organismos marinos, que es la que se ha utilizado normalmente.

Sin embargo, estudios recientes han demostrado la necesidad de considerar otros factores como la existencia de sustratos y hospederos adecuados en el desarrollo de los hongos marinos (González, *et al*., 1998; Jones, 2000).

Los principales factores a considerar en el control de la distribución de los hongos marinos son: temperatura, salinidad, existencia de hospederos y sustratos disponibles, presión hidrostática, iluminación, contaminación, oleaje y oxígeno disuelto (Kohlmeyer, 1983; Taylor *et al*., y Jones, 2000).

Por otro lado, los hongos han desarrollado diferentes adaptaciones al hábitat marino que les ha permitido sobrevivir, establecerse y reproducirse en ambientes adversos y extremos como son estuarios, marismas dunas costeras y arrecifes. Estas adaptaciones se encuentran relacionadas fundamentalmente con los mecanismos de liberación, propagación y establecimiento de las esporas y con la morfología de las estructuras de

reproducción, por lo que existe un amplio espectro de ascomas, ascas y ascosporas (Rees y Jones, 1985; Jones 1995).

Además, los mecanismos de liberación de esporas varían de un grupo a otro. En los ascomicetes marinos, puede ocurrir de forma activa y pasiva. Los mecanismos de liberación activos probablemente evolucionaron en el hábitat terrestre donde la dispersión de esporas es más eficiente, estas son catapultadas lejos del cuerpo fructífero.

En el agua, la descarga forzada de las ascosporas tiene menos importancia, pues las esporas son arrastradas por las corrientes tan pronto salen por el orificio del ascocarpo (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979).

En la mayoría de los ascomicetes marinos, las ascosporas son liberadas por la disolución pasiva de las ascas poco antes o después de su maduración. En esta etapa, las ascosporas se acumulan cerca del ápice del ascocarpo y salen a través del ostiolo (que se forma por el aumento de la presión osmótica en el interior del cuerpo fructífero), para ser arrastradas por las corrientes de agua (Jones, *et al*., 1986; Jones, 1995).

La resistencia de las estructuras de reproducción a las condiciones del hábitat marino constituye una adaptación de gran importancia para la supervivencia de los hongos. Por ejemplo, en la zona intermareal, la acción de las olas y movimiento de los granos de arena comprimen las partículas blandas. Los ascomicetes marinos arenícolas, que viven en éste ambiente, han desarrollado fuertes ascocarpos que se adhieren

firmemente a los granos de arena y a los fragmentos de conchas calcáreas. El ostiolo, que es la parte más frágil del ascocarpo, generalmente se localiza cerca del sitio de unión con el sustrato, y de esta forma, queda protegido de la abrasión de los granos de arena (Kohlmeyer, 1984).

Tenemos también a las especies ***Arenariomyces parvulus*** Koch, ***Arenariomyces triseptatus*** Hohnk, ***Lindra marinera*** Kohlmeyer y ***Corollospora marítima*** se han encontrado tanto en la superficie como en el interior de ***Archaeas angulatus***, foraminífero muy común en la arena de las playas de Cuba (Enríquez, *et al*., 2001).

El hongo ***Corollospora marítima*** es una especie muy frecuente en las playas y su adaptación al medio se explica por:

1. La habilidad que posee para adherirse y resguardarse entre los granos de arena con producción profusa de micelio.

2. La formación de un subículo secundario sobre los granos de arena.

3. Un peritecio carbonáceo.

4. La orientación lateral de cuello ostiolar y ostiolo cuando crecen adheridos a los granos de arena, para protegerse de la abrasión en la zona intermareal.

5. Ascosporas con apéndices especializados (Koch y Jones, 1984; González, *et al*., 1998).

2.9. IMPORTANCIA DE HONGOS MARINOS Y REGISTROS EN ECOSISTEMAS ESTUARINOS.

Los hongos marinos ocupan una posición imprescindible en los ecosistemas estuarinos ya que son el pilar fundamental junto a las bacterias en el proceso de degradación de materia orgánica.

Además, la descomposición y la mineralización de los nutrientes de los restos orgánicos son de considerable importancia para el funcionamiento de los ecosistemas, así como la composición específica de los organismos descomponedores debido a su influencia en la tasa de descomposición (Swift *et al.,* 1979). Por tanto, contribuyen al reciclaje de nutrientes, a la mineralización de las fuentes de carbono absorbidas de sus alrededores y al movimiento de materia y energía en su medio ambiente (Liberra y Lindeguist, 1995). Gráfico 4, Anexo II.

Los hongos juegan un papel importante en estos procesos y sus funciones incluyen la volatilización de C, H y O, la reducción en volumen de los materiales orgánicos, la fragmentación de las macromoléculas, el incremento de la homogeneidad del sustrato, favoreciendo la asimilación por parte de los microbios y organismos que se alimentan de detritos.

La mineralización del N, P, K, S, y otros iones a partir de la materia orgánica e inorgánica acompaña comúnmente a la descomposición (Christensen, 1989). La productividad primaria y el funcionamiento a largo plazo de los ecosistemas dependen de estas actividades (Doran & Parkin, 1994, 1996).

A pesar de toda la importancia que la micobiota tiene en los procesos arriba mencionados, es poca la atención que se le ha prestado al papel de los hongos en el funcionamiento de los ecosistemas, y en el mantenimiento de su diversidad (Hawksworth, 1991).

La madera es un polímero heterogéneo constituido fundamentalmente por celulosa, hemicelulosa, y lignina. Es el biomaterial más abundante en la naturaleza por tanto los estudios sobre su colonización y degradación son de gran importancia ecológica y económica.

Esta materia, en ambientes marinos proviene de manglares y otros árboles que habitan en los litorales, donde la acción de las corrientes marinas y ríos transportan hacia el océano restos vegetales que luego son depositados en las costas. Además se construyen en esas mismas áreas, estructuras de madera como puentes, pilotes que también sufren la colonización microbiana (Hyde, *et al.,* 1998).

En el mar, la madera es colonizada por bacterias y hongos, tanto en regiones tropicales como templadas. La acción microbiana sobre la madera no se limita a las zonas oxigenadas donde actúan los hongos sino que se extiende hasta los sedimentos marinos anóxicos donde juegan su papel las bacterias (Eaton y Hale, 1993).

Lógicamente, cuando la madera de origen terrestre penetra en ambientes marinos trae consigo micobiota terrestre la cual no sobrevive a las altas salinidades y es sustituida rápidamente por los hongos marinos. Estos

degradan la madera por acción enzimática y son denominados lignícolas y manglícolas en dependencia del sustrato maderable donde actúen (Poonyth, *et al*., 1999).

Además, los hongos lignícolas viven en la madera que se encuentra sumergida en el mar, flotando a la deriva o en la región intermareal de la playa. La importancia de éste grupo reside en que descomponen activamente la madera, generando detritos y sustancias que son utilizadas en la cadena alimentaria. Por otra parte, causan pérdidas económicas al deteriorar las estructuras de madera que se encuentra en los puertos, tales como pilotes, rompeolas y muelles (González y Herrera, 1995).

Farrant *et al*., 1985; en Dinamarca, registraron 45 especies de hongos marinos extraídos de la madera de deriva depositada sobre la playa por el mar. Las especies más comunes fueron ***Nereiospora comata*** Kohlmeyer, Jones, ***Carbosphaerella leptosphaerioides*** Schmidt, ***Remispora pilleata*** Kohlmeyer, ***Groenhiella bivestia*** Koch, y ***Lulworthia lignoarenaria*** Koch y Jones.

Los hongos lignícolas son saprobiontes y no dependen de hospederos específicos, por tanto pueden encontrarse en cualquier parte, siempre que haya sustratos maderables para su colonización. Solo los bajos niveles de oxígeno disuelto pueden afectar su desarrollo. La mayoría de estos hongos ataca la madera de las estructuras sumergidas cuando la corteza protectora se ha dañado o desprendido y de esta manera sus hifas crecen en la capa secundaria de menor contenido de lignina de las paredes celulares, causando un tipo de descomposición conocida como “pudrición

blanda". Los ascocarpos generalmente están inmersos en el sustrato, mientras que los conidios se desarrollan en la superficie (Hyde y Jones, 1989).

Consecuentemente, el uso de madera como trampa es un método recomendable para estimar la diversidad en el mar de éste grupo de hongos (Tan, *et al*., 1989).

Sin lugar a dudas, dentro de los sustratos maderables para los hongos, los manglares constituyen uno de los ecosistemas de mayor importancia, por su aporte en diversidad y abundancia de sustratos (Hyde, *et al*., 1998 y Alias y Jones, 2000). Los hongos manglícolas colonizan las raíces, troncos, ramas sumergidas, y semillas de los mangles. Algunas especies habitan en la corteza de las partes vivas por ejemplo, los ascomicetos ***Keissleriella blepharospora*** Hyde y ***Mycosphaerella pneumatophorae*** Kohlmeyer, y el deuteromicete ***Rhabdosphora avicenniae*** Kohlmeyer.

Sin embargo estos hongos no dañan al hospedero pues solo crecen en la capa superficial constituida por células muertas, sin la penetración de sus hifas en el tejido vivo, pues su afinidad es por los componentes de la corteza (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979).

Según Hyde (1992), se encuentran descritas alrededor de 174 especies de hongos marinos de los manglares, pero con los estudios recientes esta cifra ha aumentado.

Por otro lado, Alias (1996) describió 97 especies y otras 17 se describieron en Egipto (Al Sharouny, *et al*., 1998). Existen algunas especies parásitas, como ***Cytospora rhizophoreae*** Kohlmeyer, en ***Rhizophora mangle*** que ocasiona la muerte de semillas, retoños, y la destrucción de las raíces aéreas y de apoyo. Son pocos los hongos que dependen de algún género o especie hospedera, entre estos se encuentran ***Didymosphaeria rhizophorae*** Kohlmeyer, ***Keissleriella blepharospora*** Kohlmeyer y ***Robillarda rhizophorae*** Kohlmeyer, que están restringidos a ***Rhizophora mangle***. ***Trematosphaeria mangrovis*** Kohlmeyer, solo se encuentra en ***Rhizophora racemosa*** y ***Cytospora rhizophoreae*** (Hyde, 1998).

Además, los hongos marinos arenícolas habitan entre los granos de arena de las playas, generalmente en la zona donde se mantiene la arena húmeda (zona intermareal). Su ciclo de vida comienza cuando las olas depositan las esporas sobre la arena de las playas, donde germinan y desarrollan un micelio asociados a sustratos orgánicos para obtener los nutrientes. Cuando las condiciones del ambiente son propicias, producen sus ascocarpos sobre los granos de arena, fragmentos de conchas u otros materiales duros, a los cuales se adhieren por medio de un subículo (Tokura, 1984; González, *et al*., 1998).

Una vez alcanzada la madurez de estas estructuras, las ascosporas son liberadas a través del ostiolo y quedan suspendidas en el agua o son atrapadas entre las burbujas de aire de la espuma y el movimiento de las olas se encarga de esparcirlas (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979).

Es importante aclarar que estos hongos no utilizan los granos de arena como fuentes de nutrimentos, pero la superficie dura que le brinda le sirve como sostén, lo cual se hace evidente por el desarrollo extensivo del subículo (Ramakrishna y Sabaratnam, 2002).

Las especies consideradas marinas arenícolas son los ascomicetes ***Arenariomyces majusculus*** Kohlmeyer y Volkmann, ***A. parvulus*** Koch, ***A. trifurcatus*** Höhnk, ***A. triseptatus*** Kohlmmeyer, ***Corollospora angusta*** Nakagiri y Tokura, ***C. armoricana*** Kohlmeyer y Volkmann, ***C. cinnamomea*** Koch, ***C. colossa*** Nakagiri y Tokura, ***C. filiformis*** Nakagiri, ***C. fusca*** Nakagiri y Tokura, ***C. gracilis*** Nakagiri y Tokura, ***C. intermedia*** I. Schmidt (anamorfo: ***Varicosporina prolifera*** Nakagiri), ***C. lacera*** (Linder) Kohlmeyer, ***C. luteola*** Nakagiri y Tubaki (anamorfo: ***Sigmoidea luteola*** Nakagiri y Tubaki), ***Corollospora marítima***, ***C. novofusca*** Kohlmeyer y Volkmann-Kohlmeyer., ***C. pseudopulchella*** Nakagiri y Tokura, ***C. pulchella*** Kohlmeyer, Schmidt y Nair (anamorfo: ***Clavatospora bulbosa*** Nakagiri y Tubaki), ***C. quinqueseptata*** Nakagiri y los hongos mitospóricos, ***Dendryphiella arenaria*** Nicot, ***Varicosporina ramulosa*** Tokura, 1982, 1984; Koch y Jones, 1984; Nakagiri y Tubaki, 1982; 1985 Nakagiri, 1986, 1988; Kohlmeyer y Volkmann-Kohlmeyer, 1991).

Como es de conocimiento, en el fondo marino se desarrolla un gran número de fanerógamas marinas. Dentro de los géneros más conocidos en Cuba y todo el Mar Caribe se encuentran Thalassia, Halodule, y Syringodium. Estas plantas son arrastradas hacia las costas, donde se acumulan en las playas formando grandes bancos por lo que resultan

sustratos favorables para la germinación de las esporas y desarrollo de los hongos.

Además, las estructuras de reproducción de los hongos se pueden encontrar tanto en la superficie como en el interior de las hojas y también en los rizomas. Entre los hongos más comunes en fanerógamas marinas se encuentran: ***Corollospora marítima***, ***C. gracilis***, ***C. lacera***, ***Lulworthia* sp.**, ***Poma* sp.**, ***Varicosporina ramulosa***, ***Lindra marinera***, ***Lindra thalassiae*** Boral y Simms y ***Dendryphiella arenaria*** (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1965; Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979; Enríquez y González, 2000).

Por otro lado, los hongos marinos pueden asociarse con las algas en diferentes formas como las especies saprobias, las asociaciones simbióticas (los líquenes) y las relaciones de parasitismo.

Actualmente se sabe que alrededor de 31 especies de ascomicetes marinos son parásitos de algas. De estos, 16 parasitan algas pardas, 13 algas rojas y 2 algas verdes. En las feofitas infectadas por los ascomicetes se observan decoloraciones o la formación de agallas (prominencias subglobosas o alargadas de las células corticales externas e internas). Se conocen varias especies formadoras de agallas como ***Haloguignardia irritans*** Cribb y Cribb en Cystoseira y en Halidrys y además, ***Massarina cytosphoreae*** Kohlmeyer y Kohlmeyer, en ***Cytosphora retroflexa***.

Según estudios, las decoloraciones en algas rojas son producidas por las especies ***Chadefaudia marina*** Feldmann en ***Palmaria palmata***, ***Lulworthia knieppii*** Kohlmeyer en algas calcificadas y ***Dydimella gloiopeltidis*** Kohlmeyer y Kohlmeyer, en ***Gloiopeltis furcata*** (Kohlmeyer, 1984).

Para los hongos mitospóricos solo se han descrito una especie parásita de las algas, ***Sphaceloma cecidii***, que produce una infección secundaria en la zona de infección primaria, producida por el ascomicete ***Haloguignardia*** **sp.**, en las algas pardas Cystoseira y Halidrys (Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1979).

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. ÁREA DE ESTUDIO.

El área de estudio del presente proyecto de tesis se encuentra a un costado de la ruta de costa del cantón Santa Elena denominada turísticamente “Ruta del Spondyllus”, Provincia de Santa Elena-Ecuador, en la comuna Palmar ubicada a 9 Km entre las poblaciones de Ayangue y Jambelí, en esta zona se escogió ocho puntos que funcionaron como estaciones de monitoreo durante la ejecución del presente proyecto de tesis. Foto 8, Anexo III.

3.1.1. FICHA INFORMATIVA DEL ÁREA DE ESTUDIO.

Provincia: Santa Elena

Cantón: Santa Elena

Parroquia: Colonche

Comuna: Palmar

Coordenadas de Ubicación: 02º 01’ 37” de latitud sur y 80º 43’ 52” de longitud oeste.

Altitud: 5.00 metros promedio sobre el nivel del mar.

Límites: Esta zona está limitada por los siguientes puntos:

Al norte:

Cerro Angahuel.

S: 02°, 00', 868".
O: 80°, 44', 240".

Al sur:

Barrios: "Los Esteros" y "Las Conchas".

S: 02°, 01', 232".
O: 80°, 44', 179".

Al este:

Camaroneras "Chila" y del CENAIM (Centro Nacional de Acuicultura e Investigaciones Marinas).

S: 02°, 01', 022".
O: 80°, 44', 046".

Al oeste:

Con la desembocadura del estero formado por río Grande, río Miñai y río Chunqui.

S: 02°, 00', 989".
O: 80°, 44', 451".

3.1.2 ESTACIONES DE MUESTREO.

Las estaciones fueron elegidas mediante la técnica de muestreo puntual ya que se necesitó extender el rango de espacio para obtención de material en descomposición por cuanto las colonizaciones de hongos marinos se dan en su mayor proporción en materia en descomposición o trozos de madera que flotan a la deriva, por lo que se descarta realizarlo por medio de cuadrantes ya que nos sería limitante en la recolección de muestras; esto resultó en que siguiendo el margen del estero, en una longitud total de 1 Km de recorrido se marcaron las coordenadas de las estaciones y sobre esos puntos en un radio de 2 metros a la redonda se recolectó secciones de ramas con indicios de estar colonizadas; las secciones escogidas (trozos de madera) muestran interacción directa con el cuerpo de agua, en pleamar material lignificado es arrastrado por la corriente y en bajamar quedan sobre la superficie de la arena o flotando aun sobre el agua, lo que facilita en su mayoría la recolección. Tabla III, Anexo I.

Las coordenadas de las estaciones son las siguientes:

ESTACIÓN UNO:

S: 02°, 01', 095".
W: 80°, 44', 175". Foto 9, Anexo III.

ESTACIÓN DOS:

S: 02°, 01', 178".
W: 80°, 44', 184".

ESTACIÓN TRES:

S: 02°, 01', 229".
W: 80°, 44', 144".

ESTACIÓN CUATRO:

S: 02°, 01', 256".
W: 80°, 44', 106". Foto 10, Anexo III.

ESTACIÓN CINCO:

S: 02°, 01', 261".
W: 80°, 44', 057".

ESTACIÓN SEIS:

S: 02°, 01', 210".
W: 80°, 44', 058".

ESTACIÓN SIETE:

S: 02°, 01', 169".
W: 80°, 44', 041". Foto 11, Anexo III.

ESTACIÓN OCHO:

S: 02°, 01', 104".
W: 80°, 44', 031".

3.2. MATERIALES Y REACTIVOS.

3.2.1. MATERIALES.

Los materiales utilizados en éste estudio fueron:

1. Fundas de polietileno con cierre hermético.
2. Papel tissue esterilizado.
3. Algodón estéril.
4. Papel filtro.
5. Filtros milipore 0,22 µm.

6. Rollos de papel aluminio.
7. Gasa estéril.
8. Cámara digital Sony 7.0 mega pixeles.
9. Balanza analítica de precisión Acculab.
10. Estéreomicroscopio Boeco(2x, 4x) .
11. Microscópio Binocular Boeco(4x, 10x, 40x, 100x).
12. Lupa de lente convexo (2x).
13. Horno microondas 200 watts Panasonic.
14. Cristalería de laboratorio (vasos de precipitados, erlenmeyers, kitasatos, varillas de agitación, pipetas, embudos, etc.).
15. Tiras de pH Merck.
16. Termómetro de mercurio (-10 a 110 ºC).
17. Refractómetro de Salinidad (0-100 ppt).
18. Machete.
19. Botas de caucho.
20. Guantes quirúrgicos.
21. Mangos y asas de inoculación con diámetro de ojo 1,45mm.
22. Mecheros de alcohol.
23. Fósforos.
24. Mascarillas antipartículas.
25. Frascos lavadores Pyrex 200 ml.
26. Hielera 0.01 m^3.
27. Computadora Intel Celeron 420 1.6 GHz.
28. Impresora Lexmark X3550.
29. Arena de mar esterilizada.
30. Incubadora Lowcost 200 watts (5 – 60 ºC).

3.2.2. REACTIVOS.

1. Alcohol 90 %.
2. Agua destilada.
3. Agua de mar esterilizada.
4. Cloranfenicol.
5. Buffer fosfato.
6. Glicerol 3 %.
7. Hidróxido de Sodio.

3.2.3 MEDIOS DE CULTIVO.

1. Corn Meal Agar.
2. Papa Dextrosa Agar.

3.3 METODOLOGÍA.

3.3.1. SELECCIÓN DE ÁREAS DE MUESTREO.

Al iniciar éste trabajo de investigación, dentro del manglar de la comuna Palmar se establecieron estaciones bordeando el margen del estuario, de modo que existiera menor probabilidad de recolectar hongos terrestres, puesto que el objetivo de éste estudio fue identificar hongos marinos.

Se efectuó un reconocimiento previo del área, durante el cual se eligieron y evaluaron diversos sitios como posibles zonas de muestreo, seleccionándose ocho áreas en particular que cumplieron con las condiciones requeridas para el desarrollo de organismos fúngicos marinos, tales como:

- Proporcionar sustratos que otorguen las condiciones físicas y químicas óptimas para el desarrollo de cepas; por ejemplo: ramas y secciones de tronco de mangle en descomposición que estén en contacto constante con el cuerpo de agua (Isolation, Identification, and bioactivity of Antartic and Mangrove Fungi, Siti Aisyah Alias, agosto, 2008).

- Estar influenciado directamente por condiciones ambientales idóneas para hongos marinos, pero de difícil permanencia para otros organismos microscópicos, por ejemplo cambios constantes de salinidad, variaciones en niveles de oxígeno, y también evitar que estén enterrados en la arena o el fango.

- Estar en contacto con la comunidad vegetal típica del manglar y no con aéreas sin vegetación o cerca de la población, para asegurar que cuente con suficientes sustratos a disposición.

- Ser un sitio de interacción continua entre pleamar y bajamar que nos permitan obtener en su mayoría muestras de hongos marinos (por ejemplo los filos del estuario).

3.3.2. TIPO DE MUESTREO EFECTUADO.

Se llevo a cabo un muestreo puntual no aleatorio, de modo que en base a las condiciones descritas en el punto anterior se eligieron 8 zonas a las mismas que se acudió tanto en época seca como lluviosa para efectuar una colecta de muestras consideradas como posible sustrato de hongos marinos.

El muestreo consistió en acudir a los sitios referenciales marcados con el GPS durante el período de bajamar que es el momento adecuado para la recolección de muestras. La permanencia en éste sitio fue de tres horas durante las cuales en un radio de dos metros a partir del punto seleccionado se obtuvieron todos los materiales en que se observará algún indicio de colonización de hongos marinos.

3.3.3. RECOLECCIÓN DE MUESTRAS.

Siguiendo metodología especializada (Marine Fungi Diversity in Beaches of Havana City, Enríquez, González, Ruíz, Núñez, 2003), (Diversity of

filamentous fungi on woody litter of five mangrove plant species from the southwest coast of India, G.L. María, and K.R. Sridhar, 2003) y la recibida en el seminario taller Isolation, Identification, and Bioactivity of Antartic and Mangrove Fungi, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Agosto del 2008; efectuado como base antes de iniciar el presente trabajo de tésis, se realizó dos muestreos para éste estudio, el primero en época seca y el segundo en época lluviosa, que permitieron obtener sustratos de desarrollo diferentes, para ser incubados en cámaras húmedas.

Por otro lado, el tiempo promedio de recolección de muestras en cada monitoreo tuvo un lapso aproximado de 3 horas, durante las cuales se recorrieron las ocho estaciones de muestreo, teniendo como referencia siempre el punto máximo de bajamar, para aprovechar las condiciones favorables en cuanto colonización por hongos en las que se hallaban los sustratos recolectados que se encontraban ligeramente cubiertos de arena, procediendo a realizar un enjuague antes de colocarlos en las respectivas bolsas previamente marcadas con el numero de estación, fecha y la época del año en la que fueron colectadas. Foto 12, Anexo III.

El primer muestreo se realizó en época seca, se fijo las estaciones de muestreo dentro del área de estudio y se marco los puntos con ayuda de un GPS, se recolectó trozos de ramas en estado de descomposición y hojas con características de estar colonizadas por hongos, todas las muestras se encontraban asentadas en la arena y en contacto con el cuerpo de agua. Foto 13, Anexo III.

La ficha técnica del muestreo registró los siguientes datos:

Fecha: Sábado 08 de Noviembre.

Inicio del monitoreo: 10H30.

Fin del monitoreo: 13h00.

Parámetros registrados en el área:

Salinidad del agua: 36 ppm.

Temperatura del agua: 22 °C.

pH del agua: 8,5

Tiempo: Soleado.

El segundo muestreo se realizó en época lluviosa, se ubicaron los puntos marcados en el GPS del muestreo anterior, y se inició el recorrido del margen estuarino, a diferencia del primer muestreo esta vez solo se recolectó trozos de ramas en estado de descomposición y fracciones de cortezas de mangle, ya que en el muestreo anterior al analizar las muestras de hojas se optó por desecharlas por no presentar las características adecuadas, todas las muestras se las recopiló asentadas en la arena, aun dentro del cuerpo de agua o flotando sobre éste. Fotos 14 y 15, Anexo III.

La ficha técnica de éste muestreo registró los siguientes datos:

Fecha: Lunes 09 de Febrero.

Inicio del monitoreo: 12H00.

Fin del monitoreo: 15H24.

Parámetros registrados en el área:

Salinidad del agua: 36 ppm.

Temperatura del agua: 26,7 °C.

pH del agua: 7,96.

Tiempo: Nublado lluvioso.

3.3.4. TRASLADO DE MUESTRAS.

Una vez obtenidas las muestras, el traslado de las mismas se realizó hacia el laboratorio de microbiología de la facultad de Ingeniería Marina y Ciencias del Mar de la ESPOL (Escuela Superior Politécnica del Litoral) ubicado en el campus Gustavo Galindo de la ciudad de Guayaquil en el Km 30.5 vía Perimetral. Foto 16, Anexo III.

Para realizarlo se siguió normas de seguridad que otorgaron a las muestras estabilidad, tratando de impedir que las muestras de las diferentes estaciones mantengan contacto directo entre ellas, o que

microorganismos bacterianos u hongos terrestres contaminen en alta proporción las muestras, para esto al momento de colectarlas se las colocó en fundas con cierre hermético que pasaron anteriormente por un proceso de esterilización química (limpieza con alcohol), y luego colocadas en un contenedor refrigerado y sellado con el fín de que los procesos de descomposición y colonización bacteriana se vuelvan más lentos hasta terminar su traslado al laboratorio donde se limpiaron con agua destilada antes de ingresar a la cámara húmeda.

3.3.5 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.

Para procesamientos de muestras en éste tipo de trabajo de investigación se han utilizado anteriormente varias técnicas para estudiar la ecología de hongos presentes en zonas de manglar, el uso de estas técnicas dependen siempre de los objetivos de cada estudio.

A pesar de que, para aislamiento e identificación de hongos marinos, que son los objetivos netos de éste proyecto de tesis generalmente se realizan observaciones directas al microscopio de cuerpos fructíferos fúngicos presentes en los sustratos que pueden ser recolectados al azar (la madera en descomposición es arrastrada por la corriente de agua a orillas del estuario) (Iones, 1998), el método escogido y utilizado para conservación de muestras recolectadas en el manglar de Palmar fue el de preservación en cámara húmeda (Alias, 2008) en las que se recreó en lo posible, las condiciones naturales del medio de las que fueron extraídas, se colocó papel tissue estéril en el fondo de la cámara; para mantener la humedad y estimular la esporulación los sustratos fueron rociados diariamente con agua de mar esterilizada, la misma que fue trasladada del

mismo lugar en las que se recogió las muestras, éste método nos permitió continuar el estudio sin necesidad de realizar varios muestreos, siendo el ejecutado a partir de esto en su mayoría trabajo dentro del laboratorio. Foto 17, Anexo III.

Sin embargo, el papel tissue de las cámaras húmedas debe ser cambiado cada 7 días teniendo cuidado en no alterar drásticamente las condiciones del medio de conservación y bajo la protección de mecheros bunsen que eliminen en lo posible hongos suspendidos en el aire, las cámaras se mantuvieron a temperatura ambiente, lo último siguiendo el método indirecto para la incubación de sustratos vegetales en cámara húmeda que es de gran utilidad (Volkmann-Kohlmeyer y Kohlmeyer, 1993; González y Herrera, 1993).

Por otro lado, dentro del estudio también se probó el método de proporcionar sustrato a las esporas, siendo la utilizada arena de mar filtrada y esterilizada. Éste sustrato se introdujo al estudio como un medio para captar cepas de hongos arenícolas, la esterilización de éste medio nos permite tener un rango adecuado de seguridad ante la contaminación por hongos terrestres, la arena se limpió a través de un tamiz, previo a su purificación a 150 °C por 2 horas en autoclave. Foto 18, Anexo III.

La introducción de éste método no aportó los resultados esperados y se descartó su uso, optando solo por el uso del método de cámara húmeda para la continuación del estudio.

3.3.6. DESCRIPCIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO SELECCIONADOS PARA EL ESTUDIO.

3.3.6.1 PAPA DEXTROSA AGAR.

Papa Dextrosa Agar, es un buen medio para cultivar, enumerar e identificar mohos y levaduras a partir de alimentos y material orgánico; los hidratos de carbono así como la infusión de papa y la dextrosa (azúcar del maíz) que son parte básica de su composición le dan el carácter de favorable para el crecimiento de hongos mientras que por su bajo rango en pH la microflora acompañante se reduce significativamente. (Acta Botánica Mexicana, 2002).

Además, la infusión de la patata puede ser hecha hirviendo 300 g de papas en trozos (lavadas y peladas) durante 30 minutos y decantándose después o tamizando el caldo a través de un tamiz. Luego se agrega el agua destilada tal que el volumen total de la suspensión sea un litro, 20 g de dextrosa y 20 g de agar agar, se mezcla y éste medio se esteriliza por autoclave durante 15 minutos.

En resumen, papa dextrosa agar (PDA), es un medio básico para cultivo de las levaduras y demás hongos, que pueden complementarse con medios ácidos o antibióticos para inhibir el crecimiento bacteriano. Se recomienda para los métodos de conteo en placa, para cultivos de muestras de alimentos. Clínicamente la base de la infusión de patata,

activa la esporulación del hongo y en algunos casos la producción de pigmentos.

Muchos procedimientos normales usan una cantidad especificada de ácido tartárico estéril (10 %) para bajar el pH de éste medio a 3.5, inhibiendo el crecimiento bacteriano. No se debe recalentar el medio acidificado, ya que se pierde estabilidad en el mismo.

Su composición se puede resumir en:
Extracto de patata……..... 4 g
Dextrosa..... 20 g
Agar..... 15 g

Los 4 gramos de extracto de patata generan 200 gramos de infusión de patata con un pH final de: 5,6 ± 0,2 a 25 °C.

Mediante evaluaciones se ha constatado que éste agar en un tiempo aproximado de 10 días otorga promedios aceptables en la esporulación, por lo cual nos es de mucha utilidad en éste tipo de estudios (Acta Botánica Mexicana, 2002).

3.3.6.2 CORN MEAL AGAR.

El agar harina de maíz, es un medio diferencial para el cultivo de hongos; se caracteriza por la riqueza en nutrientes para el rápido crecimiento de hifas en un promedio de 48 horas, las colonias de hongos se extienden

aceleradamente, aunque el promedio de esporulación se reduce en comparación al uso de agar PDA. (Acta Botánica Mexicana, 2002).

Se tiene como antecedentes que Pollack y Benham desarrollaron su utilidad para estudiar la morfología de ***Candida albicans*** (organismo fúngico de afectación humana). Por otro lado, en 1960 Huppert modificó la formulación básica del agar harina de maíz agregando polisorbato 80 que estimuló la rápida y abundante formación de Chlamydospora.

La descripción de éste agar es que presenta una coloración transparente al disolverse y pasa a amarillo claro al terminar su preparación.

Su composición básica detalla:
Infusión de harina de maíz.…….....50 g
Agar.....15 g

Luego del punto de ebullición, tiene un pH final de 6,0 ± 0,2 a 25 °C.

3.3.7 PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO ACONDICIONADOS.

Como medios de cultivo de hongos marinos se eligió los agares PDA y CMA, como medios diferenciales, los cuales modificados o acondicionados; el primer medio de cultivo se preparó con 19,5 g de agar PDA en 500 ml de agua de mar filtrada, y adicionando 1 ml de solución de gentamicina, para evitar la proliferación de bacterias en el medio, se

diluye hirviendo sobre un mechero, para posteriormente esterilizar en autoclave a 121 °C a 1 ATM por 20 minutos. Esta cantidad preparada se puede distribuir hasta en 19 cajas petri para su posterior utilización. Foto 19, Anexo III.

La preparación del agar CMA se lo realizó utilizando 2,5 g de Bacto-Agar, y 30 g de maizabrosa en 250 ml de agua de mar filtrada mas la adición de 1 ml de solución de gentamicina, se lleva a ebullición sobre un mechero, para su posterior filtrado y esterilización en un autoclave a 121 °C a 1 ATM. Esto se distribuye en cajas petri y se mantiene en refrigeración. Foto 20, Anexo III.

Sin embargo, por persistencia de casos de contaminación en los primeros cultivos en caja petri, se cambió la solución de gentamicina utilizada para desinfección desde el inicio de las siembras, por solución de cloranfenicol en las siguientes etapas de preparación de medios PDA y CMA con las mismas medidas de volumen en la inoculación, lo que mejoró notablemente la duración de los cultivos, y disminuyó el índice de contaminación por cajas. Foto 21, Anexo III.

Por otro lado, cabe mencionar que desde el inicio de la investigación se pasó por alto una característica importante, los hongos marinos, a diferencia de las especies terrestres, se desarrollan mejor en condiciones neutras (pH 6,0 a 8,0), mientras que los medios de cultivo registraron un pH final de 5,4 a 5,6. Ante esta falencia utilizando hidróxido de sodio se neutralizó el pH a 7,5, esta modificación también mejoró los resultados reduciendo los casos de contaminación de cultivo en cajas en una

relación de 1 por cada 25 placas sembradas, a diferencia del inicio de los trabajos en los que los casos de contaminación fueron aproximadamente de 10 por cada 25 placas sembradas.

3.3.8. CULTIVO Y AISLAMIENTO DE CEPAS DE HONGOS MARINOS.

3.3.8.1. CULTIVO DE CEPAS.

Los cultivos de cepas de hongos marinos se realizaron en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ingeniería Marina y Ciencias del Mar de la ESPOL (Escuela Superior Politécnica del Litoral), utilizando la metodología recomendada por Siti Aisyah Alias experta en hongos antárticos y marinos de la Universiti Putra Malaysia (Isolation, Identification, and bioactivity of Antartic and Mangrove Fungi, Siti Aisyah Alias, agosto, 2008) que contempla inhibir el crecimiento de otros microorganismos ajenos a éste proyecto de tesis recurriendo a medios de cultivo selectivos para el aislamiento y cultivo de cepas de hongos del manglar de Palmar, provincia de Santa Elena-Ecuador.

Para proceder al cultivo de cepas de hongos marinos se dio previo tratamiento a las muestras que se mantenían en las cámaras húmedas, mediante un proceso de observación y selección en estereomicroscópio, se limpia el sustrato y se hace un lavado de la superficie con agua destilada hasta dejarla libre y queden visibles solo cuerpos fructíferos. Gráfico 5, Anexo II. Foto 22, Anexo III.

El paso posterior a esto es realizar la extracción de los cuerpos fructíferos de las muestras procesadas, los cuales son introducidos en una solución de gentamicina (posteriormente cambiada a solución de cloranfenicol) la cual se efectúa en agua destilada (8 mg/10 ml) para desinfección.

Por otro lado, se consideró que además de observaciones directas de esporas de los cuerpos fructíferos revisados al microscopio, era mejor identificar especies del esporulado de un cultivo purificado, por cuanto se evitan contaminaciones y resultados equivocados.

Sin embargo, durante los primeros 3 meses de evaluación se realizó preparaciones en fresco de los cuerpos fructíferos suspendidos en una gota de agua destilada, para observaciones al microscopio óptico, y posterior siembra en cajas petri con medios diferenciales (Agar PDA y CMA, que fueron seleccionados para éste proyecto de investigación), éste proceso se realiza dentro de la cámara de flujo laminar que evita el medio se contamine, luego de esto se acelera su cultivo en la cámara incubadora a 30 °C (Alias, 2008). A cada muestra sembrada se les colocó un código de identificación que daba referencia a la estación de la que fue tomado el sustrato, y la secuencia en la que fue sembrada. Foto 23, Anexo III.

Las siembras de las primeras muestras en placas se realizaron en Enero del 2009, siendo las primeras evaluaciones de los cultivos 15 días después, ya que se tomo un tiempo prudencial para dar lugar a la proliferación de las cepas sembradas. Estas muestras fueron sembradas en agar PDA, por ser éste medio adecuado para la rápida esporulación,

que es lo que se necesitaba para iniciar el posterior proceso de aislamiento.

Luego de la evaluación se definió que la renovación de medio y recambios de cultivos se efectúe cada 20 días. Después de esta revisión se extrajo las primeras esporas de una de las placas en incubación, para realizar una resiembra en medio PDA, puesto que el medio en el que se encontraban estaba declinando en nutrientes y se realizó éste procedimiento para renovar y mantener el cultivo.

El proceso de renovación se dio aproximadamente cada 15 a 20 días en casi todas las placas, siempre dentro de la cámara de flujo laminar, ya que había que hacerlo con cuidado para evitar todo tipo de contaminación durante la resiembra, lo que llegaría a afectar el objetivo de obtener cultivos puros para identificación.

En Febrero del 2009, estando en estación lluviosa, se realizó el segundo monitoreo en las estaciones del manglar de Palmar, una vez terminado el traslado, se realizó inmediatamente la limpieza de las muestras y su traspaso a las cámaras húmedas respectivas, después de realizarles el correcto lavado con agua de mar filtrada y esterilizada, las cámaras fueron marcadas con las siglas “LL E#” que indican la época del año y estación en las que fueron colectadas.

Un mes después de iniciada las siembras se dieron las primeras revisiones para descarte entre las muestras sembradas de la época seca,

las cajas petri eliminadas fueron las que presentaron contaminación y escasa proliferación de esporas.

Esta evaluación también evidenció contaminación externa al momento de sembrado, se cambió también a estos cultivos la inoculación de gentamicina por el uso de solución de cloranfenicol (50 mg/ml de agua destilada), la cual se utiliza al momento de preparar el medio de cultivo, de la cual se incorpora 1 ml de solución por cada 500 ml de preparado en agar PDA, además de la variación de pH final de los medios de cultivo que se elevó mediante el uso de hidróxido de sodio de 5,4 a 7,5 como ya se mencionó anteriormente para optimizar el crecimiento y proliferación de organismos fúngicos marinos. Foto 24, Anexo III.

Por otro lado, para igualar en estabilidad a las siembras en caja petri, en el caso de la preservación de placas portaobjetos para la observación y registro de los cuerpos fructíferos se introdujo a la metodología el uso de solución de buffer fosfato y glicerol para descartar las preparaciones en fresco que se utilizó en los primeros meses de cultivo para la observación directa de muestras, además cuando las placas en incubación (cajas petri) presentaron desarrollo fúngico se realizaron los controles correspondientes en placas portaobjetos con el nuevo medio de preservación.

La preparación de los portaobjetos (a los que se les colocó el código del cultivo que dio origen a la muestra observada), se las realiza con una solución de buffer fosfato en glicerol al 3 % (6 ml de glicerol al 100 % en 14 ml de agua destilada) para conservarlas según el resultado observado,

se coloca una gota en el centro de la placa y se introduce el cuerpo fructífero a observar, y se sella con barniz secante en los bordes para evitar contaminación.

El mismo proceso se estableció en adelante para las observaciones de cuerpos fructíferos obtenidos de la madera de mangle que se mantiene en las cámaras húmedas, descartando así las observaciones de gota suspendida que se realizaban desde el inicio de la investigación, lo que otorgó ventaja en conservación de los cuerpos fructíferos para comparaciones futuras. Foto 25, Anexo III.

La preparación de la solución de buffer fosfato en glicerol, se la realiza con 25 microlitros de buffer fosfato en 20 ml de glicerol al 3 %, y se conserva en refrigeración continua para el uso posterior.

3.3.8.2. AISLAMIENTO Y DIFERENCIACIÓN TAXONÓMICA DE LOS CULTIVOS.

El aislamiento se realizó mediante la utilización de medios diferenciales (medios de cultivo) y medio estéril (cámara de flujo laminar), y la diferenciación taxonómica por información otorgada en literatura especializada como MARINE FUNGI de E. M. Leaño, V.V. Sarma, y J. Kohlmeyer, que nos permitan comprobar la identificación taxonómica, que se realizó por microscopía haciendo de las muestras un análisis de estructuras vegetativas (hifas) y de las respectivas estructuras reproductivas (esporas, conidias, esporangio), fase en la que fue

imprescindible el uso de claves taxonómicas (Leaño, Sarma, Kohlmeyer), para determinar el género y la especie de hongo marino.

3.3.9. SISTEMA DE CODIFICACIÓN UTILIZADO.

La codificación interna de uso para el laboratorio se estableció bajo las siguientes normas:

1- El primer digito es el correspondiente al número de estación de muestreo. Tabla IV, Anexo I.

2.- Número de género identificado.

3.- El siguiente lugar dentro del código corresponde a la época en que se tomo la muestra:

S= época seca.
LL= época de precipitaciones.

4.- Tipo de agar utilizado:

CMA: Corn meal agar
PDA: Papa dextrosa agar

3.3.10. CREACIÓN DE UN BANCO DE DATOS.

Con el fin de establecer la diversidad de cepas de hongos marinos pertenecientes a la microflora existente en el manglar de Palmar,

provincia de Santa Elena-Ecuador, con la información obtenida en la duración del proyecto se inició un banco de datos, con las variedades de hongos marinos (géneros y especie), el cual reposará luego de la exposición del trabajo en la Universidad Estatal Península de Santa Elena para su utilización en futuros proyectos de investigación, que complementen el trabajo iniciado. Tabla V, Anexo I; Gráfico 6, Anexo II.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS.

4.1. SELECCIÓN DE ESTACIONES DE MUESTREO.

Fueron elegidas ocho estaciones de muestreo en base a las condiciones que presentaban para el desarrollo de especies fúngicas marinas. A continuación se detallan las características de las mismas:

Estación 1:

Características: Zona de entrada al manglar, se encuentran por lo general árboles de mangle rojo, con presencia de una explanada extensa de arena que es inundada en su mayoría en pleamar, es el ingreso al sendero, se observa gran cantidad de hojas y trozos de madera depositadas sobre una superficie firme.

Estación 2:

Características: Esta estación esta frente a la zona poblada del manglar, mantiene un margen amplio como sendero en el cual se observa gran cantidad de sustratos entre los que se encuentran también conchas vacías aunque no se apliquen en éste estudio.

Estación 3:

Características: Al igual que la estación anterior esta se encuentra frente a la zona poblada del margen del estuario, aunque a diferencia de otras estaciones la superficie del terreno es arenosa fangosa, ofrece cantidades aceptables de sustratos en descomposición sobre su superficie aunque también flotando sobre el agua.

Estación 4:

Características: Esta zona cuenta con una salida de agua que arrastra trozos de madera del interior del manglar y mantiene contacto constante con el estuario, se encuentra fácilmente materia en descomposición cerca del punto establecido.

Estación 5:

Características: Esta estación posee características similares a la estación 4, también cuenta con un riachuelo que arrastra materia en descomposición desde el interior del manglar e interacción continua con el estero ya que la mayor parte de las muestras se las recoge cerca del cuerpo de agua.

Estación 6:

Características: La estación 6 posee una superficie de arena firme que es idónea para que las muestras a recolectarse se encuentren con facilidad, la mayoría se asientan en la superficie sin ser cubiertas de capas de sedimentos.

Estación 7:

Características: La superficie de esta estación es más reducida en relación a otros puntos de muestreo, en cuanto a muestras se encontró en buena proporción aunque gran parte de estas son hojas de mangle.

Estación 8:

Características: La zona que abarca la estación 8 es de características similares a la estación 3, el terreno es fangoso y presenta gran cantidad de madera en descomposición lo que favorece a la recolección de sustratos, aunque en algunos casos los mismos se encuentran cubiertos de arena, por lo que se opta por recoger también del cuerpo de agua.

4.2. GÉNEROS DE HONGOS MARINOS IDENTIFICADOS.

Luego de 11 meses de investigación tanto de campo como de laboratorio y 5 meses de realizar diferenciaciones taxonómicas se identificaron seis géneros y una especie de hongos marinos, cuya clasificación en taxonomía y descripción se detalla a continuación:

4.2.1. TELEOMORFOS.

Cinco de los géneros de hongos marinos identificados en el manglar de Palmar corresponden a las características de teleomorfos.

Cabe mencionar además, que una de las características al momento de clasificar un hongo en general sea éste marino o terrestre, se da

primariamente por la forma de las estructuras relacionadas con la reproducción, pueden ser estas sexuales o asexuales. No es fácil realizar la clasificación de estos y generalmente los phylum Ascomycota y Basidiomycota generan las mayores dificultades para encajar en la clasificación por poseer fases o estadios sexuales y asexuales. Ante esto el International Code of Botanical Nomenclature en su artículo 59 permite a los estudiantes y científicos relacionados al campo de la micología dar nombres por separado para las formas asexuales (anamorfos), y sexuales (teleomorfos), y cuando ocurre una variación en formas sexuales y asexuales (holomorfos). Tabla VI, Anexo I.

4.2.1.1 DESCRIPCIÓN DE *Payosphaeria* sp.

Phylum: Ascomycota.
Subphylum: Pezizomycotina.
Clase: Sordariomycetes.
Subclase: Hypocreomycetidae.
Orden: Hypocreales.
Familia: Hypocreaceae.
Género: Payosphaeria.

El género Payosphaeria presenta ascosporas de 4,5 a 8,0 µm por 3,8 a 6 µm, su forma va de globosa a piriforme, hialinas y sin presencia de septos, su pared celular es gruesa y lisa, además no presenta apéndices ni cubierta gelatinosa como otros géneros. Foto 26, Anexo III.

4.2.1.2. DESCRIPCIÓN DE *Rhizophila* sp.

Phylum: Ascomycota.
Subphylum: Pezizomycotina.
Clase: Sordariomycetes.
Subclase: Hypocreomycetidae.
Orden: Hypocreales.
Familia: Bionectriaceae.
Género: Rhizophila.

El género Rhizophila presenta ascosporas de 20 a 32 µm por 6 a 10 µm, su forma va de elipsoidales a fusiformes, como referencia tenemos que es una célula hialina cuando es inmadura, y amarillenta a café amarillenta cuando madura. Foto 27, Anexo III.

4.2.1.3 DESCRIPCIÓN DE *Lignincola* sp.

Phylum: Ascomycota.
Subphylum: Pezizomycotina.
Clase: Sordariomycetes.
Subclase: Hypocreomycetidae.
Orden: Halosphaeriaceae.
Género: Lignincola.

El género Lignincola presenta ascosporas de 22 a 36 µm por 12 a 16 µm, elipsoidales, con un septo (raramente no septadas), ligeramente

constrictas en el septo o no presencia de esta característica, son hialinas y no presentan apéndices. Foto 28, Anexo III.

4.2.1.4. DESCRIPCIÓN DE *Tirispora* sp.

Phylum: Ascomycota.
Subphylum: Pezizomycotina.
Clase: Sordariomycetes.
Subclase: Hypocreomycetidae.
Orden: Halosphaeriaceae.
Género: Tirispora.

Tirispora presenta ascosporas de 15 a 22 µm por 8 a 12 µm, elipsoidales, dos células con grandes glóbulos de aceite, hialinas, de pared gruesa con un solo apéndice en un extremo. Foto 29, Anexo III.

4.2.1.5. DESCRIPCIÓN DE *Leptosphaeria* sp.

Phylum: Ascomycota.
Subphylum: Pezizomycotina.
Clase: Dothideomycetes.
Subclase: Pleosporomycetidae.
Orden: Pleosporales.
Familia: Leptosphaeriaceae.
Género: Leptosphaeria.

Leptosphaeria presenta ascosporas de 10 a 16 µm por 4 a 5,5 µm, el color va de oliva a café, su forma es cilíndrica o elipsoidal, presenta además tres septos o tri-septada. Foto 30, Anexo III.

4.2.2. ANAMORFO.

Los hongos anamorfos constituyen un grupo diverso y ampliamente distribuido en la naturaleza. Se les da el nombre de anamorfos u hongos imperfectos a las especies fúngicas que no se les conoce reproducción sexual, entre los hongos anamorfos se incluyen especies parásitas y saprobias, por su impacto en la salud y la economía a las especies parásitas se les ha otorgado mayor atención que a las especies saprobias, a pesar que estas últimas tienen un valioso potencial biotecnológico en la producción de fármacos, vitaminas, ácidos y otras sustancias empleadas en diferentes tipos de industrias. Aunque las especies anamorfas se distribuyen en todos los ecosistemas, se piensa que las especies tropicales húmedas guardan mayor riqueza fúngica. (Revista Mexicana de Micología, 2003).

4.2.2.1. DESCRIPCIÓN DE *Phialophorophoma litoralis.*

Phylum: Deuteromycota
Subphylum: Deuteromycotina
Clase: Coelomycetes
Género: *Phialophorophoma*
Especie: *litoralis*
Nombre Científico: ***Phialophorophoma litoralis***.

Phialophorophoma litoralis presenta conidios de 7 a 10 µm por 2,5 a 3,5 µm, globosos o cilíndricos y hialinos. Foto 31, Anexo III.

Los conidios son de coloración café oscura a negra, pueden o no ser septados, y presentar en ocasiones forma elipsoidal. Las hifas son ramificadas pero pueden también presentar un solo filamento.

4.3. CODIFICACIÓN REGISTRADA DE CADA GÉNERO IDENTIFICADO.

Como se mencionó anteriormente se han identificado un total de seis géneros de hongos marinos incluida una especie, los mismos que fueron codificados de acuerdo a las normas establecidas en el capítulo de materiales y métodos; estableciéndose para cada uno de ellos una secuencia distinta de código. Tabla VII, Anexo I.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

5.1. CONCLUSIONES.

5.1.1. SELECCIÓN DE ÁREAS DE MUESTREO.

Luego del estudio realizado hemos comprobado que en varias de las zonas estudiadas fue posible la identificación de por lo menos un genero de hongos marinos, mientras que en otras no se logró identificar ninguno, luego de analizar esta situación, no podemos atribuir lo expresado anteriormente a las características del área de muestreo, además existe la probabilidad de que en el área sea posible la identificación de otros géneros que no pudieron ser comprobados por medio de la metodología utilizada, ya sea esto por los materiales como por los medios de cultivo, lo manifestado se puede observar claramente en la Tabla 8, Anexo I; Gráfico 7, Anexo II.

5.1.2. MEDIOS DE CULTIVO.

El presente trabajo de investigación se desarrolló mediante el uso de dos medios diferenciales de cultivo (Corn meal agar y Potato dextrosa agar), y uno opcional (arena para sustratos de hongos arenícolas) que se descartó luego de que no cumpliera las expectativas, el tiempo promedio de propagación óptima en las muestras sembradas en agar PDA fue de 15 días siendo considerado como aceptable dentro de los rangos de

investigación, a pesar de que se observó en varios casos que las esporulaciones se dieron a los 5 días el tiempo prudencial de espera nos otorgó muestras adecuadas sin tener que abrir en números excesivos de veces las cajas de cultivo, evitando así las consecuentes contaminaciones.

El uso de agar CMA nos otorgó los beneficios de permitir evaluar las estructuras morfológicas de microorganismos fúngicos, el desarrollo de las hifas se daba en tiempo promedio de 48 a 72 horas, la desventaja se daba por el recambio necesario en tiempo más corto al de agar PDA, por cuanto el medio de cultivo se quedaba sin nutrientes en un período cronológico menor en comparaciones de ambos medios sembrados al mismo tiempo.

Por otro lado las características presentadas en el medio opcional (arena filtrada y esterilizada), utilizada en las fases iniciales de los cultivos no fueron las esperadas por cuanto no se observó algún tipo de desarrollo favorable (principalmente la no presencia de cuerpos fructíferos) que justifique su uso continuo para cultivos con ese sistema, por lo que se descartó y se continuó con los agares antes mencionados.

El beneficio que se esperó obtener del uso continuo de gentamicina como inhibidor de contaminación en los medios de cultivo y en soluciones desinfectantes en preparaciones en placa no fue el que se necesitaba ya que se encontraba por debajo de las expectativas y fue por ese motivo que se descartó su uso cambiando por otro inhibidor conocido como cloranfenicol, que otorgo mayor estabilidad al medio y redujo el número de

contaminación de cultivos. Además la acción omitida al inicio y que luego se corrigió para mejorar los resultados fue el de alterar el pH normal de los medios de cultivo adaptándolos para el desarrollo optimizado de hongos marinos (de 5.4 a 7.5 de pH final).

Esto sumado a las precauciones tomadas en acciones de aislamientos de muestras a cultivar como son el uso de cámara de flujo laminar y agentes desinfectantes para el área de trabajo nos dieron mejores niveles en los resultados en comparación a las primeras etapas de trabajo en los que los casos de contaminación eran muy frecuentes y en algunos casos mayores a los que se esperaba como un margen de error al momento de cultivar.

Por otro lado, la modificación en preparación de medios de cultivo al utilizar agua de mar filtrada y esterilizada en vez de agua sin salinidad como es la preparación normal no causó grandes alteraciones en cuanto a las características básicas de los agares, los cultivos resultaron favorables a lo que se quería obtener, en definitiva esta modificación es viable para cultivos de microorganismos que se desarrollan naturalmente en medios salinos sin causar mermas en el desarrollo de los estudios.

5.1.3. EVALUACIÓN DE CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS.

El tiempo de evaluación de características morfológicas y clasificación taxonómica resulto corto en consideración a las muestras a analizar, los datos registrados resultaron dificultosos de obtener, por cuanto no se contó con equipo especializado para mejorar la identificación taxonómica

de hongos marinos, como un microscopio de mayor potencia que nos de imágenes más nítidas (se utilizó un microscopio binocular marca Boeco con máximo aumento de 100x), ya que se necesitó evaluar características estructurales, necesario para obtener datos viables y más exactos, y equipo fotográfico adaptable a microscopio con mejor resolución para el registro digital, por cuanto el utilizado fue básico y es adecuado solo para estudios menores, que fue con el que contaba el laboratorio.

Por otro lado, las evaluaciones realizadas nos permitieron llegar en la mayoría de los casos hasta género, como ya se mencionó las imágenes presentadas no fueron tan claras para asegurar el dato final, y se resolvió evitar proyectar un resultado equivocado si no se lograra realizar la verificación de especie.

5.1.4. BANCO DE DATOS.

En cuanto a la creación del banco de datos, los organismos clasificados son los primeros en formar parte del mismo, a pesar de no contar con una variedad extensa de hongos marinos clasificados, seguir con éste estudio nos proporcionará datos más diversos en relación a especies de hongos presentes en el manglar de Palmar.

Los datos recopilados en éste estudio son los primeros registros de esta rama en la provincia de Santa Elena, y son el puntal para la búsqueda de variedades con características valiosas en el campo biotecnológico.

Registros posteriores pueden unirse a los detallados en éste trabajo de tesis, ampliando de esta manera conocimientos sobre micología marina no solo locales sino para el país, que no cuenta con trabajos extensos realizados sobre estos organismos fúngicos.

5.1.5. UTILIZACIÓN DE LA CODIFICACIÓN EFECTUADA.

La codificación establecida para el reconocimiento de cada uno de los géneros identificados, permite por simple inspección determinar: el área en que puede obtenerse el organismo, además de la época en que podría colectarse y el tipo de agar que debe ser utilizado para su correcta clasificación.

Como se explica en el párrafo anterior toda la información que se puede obtener con la revisión del código creado puede ser utilizada de dos formas básicas:

1.- Para rastrear el origen de los géneros descritos desde un cultivo específico (CMA, PDA), hasta el conocimiento del sitio de extracción de la muestra.

2.- Para conocer las condiciones básicas de obtención y aislamiento del organismo, por ejemplo: Mayor proliferación en CMA, y facilidad de obtención en época lluviosa, etc.

5.2. RECOMENDACIONES.

Una vez evaluados todos los resultados, y conocimientos otorgados por el presente estudio, se puntualizó que quedan varias incógnitas por despejar, el trabajo de tesis se enfocó en realizar identificaciones taxonómicas de hongos marinos presentes en el manglar de Palmar, y entre las observaciones finales se enmarcó el factor tiempo como parte primordial, por tanto se recomienda realizar un estudio más amplio y continuo para extender el número de especies identificadas que sin lugar a dudas existe dentro del ecosistema estuarino estudiado.

Además, se considera necesario para futuros estudios mejorar las características de materiales como: Microscopio, estereomicroscópio, y cámara de flujo laminar, por ser estos fundamentales y como se comprobó pueden resultar limitaciones dentro de la investigación, opcional a esto se debería delinear dentro del laboratorio el espacio físico para estudios de hongos.

En cuanto a medios de cultivo, se sugiere seguir con los utilizados y sus respectivas modificaciones, por haber resultado de mucha utilidad y con buenos resultados a medida que se varió en sus características como fueron: Salinidad, pH, introducción de inhibidor de contaminación (primero gentamicina luego cloranfenicol), además del uso de solución de buffer fosfato y glicerol para conservación de muestras en placas.

Sin embargo, a pesar de las recomendaciones sobre medios de cultivo y modificaciones, se propone además que el área utilizada para los trabajos

de siembra, desinfecciones, lavados, incluso esterilizaciones, se destinen única y exclusivamente al estudio mientras el mismo dure, ya que de esta manera se evitarán alteraciones tanto en las labores realizadas como en las que no corresponden a estas. Cabe mencionar que pueden quedar esporas suspendidas en el aire y en el lugar de trabajo que podrían contaminar otros cultivos que se estén realizando si no se tienen las debidas precauciones.

Es recomendable la ampliación de la base de datos, no solo nos permitirá mejorar los conocimientos en la variedad de hongos marinos presentes en el manglar de Palmar, sino que además las utilidades que se pueden obtener con estudios efectuados en especies aisladas (que producen metabolitos de interés en campos de medicina, industria, etc.), favorecerá el desarrollo de la biotecnología en la provincia de Santa Elena.

5.3 BIBLIOGRAFÍA

- Alias S A, Kuthubutheen A J, & Jones E B G, Fungal colonization of submerged ***Bruguiera cylindrical*** and ***Rhizophora apiculata*** wood., *Bot. Mar*. (1991).

- Alongi, D.M., K.G. Boto y F. Tirendi. 1989. Effect of exported mangrove litter on bacterial productivity and dissolved organic carbon fluxes in adjacent tropical nearshore sediments. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 56:133-144.

- Bell, J.D., D.A. Pollard, J.J. Burchmore, B.C. Pearce y M.J. Middleton. 1984. Structure of a fish community in a temperate tidal mangrove creek in Botany Bay, New South Wales. *Aust. J. Mar. Freshwater.*

- Carrera Luis, Desarrollo y Problemática Ambiental del Aérea del Golfo de Guayaquil, Comisión Asesora Ambiental de la Presidencia de la República CAAM, Guayas, Ecuador, 1996.

- Catálogo de productos de laboratorio, Interlab, 2007.

- C-CONDEM Corporación Coordinadora Nacional para la Defensa del Ecosistema Manglar del Ecuador. 2006.

- Contreras, F. 1985. Las lagunas costeras mexicanas. pp. 253. México DF: Centro de Eco desarrollo y Secretaría de Pesca, Primera edición.

- Dawes J. Clinton, Botánica Marina, Universidad del sur de Florida, Editorial Limusa S.A, México, 1991.

- Determinación de las características físicas y químicas del agua en el manglar de Palmar, Carlos Gonzabay C., 2005.

- Enríquez Diana, González María, Ruiz Gisel, Núñez Raquel y Delgado Yolaine, Diversidad de Hongos Marinos en Playas de la Ciudad de La Habana, Instituto de Oceanografía, Instituto de Biología: Universidad Autónoma de México, La Habana, Cuba, 2003.

- Escuela Superior Politécnica del Litoral, Propuesta de equipamiento en el sector de Palmar, León C., Sánchez M., Montoya R., 2007

- Heredia Gabriela, Arias Rosa, Reyes Manuela, Aspectos morfológicos y fisiológicos de Hobsonisa Miabilis (Peck) Linder, Ifomiceto Heliscospórico registrado por primera vez para México,

Acta Botánica Mexicana, N° 061, Instituto de ecología A.C., Patzcuaro, México, 2002.

- Holguin G, Vazquez P, Bashan Y. 2001; the role of sediment microorganisms in the productivity, conservation, and rehabilitation of the mangrove ecosystems: an overview. Biol. Fertile Soils 33: 265-278.

- Hyde K D, A comparison of intertidal mycota of five mangroves tree species, *Asian Mar. Biol.*, (1990).

- Hyde, K.D. 1986. Frequency of occurrence of lignicolous marine fungi in the tropics. pp. 311-322. *In:* S.T. Moss. (ed.).*The biology of marine fungi*, Sydney: Cambridge University Press.

- Isolation, Identification, and bioactivity of Antartic and Mangrove Fungi, Siti Aisyah Alias, Agosto, 2008.

- López Fernando, Castillo Jean, Pazmiño Fernando, et al, Caracterización y Propuesta Técnica de la Acuacultura en la zona de Monteverde-Playa Rosada, Provincia de Santa Elena, MEIA, Escuela Superior Politécnica del Litoral, Guayaquil, Ecuador, 2009.

- Mahasagar-Bulletin of the National Institute of Oceanography 14:325-327.

- Majluf Patricia, Los Ecosistemas Marinos y Costeros, Proyecto Estrategia Regional de Biodiversidad para los Países del Trópico Andino, Convenio de Cooperación Técnica no Reembolsable, CAN-BID, Lima, Perú, 2002.

- ***Marine Fungi,*** E. M. Leaño, V.V. Sarma & J. Kohlmeyer, *Pointing editors.* (1993).

- Matondkar, S.G.P., S. Mahtani y S. Mavinkurve. 1981. Studies on mangrove swamps of Goa: I. Heterotrophic bacterial flora from mangrove swamps.

- Odum, W.E. y EJ. Heald. 1975b. the detritus-based food web of an estuarine mangrove community. pp. 265-286. *In:* LT. Ronin (ed.).*Estuarine Research*, New York: Academic Press.

- Programa de Educación Ambiental Marino Costera del Ecuador, Nuestros Humedales y sus Secretos, Guía Didáctica para docentes, Dirección General de Intereses Marítimos, Ecuador,1990.

- Raghukumar, S, S. Sharma, C. Raghukumar, V. Sathe-Pathak y D. Chandramohan. 1994. Thraustochytrid and fungal component of marine detritus. IV. Laboratory studies on decomposition of leaves of the mangrove *Rhizophora apiculata* Blume. *J. Exp. Mar. Biol.*

- Robertson, A.I. y N.C. Duke. 1987. Mangroves as nursery sites: comparisons of the abundance and species composition of fish and crustaceans in mangroves and other near shore habitats in tropical Australia. *Mar. Biol.* 96:193-205.

- Robertson, A.I. y N.C. Duke. 1990. Recruitment, growth and residence time of fish in a tropical Australian mangrove system. *Est. Coast. Shelf.*

- Sarma V V & Hyde K D, A review on frecuently occurring fungi in mangroves, *fungal divers.,* 8.

- Sarma VV & Hyde K D, **Morphology and Taxonomy of Higher marine fungi:** *Marine Mycology*, editors Hyde & Pointing. (1994).

- SITIO WEB: Google Maps/Ubicaciones/mapa/2008.

- Thayer, G.W., D.R. Colby y W.F. Hettler. 1987. Utilization of red mangrove prop root habitat by fish in south Florida. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*

- Twilley, R.R., M. Pozo, V.H. García, V.H. Rivera-Monroy, R. Zambrano and A. Bodero. 1997. Litter dynamics in riverine

mangrove forests in the Guayas River Estuary, Ecuador. *Ecología* 111:109-122.

- Ville, C. A, Biología, Sexta edición, Editorial Interamericana, México, 1974.

- Volkmann-Kohlmeyer B & Kohlmeyer J, Biogeographic observations on Pacific marine fungi, Mycologia., (1993).

- Volkmann-Kohlmeyer, 1979. Marine Mycology, The Higher Fungi. Academic Press, New York.

- Volkmann-Kohlmeyer, 1991. Illustrated key to the filamentous higher marine fungi. *Bot. Mar*., 34.

- Vrijimoed, L.L., K.D. Hyde, and Jones, 1994. Observation on mangrove fungi of Macau and Hong Kong, with the descriptions of two new ascomycetes. *Mycol. Res.,98.*

ANEXOS

ANEXO I

Tabla I: Datos estadísticos de zonas de manglares en la región norte de Sudamérica.

PAÍS	ÁREA DE MANGLARES (Km^2)	ÁREAS PROTEGIDAS EN MANGLARES	ÁREAS DE MANGLARES PROTEGIDAS (Km^2)	N° DE ESPECIES DE MANGLAR
COLOMBIA	3659	8	817	11
ECUADOR	2469	3	337	7
PERÚ	51	1	29	5
VENEZUELA	2500	10	-	7

Fuente: WRI, 2001.

Tabla II: Actividades económicas desarrolladas en la comuna Palmar (Año 2005), por Población Económicamente Activa.

	ACTIVIDAD	CANTIDAD	PORCENTAJE
1	**PESCA**	1081,00	70,61 %
2	**EMPLEADOS**	96,00	6,27 %
3	**JORNALEROS**	34,00	2,22 %
4	**OBREROS**	31,00	2,02 %
5	**OTROS**	289,00	18,88 %
6	**TOTAL**	1531,00	100 %

Fuente: Informe Técnico *"Reforestación en el Manglar de Palmar",* Universidad Península de Santa Elena, 2005.

Tabla III: Estaciones de muestreo.

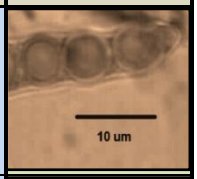
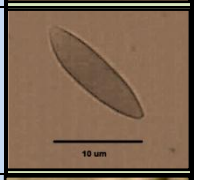
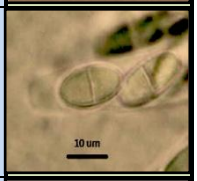
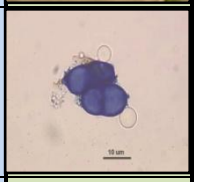
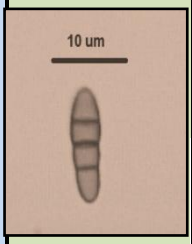
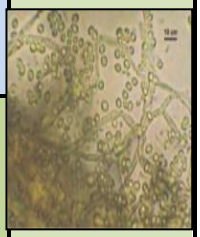
Estación # 1	S02°01.095´	W080°44.175´
Estación # 2	S02°01.178´	W080°44.184´
Estación # 3	S02°01.229´	W080°44.144´
Estación # 4	S02°01.256´	W080°44.106´
Estación # 5	S02°01.261´	W080°44.057´
Estación # 6	S02°01.210´	W080°44.058´
Estación # 7	S02°01.169´	W080°44.041´
Estación # 8	S02°01.104´	W080°44.031´

Coordenadas tomadas siguiendo el margen estuarino para cada estación.

Tabla IV: Orden seguido en el sistema de codificación de muestras según la estación correspondiente.

COORDENADAS	NÚMERO DE ORDEN
S: 02°, 01', 095". W: 80°, 44', 175"	**1**
S: 02°, 01', 178". W: 80°, 44', 184".	**2**
S: 02°, 01', 229". W: 80°, 44', 144".	**3**
S: 02°, 01', 256". W: 80°, 44', 106".	**4**
S: 02°, 01', 261". W: 80°, 44', 057".	**5**
S: 02°, 01', 210". W: 80°, 44', 058".	**6**
S: 02°, 01', 169". W: 80°, 44', 041".	**7**
S: 02°, 01', 104". W: 80°, 44', 031".	**8**

Tabla V: Géneros de hongos marinos identificados durante el estudio.

PHYLUM	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GENERO	IMAGEN
Ascomycota	Sordariomycetes	Hypocreales	Hypocreaceae	Payosphaeria	
				Rhizophila	
		Halosphaeriales	Halosphaeriaceae	Lignicola	
				Tirispora	
	Dothideomycetes	Pleosporales	Leptosphaeriaceae	Leptosphaeria	
Deuteromycota	Coelomycetes	No Asignada*	No Asignada*	Phialophorophoma	
				Especie: *Litoralis*	

(*) Hasta el último reporte que data del año 2008 no ha sido asignado dentro de un orden ni familia específico.

Tabla VI: Matriz de identificación de hongos marinos del manglar de Palmar.

FORMA	ESTRUCTURA REPRODUCTORA	LONGITUD DE CONIDIO	SEPTOS	APÉNDICE	GÉNEROS
Globosa	Asca	45-8 µm	Sin septos	Sin apéndices	Payosphaeria
Elipsoidal	Asca	20-32 µm	Sin septos	Sin apéndices	Rhizophila
Elipsoidal	Asca	22-36 µm	1 septo	Sin apéndices	Lignícola
Globosa 2 células	Asca	15-22 µm	Sin septos	1 apéndice	Tirispora
Cilíndrica	Asca	10-16 µm	3 septos	Sin apéndice	Leptosphaeria
Globosa cilíndrica	Formación globosa	7-10 µm	Con o sin septo	Sin apéndices	Phialophorophoma

Tabla VII: Codificación registrada de cada género identificado.

ESTACIÓN	ÓRDEN DE IDENTIFICACIÓN	ÉPOCA	TIPO DE AGAR	GÉNERO
3	A	LL	PDA	Payosphaeria
2-5	A	S	PDA	Rhizophila
1-2	A	S	PDA	Lignícola
3-4	A	S	CMA	Tirispora
2	B	S	PDA	Leptosphaeria
3	A	S-LL	CMA	Phialophorophoma

Tabla VIII: Número de aislamientos de hongos marinos obtenidos por estación de muestreo.

GÉNERO	E 1	E 2	E3	E 4	E 5	E 6	E 7	E 8	N° AISLAMIENTOS	PORCENTAJE DE APARICIÓN
Payosphaeria			2						2	7,69
Rhizophila		2			1				3	11,54
Lignincola	3	1							4	15,38
Tirispora			5	5					10	38,46
Leptosphaeria		1							1	3,85
Phialophorophoma			6						6	23,08
TOTAL	3	4	13	5	1	0	0	0	26	

Tabla IX: Biodiversidad presente en el manglar de la comuna Palmar.

CLASE	ORDEN	FAMILIA	ESPECIE
Aves	Pelecaniformes	Fregaridae	V: Fragatas. C: ***Fregata magnificens***
		Pelecanidae	V: Pelícano pardo. C: ***Pelecanus occidentales***
		Sulidae	V: Piquero patas azules. C: ***Sula nebouxii***
	Charidriformes	Laridae	V: Gaviota cabecigris. C: ***Larus cirrocephalus***
	Ciconiformes	Ardeidae	V: Garza blanca. C: ***Ardea alba***
			V: Garza bueyera. C: ***Bubulcus ibis***
			V: Garza tricolor. C: ***Egretta tricolor***

			V: Garza estriada. C: ***Buturoides estriatus***
			V: Garza nocturna cangrejera. C: ***Nyctanassa violácea***
			V: Garza azul. C: ***Egretta caerulea***
			V: Garza nocturna. C: ***Nycticorax nycticorax***
			V: Garza estriada. C: ***Buturoides estriatus***
	Falconiformes	Cathartidae	V: Gallinazo negro. C: ***Coragyps atratus***
			V: Gallinazo aurea. C: ***Cathartes aura***
	Columbiformes	Columbidae	V: Paloma tierrera. C: ***Zenaida sp.***
	Cuculiformes	Cuculidae	V: Garrapatero americano. C: ***Crotophaga sulcirostris***
	Passeriformes	Parulidae	V: Canario del manglar. C: ***Dendroica petechia***
		Mimidae	V: Cucube. C: ***Mimus saturninus***
	Apodiformes	Trochilidae	V: Colibrí enano.

			C: ***Myrnia micrura***
	Coraciformes	Cerylidae	V: Martín pescador menor. C: ***Chloroceryle americana***
			V: Martín pescador mayor. C: ***Megaceryle torquita***
	Phoenicopteriformes	Phoenicopteridae	V: Flamingo chileno. C: ***Phoenicopterus chilensis***
Mammalia	Carnívoro	Procyonidae	V: Tejón. C: ***Nasua nasua***
	Didelphimorphia	Didelphidae	V: Zarihuella. C: ***Glironia venusta***
	Rodentia	Muridae	V: Rata. C: ***Rattus norvegicus***
		Cricetidae	V: Ratón. C: ***Oryzomys nitidus***
Sauropsida	Squamata	Iguanidae	V: Iguana. C: ***Iguana Iguana***
		Lacertidae	V: Lagartija. C: ***Alopoglosus atrintis***
		Viperidae	V: Culebra X. C: ***Bothrops atrox***
		Boidae	V: Matacaballos. C: ***Boa constrictor***
Malacostraca	Decapodos	Peneidae	V: Camarón blanco. C: ***Pennaeus vannamei***

		Ucidididae	V: Camarón rojo. C: ***Ucides occidentalis***
		Gecarcinidae	V: Cangrejo azul. C: ***Cardisoma crassum***
		Ocypodidae	V: Cangrejo violinista. C: ***Uca sp.***
		Portunidae	V: Jaiba azul. C: ***Callinectes sapidus***
			V: Jaiba verde. C: ***Callinectes bellicosus***
Bivalvia	Arcoideos	Arcidae	V: Concha prieta. C: ***Anadara tuberculosa***
	Ostreoideos	Pectinidae	V: Concha abanico. C:***Argopecten purpuratus***
		Ostreoidae	V: Ostión. C: ***Crassostrea gigas***
Actinopterygii	Mugiliformes	Mugilidae	V: Lisa. C: ***Mugil cephalus***
	Perciformes	Centropomidae	V: Robalo. C: ***Centropus unionensis***
		Eleotridae	V: Chame. C: ***Dormitator latifrons***
	Siluriformes	Ariidae	V: Bagre rojo.

			C: ***Bagre pinnimaculatus***
			V: Bagre chihuil. C: ***Bagre panamensis***

Fuente: *Propuesta de equipamiento en el sector de Palmar,* ESPOL, 2007.

ANEXO II

Gráfico 1: Zonas de manglares del Ecuador (Entre líneas verdes).

BASIDIO	ASCA

Gráfico 2: Forma de las estructuras reproductoras.

Gráfico 3: Formas y organismos del Phylum Basidiomycota.

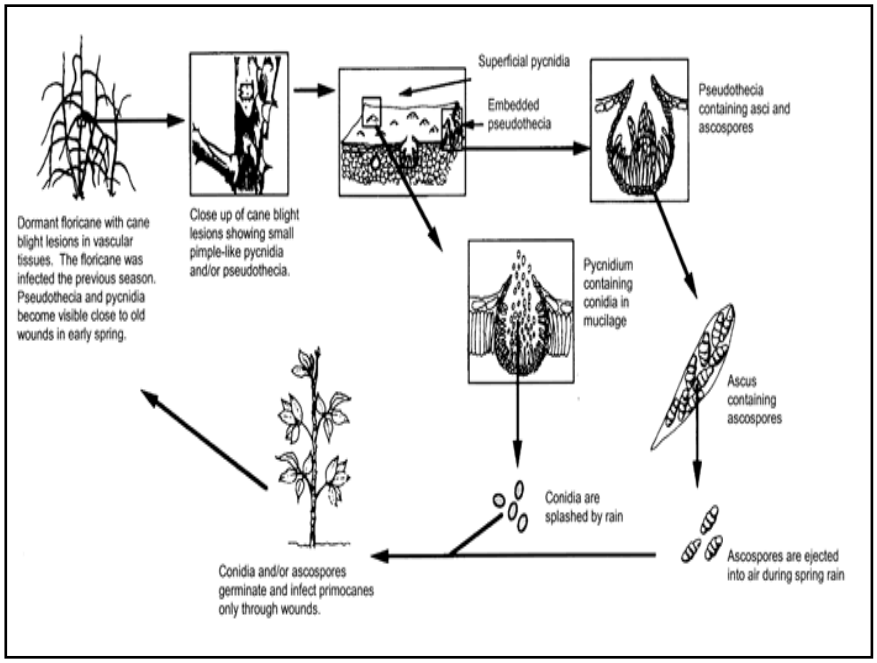


Gráfico 4: Ciclo de colonización de organismos fúngicos.

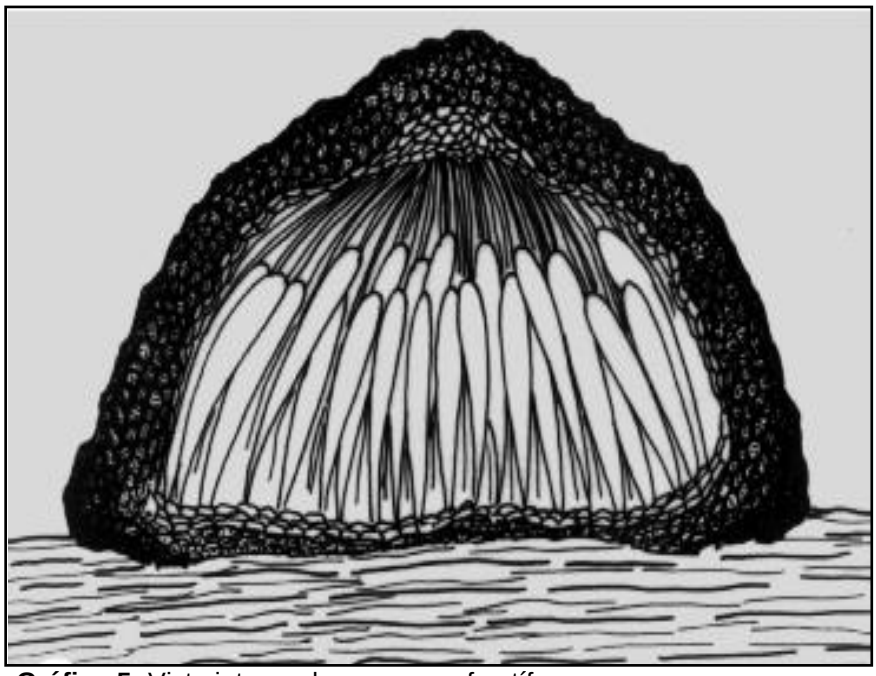


Gráfico 5: Vista interna de un cuerpo fructífero.

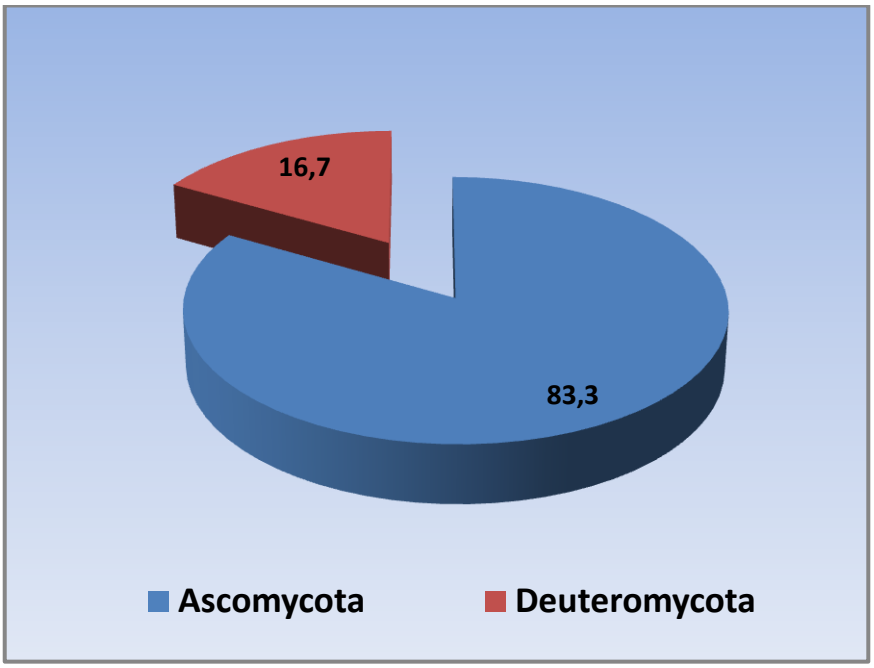


Gráfico 6: Porcentaje de organismos de los phylum identificados.

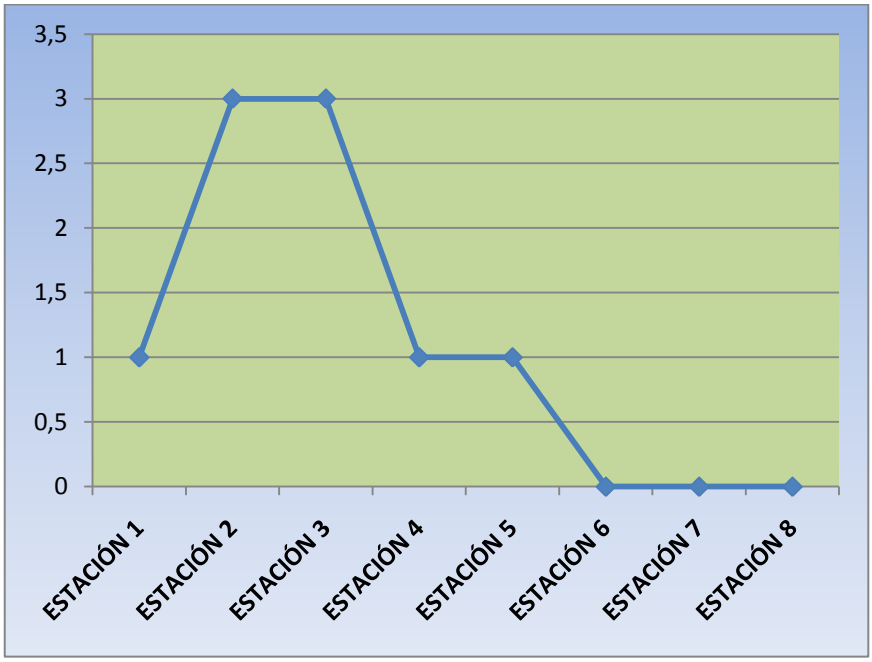


Gráfico 7: Número de géneros de hongos marinos identificados de acuerdo a las estaciones de muestreo.

ANEXO III

Foto 1: Comuna Palmar (Vista Panorámica).

Foto 2: ***Rhizophora mangle.***

Foto 3: ***Avicennia germinans.***

Foto 4: ***Laguncularia racemosa.***

Foto 5: ***Conocarpus erectus.***

Foto 6: Hongo micorrízico en cultivo.

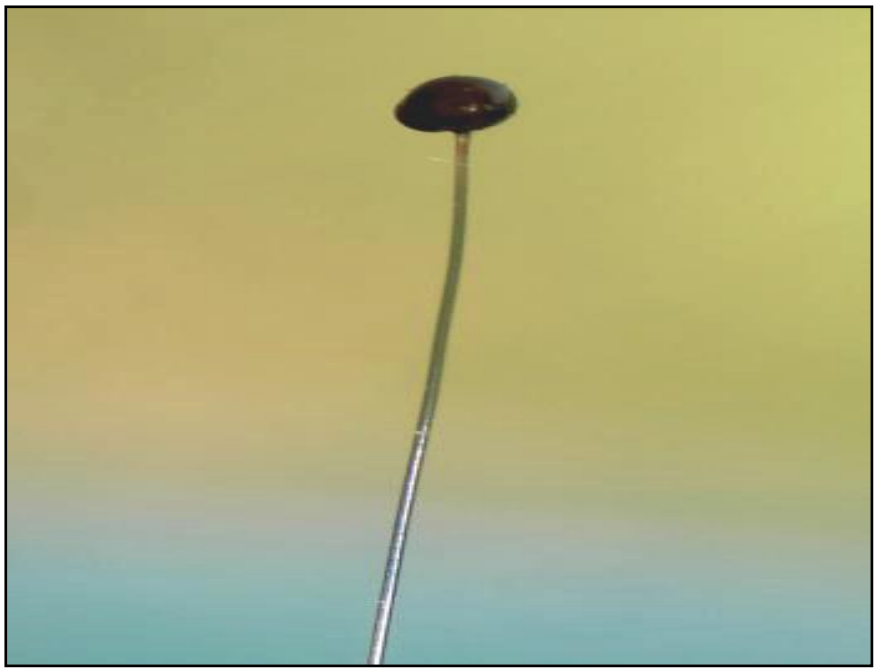


Foto 7: Hongo Zygomycete.

Foto 8: Área de estudio, siguiendo el perfil estuarino superior.

Foto 9: Primera estación de muestreo.

Foto 10: Cuarta estación de muestreo.

Foto 11: Séptima estación de muestreo.

Foto 12: Selección de material lignificado.

Foto 13: Primer muestreo.

Foto 14: Verificación de los puntos de muestreo.

Foto 15: Segundo muestreo.

Foto 16: Traslado de muestras.

Foto 17: Instalación de primeras cámaras húmedas.

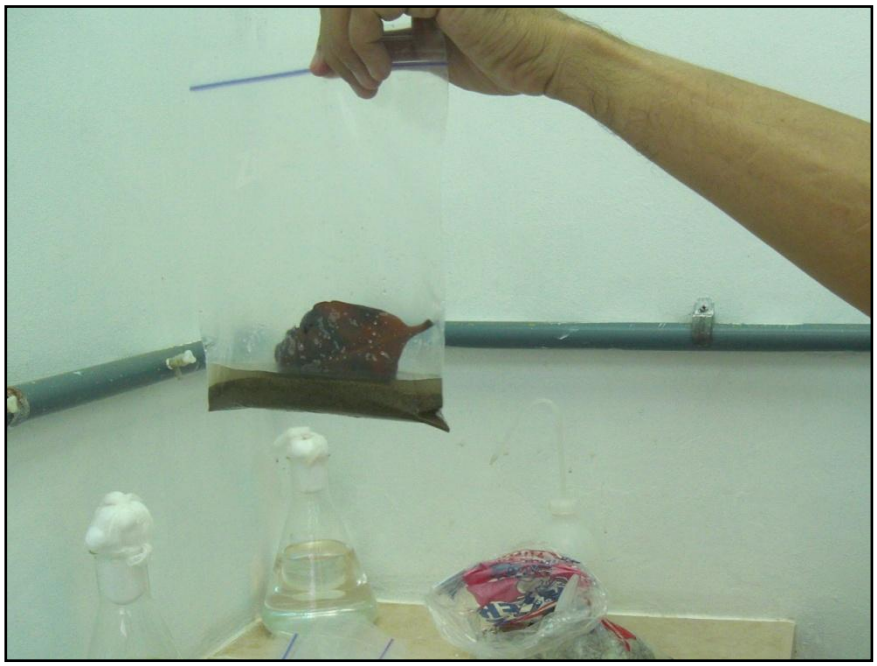


Foto 18: Pruebas con cámaras húmedas con sustrato particulado (Arena).

Foto 19: Agares PDA y CMA.

Foto 20: Preparación de Agar.

Foto 21: Cultivo contaminado.

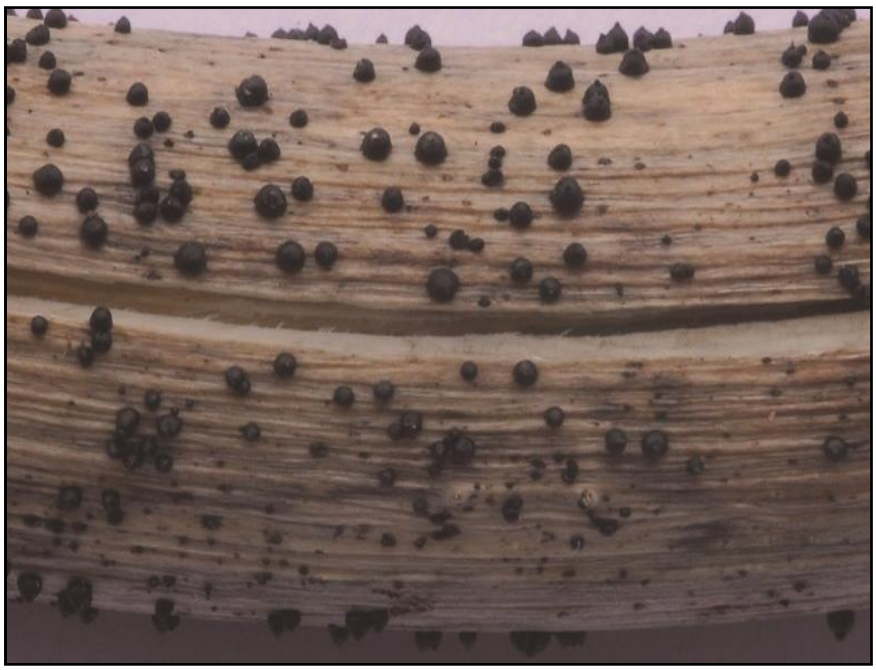


Foto 22: Colonización y proliferación de cuerpos fructíferos.

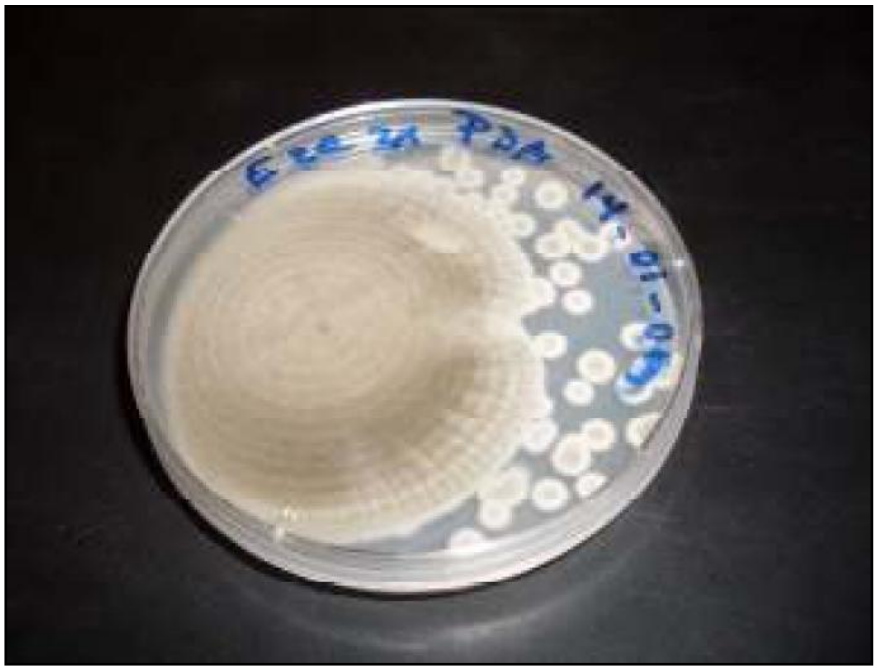


Foto 23: Caja petri sembrada y codificada.

Foto 24: Preparación de solución con antibiótico.

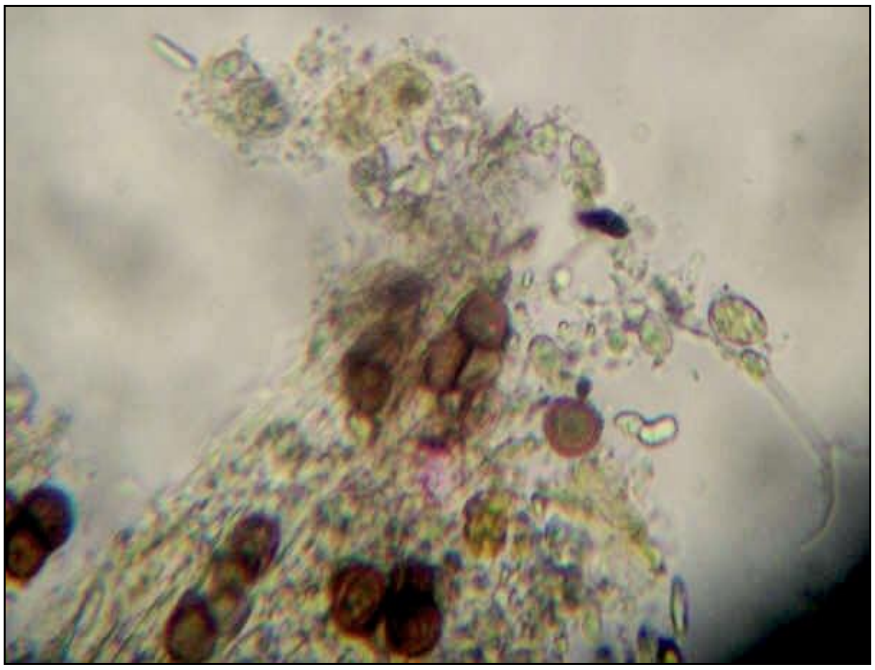


Foto 25: Muestras en solución de buffer fosfato (placas portaobjeto).

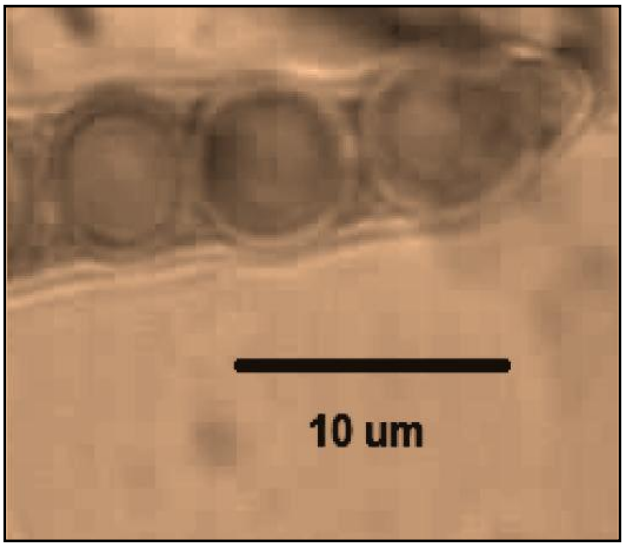


Foto 26: Ascosporas del género Payosphaeria (100x).

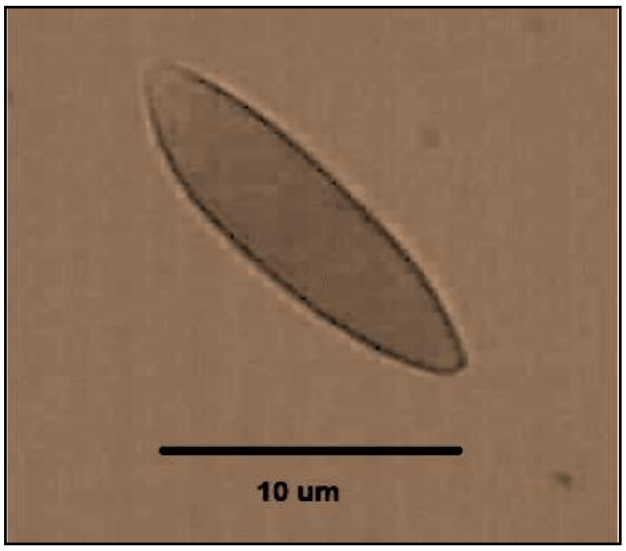


Foto 27: Ascospora del género Rhizophila (100x).

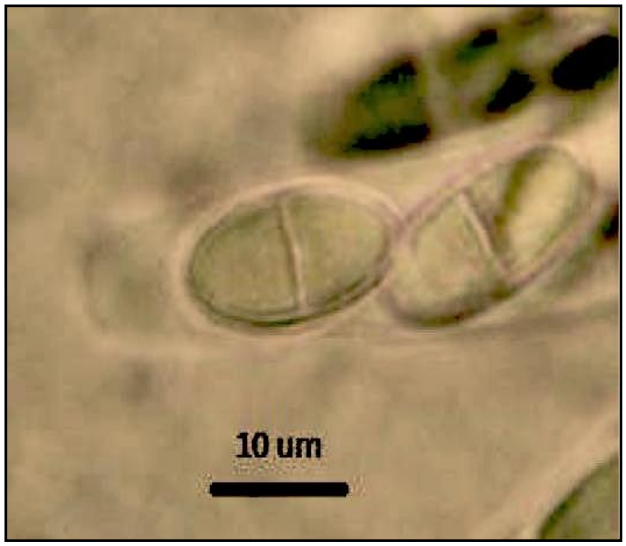


Foto 28: Ascosporas del género Lignincola (100x).

Foto 29: Ascosporas del género Tirispora (40x).

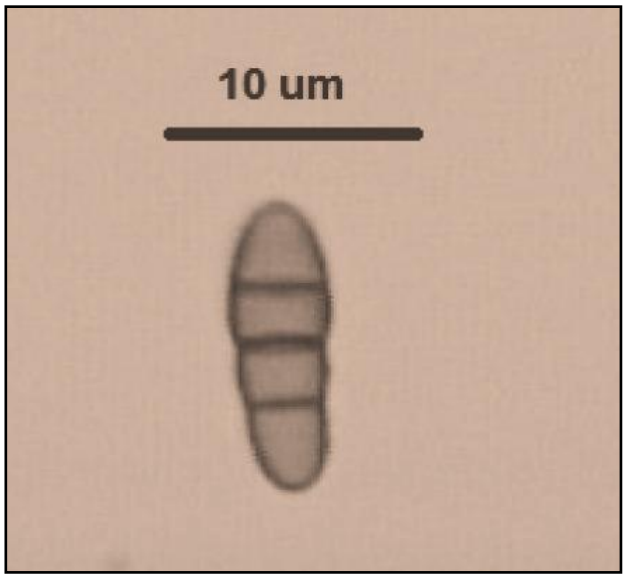


Foto 30: Ascosporas del género Leptosphaeria (100x).

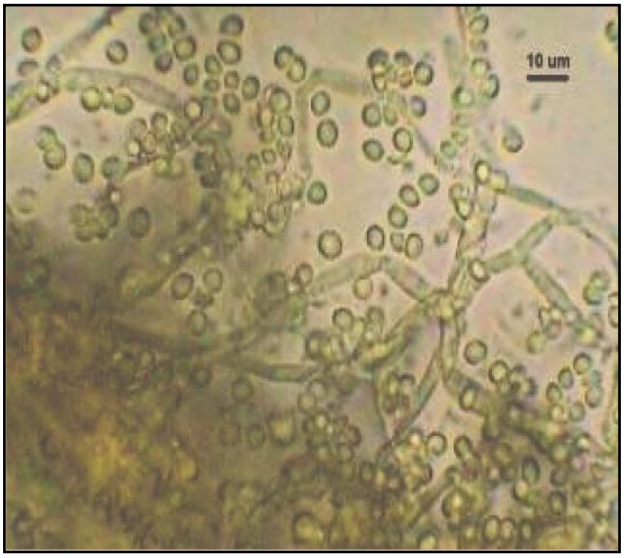


Foto 31: Conidios de ***Phialophorophoma litoralis*** (10x).