

## Hongos dérmico-saprófitos de anuros en el Valle de Antón, provincia de Coclé, Panamá

*Dermal fungi saprophytes of anurans in the Anton Valley, Coclé province, Panama*

**Edison Rodríguez Cedeño**

Universidad de Panamá. Centro Regional Universitario de Coclé. Panamá.  
[edison.rodriguez-c@up.ac.pa](mailto:edison.rodriguez-c@up.ac.pa); <https://orcid.org/0009-0008-4621-8407>

**Martha de Von Chong**

Universidad de Panamá. Centro Regional Universitario de Coclé. Panamá.  
[martha.chaves@up.ac.pa](mailto:martha.chaves@up.ac.pa); <https://orcid.org/0000-0002-1087-419>

**Rito Herrera**

Universidad de Panamá. Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá. Panamá.  
[rito.herrera@up.ac.pa](mailto:rito.herrera@up.ac.pa); <https://orcid.org/0000-0003-2509-0391>

**Lisbeth Lourdes Rodríguez**

Universidad de Panamá. Panamá  
[lisbethl.rodriguez@up.ac.pa](mailto:lisbethl.rodriguez@up.ac.pa); <https://orcid.org/0000-0003-1750-9228>

Artículo recibido: 12 de febrero de 2025

Artículo aceptado: 27 de febrero de 2025

DOI: <https://doi.org/10.48204/j.colegiada.v6n2.a7202>

### RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue identificar taxonómicamente la diversidad de hongos encontrados en anuros a través de hisopados dérmicos. El trabajo se realizó en el distrito de Antón, provincia de Coclé, Panamá. En primera instancia, se realizó el muestreo en áreas boscosas del valle de Antón. Para esto, se seleccionaron tres sitios de estudio: Monumento Natural Cerro Gaital (CG), Área boscosa del Hotel Campestre (HC) y Centro de Conservación de Anfibios del Valle Antón (CC). Mediante la técnica de hisopado de muestreo la parte ventral (extremidades anteriores y posteriores) del anuro, obteniendo un total de 150 muestras, las cuales fueron llevadas al Laboratorio de Microbiología del Centro Regional Universitario de Coclé. Las muestras se sembraron en Agar Papa Dextrosa con adición de Penicilina (0.1g/mL) y se incubaron a temperatura ambiente (28-32°C). Los morfotipos obtenidos se clasificaron siguiendo las claves de Moller et al., (1995). Los resultados indican que el porcentaje de especímenes capturados por las técnicas de muestreo en los dos sitios de vida libre (CG y HC) presentan una diferencia significativa ( $\chi^2= 7.76$ ;  $p=0.02$ ) con respecto al Centro de Conservación, siendo *Dendrobatidae* y *Strabomantidae* las familias más importantes. La prueba de T de Hutchinson aplicada a los morfotipos de los tres sitios indica diferencias en la diversidad de los sitios. CG ( $H' = 1.633 \pm 0.010$ ), CC ( $H' = 1.303 \pm 0.009$ ), siendo el primero el que presenta mayor diversidad ( $t = 2.28$ , g.l. = 178.35,  $p = 0.02$ ). Se registró también diferencias en la diversidad de HC ( $H' = 1.663 \pm 0.0154$ ) y CC ( $H' = 1.303 \pm 0.0086$ ), donde HC presenta mayor diversidad ( $t = -2.01$ , g.l. = 83.36,  $p = 0.04$ ). No se encontró diferencias en la diversidad entre los sitios CG ( $t = 0.016$ , g.l. = 91.45,  $p = 0.98$ ). La especie *Aspergillus flavus* fue la única presente en los tres sitios.

**PALABRAS CLAVE:** Batrachochytrium dendrobatidis, morfotipos, hongos saprofitos.



## ABSTRACT

The objective of this research was to taxonomically identify the diversity of fungi found in anurans through dermal swabs. The work was carried out in the District of Antón, province of Coclé, Panama. In the first instance, sampling was carried out in forested areas of the Anton Valley, for this three study sites were selected: Cerro Gaital Natural Monument (CG), Hotel Campestre Wooded Area (HC) and Antón Valley Amphibian Conservation Center (CC). By swabbing technique, the ventral part (anterior and posterior extremities) of the anura was sampled, obtaining a total of 150 samples, which were taken to the Microbiology Laboratory of the Regional University Center of Coclé. The samples were seeded in Potato Dextrose Agar with the addition of Penicillin (0.1g/ml) and incubated at room temperature (28-32°C). The morphotypes obtained were classified according to the keys of Moller et al., (1995). The results show that the percentage of specimens captured by sampling techniques in the two free-living sites (CG and HC) show a significant difference ( $\chi^2= 7.76$ ;  $p=0.02$ ) with respect to the Conservation Center, with Dendrobatidae and Strabomantidae being the most important families. The Hutchinson T test applied to the morphotypes of the three sites indicates differences in the diversity of the sites. CG ( $H' = 1.633 \pm 0.010$ ), CC ( $H' = 1.303 \pm 0.009$ ), with the former being the one with the greatest diversity ( $t= 2.28$ ,  $g.l.= 178.35$ ,  $p= 0.02$ ). Differences were also recorded in the diversity of CH ( $H' = 1.663 \pm 0.0154$ ) and WC ( $H' = 1.303 \pm 0.0086$ ), where CH presents greater diversity ( $t = -2.01$ ,  $g.l. = 83.36$ ,  $p = 0.04$ ). No differences in diversity were found between GC sites ( $t= 0.016$ ,  $g.l.= 91.45$ ,  $p=0.98$ ). The species *Aspergillus flavus* was the only one present at all three sites.

**KEYWORDS:** Batrachochytrium dendrobatidis, morphotypes, saprophytic fungi.

## INTRODUCCIÓN

Los anuros están en una constante interacción con los hongos, ya que ambos grupos habitan los mismos ecosistemas. Estas relaciones en ocasiones pueden ser perjudiciales debido a que ciertos hongos pueden causar lesiones que perjudican sus actividades diarias e incluso ocasionan la muerte (Aguillón-Gutiérrez, 2018).

Los factores que predisponen una infección fúngica en anuros están ligados a una depresión del sistema inmunológico sumado a una degradación de la calidad del agua o del ambiente que habitan. Las enfermedades más frecuentes son micosis superficiales que forman nódulos cutáneos. Estas lesiones externas fácilmente se contaminan con bacterias que complican el cuadro clínico y en algunas veces se presentan enfermedades internas causadas por otros tipos de hongos (Galán y Dopereiro, 2017).

En otros casos, la influencia del hombre llega a ser catastrófica para los organismos, que pueden extirparse o extinguirse de su hábitat natural. El caso de los anuros es sin duda uno de los más notables. Hace varias décadas, científicos de todo el mundo comenzaron a notar disminuciones alarmantes en las poblaciones de algunas especies de anuros en los bosques y selvas de todo el mundo; en ciertos casos, resultaba relativamente sencillo asociar las disminuciones o desapariciones con factores antropogénicos como deforestación, cambio en el uso del suelo, contaminación, introducción de especies exóticas, urbanización y otros (Laufer et al., 2021).

Esta situación, además, parecía ser más grave en América Latina, donde se concentra una alta diversidad de anuros que no han sido suficientemente estudiados y protegidos. Sin embargo, en estudios recientes se ha observado que los anuros desaparecen aun en áreas protegidas o relativamente bien conservadas, lo que nos conduce a pensar que estamos hablando de disminuciones o extinciones naturales, o causadas por factores que no tienen que ver directa o indirectamente con las actividades humanas. Además, estudios sobre muestreos

sugieren que las actividades antrópicas, de acuerdo con su intensidad, afectan en igual proporción la diversidad de anuros (Quito-Guevara, 2018).

En zonas altamente modificadas, donde hay pueblos, zonas ganaderas, cultivos o instalaciones militares, el efecto sobre la fauna ha sido dramático, y se estima que la pérdida de especies nativas supere el 90%. Algunas pocas especies adaptadas a condiciones naturales extremas soportan de igual manera altos niveles de intervención humana (Barrera, 2004).

El hongo con mayor impacto en las comunidades de anuros es el *Batrachochytrium dendrobatidis*, el cual es el agente causal de la quitridiomycosis (Bravo y Moreno, 2020). La enfermedad ha impactado mayormente en los Neotrópicos donde los declives de anuros se reportan desde la década de 1980 tanto en Costa Rica, Venezuela y Ecuador. Actualmente, la declinación de los anuros es asociada a *B. dendrobatidis*, es reportada e incluso en el continente asiático y se conoce que el patógeno ha infectado a más de 350 especies de anuros en todos los continentes a excepción la Antártica. La evaluación global de los anuros indica que con un 32.5% de sus especies amenazadas constituye la clase de vertebrados más amenazada y el 92.5% se encuentra críticamente amenazada de manera enigmática, la cual relaciona a *B. dendrobatidis* (Larrea, 2014).

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

Se seleccionaron tres sitios para el muestreo, descritos a continuación:

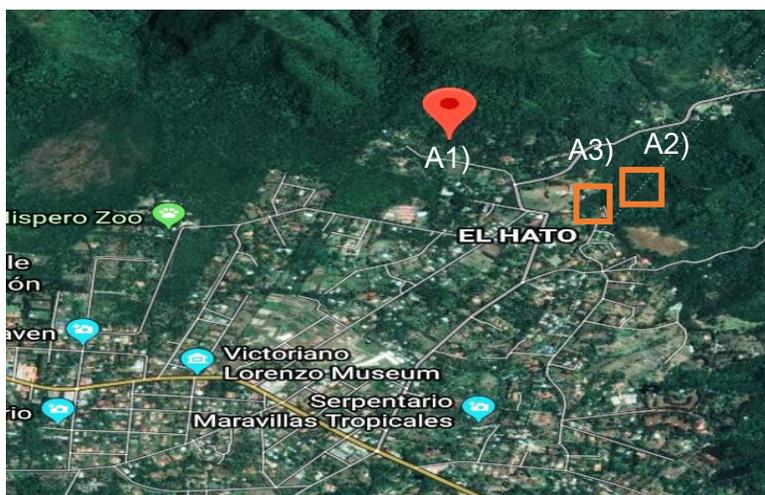
**Sitio A1:** Monumento Nacional Cerro Gaital localizado al norte del Valle de Antón, provincia de Coclé, con una altitud de 1185 msnm.

**Sitio A2:** Área boscosa ubicada en el Hotel Campestre al norte del Valle de Antón, barriada el Hato cercano a la Cuenca hidrográfica del río Antón a 630 msnm.

**Sitio A3:** Centro de Conservación de Anfibios de El Valle, localizado en el Hotel Campestre, a 630 msnm.

### Figura 1

Área de estudio, el Valle de Antón.



### Diseño experimental

La investigación fue de tipo descriptiva. Las variables seleccionadas fueron: muestras colectadas y hongos aislados.

### Captura de especímenes

En los sitios de vida libre, se capturaron los especímenes a partir de 3 técnicas:

1. **Trampas de caídas:** ubicadas estratégicamente en dos localidades, una en zona boscosa (TC1) y la otra a orilla de un flujo de agua (TC2).
2. **Transectos lineales:** uno en la zona boscosa (TA) y otro a orilla de un flujo de agua (TB)
3. **Recorrido libre (L):** en un tiempo determinado de 10 minutos.

En el tercer sitio (CC), se procedió a realizar el hisopado dérmico de los individuos ubicados en dos terrarios (P1 y P2). Las muestras se obtuvieron de 4 especímenes. Siendo: SP1 para la especie *Atelopus zeteki*, SP2: *Atelopus varius*, SP3: *Gastrotheca cornuta* pertenecientes a “terrario P1” y SP4: *Anotheca spinosa* correspondiente a “terrario P2”.

### Procesamiento de las muestras

Se evaluaron muestras de la dermis (parte ventral y extremidades) a través del hisopado dérmico de cada espécimen capturado siguiendo la metodología de (Mendoza, et al., 2012). Esto se realizó utilizando hisopos estériles (Figura 2). Los cuales se colocaron en viales con 1 mL de Agar Papa Dextrosa (PDA) en concentración de 1:9 con agua destilada y se selló con un tapón de rosca. Finalmente se rotuló con el número, localidad y especie para su posterior transporte al laboratorio.

### Figura 2

*Hisopado dérmico en Atelopus zeteki*



### Aislamiento de hongos

Las muestras obtenidas a través del hisopado dérmico se aislaron en (PDA) en condiciones asépticas con adición de Penicilina (0.1g/ml) como antibiótico para eliminar contaminantes ambientales, luego se incubaron a temperatura ambiente durante 8 días bajo condiciones controladas de 12 horas (h) de luz y 12 (h) de oscuridad. Una vez transcurrido el

tiempo. En caso de presenciar crecimiento hifal se transfería a PDA para su posterior caracterización (Castro et al., 2010).

### Caracterización Morfológica de las Colonias

Siguiendo la metodología de (Moller et al., 1995) para la clasificación de los aislamientos monospóricos se tomaron en cuenta los siguientes criterios morfológicos: tasa de crecimiento (lento, medio y rápido crecimiento), textura (18 categorías), presencia o ausencia de micelio, color del micelio, forma del margen y elevación/profundidad de la colonia.

### Microcultivo

Para la técnica de microcultivo, se cortaron pequeños bloques de agar de aproximadamente 0.5 cm<sup>2</sup> y se colocaron sobre un portaobjetos previamente esterilizado. A este, se le transfirió segmentos de hifas ubicados en cajas Petri de cámaras húmedas a temperatura ambiente (28±2°C) durante 8 días para su esporulación y Herná(Herrera ndez, 2019). Pasado dicho tiempo se examinaron las cámaras retirando cuidadosamente el cubreobjeto del microcultivo y estos se colocaron sobre un nuevo portaobjeto con previa adición de una gota de azul de lactofenol.

Finalmente, se observaron los resultados en el microscopio con los objetivos de 10X y 40X para su posterior identificación taxonómica (Largent, 1989; Saettler et al., 1989).

## RESULTADOS

### Composición de la anuro-fauna

La mayoría de las capturas se realizaron durante el recorrido libre (50%), seguido por el transecto B (29%), transecto A (19%) y finalmente 3% en las trampas caídas. En total, se registraron 150 especímenes pertenecientes a 12 géneros y 8 familias (Tabla 1).

**Tabla 1**

*Estructura y composición de la anuro-fauna*

| Orden Anuro | Familia        | Género y Especie                      | Número de Individuos |      |
|-------------|----------------|---------------------------------------|----------------------|------|
|             |                |                                       | (CG)                 | (HC) |
|             | Bufoidea       | <i>Rhaebo haematiticus</i>            | 0                    | 1    |
|             | Centrolenidae  | <i>hyalinobatrachium fleischmanni</i> | 0                    | 2    |
|             |                | <i>Sachatamia albomaculata</i>        | 0                    | 9    |
|             | Craugastoridae | <i>Craugastor crassidigitus</i>       | 0                    | 2    |
|             |                | <i>Craugastor fitzingerii</i>         | 9                    | 1    |
|             | Dendrobatidae  | <i>Allobates talamancae</i>           | 14                   | 0    |
|             |                | <i>Silverstoneia flotator</i>         | 0                    | 18   |
|             | Hylidae        | <i>Agalychnis callidryas</i>          | 2                    | 5    |
|             |                | <i>Smilisca sila</i>                  | 0                    | 1    |
|             | Ranidae        | <i>Lithobates warszewitschii</i>      | 0                    | 8    |
|             | Strabomantidae | <i>Pristimantis cruentus</i>          | 14                   | 0    |
|             |                | <i>Pristimantis ridens</i>            | 7                    | 0    |
|             |                | <i>Pristimantis taeniatus</i>         | 3                    | 3    |
|             |                | <i>Pristimantis sp.</i>               | 1                    | 0    |

### Abundancia de la anuro-fauna

Para estimar la abundancia de los especímenes registrados en los sitios de estudio, se utilizó el Índice de Shannon. Para el sitio A1 correspondiente a Monumento Cerro Gaital, se obtuvo un valor de 1.7, lo cual es indicador de una baja diversidad. Esto se le puede atribuir a una dominancia entre las especies *A. talamancae* y *P. cruentus*, con un total 14 individuos para cada uno, lo que representa el 16% de los 50 especímenes encontrados. En cuanto al sitio A2 (Hotel Campestre), se obtuvo un valor de 1.86, manteniéndose así poca diversidad, sin embargo, en este sitio la dominancia está dada por la especie *S. flotator* con 18 individuos, lo que representa el 28% del total de especímenes capturados.

La familia Dendrobatidae presentó la mayor abundancia, distribuida en: *A. talamancae* y *S. flotator* con 14 y 18 individuos en los sitios A1 (CG) y A2 (HG) respectivamente. Mientras que la familia Strabomantidae obtuvo la mayor riqueza de especies con: *P. cruentus*, *P. ridens*, *P. taeniatus* para (CG) y solo *P. taeniatus* en (HG), siendo así la familia más sobresaliente en cuanto a diversidad y abundancia, lo cual es inusual para este tipo de ecosistema en donde la mayor diversidad se atribuye a la familia Centrolenidae, hecho que no se presenta en este estudio (Sosa y Guerrel, 2013)

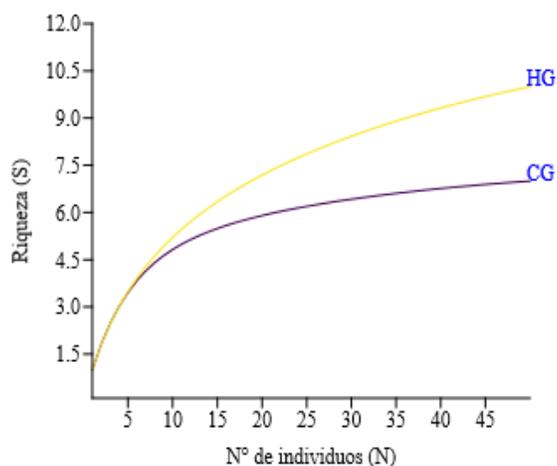
### Análisis de la diversidad de anuros.

Los resultados obtenidos en los sitios de vida libre muestran que la suma de especies en ambos sitios mantiene una diversidad media ( $H' = 2.547 \pm 0.0064$ ), además el valor de equidad general para ambos sitios ( $E' = 0.899$ ) indica que no hay especies que dominen las áreas.

La prueba de T de Hutchinson no mostró diferencia entre la diversidad ( $H'_{CG} = 1765 \pm 0.008$ ;  $H'_{HG} = 1.933 \pm 0.017$ ) de las especies descritas para ambos sitios ( $t = -0.869$ , g.l. = 86.95,  $p = 0.387$ ) por lo que probablemente presentan la misma riqueza y abundancia.

### Figura 3

Diversidad de especies en los sitios de vida libre



### Aislamientos de hongos

De las 150 muestras, se obtuvieron 218 aislamientos de hongos, finalmente se establecieron 22 morfotipos según la categoría taxonómica morfoespecie de (Moller *et al.*, 1995).

**Figura 4**

Bioprospección de la muestra N°18 obtenida de la especie *Allobates talamancae* en el transecto (TB).

**Hongos identificados.**

De los 22 morfotipos estudiados en los tres sitios de muestreo, se identificaron 3 géneros y 8 especies, pertenecientes a 2 familias.

La riqueza absoluta entre los tres sitios de estudio varía de 3 a 4 especies, mientras que la abundancia fluctúa de 1 a 32 para los especímenes descritos (dado a la presencia del individuo en cada una de las 150 muestra y no así por la cuantificación de las colonias en la totalidad de las muestras). Siendo el género *Aspergillus* el más dominante con *A. flavus*, representando 21.3 %, mientras que *A. nidulans* y *P. islandicum*, representas tan solo el 0.66%. La riqueza absoluta para los morfotipos entre los tres sitios de estudio varía de 6 a 9, mientras que la abundancia fluctúa de 1 a 47, siendo el morfotipo M12 el más dominante.

**Índice de Shannon en el sitio A1 (CG).**

Para la estimación de la abundancia de los morfotipos registrados, utilizamos el Índice de Shannon, en el cual se obtuvo un valor de 1.59, lo que nos indica una baja diversidad de morfotipos. Esto se debe a una dominancia del morfotipo 7 con 43 presencias en las 50 muestras, siendo el mismo el que presenta la mayor abundancia en este sitio, inhibiendo en mayor parte el crecimiento de muchos de los morfotipos con los que compartía hábitat en el agar (PDA).

**Índice de Shannon en el sitio A2 (HC).**

Para la estimación de la abundancia de los morfotipos registrados en el segundo sitio, se utilizó de igual manera el Índice de Shannon, en el cual se obtuvo un valor de 1.27, lo que nos indica de la misma manera una baja diversidad de morfotipos. En este caso, se debe a una dominancia del morfotipo 12 con 46 presencias en las 50 muestras, inhibiendo en mayor parte el crecimiento de los demás morfotipos ya que presenta la mayor abundancia en este sitio.

**Índice de Shannon en el sitio A3 (CC).**

La estimación de la abundancia en el tercer sitio fue de 1,59 según el Índice de Shannon para los morfotipos registrados, dando como resultado una baja diversidad, lo cual no está dado

a la dominancia de uno de los morfotipos, pero si esta dado a las condiciones controladas y asépticas a las que son sometidos los especímenes de anuros, presentes en el centro de conservación.

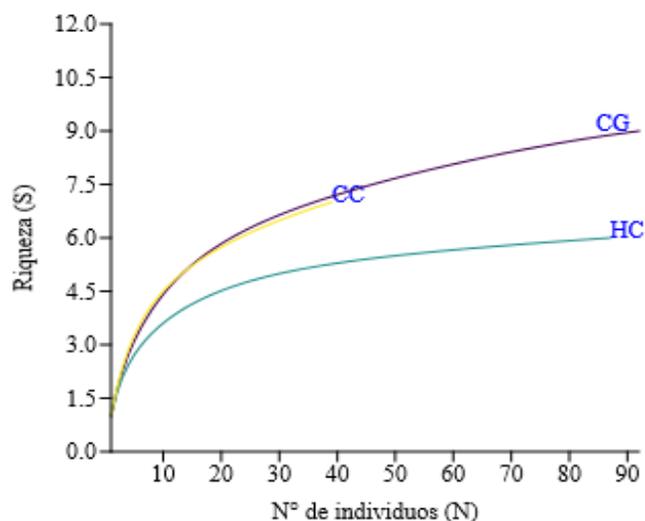
### Análisis de la diversidad de hongos

Para los tres sitios de muestreo (tanto de vida libre como los de cautiverio) los esfuerzos de muestreo fueron regulares, se logró recabar e identificar a la mayoría de los morfotipos que estas presentes en las muestras obtenidas de los especímenes de anuros, pero el resultado puede estar condicionado por el mismo número de anuros muestreados.

La diversidad general de hongos de los tres sitios es media ( $H' = 2.55 \pm 0.004$ ) y de los 22 morfotipos encontrados no hay evidencia de que alguno sea dominante sobre otro ( $E' = 0.825$ ). La prueba de T de Hutchinson aplicada a los tres sitios indica que hay diferencia en la diversidad de los sitios CG ( $H' = 1.633 \pm 0.010$ ) y CC ( $H' = 1.303 \pm 0.009$ ), donde CG, presenta mayor diversidad ( $t = 2.28$ , g.l. = 178.35,  $p = 0.02$ ). Se registró también diferencias en la diversidad de HC ( $H' = 1.663 \pm 0.0154$ ) y CC ( $H' = 1.303 \pm 0.0086$ ), donde HC presenta mayor diversidad ( $t = -2.01$ , g.l. = 83.36,  $p = 0.04$ ). No se encontró diferencia en la diversidad entre los sitios CG ( $H' = 1.633 \pm 0.010$ ) y HC ( $H' = 1.663 \pm 0.0154$ ) al compararlos ( $t = 0.016$ , g.l. = 91.45,  $p = 0.98$ ). La especie *Aspergillus flavus* fue el único hongo presente en los tres sitios (Figura 5).

### Figura 5

Curva de la diversidad de las especies de hongo de los tres sitios de estudio (CG, HC y CC).

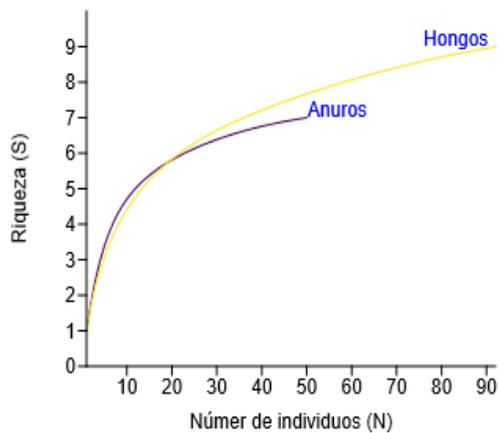


### Análisis de la diversidad de anuros y hongos.

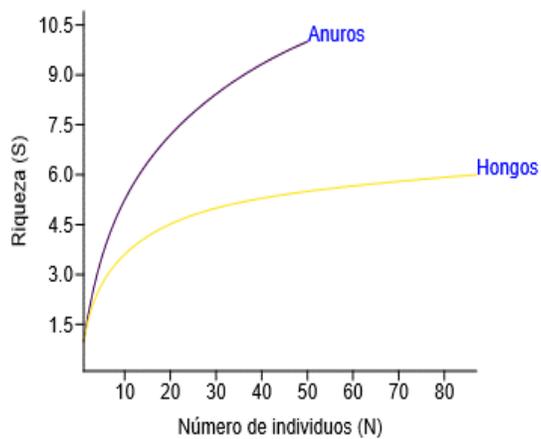
Los resultados muestran que no existe una diferencia entre la diversidad de anuros y hongos par el sitio CG ( $t = 0.60$ , g.l. = 135.39,  $p = 0.54$ ), lográndose identificar a la mayoría de los anuros y hongos estudiados (Figura 6). Para el sitio HC, si se registró diferencia significativa entre la diversidad de anuros y hongos ( $t = 3.70$ , g.l. = 100.5,  $p = 0.0003$ ), siendo la diversidad de anuros significativamente más alta y aunque la diversidad de hongos es menor se logró identificar a la mayoría de los morfotipos (Figura 7). No se encontró diferencia significativa entre la diversidad de anuros y hongos en el sitio CC ( $t = -1.70$ , g.l. = 46.06,  $p = 0.09$ ), al ser un centro de conservación las condiciones para los anuros son controladas (Figura 8).

**Figura 6**

Curva de acumulación de las especies de anuro y de hongos del sitio (CG).

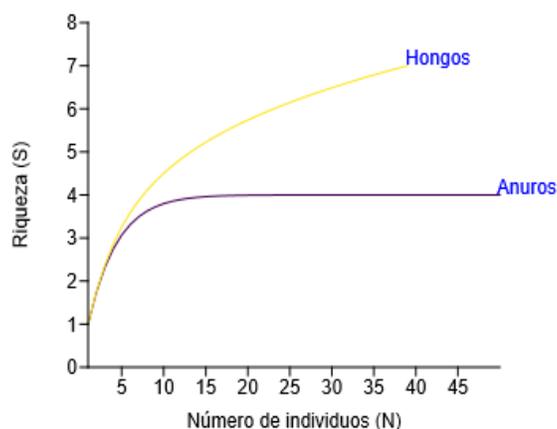
**Figura 7**

Curva de acumulación de las especies de anuro y de hongos del sitio (HC).



**Figura 8**

Curva de acumulación de las especies de anuro y de hongos del sitio (CC).



### Caracterización morfológica de los morfotipos.

Para la identificación de todos los morfotipos, se empleó la categoría taxonómica morfoespecie (Moller *et al.*, 1995), donde se toma en cuenta el diámetro aproximado, micelio aéreo, textura, forma del margen y elevación-profundidad. Los aislamientos que presentaron estructuras reproductivas se identificaron mediante las claves (Largent, 1989; Saettler, Schaab, y Roth, 1989)

**Tabla 2**

Morfotipos identificados en el Monumento Nacional Cerro Gaital.

| Sitio A1: Monumento Nacional Cerro Gaital |                     |               |              |                    |                           |                  |                                |
|---|---------------------|---------------|--------------|--------------------|---------------------------|------------------|--------------------------------|
| Morfotipo                                 | Tasa de Crecimiento | Micelio Aéreo | Textura      | Forma de margen    | Elevaciones de la Colonia | Color            | Identificación taxonómica      |
| 1   | Lento               | -             | Pulverulento | Liso               | convexa                   | verde            | estructura vegetativa          |
| 2   | rápido              | poco          | Lanoso       | Fleco              | +                         | chocolate        | <i>Aspergillus ochraceus</i>   |
| 3   | +                   | -             | Ceroso       | -                  | plana                     | blanco           | estructura vegetativa          |
| 4   | +                   | poco          | Lanoso       | irregular + raíces | convexa                   | rosado           | estructura vegetativa          |
| 5   | moderado            | +             | +            | +                  | +                         | crema            | <i>Penicillium viridicatum</i> |
| 6   | rápido              | +             | Otros        | -                  | Plana                     | Blanco poroso    | <i>Aspergillus nidulans</i>    |
| 7   | moderado            | +             | Algodonoso   | Irregular          | convexa                   | blanco           | estructura vegetativa          |
| 8   | rápido              | +             | Otro         | -                  | Plana                     | blanco           | estructura vegetativa          |
| 9   | moderado            | -             | Concéntrico  | Irregular          | Plana                     | verde con blanco | <i>Aspergillus flavus</i>      |

**Tabla 3**

*Morfotipos identificados en el Área boscosa del Hotel Campestre.*

| Sitio A2: Área boscosa que forma parte del Hotel Campestre |          |      |              |                      |         |                  |                                |
|--|----------|------|--------------|----------------------|---------|------------------|--------------------------------|
| 10   | Lento    | -    | pulverulento | Liso                 | convexa | verde            | estructura vegetativa          |
| 11   | moderado | -    | Concéntrico  | Irregular            | Plana   | verde con blanco | <i>Aspergillus flavus</i>      |
| 12   | rápido   | -    | Opaco        | -                    | +       | blanco           | estructura vegetativa          |
| 13   | +        | -    | algodonoso   | irregular más raíces | convexa | crema            | <i>Penicillium viridicatum</i> |
| 14   | +        | Poco | Lanoso       | -                    | +       | Blanco espinoso  | <i>Batrachochytrium sp.</i>    |
| 15   | +        | +    | +            | parecido a raíces    | +       | rosado           | estructura vegetativa          |

**Tabla 4**

*Morfotipos identificados en el Centro de Conservación de Anfibios del Valle.*

| Sitio A3: Centro de Conservación de Anfibios del Valle |          |       |             |                      |                                 |                   |                               |
|--|----------|-------|-------------|----------------------|---------------------------------|-------------------|-------------------------------|
| 16   | Lento    | -     | Concéntrico | irregular            | plana                           | verde con blanco  | <i>Aspergillus flavus</i>     |
| 17   | moderado | Mucho | Lanoso      | +                    | convexa                         | amarillo          | <i>Aspergillus terreus</i>    |
| 18   | +        | Poco  | concéntrico | +                    | +                               | negro             | <i>Aspergillus niger</i>      |
| 19   | +        | Mucho | Lanoso      | irregular más raíces | +                               | naranja           | estructura vegetativa         |
| 20   | rápido   | +     | concéntrico | -                    | +                               | rosado            | estructura vegetativa         |
| 21   | +        | +     | Otros       | -                    | plato Petri cubierto de micelio | blanco peludo     | estructura vegetativa         |
| 22   | lento    | Poco  | Algodonoso  | irregular más raíces | convexa                         | blanco con rosado | <i>Penicillium islandicum</i> |

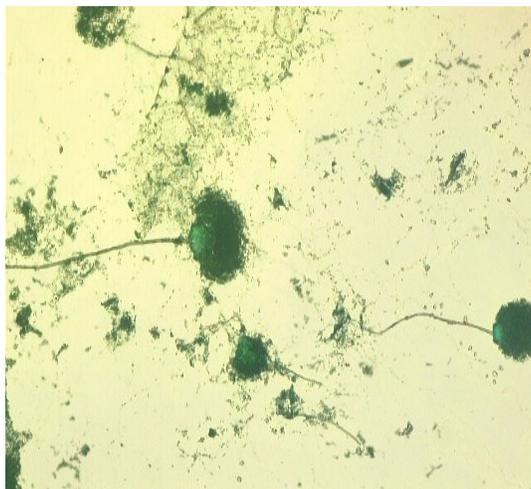
### **Microcultivo.**

De los 22 morfotipos obtenidos en el estudio, se obtuvieron 6 morfotipos para el primer sitio (CG), 9 para el segundo sitio (HC) y 7 para el último sitio (CC). De estos 22 morfotipos, se prepararon 88 microcultivos, dado a una réplica de 4 microcultivos por morfotipo, donde 48 montajes semipermanentes mostraron estructura vegetativa clara, en el resto de los montajes semipermanentes. Algunos no mostraban estructuras vegetativas y en otros era muy confuso la

observación ya que se presentaban hasta dos hongos diferentes. Observando las diferentes partes vegetativas (hifas, esporas, vesícula, estípote, etc.) se procedió a la identificar los hongos.

### Figura 9

Observación de la estructura vegetativa de *Aspergillus terreus* perteneciente a *Atelopus varius*.



## DISCUSIÓN

Para este estudio, el microhábitat predilecto fue el sustrato de hojarasca, cercano a cuerpos de agua permanente, tal como se esperaba, ya que es donde se encuentran las condiciones ambientales indispensables para el desarrollo de los anuros. En cambio, los autores (Romero y Males, 2019) reportaron que el sustrato de mayor preferencia fueron ramas de árboles. En cuanto a la abundancia de anuros, en ambos sitios se presenta una baja diversidad con 7 especies para el sitio (CG) y 10 para (HC). En comparación, el primero de estos es un bosque mejor conservado en cuanto a vegetación. Esto puede deberse al desplazo de especies hacia mayores altitudes en búsqueda de mejores condiciones ambientales. Este comportamiento puede estar influenciado por el cambio climático, ya que este trabajo se realizó en la parte baja (Sosa y Guerrel, 2013).

Los géneros de hongos más destacables para este estudio fueron *Aspergillus spp.* y *Penicillium spp.* El primero se caracteriza por la producción de hifas especializadas, denominadas conidióforos, sobre las que se encuentran las células conidiógenas que originan las esporas asexuales (Abarcas, 2000; Amaike y Keller, 2011;). El conidióforo es una estructura unicelular que presenta tres partes bien diferenciadas: la vesícula (extremo apical), el estipe (sección cilíndrica debajo de la vesícula) y célula pie (sección final, a veces separada por un septo, que une el conidióforo con el micelio). En *Aspergillus* sobre la vesícula se disponen las células conidiógenas, denominadas habitualmente fiálides. En muchas especies, entre la vesícula y las fiálides se encuentran otras células denominadas métulas. Las cabezas conidiales que sólo presentan fiálides se denominan uniseriadas, y las que presentan fiálides y métulas, biseriadas. Este género actualmente contiene más de 200 especies (Amaike y Keller, 2011; Abarcas, 2000).

Jácome (2019) afirma que *Penicillium* es un género que pertenece a los mohos de la familia Trichomaceae, el cual agrupa cientos de especies. El conidióforo se presenta en forma

de pincel y está unido al micelio mediante el estipe. Se caracterizan por formar conidios simples y ramificados originados a partir de células especializadas, las células conidiógenas llamadas fiálides. Poseen métulas que se desarrollan sobre los conidióforos formando ramificaciones y son las células de soporte de las fiálides (Benítez, 2003). Los hongos forman esporas casi cilíndricas con disposición en forma de rosario con conidióforos ramificados. Las colonias presentan rápido crecimiento, filamentosas, vellosas, lanosas o de textura algodonosa (Jácome, 2019).

Los hongos *Penicillium* identificados en esta investigación, puede llegar a ser oportunista y parásito potencial de anuros y otros vertebrados. Este se ha reportado como patógeno en la piel de *Aldabrachelys gigantea* y *Alligator mississippiensis*, así como también mutualista para *Dipodomys spectabilis*. Siendo un hongo ubicuo (Mendoza et al., 2012) afirma que la cantidad del género *Penicillium* encontrado en la piel de los anuros, sumado a la acción en conjunto con el sistema inmune del anuro para hongos patógenos, sumado además el efecto natural de la comunidad microbiana que se encuentra en la piel, podría estar desplazando las especies agresoras por competencia de espacio y/o recursos. Como ya se ha reportado en algunas especies de anuros.

A pesar de que todos los individuos muestreados, no presentaron señales de infección o daño, hay que tenerlo en cuenta y así realizar evaluación específica relacionada con la actividad patógena, que pueden llegar a presentar estos hongos saprófitos, con el anuro como hospedero, por lo que debe prestarse especial atención a regiones en donde la actividad antropogénica tiene un fuerte impacto sobre el paisaje convertirse en vectores de dispersión (Mendoza et al., 2012).

Para CG, de los 9 morfotipos estudiados solo se pudieron identificar *A. ochraceus*, *A. nidulans*, *A. flavus* y *P. viridicatum*. Para HC, de los 6 morfotipos se identificaron *A. flavus*, *P. viridicatum* y *Batrachochytrium sp.* Para el último sitio (CC), de los 7 morfotipos se identificaron *A. flavus*, *A. terreus*, *A. niger* y *P. islandicum*. Todas las especies mencionadas son saprofitas, aunque algunas pueden llegar a ser parasitarias de animales, principalmente *B. dendrobatidis* causante del declive de las poblaciones de anuros a nivel mundial (García et al., 2019; Mendoza et al., 2012).

El Manual Acuático de la OIA del 2019 señala que el hongo *B. dendrobatidis* es susceptible a la muerte mediante la exposición a etanol al 70%. Este podría ser la causa de solo encontrar la presencia del *Batrachochytrium sp* solo en 2 de las 100 muestras en estado silvestre. Otra razón por la cual no encontrar el hongo se puede deber a la utilización del agar (PDA). Estudios realizados han demostrado que ciertos anuros infectados con *B. dendrobatidis* tiene la capacidad de elevar su temperatura, eliminando el hongo en periodos cortos de tiempo. Estudios demuestran que los anuros pertenecientes a las familias Hylidae y Ramidae generan péptidos antimicrobianos como respuesta innata de defensa contra la enfermedad, permitiendo aumentar sus probabilidades de supervivencia. La relación simbiótica de anuros y algunas bacterias principalmente *Bacillus cereus* inhiben el crecimiento de *B. dendrobatidis* (Ochoa, 2011).

## CONCLUSIÓN

Se aislaron los géneros *Aspergillus*, *Penicillium* y *Batrachochytrium*, a partir de las muestras tomadas del hisopado dérmico de los anuros, *Aspergillus flavus* fue el único hongo presente en los tres sitios de estudio. En cuanto a la abundancia de fauna, se registró un total de 150 individuos, pertenecientes a 8 familias y 12 géneros, siendo las familias Strabomantidae y Dendrobatidae las más representativas, la especie más abundante fue *Silverstoneia flotator*. La familia Hylidae fue la única que presentó registro en los tres sitios de muestreo con *Agalychnis*

*callidryas* para el sitio (CG), *A. callidryas* y *Smilisca sila* para el sitio (HC) y *Anothea spinosa* en el (CC). Todos los hongos encontrados son saprofitos, pero en el género *Penicillium* algunos pueden llegar a ser oportunistas y parásitos potenciales de anuros.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarca, I. (2000). Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. *Iberoam micol*, 17. S80-S83.
- Aguillón-Gutiérrez, D. R. (2018). Anomalías macroscópicas en larvas de anfibios anuros. *Revista Latinoamericana de Herpetología*, 1(1), 8-21.
- Amaike, S., y Keller, N. (2011). *Aspergillus flavus*. *Phytopathol*, 49. 108-109.
- Barrera, G. (2004). Enfermedades infecciosas en poblaciones de anfibios. *Biodiversitas* (56), 1-6.
- Benites, E. (2003). Estudio de especies micotoxígenas del género *Penicillium*: *Penicillium verrucosum* Dierckx (Tesis doctoral). Universidad Autónoma de Barcelona.
- Bravo, J., & Moreno, G. (2020). Quitridiomycosis en anfibios. *Boletín de la Sociedad Micológica de Madrid*, 44, 27-49.
- Castro, M. (2010). Detección de *Batrachochytrium dendrobatidis* por medio de técnicas moleculares y microbiológicas en ensamblajes de anfibios en las localidades de Santa María (Boyacá), Samaná (Caldas) y Guanentá (Boyacá)
- Galán, P., & Dopereiro, D. (2017). Infección por dermocistidios (Dermocystida) en una población de *Lissotriton helveticus* de A Limia (Ourense, Galicia). *Boletín de la Asociación Herpetológica Española*, 28(1), 74-77.
- García Fera, L. M., Brousset, D. M., & Cervantes Olivares, R. A. (2019). Factores abióticos y bióticos determinantes para la presencia de *Atrachochytrium dendrobatidis* en anfibios mexicanos. *Acta zoológica mexicana*, 35.
- Herrera, M., y Hernández, M. (2019). Identificación de cepas de *Saprolegnia* spp. a partir de tilapia del Nilo (*Oreochromis niloticus*) para evaluación de su efecto en individuos con diferentes estilos de afrontamientos (Tesis de pregrado). Universidad de Panamá, Coclé, Panamá.
- Jácome, k. (2019). Caracterización analítica de exopolisacáridos sintetizados por tres tipos de *Penicillium* spp. aislados del suelo antártico (Tesis de pregrado). Universidad de Guayaquil. Ecuador.
- Largen, D. (1989). How to identify mushrooms to genus I: macroscopic features. Illustrations by Sharon Hadley, Daniel Stunts.

- Larrea, M., y Jazmím, M (2014). Evaluación del efecto antimicótico de bacterias aisladas de la piel de sapos *Hyloxalus delatorreae*, *Hyloscirtus larinopygion*, *Pristimantis pyrrhomerus* y *Pristimantis* sp. De la localidad de morán (provincia del carchi) frente al hongo patógeno *Batrachochytrium dendrobatidis* (tesis de maestría). Universidad católica del Ecuador, Quito.
- Laufer, G., Gobel, N., Alcántara, I., Kacevas, N., & Cortizas, S. (2021). Invasiones biológicas y pérdida de hábitat: efectos en las comunidades de anfibios.
- Mendoza, A., Rojas, L., Sarria, M., y Giraldo, A. (2012). Hongos dérmico-saprófitos de *Dendropsophus columbianus* (Hylidae) en Caloto, Colombia. *Boletín Científico Museo de Historia Natural*, 16 (1): 33-40.
- Moller, Ch. (1995). Manual Biolead Project. Switzerland. 24 – 28.
- Ochoa, L. (2011). Detección de *Batrachochytrium dendrobatidis* en el ensamblaje de anfibios en la región Andina Central, Oriental, Orinoquia y Amazonia de Colombia y el estudio in-vitro de la acción antagónica de la bacteria *Janthinobacterium lividum* frente a la cepa colombiana de *batrachochytrium dendrobatidis* (tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Quito Guevara, D. O. (2018). Estudio anatómico-patológico de posibles causas de muerte en anfibios del año 2015 de la especie *Atelopus spp aff spumarius* mediante necropsia e histopatología en el centro de conservación “la balsa de los sapos” (Bachelor's thesis, Quito: Universidad de las Américas, 2018).
- Saettler, A., Schaad, N., y Roth, D. (1989). Detection of bacteria in seed and Other Planting Material. The American Phytopathological Society.
- Sosa, A., y Guerrel, J. (2013). Riqueza, diversidad y abundancia de anfibios en el bosque nuboso de Cerro Azul, sector Alto Chagres, Parque Nacional Chagres, Panamá. *Tecnociencia*, 15(1), 58-67.