

CARACTERIZACIÓN DE HONGOS ENDÓFITOS EN PASTOS PARA RUMIANTES, EN EL CORREGIMIENTO DE SANTA ANA, PROVINCIA DE LOS SANTOS.

CHARACTERIZATION OF ENDOPHYTIC FUNGI IN PASTURES FOR RUMINANTS, IN THE CORREGIMIENTO OF SANTA ANA, PROVINCE OF LOS SANTOS.

Martha de Von Chong¹; Rito Herrera²; Mario Cortez³.

¹Universidad de Panamá. Centro Regional Universitario de Coclé. Panamá. martha.chaves@up.ac.pa
<https://orcid.org/0000-0002-1087-4196>

²Instituto de Innovación Agropecuaria de Panamá. Panamá. rito.herrera@up.ac.pa <https://orcid.org/0000-0003-2509-0391>

³Universidad de Panamá. Centro Regional Universitario de Azuero. Panamá. mcortez@gmail.com
<https://orcid.org/0000-0004-1236-4022>

Recepción: 1 de diciembre de 2022

Aprobación: 29 de marzo de 2023

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue aislar e identificar hongos endófitos en pastos para rumiantes, procedentes de las fincas Badi, Nigüito y El Aromo, Corregimiento de Santa Ana, Provincia de los Santos. La caracterización se realizó empleando el método de aislamiento de hongos endófitos en pastos sanos, arrojando como resultado que la finca con mayor número de muestras positivas de hongos endófitos fue El Aromo, con un 37.9%, mientras que las fincas Badi y Nigüito registraron un 30.3% y un 31.8% respectivamente. Entre los géneros de hongos endófitos encontrados podemos destacar: *Discosporium sp.*, *Toxosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.*, *Nigrospora sp.*, *Curvularia sp.*, *Colletotrichum sp.*, *Bipolaris sp.* Los hongos endófitos con mayor ocurrencia fueron: *Alternaria sp.* con un 39%, *Curvularia sp.* con un 21% y *Nigrospora sp.* con un 16%, ubicándose mayormente en el ápice de la hoja con un 54%, mientras que en el medio y en la base de la hoja se encontró un 26% y un 20% de hongos endófitos, respectivamente. La identificación se basó en los genes ITS 1, 2 y 4 (genes ribosomales 16 S).

Palabras clave: endófitos, ápice, pastos, *Alternaria sp.*, *Curvularia sp.*, *Nigrospora sp.*

ABSTRACT

The objective of this study was to isolate and identify endophytic fungi in pastures for ruminants, from the Badi, Nigüito and El Aromo farms, Corregimiento de Santa Ana, Los Santos Province. The characterization was carried out using the method of isolation of endophytic fungi in healthy pastures, yielding as a result that the farm with the highest number of positive samples of endophytic fungi was El Aromo, with 37.9%, while the Badi and Nigüito farms registered 30.3. % and 31.8% respectively. Among the genera of endophytic fungi found, we can highlight: *Discosporium sp.*, *Toxosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.*, *Nigrospora sp.*, *Curvularia sp.*, *Colletotrichum sp.*, *Bipolaris sp.* The endophytic fungi with the highest occurrence were: *Alternaria sp* with 39%, *Curvularia sp* with 21% and *Nigrospora sp* with 16%, located mostly at the apex of the leaf with 54%, while in the middle and on the leaf, base found 26% and 20% endophytic fungi, respectively. Identification was based on ITS genes 1, 2 and 4 (16 S ribosomal genes).

Keywords: endophytes, apex, grasses, *Alternaria sp.*, *Curvularia sp.*, *Nigrospora sp.*

INTRODUCCIÓN

Los hongos endófitos tienen una relativa importancia en los pastos según lo propuesto por Abello y Kelemu (2006), ya que algunos estudios científicos han demostrado que su presencia, dentro de los tejidos, trae una serie de beneficios para los diferentes pastos. Desde el punto de vista nutricional, estructural y de defensa, entre los beneficios que los hongos endófitos proporcionan a los pastos tenemos: gran potencial adaptativo a las especies vegetales hospederas frente a condiciones adversas que generen estrés, ya sean de tipo abiótico (salinidad, acidez) o biótico (ataque de plagas). Dicha simbiosis otorga mayor habilidad competitiva a los pastos y permite una plena expresión de su potencial genético traducido en altas tasas de germinación, mejor densidad, más biomasa en los tejidos y mayor producción de semilla. Como patógenos, los hongos endófitos afectan a muchos animales que se alimentan de las plantas en las que dichos hongos habitan, en nuestro caso los pastos. Los hongos endófitos causan en los rumiantes diversas enfermedades como la festucosis e intoxicaciones, ya que le gran mayoría de los hongos liberan ciertas toxinas, conocidas como micotoxinas, que al ser consumidas causan graves síntomas, que muchas veces terminan con

la muerte del animal que se contagió (Gundel, 2008). La ganadería, de casi todas las naciones latinoamericanas, fue iniciada cuando los colonizadores trajeron bovinos de países templados, pero en Panamá se comenzó a introducir a los rumiantes para los años de 1600, ya que la carne y leche no eran de buen negocio, dado que los rigores del clima impusieron serias limitaciones en el desarrollo de la agricultura y de la ganadería, determinando así los bajos niveles de vida de sus poblaciones (Alves, 1986). Según Gispert (2008), las primeras luchas para introducir y adaptar las razas europeas mejoradas fueron fallidas, ya que en la faja intertropical; las condiciones adversas desfavorecían el crecimiento del ganado provocando un decaimiento y después de algunas generaciones ya no presentaban el porte de los que lo precedieron, la producción de carne y leche se reducían entre otras consecuencias esto llevo a que agricultores tomarán medidas decisivas para el mejoramiento de las razas de bovinos, adaptándose a mejores técnicas de crianza y alimentación.

Entre los tipos de alimentos consumidos por los rumiantes tenemos los pastos o forrajes tropicales, los cuales pueden ser ingeridos frescos o procesados; estos pastos son ricos en carbohidratos, proteína y grasa, las cuales son esenciales para los ejemplares productores de leche y carne (Clay *et al.*, 1991). En el verano o estación seca, la hierba escasea y es pobre en nutrientes, por ello los ganaderos han recurrido a métodos para la preparación de los pastos, para su posterior consumo en dicha estación (López *et al.*, 2009).

La importancia de los hongos radica en su obtención de alimento y su utilización para diversos fines, como saprófitos destruyen plantas complejas y restos de animales, degradándolos a formas químicas simples que pasan a formar parte del suelo y finalmente, son absorbidas por otras generaciones de plantas. Por ello resulta de capital importancia la caracterización de la microbiota asociada a los pastos usados en ganadería, pues permitirá tener una mejor comprensión de las complejas relaciones biológicas (tróficas) entre hongo, planta y rumiante, lo que se traducirá en un mejor aprovechamiento del recurso biótico (biodiversidad de hongos).

Aunque la simbiosis es facultativa para las plantas (es decir, que las plantas pueden vivir sin el endófito), la asociación gramínea-endófito es considerada de tipo simbiótico-mutualista). Por un lado, los endófitos se benefician de la asociación al obtener nutrición y dispersión, pero su supervivencia y multiplicación depende fuertemente de la aptitud ecológica de la gramínea hospedante Por el otro, entre los beneficios que obtienen las plantas colonizadas se

pueden mencionar mayores tasas de crecimiento, tolerancia a heladas y sequías, y resistencia al estrés por déficit de nitrógeno y fósforo (Petigrosso *et al.*, 2019).

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

Para realizar este estudio se tomaron en cuenta las siguientes variables: independiente (muestras de pastos colectadas) y la dependiente (hongos endófitos aislados de las

Localización Geográfica

Esta investigación se realizó en tres fincas seleccionadas en el corregimiento de Santa Ana, provincia de Los Santos. Las áreas de estudios comprendieron las fincas ganaderas: Badi, Nigüito y El Aromo, cada una con 12 hectáreas (ha) y cuatro tipos diferentes de pastos (*Brachiaria sp.*, *Mulato sp.*, *Cynodon sp.*, y *Digitaria sp.*).

muestras de pastos colectadas). Se evaluaron la sección del ápice, medio y base, de 90 muestras de pastos, tomadas de las fincas Badi, Nigüito y El Aromo, Corregimiento de Santa Ana, Provincia de Los Santos, en los meses de enero, febrero y marzo del año 2020. El muestreo del pasto se realizó en diferentes puntos elegidos al azar, en cada una de las fincas seleccionadas para la realización de este estudio.

La recolección de la muestra se realizó con una pinza, cinco muestras de pastos en cada una de las tres fincas, con una distancia que oscila entre los 2 y 3 metros entre una muestra y otra. Luego, cada una de estas muestras de pastos se colocaron en bolsas plásticas estériles con sus datos generales tales como: nombre de la finca, semana de muestreo y número de muestra, para su posterior análisis microbiológico en un lapso no mayor de 2 a 4 horas.

Purificación de las muestras.

Las muestras se colocaron en un vaso químico, el cual se lavó por 1 minuto con agua, para remover la suciedad que se encontraba en la parte externa de la hoja. Después de lavar cada una de las muestras por un minuto bajo el grifo, se procedió a la fase de remoción de hongos no endófitos de la siguiente manera:

- Se dividió cada pasto en tres secciones ápice, centro y base.
- Después para cada sección se realizó el siguiente proceso, para la remoción de los hongos no endófitos.

Alcohol al 70% por 1 minuto.

Cloro al 10% por 3 minutos.

Alcohol al 70% por 30 segundos.

Alcohol al 40% por 30 segundos.

Agua destilada por 3 minutos (este último paso se realiza para eliminar residuos de alcohol que puedan impedir el crecimiento del hongo).

Aislamiento de hongos endófitos.

Una vez removidos los posibles hongos no endofíticos, se procedió a secar cada una de las secciones con papel toalla estéril, para sembrar cada una de las secciones en un plato Petri estéril con agar papa dextrosa (P.D.A.), el cual luego se colocó en la incubadora a 25°C, por 48 ó 72 horas si es necesario, después de las 48 horas se observó en el estereoscopio para confirmar el crecimiento del hongo (desarrollo micelial)

Separación del medio de cultivo.

Las secciones (ápice, centro y base) que presentaron crecimiento, se separaron del medio para evitar la contaminación entre los mismos, luego de este proceso se realizaron los microcultivos, que consisten en cortar una sección de agar en donde el crecimiento del hongo sea abundante y ponerlo sobre un portaobjetos, el cual tiene un trozo de agar papa dextrosa de más o menos 2 cm de largo y ancho, a los cuales por encima se les coloca un cubreobjetos. El objetivo de colocar un trozo de agar para dextrosa estéril es que el hongo siga alimentándose, para que se fije a las paredes del cubreobjetos. Luego este microcultivo es puesto dentro de un plato Petri estéril, para incubarse a 25°C por 48 horas.

Montaje de placas.

Luego de 48 horas, el cubreobjetos es removido del microcultivo, con sumo cuidado para que el hongo se mantenga unido al mismo. Este cubreobjetos se coloca sobre un portaobjeto el cual contiene una gota de azul de lactofenol al 1%, el cual permite que el hongo adquiera una coloración de azul-violeta, para facilitar la identificación de estructuras reproductivas.

Identificación con clave taxonómica y Molecular

Luego de haber realizado el mismo procedimiento en cada una de las secciones de cada pasto de las tres fincas, por sus semanas, se procedió a la fase de identificación, la cual se basó en su identificación por medio de claves taxonómicas para establecer las morfoespecies. Las cepas fúngicas con características macroscópicas similares se agruparon en morfotipos para su identificación taxonómica, se empleó la técnica de microcultivo en cámara húmeda

incubando a 28 °C, alternando 16 h de luz y 8 h de oscuridad, para favorecer el crecimiento de estructuras reproductivas características de los hongos. Se observaron las estructuras microscópicas y se clasificaron por géneros. Posteriormente, para su identificación molecular se amplificaron por PCR convencional los genes ribosomales 16S (ITS 1, 2 y 4) y se secuenciaron con el fin de determinar la especie de hongo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 y la figura 1 se observa el porcentaje de muestras positivas para Hongos Endófitos en pastos, en las fincas Badi, Nigüito y El Aromo, utilizando como base la hoja entera. En la finca El Aromo fue la que arrojó el mayor número de muestras positivas para hongos endófitos, con un 83.3%, seguido de las fincas Badi y Nigüito, con un 66.7% y un 70% respectivamente. El alto porcentaje de muestras positivas de hongos endófitos en las tres fincas podría deberse a la sobreexposición de nutrientes, debido a que los propietarios de las fincas utilizan fertilizantes como: el abono completo 12-24-12, que se compone de (12 Kg de Nitrógeno, 24 Kg de Fósforo y 12 Kg de potasio, en 100 kilo de abono), por lo cual el pasto presenta mayores nutrientes y condiciones ideales para el desarrollo de hongos endófitos según lo propone Gundel (2008).

Tabla 1.

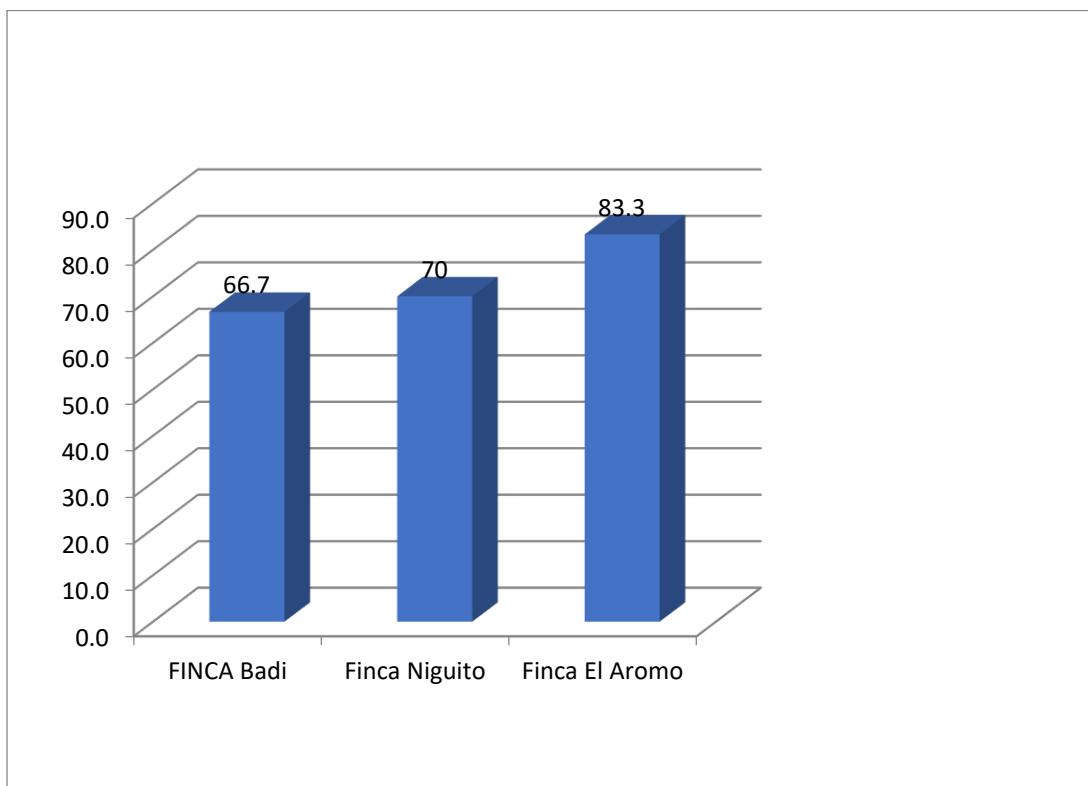
Muestras positivas de hongos endófitos en pastos, considerando como referencia la hoja entera.

Semanas	Finca Badi (66.7%)	Finca Nigüito (70%)	Finca El Aromo (83.3%)
1	5	5	5
2	4	4	5
3	2	4	5
4	4	4	4
5	3	2	2
6	2	2	4
Total	20	21	25

Para esta tabla se tomaron como límites del 0 al 5, lo que representa el número de muestras tomadas en las fincas, durante las seis semanas.

Figura 1.

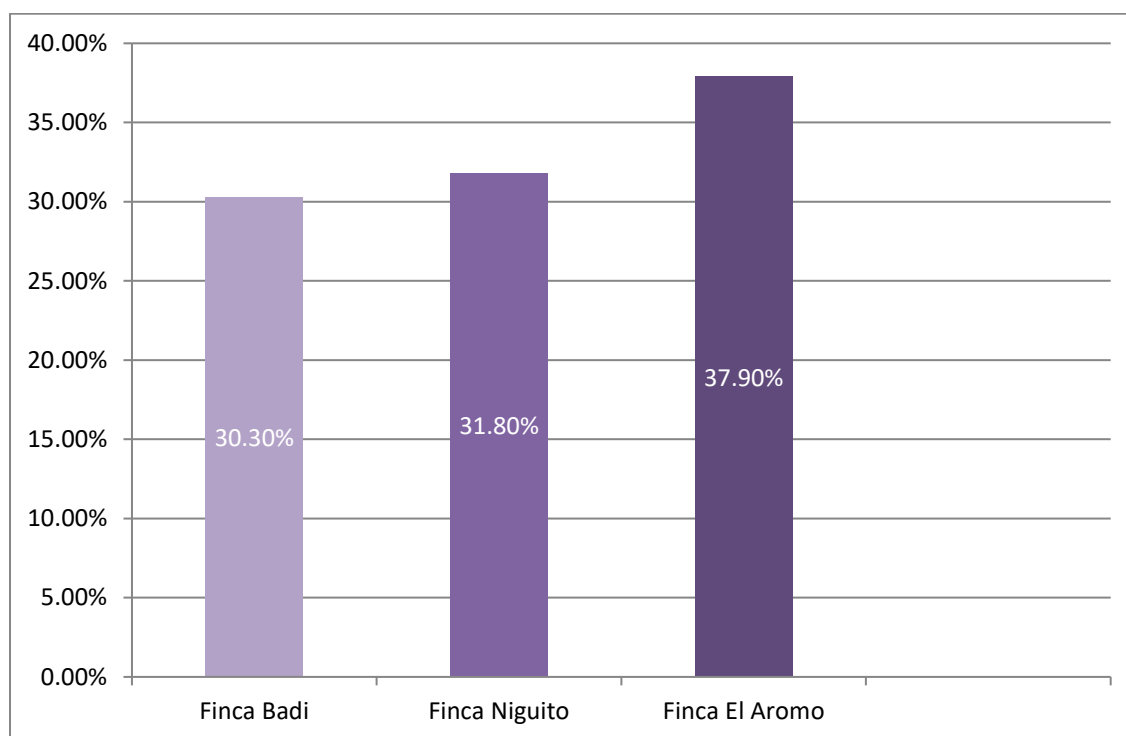
Muestras positivas de Hongos Endófitos, en las Fincas Badi, Nigüito y EL Aromo, durante las seis semanas de muestreo. Eje X (fincas evaluadas), eje Y (número de muestras positivas).



En la figura 2 sólo se emplean las muestras positivas de hongos endófitos obtenidas en las tres fincas, tomando como referencia la hoja entera. Se puede observar que la finca con mayor número de muestras positivas en hongos endófitos es la finca El Aromo, dado que en esta finca además del abono completo 12-24-12, utilizan otros tipos de compuestos nutricionales tales como la urea al 46%.

Figura 2.

Presencia de muestras positivas para hongos endófitos, en las fincas Badi, Nigüito y El Aromo, Corregimiento de Santa Ana, Provincia de Los Santos, durante los meses de enero y febrero. Eje X (fincas evaluadas), eje Y (porcentaje de presencia de hongos endófitos).



En la tabla 2 y la figura 3, se puede observar que la sección del pasto en la finca Badi con mayor número de muestras positivas es el ápice, pues es la parte de la hoja que recibe mayores beneficios como, energía, alimentos y sales minerales, lo que facilita la absorción de nutrientes por parte de los hongos.

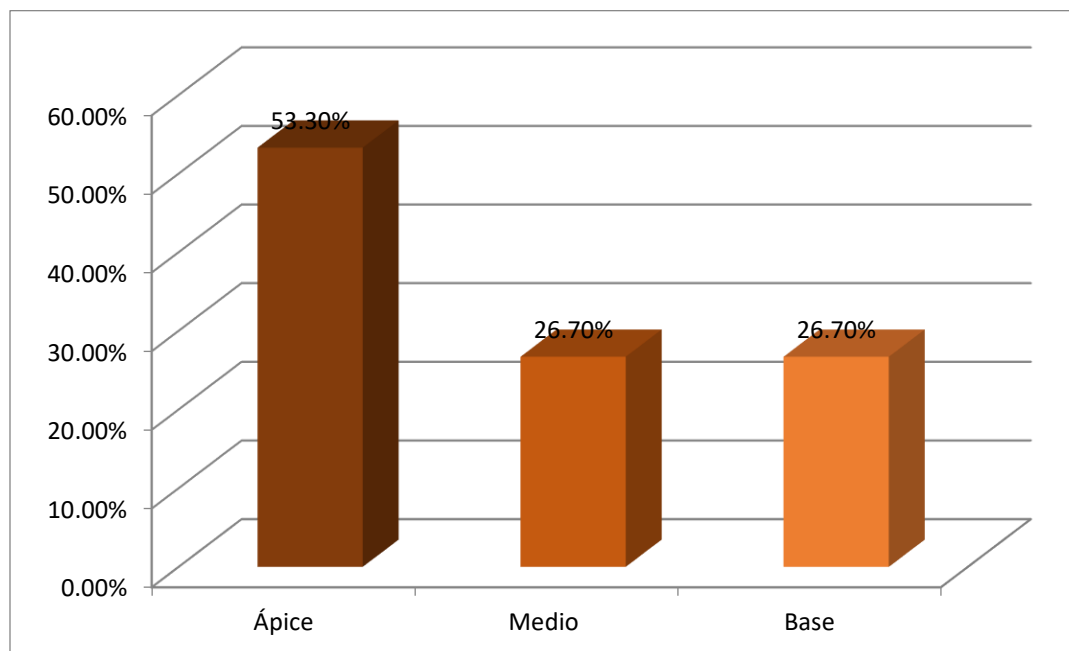
Tabla 2.

Muestras positivas de hongos endófitos en las diferentes secciones de los pastos muestreados, en la finca Badi, Corregimiento de Santa Ana, Provincia de Los Santos, durante los meses de enero y febrero.

Semanas	Ápice (53.3%)	Medio (26.7%)	Base (26.7%)
1	4	2	2
2	2	3	2
3	2	1	1
4	4	2	0
5	2	0	3
6	2	0	0
Total	16	8	8

Figura 3.

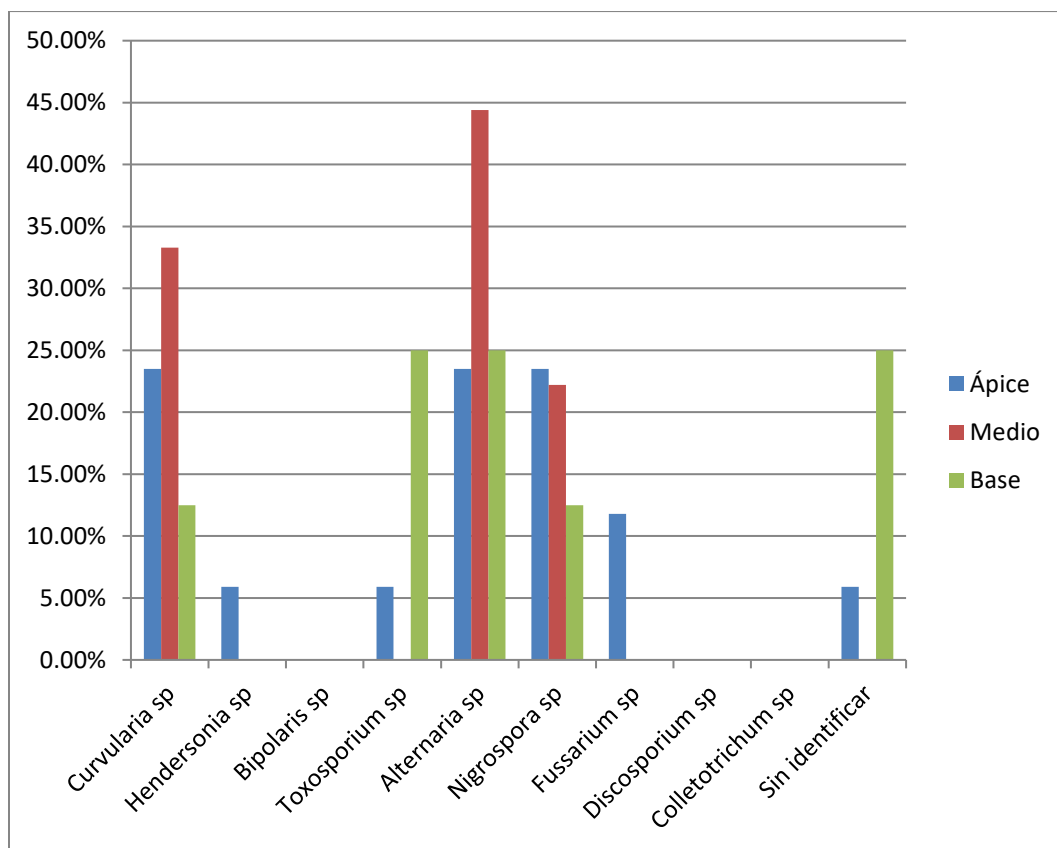
Muestras positivas de hongos endófitos en el ápice, medio y base de los pastos muestreados, en la finca Badi, Corregimiento de Santa Ana, Provincia de Los Santos, durante los meses de enero y febrero. Eje X (partes de la hoja estudiadas), eje Y (porcentaje de presencia de hongos endófitos).



En la figura 4 podemos observar la ocurrencia de hongos Endófitos, en las tres secciones del pasto, durante las seis semanas de muestreo, en donde los géneros con mayor ocurrencia fueron *Alternaria sp.*, *Curvularia sp.* y *Nigrospora sp.* Andrews (1992) sostiene que la gran cantidad de esporas de *Alternaria sp.* se debe, a que este se reproduce con mayor frecuencia en lugares en donde la temperatura varía desde los 15° a los 33°C y a que sus esporas son comunes encontrarlas en el ambiente.

Figura 4.

Prevalencia de géneros de hongos endófitos (eje X), en las diferentes secciones de los pastos (eje Y) colectados en la Finca Badi, Corregimiento de Santa Ana, Provincia de Los Santos, durante los meses de enero y febrero.



En la tabla 3 y la figura 5, se puede observar que de las tres secciones en las que se dividió el pasto, la que presentó un mayor número de muestras positivas, es el ápice, corroborando lo anterior expuesto en la figura 3.

En la figura 6 podemos observar la ocurrencia de hongos Endófitos, en las tres secciones del pasto, de la finca Nigüito, durante las seis semanas de muestreo, en donde el género con mayor ocurrencia es *Alternaria sp.*, pues según Andrews (1992), sostiene que este hongo se adapta muy bien a climas con pocas precipitaciones pluviales y sus esporas se encuentran comúnmente en el ambiente, sin embargo la poca ocurrencia de hongos como *bipolaris sp* se debe a que estos hongos son comunes de parasitar otros tipos de plantas, diferentes al pasto.

Tabla 3. Muestras positivas de Hongos Endófitos en sección del ápice, medio y base de los pastos muestreados en la finca Nigüito, Corregimiento de Santa Ana, Provincia de Los Santos, durante los meses de enero y febrero.

Semanas	Ápice (63.3%)	Medio (13.3%)	Base (10%)
1	5	1	2
2	3	2	0
3	4	0	0
4	3	1	1
5	2	0	0
6	2	0	0
Total	19	4	3

Figura 5.

Muestras positivas de hongos endófitos en las diferentes secciones de los pastos muestreados, en la Finca Niguito, Corregimiento de Santa Ana, Provincia de Los Santos, durante los meses de enero y febrero. Eje X (partes de la hoja estudiadas), eje Y (porcentaje de presencia de hongos endófitos).

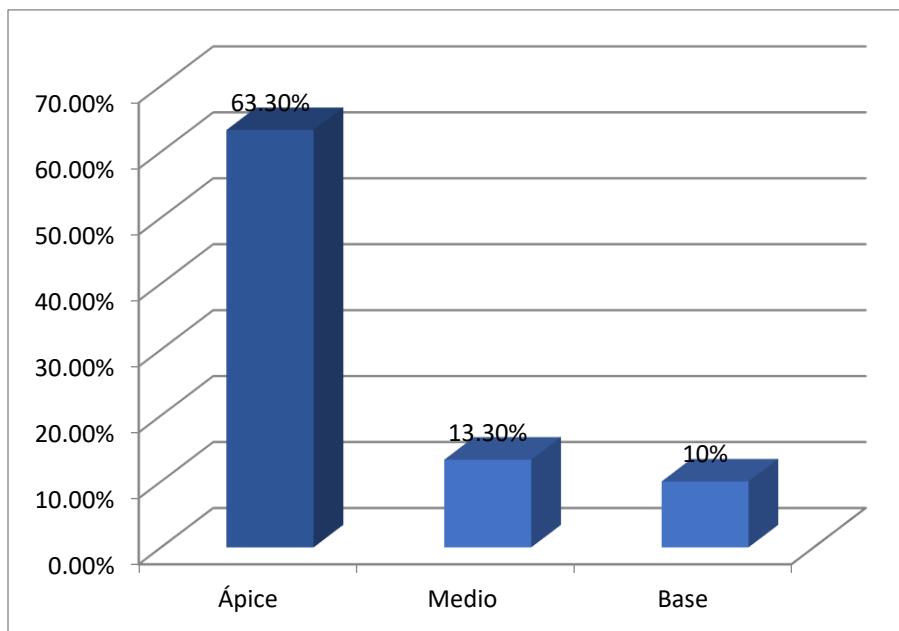
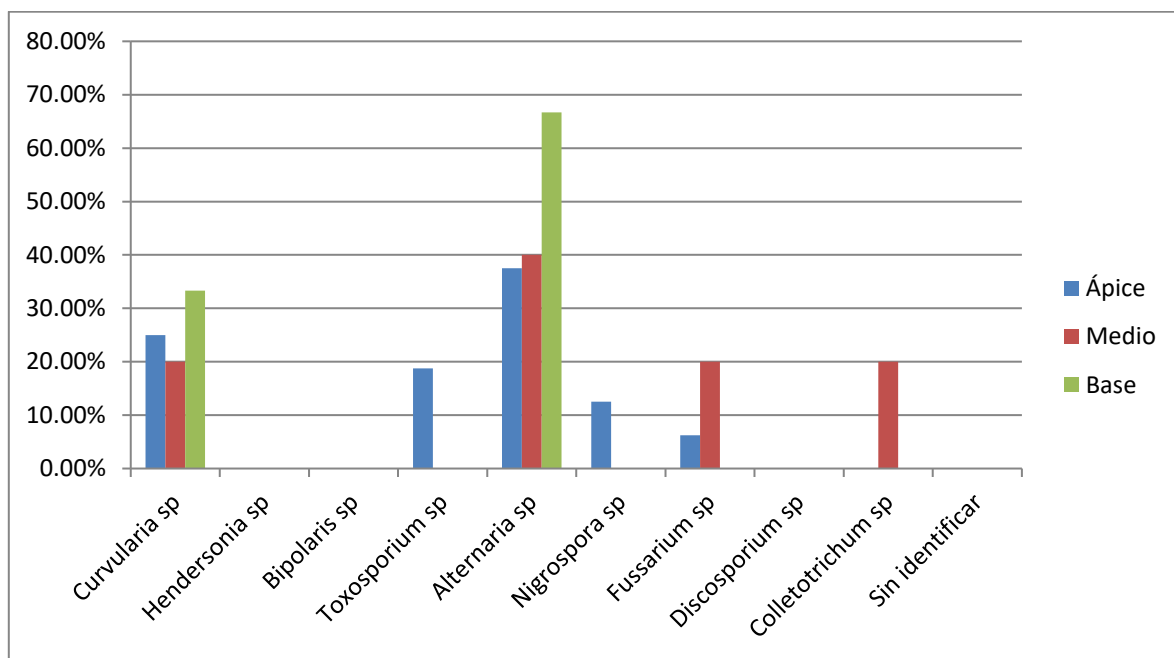


Figura 6.

Ocurrencia de géneros de hongos endófitos (eje X), en las diferentes secciones de los pastos (eje Y) colectados en la finca Niguito, corregimiento de Santa Ana, provincia de Los Santos, durante los meses de enero y febrero.



En la Tabla 4 y la figura 7 se puede observar que la sección del pasto, con un mayor número de muestras positivas para hongos endófitos, nuevamente es el ápice, lo que corrobora nuestra hipótesis de que la gran cantidad de estos se debe a que es la sección del pasto, que mayores nutrientes y beneficios que recibe, proporcionándole a los hongos mayor absorción de nutrientes y energía.

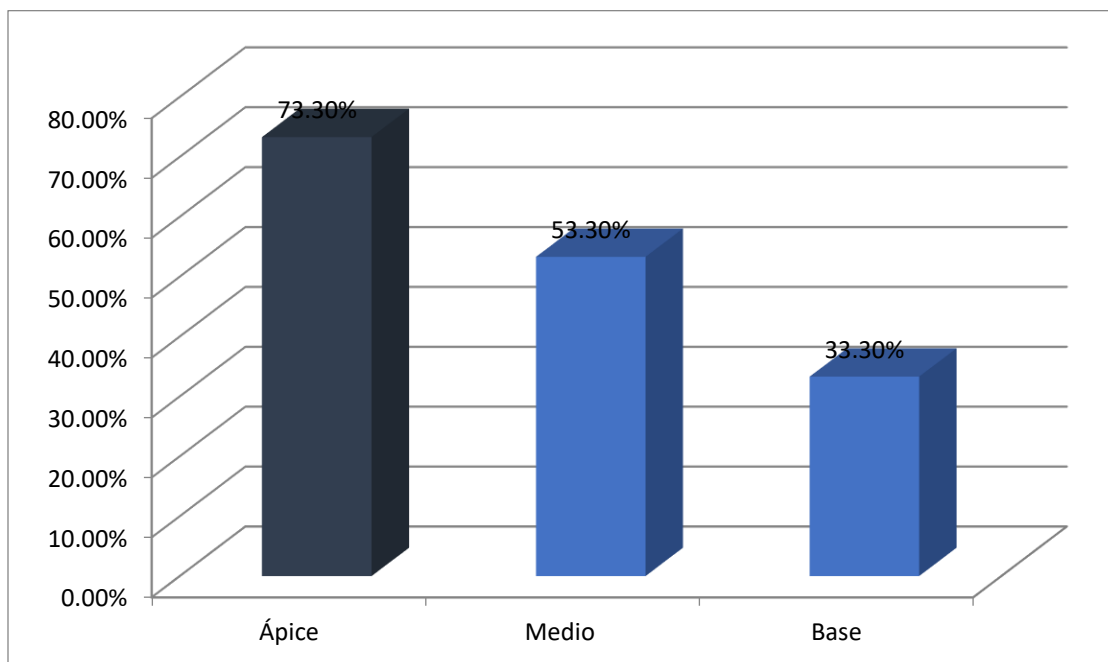
Tabla 4.

Muestras positivas en las diferentes secciones de los pastos muestreados, en la Finca El Aromo, Corregimiento de Santa Ana, Provincia de Los Santos, durante los meses de enero y febrero.

Semanas	Ápice (73.3%)	Medio (53.3%)	Base (33.3%)
1	5	3	2
2	5	4	3
3	5	4	3
4	2	2	0
5	2	1	0
6	3	2	2
Total	22	16	10

Figura 7.

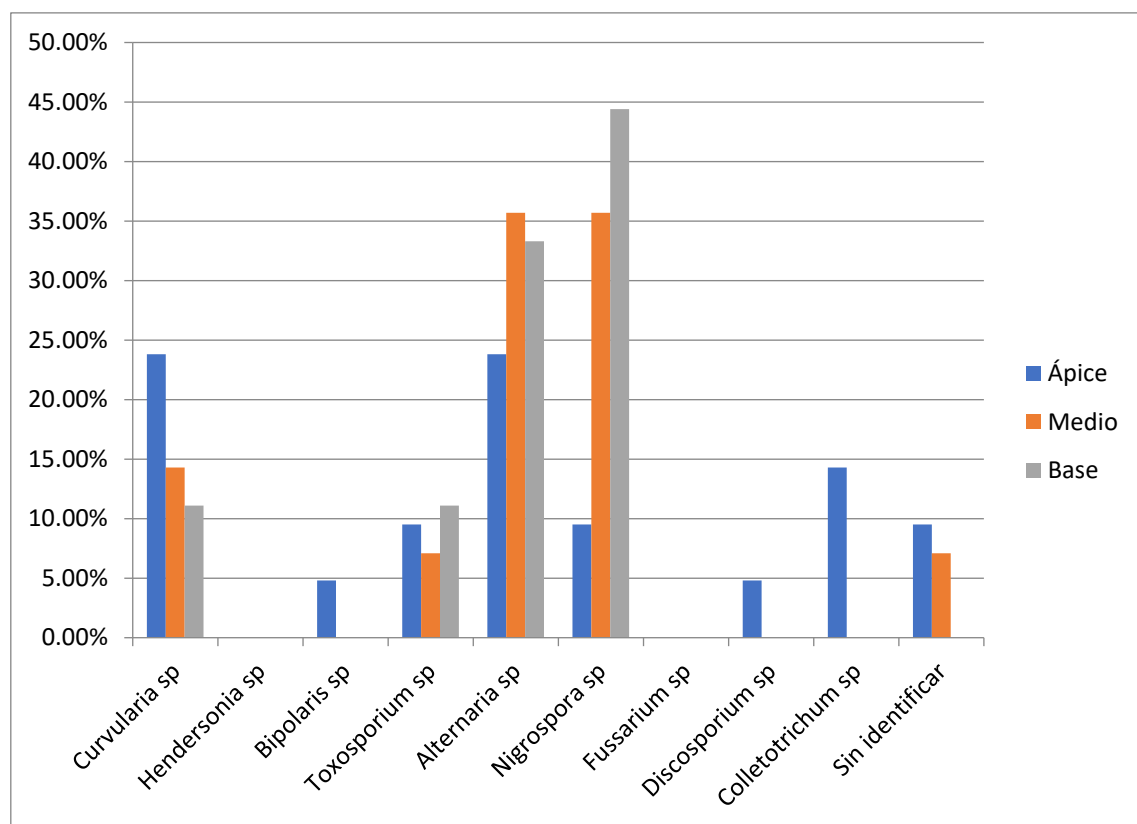
Muestras positivas en las diferentes secciones de los pastos muestreados, en la finca El Aromo, Corregimiento de Santa Ana, Provincia de Los Santos, durante los meses de enero y febrero. Eje X (partes de la hoja estudiadas), eje Y (porcentaje de presencia de hongos endófitos)



En la figura 8 podemos observar la ocurrencia de hongos Endófitos, en las tres secciones del pasto ápice, medio y base, durante las seis semanas de muestreo, en donde los géneros con mayor ocurrencia fueron *Nigrospora sp.* y *Alternaria sp.*, pero en la sección de la base la que mayor ocurrencia presentó fue *Nigrospora sp.*, ya que Arias y Piñeros (2008) sostiene que este hongo es típico de encontrarse en suelos tropicales y en diferentes tipos de pastos.

Figura 8.

Prevalencia de hongos endófitos (eje X) en las diferentes secciones de los pastos colectados (eje Y), en la finca El Aromo, Corregimiento de Santa Ana, Provincia de Los Santos, durante los meses de enero y febrero.



En la tabla 5 se muestran los géneros de hongos endófitos aislados de las tres fincas estudiadas, durante seis semanas, en donde la sección que más géneros presentó fue la sección del ápice, con 10 géneros.

Tabla 5.

Géneros de Hongos Endófitos aislados e identificados, en las Fincas Badi, Nigüito y El Aromo, Corregimiento de Santa Ana, Provincia de Los Santos, durante los meses de enero y febrero.

Ápice	Medio	Base
<i>Curvularia sp.</i>	<i>Curvularia sp.</i>	<i>Curvularia sp.</i>
<i>Hendersonia sp.</i>	-----	-----
<i>Nigrospora sp.</i>	<i>Nigrospora sp.</i>	<i>Nigrospora sp.</i>
<i>Toxosporium sp.</i>	<i>Toxosporium sp.</i>	<i>Toxosporium sp.</i>
<i>Alternaria sp.</i>	<i>Alternaria sp.</i>	<i>Alternaria sp.</i>
<i>Discosporium sp.</i>	-----	-----
<i>Colletotrichum sp.</i>	<i>Colletotrichum sp.</i>	-----
<i>Bipolaris sp.</i>	-----	-----
<i>Fusarium sp.</i>	<i>Fusarium sp.</i>	-----
Sin identificar	Sin identificar	Sin identificar

En la tabla 6 cuadro se muestra la prevalencia hongos endófitos aislados en las secciones del ápice, medio y base, durante las seis semanas de muestreo, en las fincas Badi, Nigüito y El Aromo, en donde se observa que el género de hongo con mayor frecuencia en las tres secciones fue *Alternaria sp.*, ya que éste se adapta mejor a las condiciones tanto nutricionales como de temperatura en los países tropicales. Mientras que los géneros con menor ocurrencia encontrados en las tres secciones son *Hendersonia sp.*, *Discosporium sp.* y *Bipolaris sp.*

Los géneros *Alternaria sp.*, *Curvularia sp.* y *Nigrospora sp.* son hongos micorrizicos lo cual lleva a proporcionarle beneficios a los pastos entre los que se encuentran: mejor absorción de nutrientes, mayor producción de semillas entre otras, según lo sostiene Abello (2006).

Tabla 6.

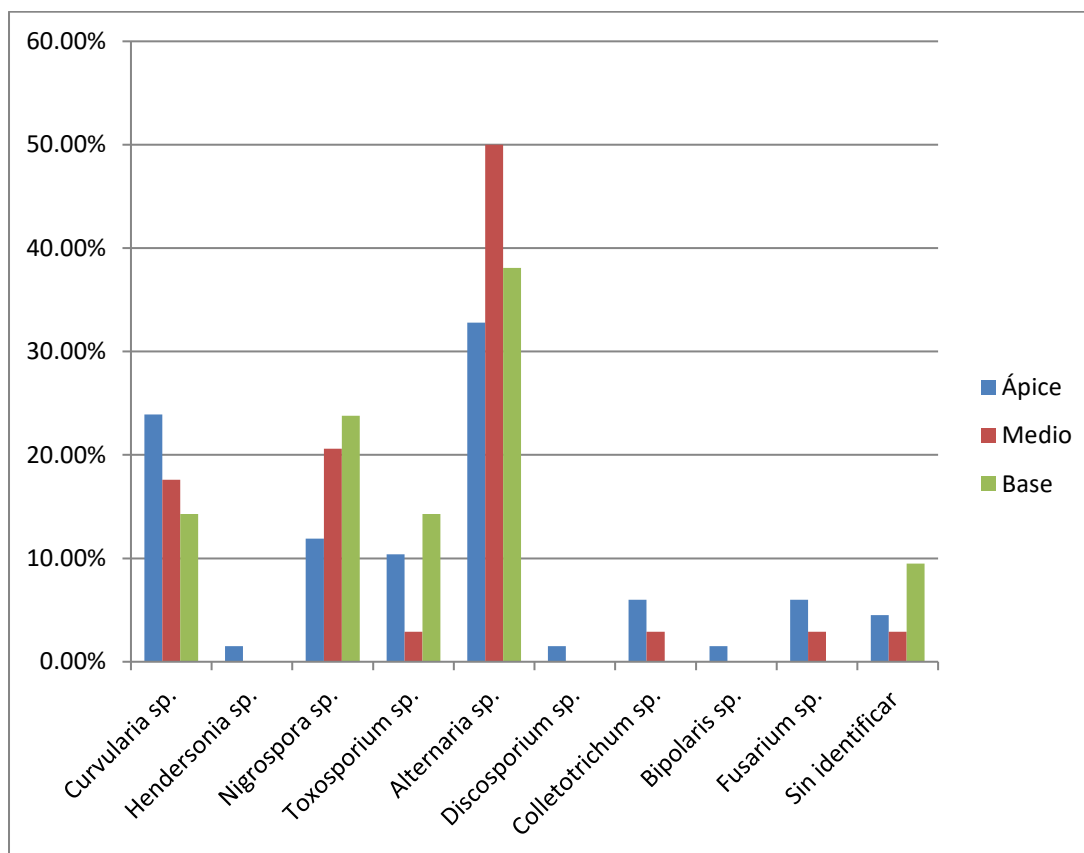
Prevalencia de hongos endófitos aislados, en la sección del ápice, medio y base, en las fincas Badi, Nigüito y El Aromo, Corregimiento de Santa Ana, Provincia de Los Santos, durante los meses de enero y febrero.

Géneros	Ápice	Medio	Base
<i>Curvularia sp.</i>	23.9%	17.6%	14.3%
<i>Hendersonia sp.</i>	1.5%	0%	0%
<i>Nigrospora sp.</i>	11.9%	20.6%	23.8%
<i>Toxosporium sp.</i>	10.4%	2.9%	14.3%
<i>Alternaria sp.</i>	32.8%	50.0%	38.1%
<i>Discosporium sp.</i>	1.5%	0%	0%
<i>Colletotrichum sp.</i>	6.0%	2.9%	0%
<i>Bipolaris sp.</i>	1.5%	0%	0%
<i>Fusarium sp.</i>	6.0%	2.9%	0%
Sin identificar	4.5%	2.9%	9.5%

En la figura 9 se muestra la ocurrencia de cada género de hongo endófito que se encontró, en la sección del ápice, medio y base del pasto, en las seis semanas de muestreo, en las fincas Badi, Nigüito y El Aromo. En la cual *Alternaria sp* se encontró mayoritariamente en las tres secciones.

Figura 9.

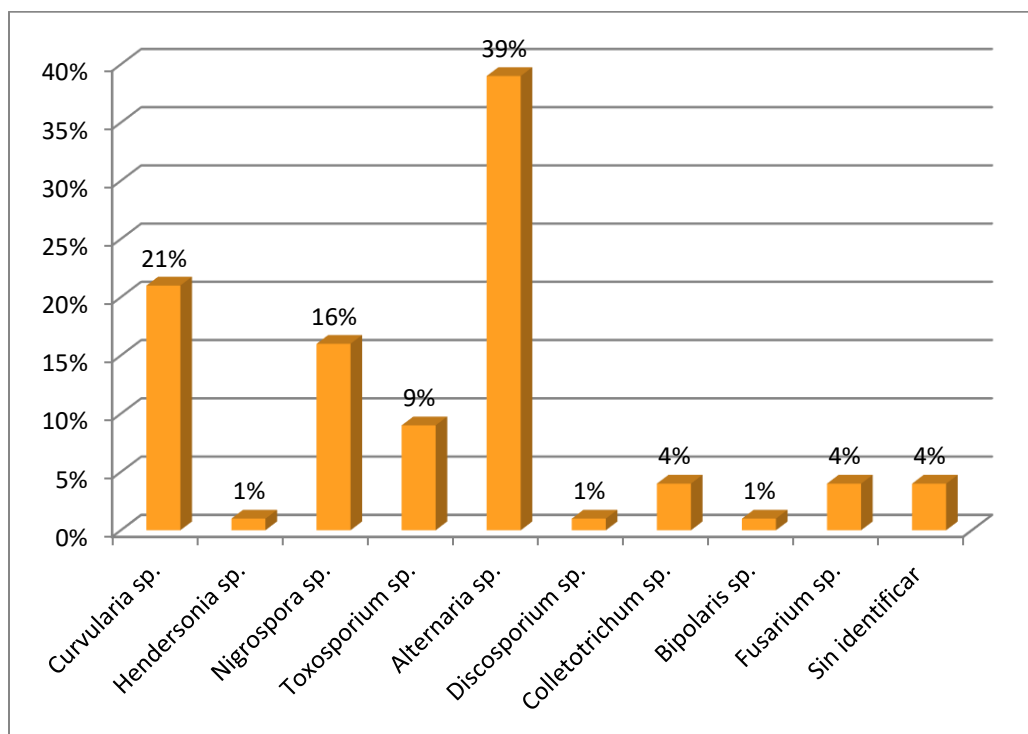
Prevalencia de géneros de hongos endófitos aislados (eje X), en la sección del ápice, medio y base (eje Y), en las fincas Badi, Nigüito y El Aromo, Corregimiento de Santa Ana, Provincia de Los Santos, durante los meses de enero y febrero.



En la figura 10 se muestra el recuento total de los géneros de hongos endófitos, en donde se observa claramente, que *Alternaria sp.* es el que mayor ocurrencia presente en las tres Fincas, dicha recurrencia podría deberse al hecho de que las esporas de este género (*Alternaria sp.*) se encuentra comúnmente suspendidas en el aire, tal como lo sostiene Andrews (1992). También observamos una alta presencia del género *Curvularia sp.*, esto debido, presumiblemente a los sustentado por Chong (1999), que estos hongos se desarrollan comúnmente en el suelo de las áreas tropicales. Por otra parte, vale la pena destacar que también se encontraron otros géneros como *Hendersonia sp.*, *Discosporium sp.*, y *Bipolaris sp.*, pero con menor frecuencia, debido a que mucho de estos géneros no son comunes de habitar en los pastos, sino en diferentes plantas.

Figura 10.

Ocurrencia de géneros de hongos endófitos (eje X) encontrado en la hoja entera de pastos (eje Y), colectados en las fincas Badi, Nigüito y El Aromo, en el Corregimiento de Santa Ana, Provincia de Los Santos, durante los meses de enero y febrero.



CONCLUSIONES

-La finca con mayor número de muestras positivas de hongos endófitos fue El Aromo, con un 37.9%, mientras que las fincas Badi y Nigüito registraron un 30.3% y un 31.8%, respectivamente.

-Entre los géneros de hongos endófitos encontrados podemos destacar: *Discosporium sp.*, *Toxosporium sp.*, *Fusarium sp.*, *Alternaria sp.*, *Nigrospora sp.*, *Curvularia sp.*, *Colletotrichum sp.*, *Bipolaris sp.*

-Los hongos endófitos con mayor ocurrencia fueron: *Alternaria sp.* con un 39%, *Curvularia sp.* con un 21% y *Nigrospora sp.* con un 16%, ubicándose mayormente en el ápice de la hoja con un 54%, mientras que en el medio y en la base de la hoja se encontró un 26% y un 20% de hongos endófitos, respectivamente

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abello, J., Kelemu, S. (2006). *Hongos Endófitos: ventajas adaptativas que habitan en el Interior de las plantas*.
- Alves, A. (1986). *Ganado bovino para los países tropicales*. Editorial Limusa, S.A. D.c.v. Primera Edición. México, D.F. Pág. 1-2.
- Andrews, S. (1992). Differentiation of *Alternaria* species isolated from cereals on dichloran malt extract agar. pp. 351-355 en: Samson RA et al., editores. *Modern Methods in Food Mycology*. Elsevier, Amsterdam.
- Arias, E., Piñeros, E., (2008). *Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de las Paramas de Guasca y Cruz Verde*. Bogotá. Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Chong, M. (1999). *Aislamiento y caracterización de microhongos de interés industrial a partir de micromycetes en descomposición*. Tesis de Licenciatura. Universidad de Panamá.
- Clay, K. (1991). Endophytes as antagonists of plant pests. In (J.H. Andrews and S.S. Hirano (Eds.), *Microbial Ecology of Leaves* (pp. 331–357). Berlin, Germany, Springer-Verlag.
- Gispert, C. (2008). *Enciclopedia Práctica de la Agricultura y la Ganadería*. Primera Edición. Editorial MMVII OCEANO. Barcelona, España. Pág.: 1028.
- Gundel, P. (2008). *Hongos benéficos para mayor producción forrajera*. *Producir XXI*, Bs As. 16 (206):24-32.
- López, M., Solís, G., Murrieta, J., López, R. (2009). Percepción de los ganaderos respecto a la sequía: viabilidad de un manejo de los agostaderos que prevenga sus efectos negativos. *Estud. soc vol.17 spe* Hermosillo.
- Petigrosso, L., Gundel, P., Colabelli, M., Fernández, O., Assuero, S. (2019). *Hongos endófitos en festuca alta: del problema a las soluciones*. *RIA. Revista de Investigaciones Agropecuarias*, vol. 45, núm. 2, pp. 292-303. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria

ANEXO FOTOGRÁFICO

Figuras anexas del artículo con estructuras reproductivas de los hongos aislados durante esta investigación. **Créditos de microfotografía Mario Cortéz.**

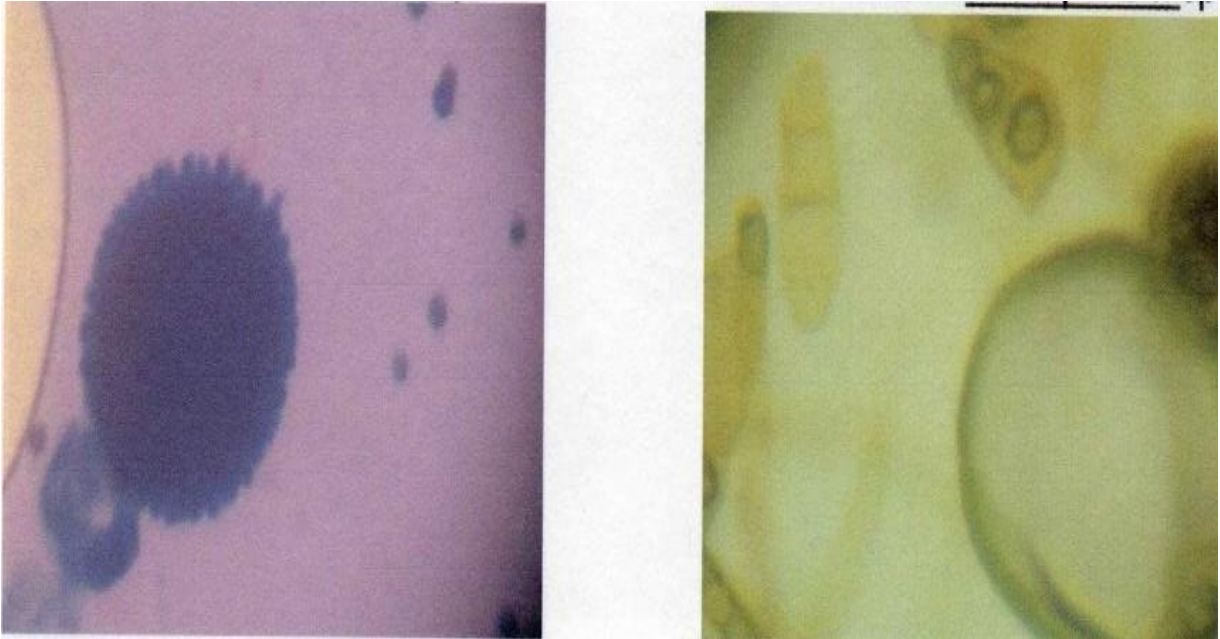


Figura 1. Esporas de *Nigrospora sp.*, presenta conidios de color negro e hifas septadas (Izquierda). Esporas de *Toxosporium sp.*, que poseen de tres a cinco septos (derecha).

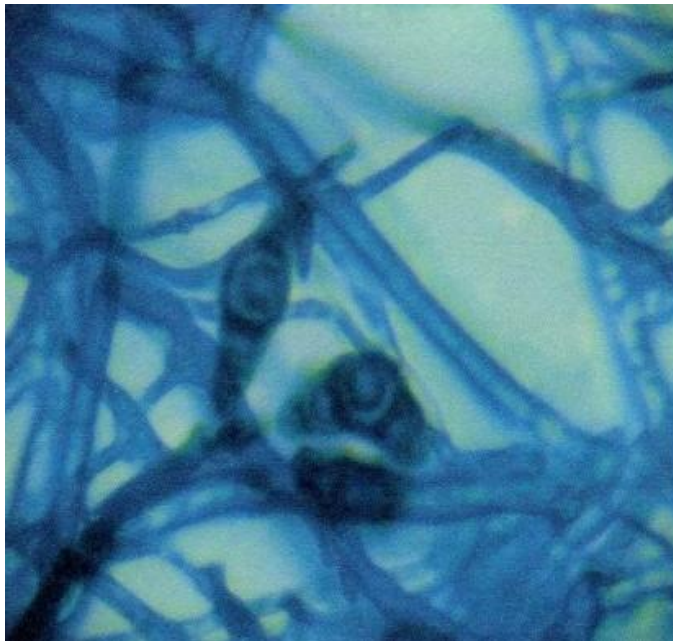


Figura 2. Esporas de *Curvularia sp.* con conidióforo de color marrón e hifas septadas.

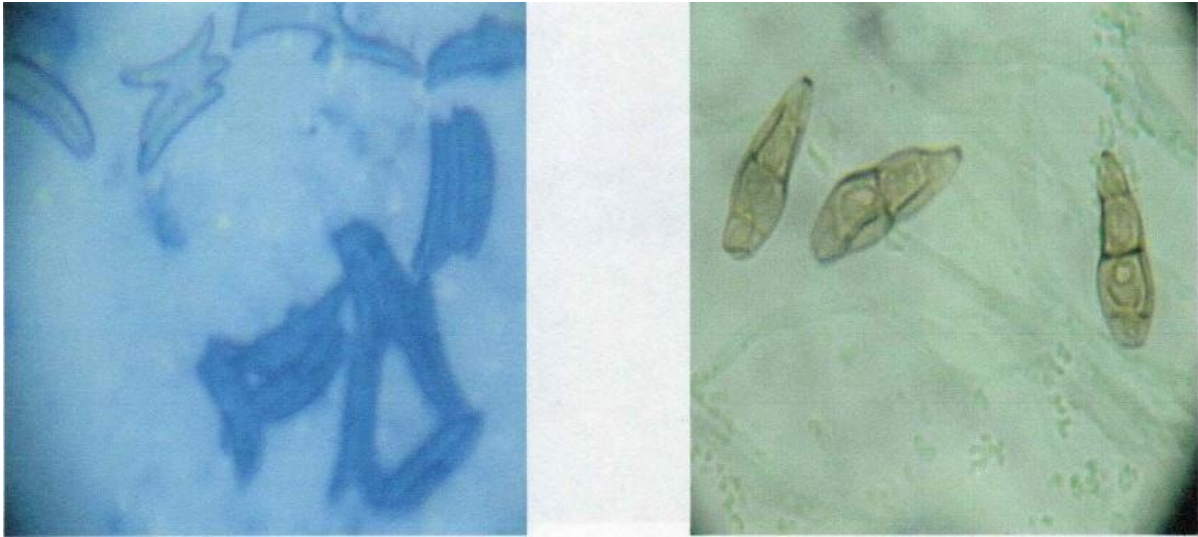


Figura 3. Esporas curvadas de *Fusarium sp*, con célula basal en forma de pie (izquierda). Esporas de *Alternaria sp* con septos transversales llamados dictiosporas (derecha).



Figura 4. Esporas de *Discosporium sp* (izquierda). Esporas de *Bipolaris sp*, con desarrollo simpodial de color marrón con conidios pseudoseptados (derecha).

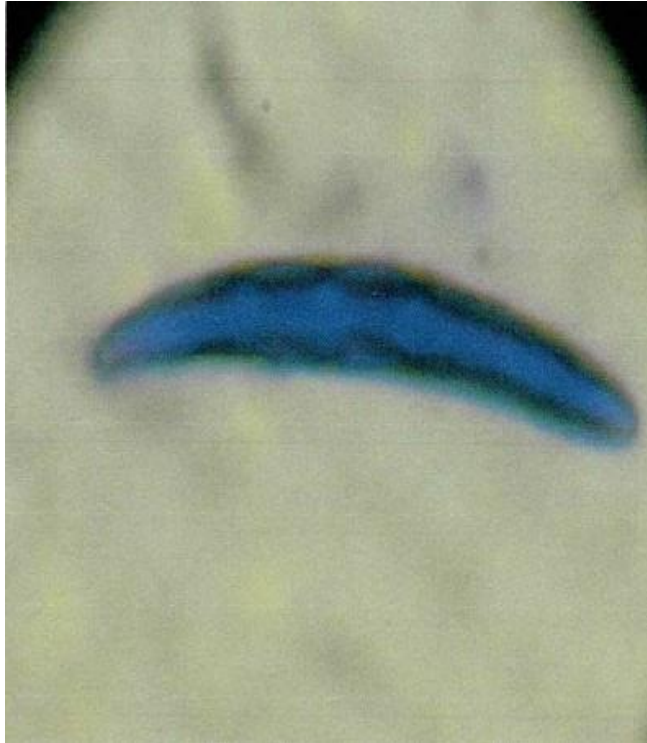


Figura 5. Esporas de *Colletotrichum sp*, los conidios unicelulares hialinos los cuales se producen en acervulo.