



Caracterización molecular de hongos del Cerro Las Mesas, en Mayagüez, Puerto Rico, mediante código de barras de ADN

J. Bracero D. Rosado V. Vargas
CROEM



Resumen

Los hongos son organismos esenciales para los ecosistemas, ya que descomponen materia orgánica, reciclan nutrientes y mantienen el equilibrio ambiental. Los hongos son los seres vivos pertenecientes al reino Fungi. Este grupo incluye los mohos, las levaduras y las setas (Editorial Etece, 2020). Además, presentan una enorme diversidad que varía según el clima, el suelo y las condiciones ecológicas donde se desarrollan. En general, se diferencian los siguientes cinco grandes tipos de hongos: Basidiomicetos, Ascomicetos, Zigomicetos, Quitridiomicetos, y Glomeromicetos. Los cuerpos de los hongos en si están formados por un micelio, una red filamentosa muy delgada que se extiende sobre un sustrato, y se reproducen formando esporas (Editorial Etece, 2020). En este proyecto estaremos identificando diferentes tipos de hongos mediante el análisis de su ADN. El propósito es identificar si los hongos del Cerro de Las Mesas ya estarían identificados en las bases de datos científicos. Entre nuestros objetivos se encuentra identificar con precisión las especies recolectadas, y comparar su diversidad genética. Los métodos más importantes que utilizaremos incluyen la recolección de muestras, la extracción de ADN y el DNA Barcoding, que permite identificar especies mediante la comparación de secuencias genéticas estandarizadas. Nuestra hipótesis es que los hongos recolectados en el área del Cerro Las Mesas ya estarían identificados en las bases de datos científicos, debido a que corresponden a especies comúnmente encontradas en la región.

Introducción

Los hongos son organismos eucariotas sin clorofila que obtienen nutrientes por absorción y presentan una gran diversidad, desde levaduras unicelulares hasta setas complejas. Su clasificación moderna incluye los grandes clados Dikarya (Ascomycota y Basidiomycota) y varios grupos basales como Chytridiomycota, Mucoromycota, Zoopagomycota, entre otros, según propuestas recientes como (Wijayawardene et al., 2020). Los hongos micorrízicos arbusculares (AMF) forman asociaciones con raíces de plantas y mejoran la absorción de nutrientes y la tolerancia al estrés. En suelos serpentiniticos, pobres en nutrientes y ricos en níquel, estos hongos favorecen el crecimiento vegetal, por lo que suelen encontrarse con frecuencia. El ADN barcoding utiliza fragmentos cortos y estandarizados de ADN como “códigos de barras” para identificar especies, incluso cuando son morfológicamente similares o difíciles de distinguir. Esta técnica permite diferenciar especies, identificar etapas juveniles, descubrir especies crípticas y apoyar la conservación. Estudios como (Pomerantz et al., 2018) demostraron su eficacia al identificar biodiversidad con alta precisión en menos de 24 horas. Comparar las secuencias obtenidas con bases de datos de referencia permite clasificar organismos con gran exactitud. Entre sus ventajas destacan la rapidez, la estandarización global, la detección de especies crípticas y su utilidad para estimar la biodiversidad. En contraste, la identificación morfológica enfrenta limitaciones por la falta de una terminología estandarizada, lo que dificulta la comparación de datos entre estudios.

Materiales y Métodos

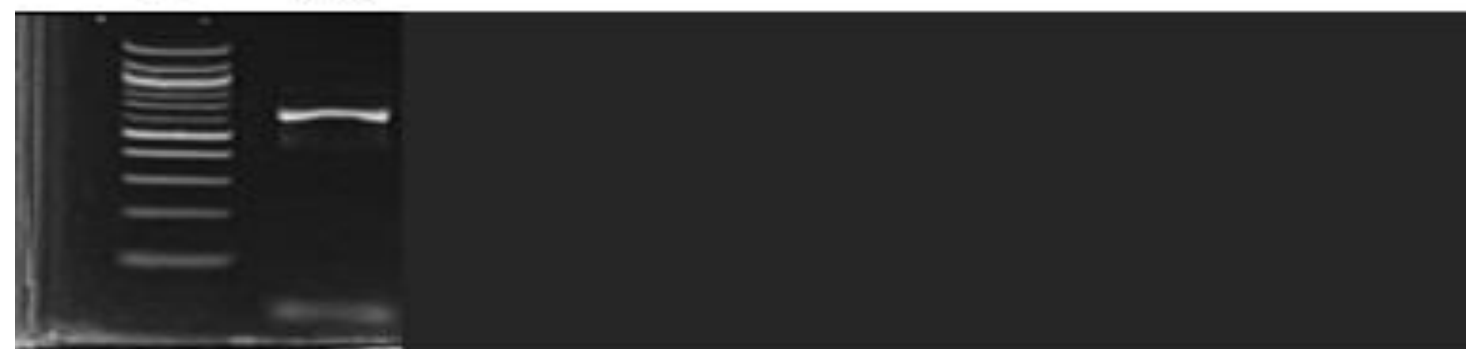
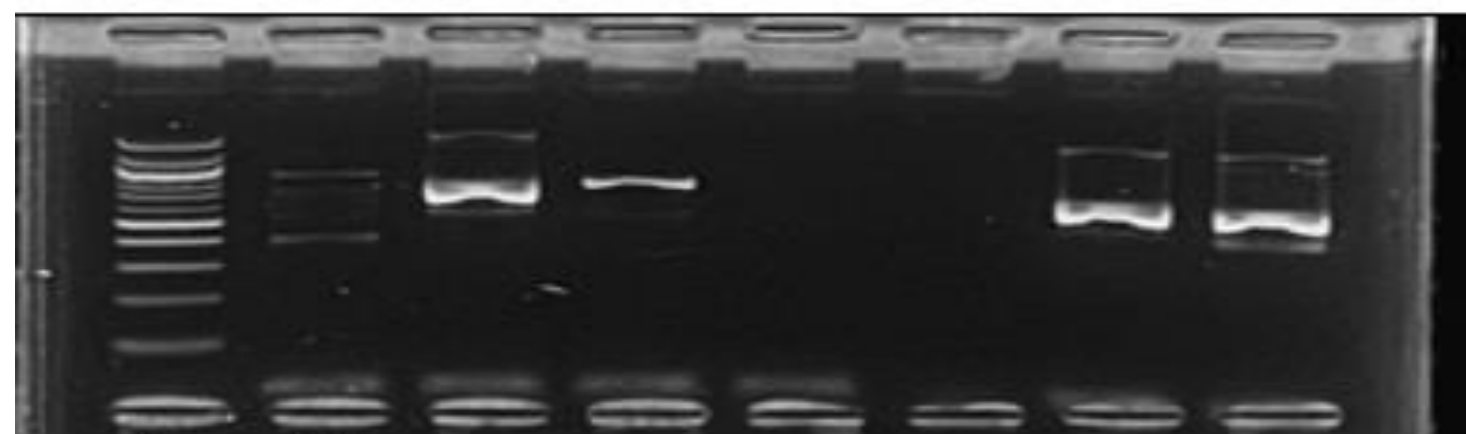
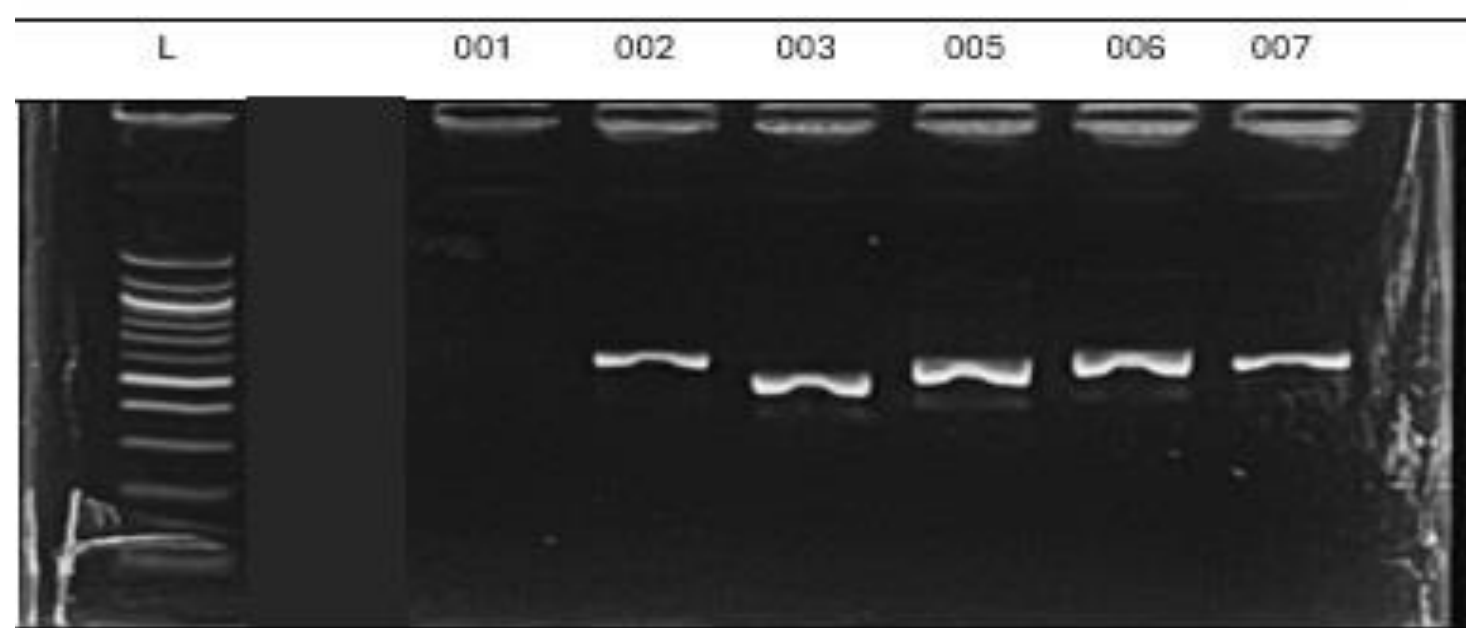
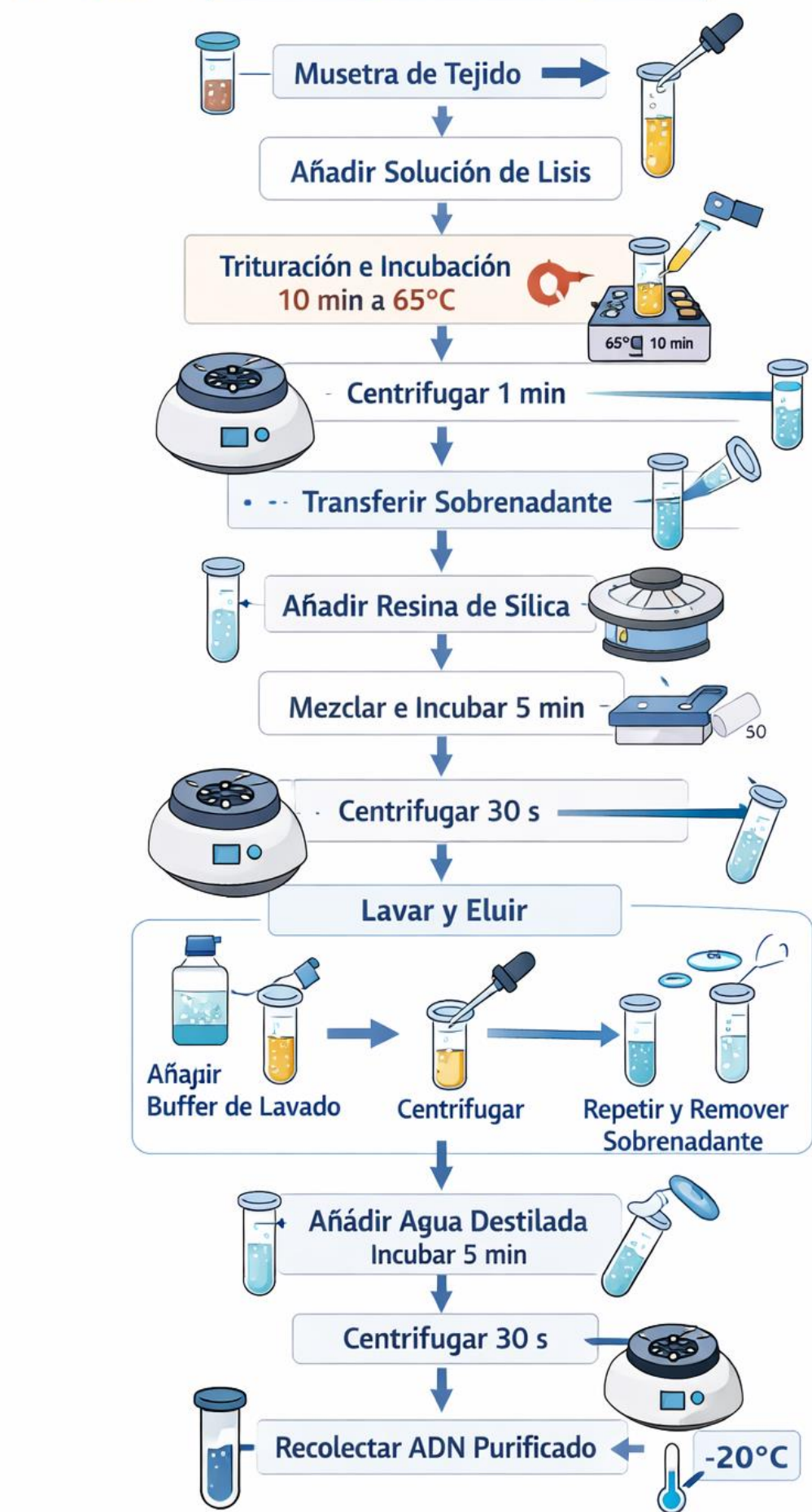
Se recolectaron 15 muestras de diferentes hongos en los terrenos de 25 cuerdas del Cerro Las Mesas de CROEM. Al encontrar un hongo, se utilizará la aplicación de iNaturalist para identificar si el organismo ya había sido identificado o encontrado, o, si es uno nuevo. Luego, se le tomara una foto con una regla, de tal manera que sea fácil de identificar su tamaño en centímetros. Se anotarán los datos en una libreta, la información debe incluir el número del hongo, su medida en centímetros y coordenadas. Después de anotar la información se obtendrá una muestra del hongo y se colocará en una bolsa de papel de estraza. Finalmente se pondrá en una nevera para que se preserven. Luego, las muestras recolectadas se llevarán al laboratorio para hacerle la prueba de “Silica DNA Isolation”, porque tiene un 70% de rango de éxito. Luego de la prueba, se hará la aplicación de PCR para hacer visualización por electroforesis y finalmente el análisis bioinformático.

Resultados

Las muestras que tuvieron resultados conclusos fueron QTC-002 (*Ganoderma multiplicatum*, familia Ganodermataceae, hongos lignícolas de pudrición blanca), QTC-003 (*Cladosporium cladosporioides*, familia Cladosporiaceae, hongos ambientales muy comunes), QTC-005 (*Cubamyces lactineus*, familia Meruliaceae, hongos de pudrición blanca en madera), QTC-006 (*Lentinus crinitus*, familia Polyporaceae, hongos de madera con sombreros duros y laminillas), QTC-009 (*Neonothopanus* sp., familia Marasmiaceae, hongos tropicales asociados a madera, algunos bioluminiscentes), QTC-013 (*Flavodon flavus*, familia Meruliaceae, hongos tropicales de pudrición blanca) y QTC-014 (*Schizophyllum commune*, familia Schizophyllaceae, uno de los hongos más comunes del mundo, caracterizado por sus laminillas divididas). Las demás muestras no tuvieron resultados concluyentes debido a fallos en la extracción, secuenciación o electroforesis (QTC-001, 002, 004, 007, 008, 010, 011, 012 y 015), lo que impidió obtener sus códigos de secuencia.

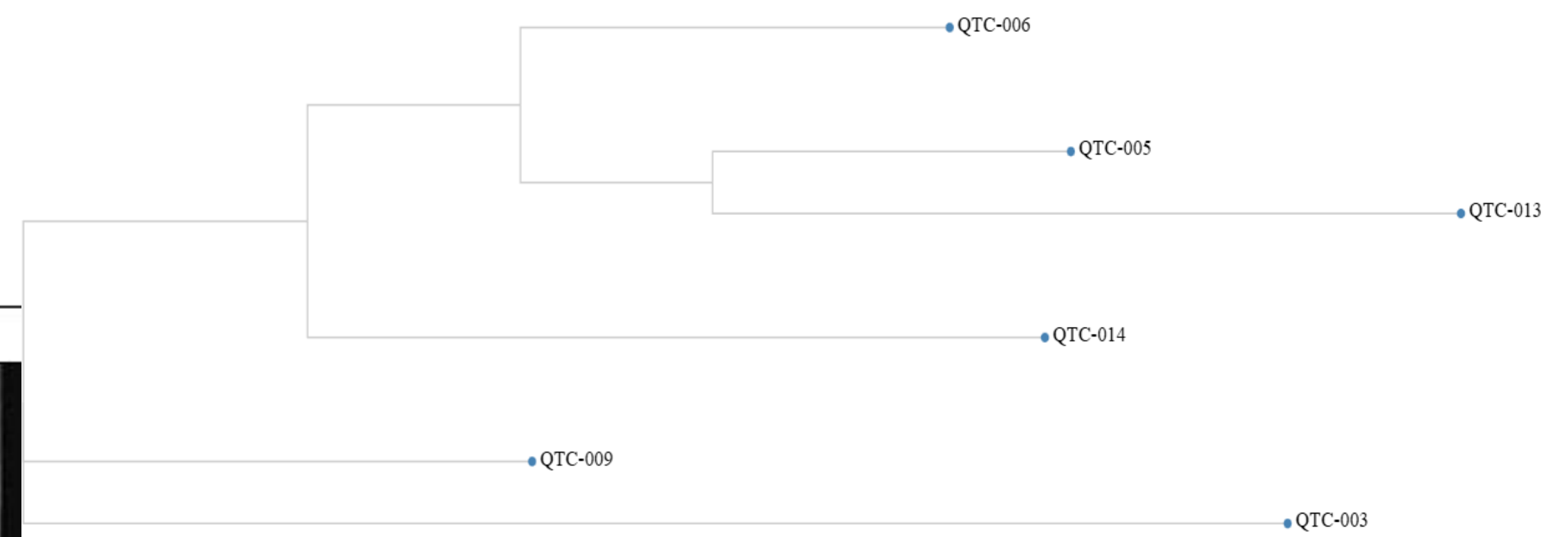
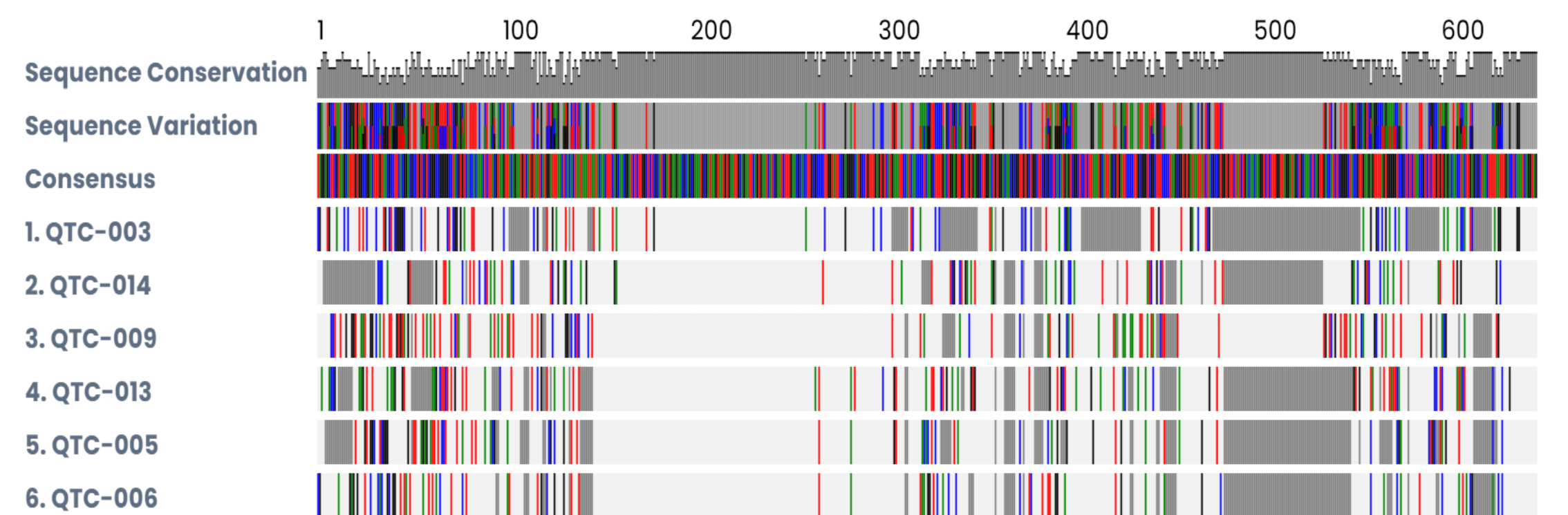
Aislamiento de ADN con Sílica

Diagrama de Flujo



Discusión

Los resultados responden parcialmente a la pregunta porque se logró identificar el ADN de siete muestras y todas corresponden a hongos que pueden encontrarse en ambientes tropicales como Puerto Rico, lo que apoya la hipótesis de que las muestras serían hongos comunes; sin embargo, una parte significativa de las muestras no produjo secuencias concluyentes debido a fallos técnicos en la extracción, PCR, electroforesis o secuenciación, lo que limita la capacidad de describir completamente la diversidad presente. En conjunto, los hallazgos muestran que el método de secuenciación es efectivo cuando funciona correctamente, que las especies identificadas son coherentes con el ecosistema local y que los errores de laboratorio influyeron en la cantidad de datos obtenidos, por lo que las conclusiones deben interpretarse con cautela y reconociendo estas limitaciones. En conclusión, la hipótesis fue cierta para las muestras que enseñaron un resultado concluyente, pero la hipótesis es limitada a la mitad de las muestras, lo que significa que este resultado pudiera ser gravemente alterado al tomar en cuenta el total de 14 muestras.



Referencias

Editorial Etecé. (2020). Hongos - Información, características, Tipos Y Reproducción. *Concepto.de*. <https://concepto.de//hongos/>

Pomerantz, A., Peñafiel, N., Arteaga, A., Bustamante, L., Pichardo, F., Coloma, L. A., Barrio-Amorós, C. L., salazar-Valenzuela, D., & Prost, S. (2018). *Real-time DNA barcoding in a rainforest using nanopore sequencing: opportunities for rapid biodiversity assessments and local capacity building*. GigaScience, 7(4), giy033.

Wijayawardene et al., (2020) ofrece un *outline* actualizado y más exhaustivo (incluye taxa “fungus-like” y revisiones hasta 2020).

Créditos
Prof. Yadira Ortíz Castellano
Dra. Cristina Fernandes Marco