

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIRIQUÍ
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA



Diversidad de hongos endófitos en raíces de *Peristeria elata* Hook.
(Orchidaceae) en estado silvestre y cultivadas en el área de Las Minas
(Herrera), Boquete y Rio Sereno (Chiriquí)

TESIS

Para obtener el título de:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

Presenta:

YLLEN MITZELA SAMUDIO CEDEÑO

Asesor:

Dr. Orlando Cáceres

Coasesores:

Dra. Tina Hofmann

Dr. Luis Vargas

AÑO 2025

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de grado a mi madre Maritza Cedeño y mi padre Abel Samudio, quienes me han enseñado a salir adelante con esfuerzo y dedicación.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente:

A Dios quien me ha dado salud y las fuerzas para culminar esta etapa de mis estudios.

Al Programa de Subsidios de Investigación 2024 de la Universidad Autónoma de Chiriquí,
quien financió este proyecto.

Agradezco a Diógenes Trejos, quien me ha impulsado y motivado para cumplir mis metas.

A la Profesora Rosalina Ibarra, el señor Elizondo Ramírez y la Licenciada Ariacnis Avilés
quienes me permitieron el ingreso a sus hogares para la extracción de las muestras.

Agradezco al Dr. Orlando Cáceres y la Dra. Tina Hofmann quienes me han guiado en mi
formación como estudiante tesista.

Agradezco de manera muy especial al Dr. Luis Vargas quién
me brindó su apoyo diligentemente desde el inicio de este proyecto y despertó en mí el
amor por la Investigación.

INDICE GENERAL

CAPÍTULO I. MARCO INTRODUCTORIO

1.	Introducción.....	3
1.1.	Aspectos generales del problema:	3
1.2.	Objetivo general:	5
1.3.	Objetivos específicos:.....	6
1.4.	Alcance del trabajo:	6
1.5.	Limitaciones:	10
1.6.	Justificación:.....	10

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1.	Definición y características	13
2.2.	Generalidades de endófitos vs micorrizas	13
2.3.	Tipos de hongos endófitos	14
2.4.	Importancia ecológica.....	14
2.5.	Relaciones simbióticas y de defensa	15

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.	Trabajo de campo	16
------	------------------------	----

3.2. Procesamiento de las muestras	16
3.3. Separación de las muestras	17
3.4. Identificación de los endófitos:.....	18
3.5. Disposición de las cepas de hongos identificadas	18

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Obtención de los endófitos	24
4.2. Observación directa	25
4.3. Aislamiento y observación por medio de cultivo PDA	26
4.4. Identificación de los endófitos.....	27

CAPÍTULO V. CONSIDERACIONES FINALES

5.1. Conclusiones.....	50
5.2. Recomendaciones	51
5.3. Bibliografía.....	52
5.2. Anexos	62

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Grupos y Clases de hongos endófitos	15
Tabla 2. Cálculos para la preparación del medio PDA.	21
Tabla 3. Comparación de los endófitos en los diferentes sitios.	32
Tabla 4. Hongos identificados y sus características.....	43

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Trabajo de campo y laboratorio.	20
Figura 2. Toma de coordenadas.....	22
Figura 3. Conservación de cepas puras	21
Figura 4. Hifas esterilias.....	21
Figura 5. Procedimiento de desinfección de la raíz.....	22
Figura 6. Zonas de division de la raíz y primeros resultados.	23
Figura 7. Observación directa al microscopio.....	32
Figura 8. <i>Colletotrichum</i> sp. 1.....	36
Figura 9. <i>Stanjemonium</i> sp	37
Figura 10. <i>Acremonium</i> sp. 1.....	38
Figura 11. <i>Acremonium</i> sp. 2.....	39
Figura 12. <i>Curvularia</i> sp.	40
Figura 13 <i>Acremonium</i> sp3.....	38
Figura 14. <i>Fusarium</i> sp1.	39
Figura 15. <i>Scytalidium</i> sp.	40
Figura 16. <i>Colletotrichum</i> sp2.....	41
Figura 17. <i>Fusarium</i> sp2.	42

RESUMEN

Entre hongos y plantas hay interacciones beneficiosas, una de ellas se da con hongos endófitos. En este estudio se identificó y preservó hongos endófitos de las raíces de la *Peristeria elata* (Flor Nacional de Panamá) mediante cultivo *in vitro* con agar papa dextrosa (PDA) y observación microscópica de los conidios. Dicho estudio se llevó a cabo en Panamá, provincia de Chiriquí (Rio Sereno y Boquete) y Herrera (Las Minas). Todas las muestras llevadas al laboratorio fueron desinfectadas, aisladas y mostraron presencia de endófitos asociadas a sus raíces. Se obtuvo como resultado la identificación de 10 especies de hongos endófitos entre los cuales se encontraron endófitos mutualistas, fitopatógenos y saprofitos. Las cepas identificadas fueron preservadas en el Centro de Investigación de Tejidos Vegetales (CITEV) mediante dos técnicas: la primera, cada cepa identificada fue rotulada y guardada en platos con PDA en una nevera pequeña, exclusivamente para la preservación de las muestras de los endófitos, esto es para que no exista contaminación externa; la segunda técnica para preservar los endófitos fue en solución líquida por triplicado, que se basó en colocar cuatro fragmentos redondos de cada cultivo en microtúbulos con agua destilada. El estudio de estos hongos en las orquídeas, específicamente *P. elata* es de suma importancia ya que aportan muchos beneficios e inclusive las semillas solo germinan con la ayuda de estos microorganismos, cabe destacar que la especie silvestre de *P. elata* se encuentra en peligro de extinción y el desarrollo de estos tipos de estudios aportan mucho para su conservación.

Palabras claves: Hongos endófitos, orchidaceae, PDA, *Peristeria elata*.

ABSTRACT

There are beneficial interactions between fungi and plants, one of which occurs with endophytic fungi. In this study, endophytic fungi were identified and preserved from the roots of *Peristeria elata* (Panama's national flower) using in vitro culture on potato dextrose agar (PDA) and microscopic observation of conidia. This study was conducted in Panama, in the provinces of Chiriquí (Rio Sereno and Boquete) and Herrera (Las Minas). All samples brought to the laboratory were disinfected and isolated, and showed the presence of endophytes associated with their roots. The results resulted in the identification of 10 species of endophytic fungi, among which were mutualistic, phytopathogenic, and saprophytic endophytes. The identified strains were preserved at the Plant Tissue Research Center (CITEV) using two techniques: first, each identified strain was labeled and stored on plates with PDA in a small refrigerator exclusively for the preservation of the endophyte samples, to prevent external contamination; the second technique for preserving the endophytes was in triplicate in a liquid solution, based on placing four round fragments of each culture in microtubules with distilled water. The study of these fungi in orchids, specifically *P. elata*, is of utmost importance since they provide many benefits, and even the seeds only germinate with the help of these microorganisms. It should be noted that the wild species of *P. elata* is in danger of extinction, and the development of these types of studies contributes greatly to its conservation.

Keywords: Endophytic fungi, orchidaceae, PDA, *Peristeria elata*.

CAPÍTULO I. MARCO INTRODUCTORIO

1. Introducción

1.1. Aspectos generales del problema:

La palabra 'endófito' etimológicamente significa 'dentro de la planta' (endon: dentro, phyton: planta) (Sánchez et al., 2013).

Los hongos endófitos son microorganismos que crecen dentro de los tejidos vegetales sin causar síntomas de enfermedad y, recientemente, han empezado a ganar reconocimiento a través de su estudio (Otero y Bayman, 2009). Aquellos asociados a las raíces también poseen otros beneficios, tales como la defensa contra patógenos y un aumento en la disponibilidad de nutrientes (Ordoñez et al., 2012).

Las orquídeas conforman la familia más grande de las plantas con flores, con alrededor de 25 000 especies divididas en unos 800 géneros distribuidos por todo el mundo (Eol.org, s. f.). La mayoría de las especies de orquídeas tienen semillas pequeñas, que se dispersan por el viento y necesitan de un hongo micorrícico para su germinación (De Los Ángeles, 2014), principalmente con especies de hongos basidiomicetos del género *Rhizoctonia* (Rasmussen, 1995). Esta dependencia se asocia con las mínimas cantidades de nutrientes que se encuentran en las diminutas semillas de las orquídeas (Arditti y Ghani, 2000).

Peristeria elata es originaria de Colombia, Costa Rica, Ecuador, Panamá y Venezuela y se encuentra creciendo en los troncos de árboles cubiertos de musgo, bordes de pastizales sombreados y afloramientos de piedra en los bosques montañosos muy

húmedos a elevaciones de 100 a 700 metros sobre el nivel del mar (The Green Corner, 2023).

Los hongos endófitos puedan crecer bajo cultivo *in vitro* utilizando platos con PDA (Agar Papa Dextrosa). Esta técnica es una de las más usadas debido a que se conserva la yuxtaposición original de las esporas y segmentos de hifas (Koneman y Roberts, 1987). Además de permitir observar las estructuras fúngicas casi sin alteración (Arenas, 2008).

En un principio, el término endófito se refería a cualquier organismo que colonizara el interior de los tejidos de las plantas, pero fue Wilson en 1951 quien restringió el término únicamente a microorganismos, refiriéndose sólo a bacterias y a hongos que no provocan daño aparente a la planta hospedera (Sánchez et al., 2013).

Actualmente, este término se refiere a bacterias, hongos, algas e insectos, en donde los hongos son los microorganismos que se han aislado con mayor frecuencia como endófitos (Sánchez et al., 2013).

La literatura sobre hongos endófitos y hongos formadores de micorrizas en orquídeas se encuentra muy ligada entre sí y a veces es imposible discutir estas asociaciones por separado (Sánchez et al., 2013).

Según Rodríguez et al. (2009), las plantas se han asociado a hongos endofíticos y micorrízicos por más de 400 millones de años y posiblemente estuvieron asociados al proceso de colonización de la tierra por las plantas, desempeñando un papel fundamental en la evolución de la vida en la tierra.

Se ha encontrado en estudios recientes muchos hongos endófitos que no forman micorrizas relacionadas con raíces y regiones aéreas de orquídeas. Estos estudios resaltan el papel que cumplen estos microorganismos en la protección de la planta

frente a ataques de patógenos, ya sea por la síntesis de metabolitos secundarios o por el mejoramiento en la nutrición a través de la disponibilidad de los nutrientes (Ordóñez et al., 2012). Igualmente mencionan, no sólo los beneficios generados para las plantas, sino también el potencial que poseen estos organismos endófitos y su batería de enzimas y metabolitos secundarios, por ejemplo, en la industria de los combustibles (Singh et al., 2011) y antibióticos (Xing et al., 2011).

Los bosques de Panamá poseen una gran biodiversidad de orquídeas con una cifra estimada de 1 200 especies, muy variadas en sus formas, tamaños y colores, que se esparcen por toda la geografía nacional (Young, 2022).

Peristeria elata conocida como Flor del Espíritu Santo, es una especie de orquídea descrita por William Jackson Hooker en 1831. Esta especie de orquídea que llama la atención de cualquier persona debido a su gran belleza. Esta flor se encuentra principalmente en América Central y América del Sur, y su cultivo se ha convertido en una actividad económica importante en varios países de la región (Ortega, 2023). En Panamá, la Ley 24 de Vida Silvestre de Panamá prohíbe la extracción de orquídeas, especialmente la flor del Espíritu Santo, así como su comercio tanto nacional como internacional; estableciendo sanciones a las personas que extraen ilegalmente estas plantas.

1.2. Objetivo general:

- ✓ Determinar la diversidad de hongos endófitos en *Peristeria elata* en estado silvestre y cultivadas en el área de Las Minas (Herrera), Boquete y Rio Sereno (Chiriquí) Panamá.

1.3. Objetivos específicos:

- ✓ Documentar las especies de hongos endófitos que se encuentran en la raíz de *Peristeria elata* en las muestras de Chiriquí y Herrera mediante técnicas de observación directa.
- ✓ Aislar e identificar las cepas de hongos endófitos presentes en la raíz de *P. elata* mediante técnicas de cultivo en vitro y microscopía de luz.
- ✓ Comparar la riqueza de especies de hongos endófitos en *P. elata* en estado silvestre y las cultivadas.

1.4. Alcance del trabajo:

Esta investigación tuvo una duración de 11 meses hasta su presentación a inicios del primer semestre de 2025.

Se tomaron muestras de *P. elata* cultivadas y en estado silvestre en Las Minas (Herrera), Boquete y en Rio Sereno (Chiriquí).; Luego de tener dichas muestras se llevaron al Centro de Investigación de Cultivo de Tejidos Vegetales (CITEV) y al Centro de Investigaciones Micológicas (CIMI), también contamos con el apoyo del Laboratorio de Microbiología y Biotecnología; todos en la Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI) donde se procesó e identificó los hongos endófitos.

Este proyecto es financiado por el programa de subsidios UNACHI 2024 y se realizó utilizando equipo y espacio físico facilitado por el Centro de Investigación de Tejidos Vegetales (CITEV), el Centro de Investigaciones Micológicas (CIMi), El laboratorio de Microbiología y el laboratorio de Biotecnología.

1.4.1. Descripción del área de estudio

Trabajo de campo

➤ Reserva Forestal El Montuoso (RFM- Herrera):

La Reserva Forestal “El Montuoso”, creada por Ley 12 del 15 de marzo de 1978, tiene un aproximada aproximada de 10,517 ha. Su vegetación nativa cubre unas 400 ha, compuestas mayoritariamente por ecosistemas de montaña. Su clima es tropical lluvioso, con dos zonas de vida, el bosque muy húmedo premontano y bosque muy húmedo tropical (Garibaldi, 2016). Más del 80% de su superficie está cubierta por bosques, es considerada el último refugio de la biodiversidad en la provincia de Herrera y se creó con el objetivo de conservar la biodiversidad existente en el área protegida (ANAM, 2010).

En esta reserva se ha identificado especies vegetales endémicas, registradas por los convenios internacionales de CITES e UICN. Varios ríos nacen aquí, tales como La Villa, Mariato, Tebario y Suay. («Centro ANAM Reserva Forestal el Montuoso - Herrera - Descubre Panamá», 2024)

La RFM está influenciada por la Zona de Convergencia Intertropical (ZCIT) y por sus características morfológicas, condiciona los aspectos climatológicos como los son la precipitación, temperatura, Humedad relativa, entre otros mostrando períodos de lluvias bien marcados que van desde el mes de mayo a noviembre (Barrios et al., 2010).

Coordenadas:

N 07° 44' 10.2''

W 080°48'12.3''

Altura 646 m. s. n. m.

➤ **Las Minas (Herrera)**

Las Minas tiene un relieve ondulado montañoso, el clima es fresco durante todo el año ya que la mayoría de las tierras del distrito están sobre los 300 metros sobre el nivel del mar (Wikipedia, 2024a).

Coordenadas:

N 07°48'00.3"

W 080°44'47.5"

Altura: 363 m. s. n. m.

➤ **Bajo Boquete (Chiriquí)**

Bajo Boquete es un valle rodeado de montañas, atravesado por el río Caldera; adicionalmente, cuenta con el aporte hídrico de otros ríos, como: "El Emporio", "Aserrío", "Agustín". Tiene 4493 habitantes (2010) repartidos en 980 viviendas, con una superficie de 18,2 km², lo que supone una densidad de 250 hab./km² (Wikipedia, 2024).

Coordenadas

N 8°46'48"

O 82°25'58"

Altura 1131 m. s. n. m.

(Instituto de Meteorología E Hidrología de Panamá, s. f.)

➤ **Río Sereno (Chiriquí) corregimiento de Bajo La Unión**

Bajo La Unión es un pueblo en Corregimiento Río Sereno, Distrito de Renacimiento, Provincia de Chiriquí y tiene alrededor de 412 habitantes y una altitud de 919 metros. Bajo La Unión se encuentra cerca de la villa de Río Sereno, así como del barrio de San Marcos. En Río Sereno, la temporada de lluvia es opresiva y nublada, la temporada seca es bochornosa y parcialmente nublada y es caliente durante todo el año. Durante el transcurso del año, la temperatura generalmente varía de 16 °C a 27 °C y rara vez baja a menos de 14 °C o sube a más de 29 °C (*El Clima En Río Sereno, el Tiempo Por Mes, Temperatura Promedio (Panamá) - Weather Spark, s. f.*).

Coordenadas:

N 08°30'18.7"

W 082°38'20.9"

Altura: 943 m.s.n.m.

Trabajo de Laboratorio

- Centro de Investigación de Tejidos Vegetales (CITEV): Dirigido por el Dr. Luis Vargas
- Centro de investigación Micológica (CIMi): Dirigido por la profesora Maritza Vega.

- Laboratorio de Microbiología: Dirigido por el Dr. Orlando Cáceres.
- Laboratorio de Biotecnología Agroalimentaria: Dirigido por el Dr. Oscar Martínez.

1.5. Limitaciones:

Durante el proyecto se presentaron ciertas limitaciones que me llevaron a repetir los pasos de desinfección, corte de las raíces o preparación de nuevos medios de cultivos debido a la contaminación que había en el lugar de trabajo.

Esta investigación presentó ciertos inconvenientes por la metodología de muestreo basada en medio de cultivo, ya que alguno de los hongos solo desarrolló hifas esterilias, lo que dificultó su identificación morfológica y quedaron fuera de la lista de hongos identificados. Según Gamboa Gaitán, s. f, solo algunos microorganismos crecen en medios artificiales. Esto hace que la identificación de muchos de ellos no sea posible mediante el cultivo *in vitro*, lo que provoca que la diversidad microbiana endófitas se vea afectada.

1.6. Justificación:

Las orquídeas, según Pedraza-Santos (2017) constituyen uno de los grupos de plantas más vulnerables debido a razones antropogénicas, como cambio de uso de suelo, destrucción de hábitats con elevada diversidad, endemismo y extracción selectiva a partir de las poblaciones silvestres.

En Panamá, la orquídea *P. elata* es la flor nacional, por ley 46 del 21 de noviembre de 1980. Actualmente es una especie en peligro de extinción y cada vez es más difícil encontrar estas orquídeas en su hábitat natural e incluso en lugares de áreas protegidas (Mendieta, 2022).

Según diversas fuentes se conoce que esta planta todavía es muy colectada de su hábitat nativo, lo que la ha llevado a estar evaluada en el estatus de una especie amenazada de extinción (Burica Press, Panamá Por Dentro, 2007). Por lo tanto, se necesita una alternativa que mejore esta condición.

Todas las orquídeas requieren una asociación micorrícica (hongos endófitos) para la germinación de sus semillas. Esta dependencia se asocia con las mínimas cantidades de nutrientes almacenados en las diminutas semillas de las orquídeas (Arditti y Ghani, 2000). Estas asociaciones favorecen la germinación de semillas por medio de mecanismos de digestión de la materia orgánica de los sustratos, transferencia de carbohidratos al embrión y síntesis de fitohormonas (Tsavkelova et al., 2007). Con el fin de conservación de las especies de orquídeas, a nivel mundial se han realizado estudios sobre la diversidad y especificidad de estos hongos micorrícicos (Batty et al., 2002; Taylor et al., 1999).

Recientemente se ha reconocido el gran valor de estos hongos endófitos, especialmente aquellos relacionado con sus raíces, ya que participan en la producción de metabolitos secundarios que los hacen resistente a los patógenos, facilitan la movilización de los nutrientes de la planta a la rizosfera y viceversa (Schulz, 2006).

Según Sánchez (2013) existen 3 métodos para el estudio de las orquídeas los cuales son:

1. Directos: utilizando enzimas y/o metabolitos secundarios con actividad anti-patógena, los cuales son producto del hongo endófito.
2. Indirectos: por la inducción o incremento en la manifestación de mecanismos químicos defensivos o fisiológicos propios de la planta hospedera.
3. Ecológicos: ocupando el nicho ecológico, hiperparasitismo y predación.

Se han realizado estudios sobre hongos endófitos en diferentes especies de orquídeas, por ejemplo en: *Tolumnia variegata*, *Vanilla planifolia*, *Maxillaria*, (Otero Ospina & Bayman, 2009,; Ordóñez et al., 2012,; Rodríguez, 2016); sin embargo en *P. elata* son escasos.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Definición y características

Peristeria elata: Es una orquídea terrestre o litófito. Tiene una forma de crecimiento en matas. Los pseudobulbos ovalados están cubiertos de vainas papiráceas. Las hojas grandes son simples y de forma lanceolada-elíptica con una superficie foliar plicada. Se encuentra en el contorno de pastizales bajo sombra y surgimientos pedregosos en bosques tropicales con altitudes entre 100 y 700 m s.n.m. El epíteto genérico '*peristeria*' se deriva de la palabra griega que significa 'paloma pequeña' refiriéndose a sus flores. El epíteto específico proviene de la palabra latina 'que significa alto o sublime' (NParks | *Peristeria Elata*, s. f.).

Endófitos: Los hongos endófitos se definen como microorganismos que crecen y pasan la mayor parte o todo su ciclo de vida dentro de los tejidos vegetales sin causar síntomas de enfermedad (Otero y Bayman, 2009). También se resalta el papel que cumplen estos microorganismos en la protección de la planta frente a ataques de patógenos (Ordóñez et al. 2012).

2.2. Generalidades de endófitos vs micorrizas

En orquídeas, las relaciones simbióticas tienen mucha importancia, ya que este tipo de interacciones son esenciales para la germinación de sus semillas. Las micorrizas son simbiosis formada por hongos y raíces de plantas donde ellas obtienen algunos de sus nutrientes, incluidos los que limitan el crecimiento (Smith & Read, 1997). Mientras que los endófitos son microorganismos que crecen dentro de los tejidos vegetales sin causar síntomas de enfermedad (Otero y Bayman, 2009).

A diferencia de los hongos micorrízicos que colonizan las raíces de las plantas y crecen en la rizosfera, los endófitos residen completamente dentro de los tejidos de las plantas y pueden crecer dentro de las raíces, tallos y/o hojas, emergiendo para esporular en la senescencia de la planta o del tejido huésped (Rodríguez et al., 2009).

2.3. Tipos de hongos endófitos

Los hongos endófitos comprenden un grupo diverso y polifilético que habitan en varias regiones de las plantas. La mayoría pertenecen al phylum Ascomycota, aunque también se han encontrado en los Basidiomycota, Zygomycota y Oomycota (Sánchez-Fernández et al., s. f.-b).

La clasificación funcional de los endófitos se basó en la filogenia y las características del ciclo de vida, y fueron asociados en dos grupos: los endófitos clavicipitáceos que se recuperan de algunas gramíneas y los endófitos no clavicipitáceos que se recuperan de tejidos asintomáticos de plantas no vasculares, helechos y plantas relacionadas, coníferas y angiospermas (Rodríguez et al., 2009). En la figura 1 tomada de Sánchez-Fernández (2013) podemos observar el grupo de los no clavicipitáceos que se dividen en tres clases.

2.4. Importancia ecológica

Usualmente estos hongos toman nutrientes y protección de su hospedera, en algunos casos como recompensa ejercen un papel mutualista, ya que pueden beneficiarla al inducir su crecimiento, al aumentar su tolerancia al estrés y al producir metabolitos secundarios con amplia diversidad estructural que le brindan protección y resistencia

contra herbívoros y/o microorganismos fitopatógenos (Sánchez-Fernández et al., s. f.-b).

2.5. Relaciones simbióticas y de defensa

La relación entre los hongos endófitos y su planta hospedera puede ir desde el mutualismo hasta la patogénesis. Cuando los factores de virulencia del hongo y las defensas de la planta están en equilibrio se establece una relación endofítica y, por el contrario, cuando se presenta la senescencia del hospedero o se encuentra bajo estrés, el balance se torna a favor del hongo y éste se expresa como patógeno, presentándose los síntomas de enfermedad (Sánchez-Fernández et al., 2013).

Los hongos endófitos que habitan las raíces de las plantas pueden participar en procesos tales como producción de metabolitos aptos para la defensa de patógenos, a través de la síntesis de metabolitos secundarios antagonistas, secreción de fitohormonas y movilización de nutrientes de la planta a la rizosfera y viceversa (Schulz, 2006).

Tabla 1. Grupos y Clases de hongos endófitos

Criterio	Clavicipitáceos Clase 1	No Clavicipitáceos		
		Clase 2	Clase 3	Clase 4
Rango de hospederos	Reducido	Extenso	Extenso	Extenso
Tejidos que colonizan	Tallo y rizomas	Tallos, hojas y rizomas	Tallos, hojas, corteza, flores, frutos	Raíces
Colonización <i>in planta</i>	Extensiva	Extensiva	Limitada	Extensiva
Biodiversidad <i>in planta</i>	Baja	Baja	Alta	Desconocida
Transmisión*	Vertical y horizontal	Vertical y horizontal	Horizontal	Horizontal
Función ecológica.	Incrementan la biomasa de la planta, confieren tolerancia a la sequía y producen metabolitos secundarios tóxicos para los herbívoros	Incrementan la biomasa de la planta, confieren tolerancia al estrés biótico y abiótico y protegen contra los hongos patógenos por acción de los metabolitos secundarios	Inducen resistencia a las enfermedades, protección contra los herbívoros y modifican la sensibilidad al estrés abiótico mediante la producción de los metabolitos secundarios	Inhiben el crecimiento de patógenos y producen metabolitos secundarios tóxicos para los herbívoros.

*Transmisión de hongos endófitos en las plantas: vertical, a través de las semillas, y horizontal, se adquieren del medio ambiente.

Fuente: Sánchez et al., 2013

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Trabajo de campo

Recolecta de las muestras: En cada punto de muestreo se seleccionaron tres plantas de *P. elata* adultas, libres de enfermedades y síntomas visuales de deficiencias nutricionales (Sánchez et al., 2013). Seguidamente con una pala jardinera pequeña excavamos cerca de las raíces hasta dejarlas descubiertas, se tomaron dos raíces con aproximadamente 20 cm de largo o menos dependiendo de cada planta.

Preservación de las muestras en el campo: Las raíces fueron empacadas en bolsas plásticas de cierre hermético debidamente marcadas y colocadas en una hielera pequeña para mantener la temperatura y a su vez para que las muestras no se deshidrataran durante el viaje hasta la llegada al laboratorio.

3.2. Procesamiento de las muestras

Preparación del medio de cultivo (en base a 250 ml).

Limpiamos la cristalería y utensilios a utilizar, para esto utilizamos jabón líquido y abundante agua; seguidamente pesamos 9.75 g de PDA y diluimos en agua destilada, a continuación, agregamos 1 ml de gentamicina 5 ppm (Tabla 2) mezclamos bien y aforamos. Luego colocamos un minuto y medio al microondas hasta que quedó completamente homogenizado el agar líquido, vertimos aproximadamente 20 ml de agar líquido por Petri, dejamos enfriar y sellamos con papel aluminio, finalmente llevamos cada plato sellado a la autoclave.

Limpieza y desinfección de las muestras

Luego de tomar las muestras en los diferentes sitios, las trasladamos laboratorio en donde fueron lavadas con agua corriente, luego desinfectadas superficialmente con etanol al 70% por 1 min, con hipoclorito de sodio al 5% por 30 s y, finalmente, enjuagadas tres veces con agua destilada estéril (Otero et al., 2002). La desinfección tuvo una pequeña modificación de 3% de hipoclorito de sodio por 5% de hipoclorito de sodio para mejores resultados (Figura 5).

3.3. Separación de las muestras

Observación directa: se realizaron cortes transversales y longitudinales muy finos de tres regiones de la raíz de *P. elata*: la región distal, proximal y medial. El montaje de la muestra se hizo sobre portaobjetos y cubre objetos utilizando safranina al 0.5 % e hidróxido de potasio (KOH) al 3 %, depositando simultáneamente una gota de cada solución para lograr que el tinte penetrara el tejido del hongo y lograr así la tinción de núcleos (Sneh et al., 1991). También se tiñeron mediante azul de metileno.

Observación por medio de cultivo: Los hongos endófitos fueron cultivados utilizando cortes de tres regiones de la raíz (distal, proximal y medio; Figura 6 a), de aproximadamente 2 mm, con bisturí estériles. La siembra se realizó en platos Petri con agar papa dextrosa (PDA), suplementado con 1 mL de gentamicina 5 ppm para evitar el crecimiento de otros organismos como bacterias. En cada plato se colocaron de cuatro a seis fragmentos de raíces dependiendo del tamaño del plato y fueron depositadas en una incubadora ECOSHEL modelo 91125 a 28 °C durante una semana, en algunos casos hubo crecimiento a partir de los 4 días.

3.4. Identificación de los endófitos:

Observación directa: Luego de ser teñidas se observó directamente al microscopio para verificar si existían hifas, esporas u otras estructuras que ayudaran a determinar la presencia de endófitos para posteriormente ser sembradas en cultivo con PDA. Cabe destacar que gran parte de los hongos endófitos, cuando se desarrollan dentro de estructuras vegetales, solo presentan hifas, lo que dificulta su identificación taxonómica por la escasez de estructuras de reproducción sexuales o asexuales como conidios y esporas (Sun & Guo, 2012).

Observación en medio de cultivo: Para este método se observó detalladamente el crecimiento de las colonias en el medio, por lo que algunos platos con PDA presentaron crecimiento de más de una colonia, lo que llevó a realizar subcultivos para separar las cepas y facilitar su identificación mediante las cepas puras.

Luego se tomaron muestras para las observaciones mediante microscopía utilizando elaboraciones de placa fresca por medio de la técnica de cinta adhesiva, agregando una gota de azul de metileno en el portaobjetos y colocando sobre la gota el fragmento de cinta adhesiva con la muestra del crecimiento, esto con la finalidad de observar la presencia de más de un morfotipo a nivel microscópico entre las distintas clasificaciones macroscópicas (Bratcher, 2021).

Utilicé libros con claves e imágenes para su identificación (Barnett & Hunter, 2006; Lopez et al., 2018).

3.5. Disposición de las cepas de hongos identificadas

Estas cepas fueron identificadas y guardadas en platos con PDA en una nevera especial el Centro de Investigación de Tejidos Vegetales (CITEV), también se

dejaron muestras por triplicado en microtubos con agua destiladas a temperatura ambiente para estudios posteriores.

Para lograr preservar las muestras utilizamos dos métodos diferentes:

Mediante el cultivo de las cepas puras en PDA a bajas temperaturas: que consintió en guardar cada uno de los hongos identificados en cultivos puros en medio con PDA, sellados y guardados en una nevera especial en el Centro de Investigación de Tejidos Vegetales (CITEV) (Figura 3 b). Para este método es importante mencionar que cada 3 a 12 meses las muestras necesitaran que se transfieran a un nuevo cultivo ya que los nutrientes del cultivo se agotan y pueden provocar la muerte del micelio. A la acción de transferir el micelio de una cepa de un medio de cultivo agotado a otro nuevo, se le conoce como resiembra y puede llegar a presentar mayor riesgo de contaminación, cuanto más frecuentes son llegadas a ser (Mata y Salmones, 2021).

Mediante la conservación de las cepas en agua destilada: Este método según Castellani (1939) se basa en la conservación del cultivo del hongo en agua destilada estéril. En donde colocamos pequeños fragmentos de cada cepa pura en microtúbulos con agua destilada y cada muestra fue dejada por triplicado a temperatura ambiente (Figura 3 a).



Figura 1. Trabajo de campo y laboratorio. Fuente: Samudio Y. 2024



Figura 2. Toma de coordenadas en el lugar de extracción de las muestras. Fuente: Samudio Y. 2024.



Figura 3. Conservación de cepas puras A) Conservación de cepas puras en medio líquido y temperatura ambiente, B) Conservación de sepas puras en PDA a 15°C, C) Conservación de placas de muestras identificadas e hifas estériles. Fuente: Samudio Y. 2024.

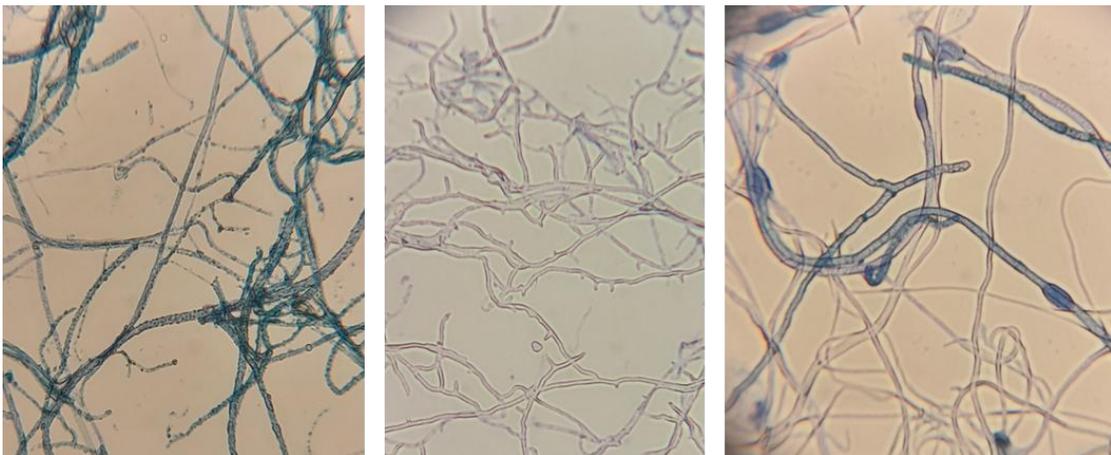


Figura 4. Hifas esterilizadas. Fuente: Samudio Y. 2024.

Tabla 2. Cálculos para la preparación del medio PDA.

PDA	Gentamicina
39 g de PDA para 1 L	1 ml contiene 30 mg de Gentamicina
39 g de PDA x 0.25 L =9.75 g de PDA	(Antibiótico)
PDA	$\frac{(0.01)(5)}{30 \text{ mg}} = 1.67 \text{ ml}$
Para 250 ml = 9.75 g de PDA	1.7 ml de Gentamicina se afora en 10 ml de agua destilada.

Fuente: Samudio Y. 2024.



Figura 5. Procedimiento de desinfección de la raíz.

Fuente: Samudio Y. 2024.

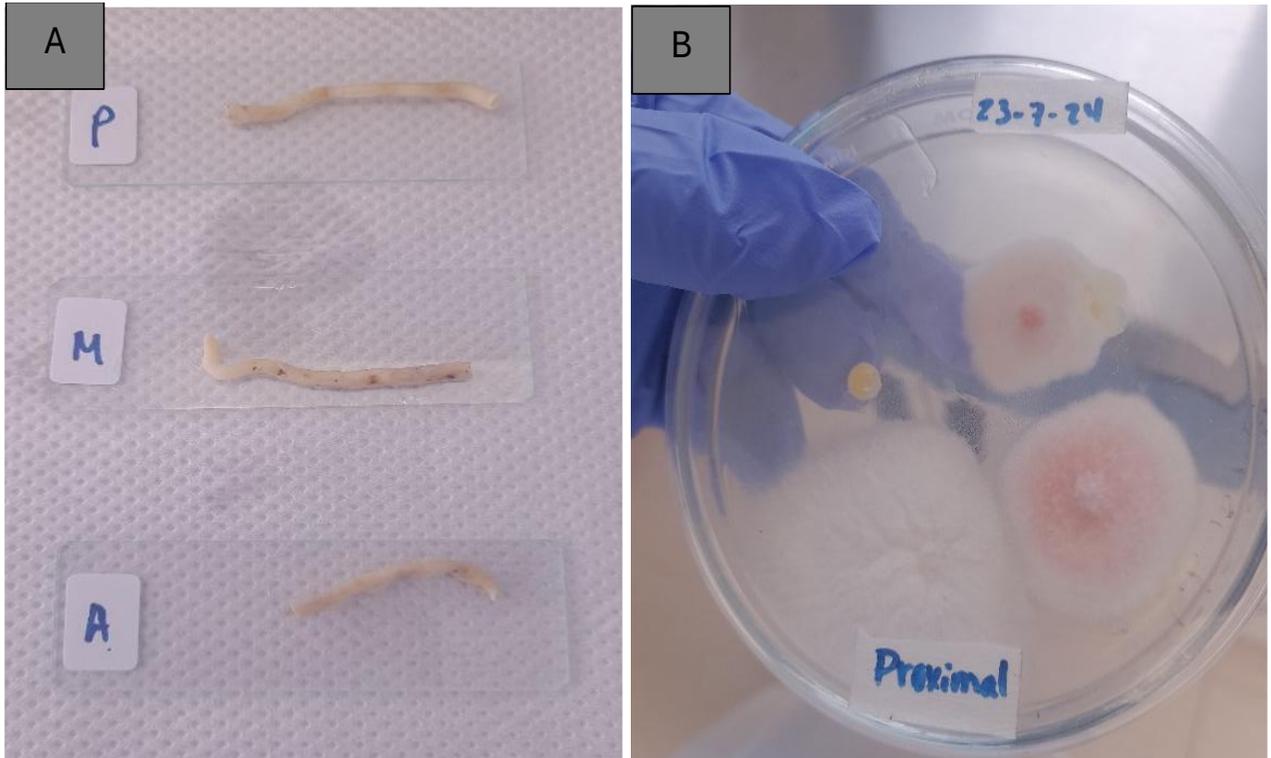


Figura 6. Zonas de división de la raíz y primeros resultados. A) (P) Proximal, (M) Media, (A) Apical. B) Crecimiento de hongos filamentosos en PDA.

Fuente: Samudio Y. 2024.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Obtención de los endófitos

Para esta investigación fueron examinados 72 fragmentos de raíz entre los cuatro lugares de estudio (Reserva Forestal el Montuoso, Boquete, Rio Sereno, y Las Minas), 18 por cada zona (apical, media y proximal) de los cuales en la zona proximal fueron identificados 5 géneros, en la zona apical ningún resultado y en la zona media se lograron identificar 5 géneros. Estos resultados obtenidos presentan una variación en lo encontrado por Matsumata et al. (2009) quienes señalan que en la zona apical para *Cephalanthera falcata* y *C. erecta* presentó una colonización de un 100 % y para la zona basal y media una colonización de 0 %. Sin embargo, Durán et al. (2007) menciona que el mayor porcentaje de colonización en la orquídea *Gavilea araucana* se encuentra en la región intermedia, seguida de la región proximal y, finalmente, la apical. Cabe mencionar que estas variaciones pueden verse afectado por diversos factores, como la edad de la planta, contaminación en el ambiente o el manejo de las muestras en el área de trabajo.

P. elata al igual que otras orquídeas presenta una gran variedad de hongos endófitos asociados a sus raíces (Tabla 3), también se ha logrado observar que los endófitos encontrados en el distrito de Boquete y Rio Sereno en la provincia de Chiriquí muestran mucha similitud. Esto puede deberse a las condiciones climáticas y del lugar en donde fueron extraídas las muestras, ya que en ambos lugares las plantas de *Peristeria* estaban en maceteros bajo techo; sin embargo, los endófitos identificados en las plantas de *P. elata* en Las Minas, Herrera son diferentes en base a lo encontrado en la provincia de Chiriquí (Tabla 3), esto puede deberse a las condiciones favorables que presentaba el sitio como lo es la Reserva Forestal El

Montuoso (RFM) y el patio del señor Elisondro Ramírez en donde las plantas de *Peristeria* recibían directamente los nutrientes del suelo y se encontraban bajo la sombra de los árboles.

4.2. Observación directa

Esta técnica se empleó para identificar si las raíces que habíamos colectado presentaban estructuras endofíticas (hifas o pelotones) para su posterior cultivo en medio PDA, ya que gran parte de los hongos endófitos, cuando se desarrollan dentro de estructuras vegetales, solo presentan hifas, lo que dificulta su identificación taxonómica por la escasez de estructuras de reproducción sexuales o asexuales como conidios y esporas (Sun & Guo, 2012).

Por medio de esta técnica se logró observar en un corte transversal, la formación de pelotones en los cortes de la zona proximal y zona media de las células de la corteza, a su vez, en el corte longitudinal se logró observar hifas que se conectaban entre cada célula (Figura 7 b). El tipo de tejido más comúnmente colonizado es el tejido de la corteza de la raíz, donde el hongo entra en las células, formando agregaciones de hifas o pelotones. Una vez dentro de la célula, el hongo se separa del citoplasma y por la membrana celular se produce la transferencia de nutrientes (Rasmussen, 1995).

Es importante señalar que estos microorganismos entran a la planta a través de la formación de esclerocios o micelio activo, la penetración hifal ocurre comúnmente cuando la hifa entra en contacto con un tricoma epidérmico de las células de la raíces o rizomas dependiendo de la especie de orquídea (Rasmussen y Whigham 2002).

4.3. Aislamiento y observación por medio de cultivo PDA

El aislamiento de los endófitos en *P. elata* realizados en el laboratorio de Microbiología y Biotecnología en la Universidad Autónoma de Chiriquí (UNACHI), dio como resultado la aparición de más de un hongo filamentoso por plato con PDA (Figura 6b), lo que llevó a trasladar para un nuevo cultivo cada colonia por separado en un cultivo puro respectivamente. Para cada cepa de cultivo puro se realizó la observación de los distintos colores, formas y tipo de crecimiento que presentaban las colonias.

Descripción de las cepas aisladas

Cepa N° 1 - Las Minas: Crecimiento en forma de roseta, color grisáceo con blanco, al reverso grisáceo con amarillo. Fue identificada como: *Colletotrichum* sp. 1

Cepa N° 2 – RFM: Crecimiento circular, blanco en forma de lana y a los bordes verde pálido, al reverso color crema tenue. Fue identificada como: *Stanjemonium* sp.

Cepa N° 3 – Rio Sereno: Crecimiento circular, rosado con blanco en forma de lana, al reverso rosado naranja con líneas crema similares a estrías. Fue identificada como: *Acremonium* sp. 1

Cepa N° 4 - Boquete: Crecimiento circular, Grisáceo- blanco, al reverso crema con gris oscuro. Fue identificada como: *Acremonium* sp. 2

Cepa N° 5 – Rio Sereno: Radialmente estriado con borde lobulado, dura y de color negro, al reverso negro-gris. Fue identificada como: *Curvularia* sp.

Cepa N° 6 – Rio Sereno: Crecimiento circular, morado claro con blanco en forma de lana, al reverso morado con rosado con líneas crema. Fue identificada como: *Acremonium* sp. 3

Cepa N° 7 – Rio Sereno: Crecimiento circular, algodonoso, púrpura con blanco, al reverso crema pálido con rojo vino. Fue identificada como: *Fusarium* sp. 1

Cepa N° 8 – Las Minas: Crecimiento circular, algodonoso grisáceo, al reverso un gris más intenso. Fue identificada como: *Scytalidium* sp.

Cepa N° 9 – Las Minas: Crecimiento circular, grisáceo y blanco, al reverso gris oscuro con pequeñas manchas amarillas. Fue identificada como: *Colletotrichum* sp. 2

Cepa N° 10 - Boquete: Crecimiento circular, rosado- blanco algodonoso, al reverso rosado intenso. Fue identificada como: *Fusarium* sp. 2

4.4. Identificación de los endófitos

De las muestras revisadas se identificó un total de 10 morfoespecies de hongos endófitos, a través de la observación de sus características en el medio PDA y sus características microscópicas (microconidios, macroconidios, setas, fiálides y conidióforos) de cada uno fue medido un aproximado de 20 estructuras, el largo por el ancho (L x A) a través del microscopio óptico.

En la tabla 4, se puede observar la descripción de cada morfoespecie, la formación de la colonia en PDA y el rol que ejerce cada individuo.

Una de las especies identificadas fue *Colletotrichum* sp. (Figura 8 y 16), encontrado únicamente en Las Minas de Herrera (Tabla 3) el cual se reconoce tradicionalmente como un género asexual de hongos, con varias especies vinculadas a morfos sexuales asignados al género *Glomerella* (Zhang et al., 2006, Réblová et al., 2011). Este hongo presentó macroconidios no septados con valores máximos (L x A) = (2.5- 2.5), valores mínimos (L x

A) = (0.6- 0.4) y un promedio de (1.72- 0.74); también presentaron setas marrón con 2-3 septos con valores máximos (L x A) = (2.2- 0.4), valores mínimos (L x A)=(0.3 x 0.1) y un promedio de (1.27-0.165).

El género *Colletotrichum* incluye patógenos vegetales de, causantes de enfermedades en una amplia variedad de plantas leñosas y herbáceas. Tiene una distribución principalmente tropical y subtropical, aunque hay algunas especies de alto perfil que afectan a los cultivos templados (Cannon et al, 2012). Algunas especies de *Colletotrichum* son promotoras de la producción de auxinas, la cual es una hormona que ayuda para el crecimiento de la planta (Shah et al. 2019).

Estudios de la especie de *C. orbiculare* condujeron a la transformación de cepas patógenas en formas endofíticas, en donde se demostró que estas exhiben actividad mutualista mediante protección contra cepas virulentas de la misma especie y también contra patógenos de *Fusarium* (Pain et al., 1994; Rodriguez et al., 2000).

En las localidades de Boquete y Rio Sereno, Chiriquí, Panamá, se han identificado las siguientes morfoespecies de hongos endófitos: *Acremonium* sp., *Curvularia* sp. y *Fusarium* sp.

El género *Acremonium* (Figura 10), comprende mohos que carecen de cualquier estado sexual conocido o formas teleomorfas, por lo tanto, pertenece al grupo Fungi Imperfecti. Sin embargo, debido a que posee características estructurales similares a las del grupo Ascomycota, a menudo se incluye en ese filum (*Acremonium Spp.* | *INSPQ*, s. f.). *Acremonium* es reconocido como un género altamente ubicuo que incluye hongos saprófitos, parásitos o endófitos que habitan una variedad de ambientes (Hou et al., 2023).

Este hongo presentó variaciones en algunas estructuras dependiendo el área de estudio, las muestras de Boquete presentaron macroconidios cilíndricos con 1-3 septos, fiálides grandes y microconidios redondos. Las medidas para los macroconidios fueron: Valores máximos (L x A) = (2.3- 0.6) valores mínimos (0.7- 0.3) y promedio (1.35-0.45). Fiálides, valores máximos (9.3- 0.5) valores mínimos (4- 0.2) y promedio (6.3- 0.36). Microconidios, valores máximos (3- 0.5) valores mínimos (0.3- 0.3) y promedio (0.51- 0.37). Sin embargo, las muestras de Rio Sereno presentaron macroconidios cilíndricos fusiformes sin septos y fiálides cortas. Las medidas para los macroconidios son: valores máximos (2-0.6) valores mínimos (0.5- 0.2) y promedio de (1.14- 0.365). Fialides, valores máximos (6.5- 0.3) valores mínimos (1.1-0.1) y promedio (2.395- 0.125).

Cabe destacar que al momento de trabajar las muestras y llegar a su identificación se puede confundir con *Fusarium* sp. Sin embargo, poseen características específicas para su identificación (Ellis, 2024).

La otra especie identificada fue *Curvularia* sp. (Figura 12). El género *Curvularia* tiene una distribución mundial que incluye patógenos o saprofitos de una amplia gama de huéspedes vegetales (Marin et al. 2020). También incluyen especies de endófitos (Fungal ecology, 2017). *Curvularia* se caracteriza por la producción de conidios distoseptados marrones, generalmente con células terminales más pálidas y células intermedias agrandadas, lo que contribuye a su curvatura característica.

Este hongo presentó macroconidios reniforme-fusiformes de color marrón, septos y extremos hialinos. Sus medidas fueron para valores máximos (2.7-0.9) valores mínimos (1- 0.6) y promedio (1.8- 0.73).

La curvatura de los conidios es la principal diferencia con el género similar *Bipolaris*, ya que en este último la curvatura, cuando está presente, es a lo largo de la longitud del conidio. En *Bipolaris*, los conidios también suelen ser más largos que en *Curvularia* (Sivanesan 1987,; Marin-Felix et al. 2017).

La morfoespecie *Fusarium* sp. (Figura 14 y 17), identificado en estas dos localidades es uno de los grupos más importantes de hongos fitopatógenos. Muchas especies del género *Fusarium* pueden provocar reducciones en el rendimiento de una gran diversidad de cultivos al producir una variedad de micotoxinas, que afectan también a la salud humana y animal (Munkvold et al., 2020,; Wei y Wu, 2020). Sin embargo, también se ha demostrado que las especies de *Fusarium* son una fuente rica de una gran cantidad de productos naturales estructuralmente diversos, como alcaloides, terpenoides, quinonas, pirrolidonas, piridinas y piranonas (Tian et al., 2024).

La morfoespecie presentó macroconidios alargados y curvados con 3 septos en ambas regiones y microconidios ovalados, sin septos y alta presencia de clamidosporas en la región de Rio Sereno. Las medidas para los macroconidios de *Fusarium* sp. Boquete fueron: valores máximos (2.5- 0.6) valores mínimos (0.8- 0.3) y promedio (1.585- 0.43). Las medidas para *Fusarium* sp. Rio Sereno son: macroconidios, valores máximos (4.5- 0.4) valores mínimos (1.2- 0.2) promedio (3.735- 0.32); microconidios, valores máximos (1.7- 0.4) valores mínimos (0.4- 0.2) promedio (0.99- 0.3).

Como siguiente identificación tenemos la especie *Stanjemonium* sp. (Figura 9), es un hifomiceto morfo sexual desconocido, se pueden encontrar en el suelo y posee una distribución mundial (Tintim, s. f.). Sin embargo, Dereck Johnson (2024) lo define como un hongo filamentoso saprotrófico, cuyo trabajo en la secuenciación del genoma de *S.*

grisellum permitirá exámenes más profundos de la diversificación y evolución de CAZyme y proteasa como respuesta a cambios nutricionales y del huésped.

Este hongo presentó conidióforos fasciculados y fiálides en racimos, con microconidios cilíndricos y redondos. Las medidas para los microconidios fueron: valores máximos (1.1-0.5) valores mínimos (0.4-0.2) promedio (0.69-0.315).

Como última identificación tenemos a *Scytalidium* sp. (Figura 15), este género comprende desde endófitos, hasta provocar enfermedades fúngicas diversas en animales y personas (Grooters, 2021,; Jutta et al. 2021).

Este hongo presentó la formación de clamidosporas con formas redondas y alargadas sus medidas fueron: redondas, valores máximos (1.2- 1) valores mínimos (0.5- 0.5) y promedio (0.835- 0.77); alargadas, valores máximos (2- 0.7) valores mínimos (1- 0.5) promedio (1.39- 0.615).

Los hongos ascomicetos pertenecientes al género *Scytalidium* son fitopatógenos ampliamente distribuidos en todo el mundo y asociados principalmente a plantas y árboles frutales, como limoneros o plátanos, o aislados del suelo. Se han incluido más de 15 especies dentro del género, dos de ellas significativamente involucradas en la patología humana (Wackett, 2014).

Es de suma importancia mencionar que ya sea por mutación, por un cambio en el ambiente, el estado nutricional o la edad de la planta, un endófito latente puede convertirse en patógeno o viceversa (Ovando et al., 2005; Lana et al., 2011).

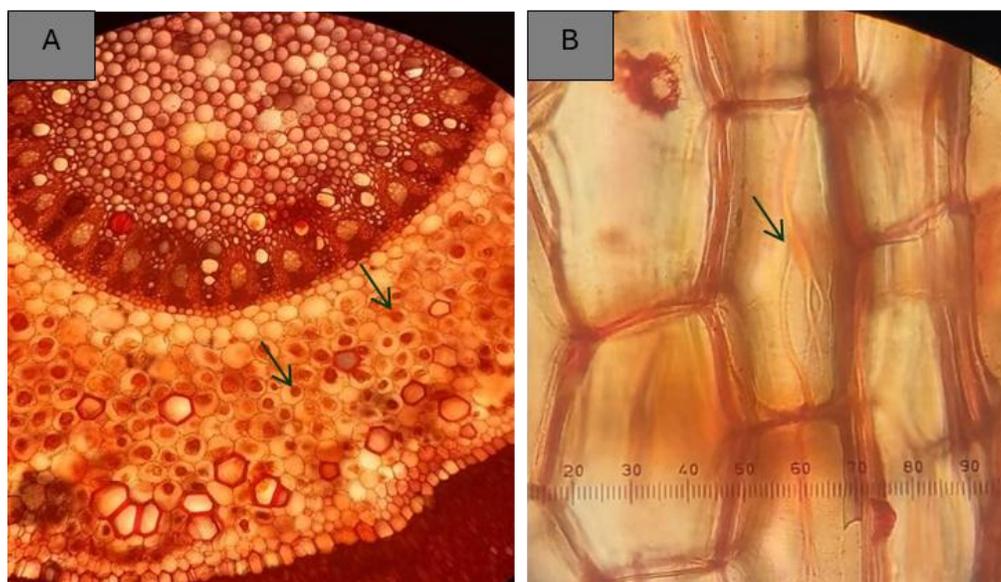


Figura 7. Observación directa al microscopio. A) Corte transversal de la raíz de *P. elata* 10 x, formación de pelotones en el parénquima cortical, B) Corte longitudinal de raíz de *P. elata* 40 x, formación de hifas interconectadas. Fuente: Samudio Y. 2024.

Tabla 3. Comparación de los endófitos en los diferentes sitios.

Género de endófito	Sitios de Muestreo			
	RFM	Boquete	Rio Sereno	Las Minas
<i>Colletotrichum</i> sp1.				●
<i>Colletotrichum</i> sp2.	●			
<i>Stanjemonium</i> sp.	●			
<i>Acremonium</i> sp1.			●	
<i>Acremonium</i> sp2.		●		
<i>Acremonium</i> sp3.			●	
<i>Curvularia</i> sp.		●	●	
<i>Fusarium</i> sp1.			●	
<i>Fusarium</i> sp2.		●		
<i>Scytalidium</i> sp.				●

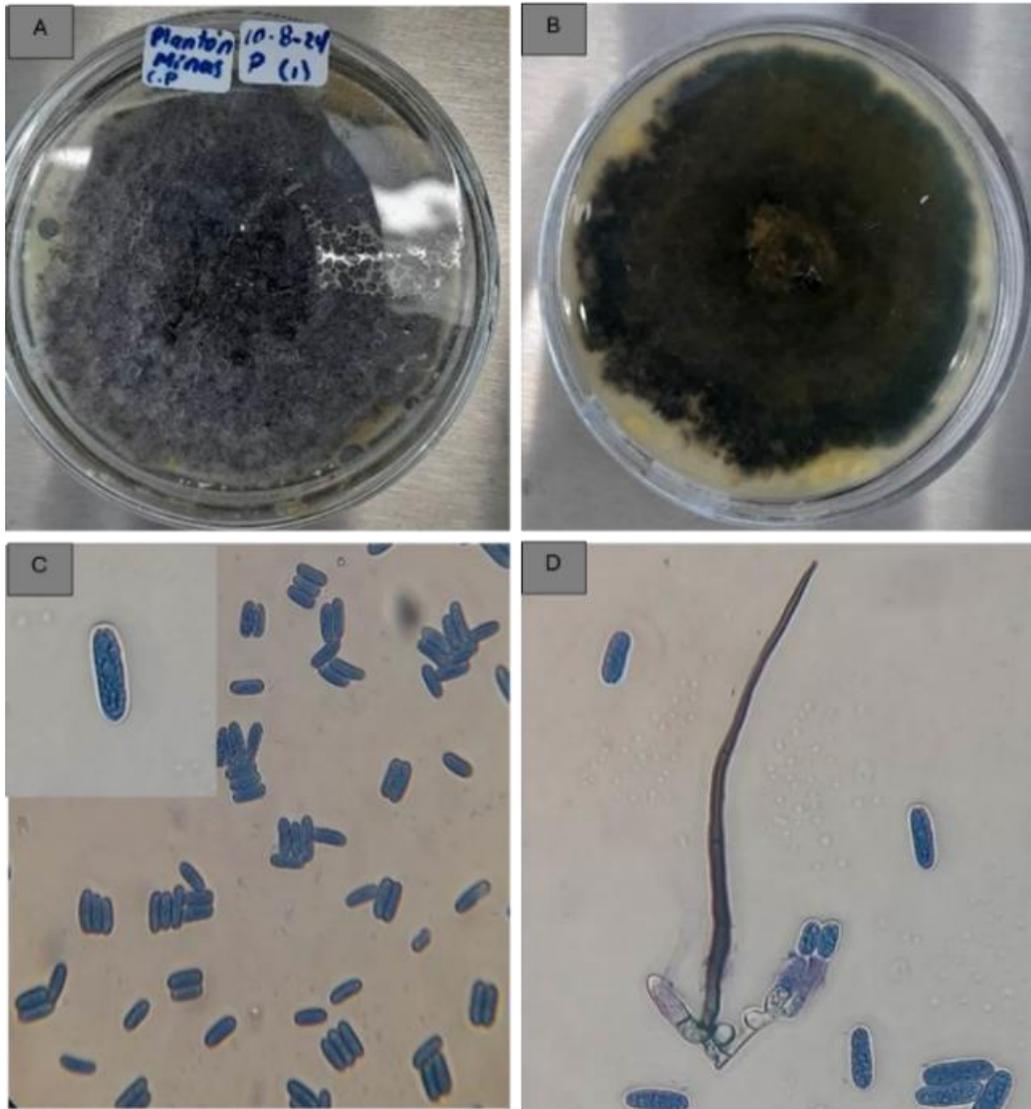


Figura 8. *Colletotrichum* sp. 1. A) Características de la colonia en PDA en vista superior, B) Características de la colonia en PDA en vista inferior, C) Macroconidios) D) Seta. Fuente: Samudio Y. 2024.

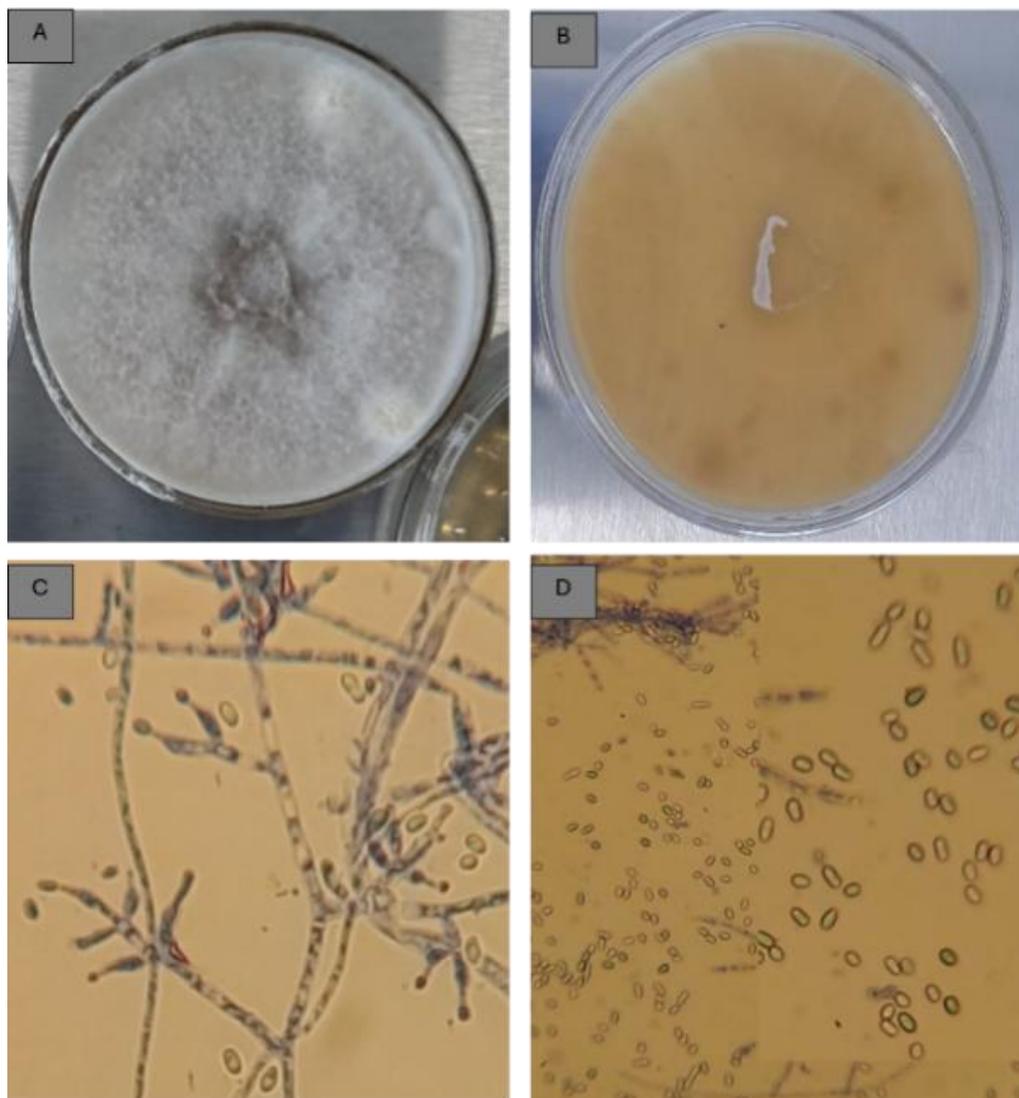


Figura 9. *Stanjemonium sp.* A) Características de la colonia en PDA en vista superior, B) Características de la colonia en PDA en vista inferior, C) Conidióforos, D) Conidios. Fuente: Samudio Y. 2024.

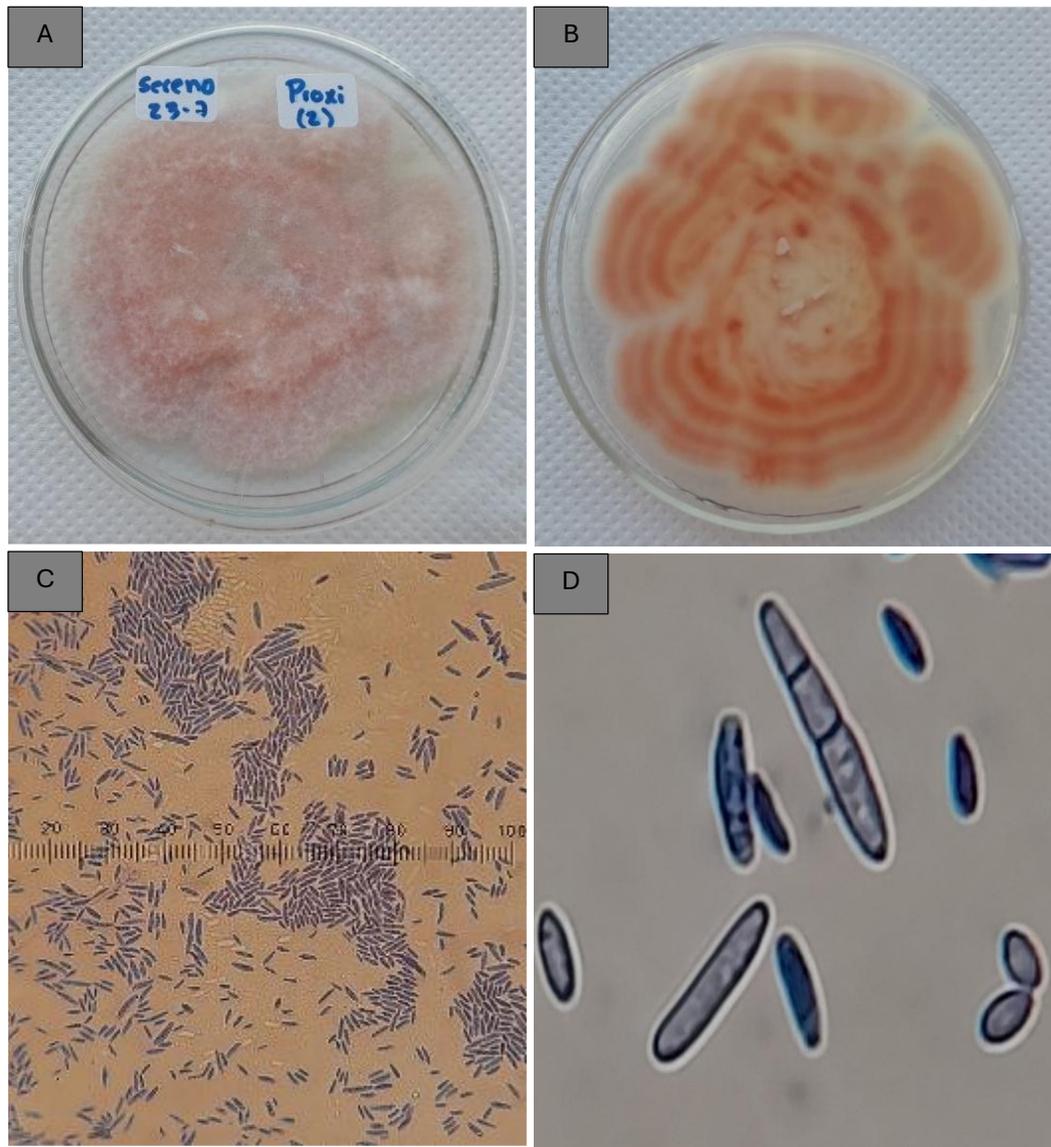


Figura 10. *Acremonium* sp. 1. A) Características de la colonia en PDA en vista superior, B) Características de la colonia en PDA en vista inferior, C) Conidios, D) Macroconidios y microconidios. Fuente: Samudio Y. 2024.

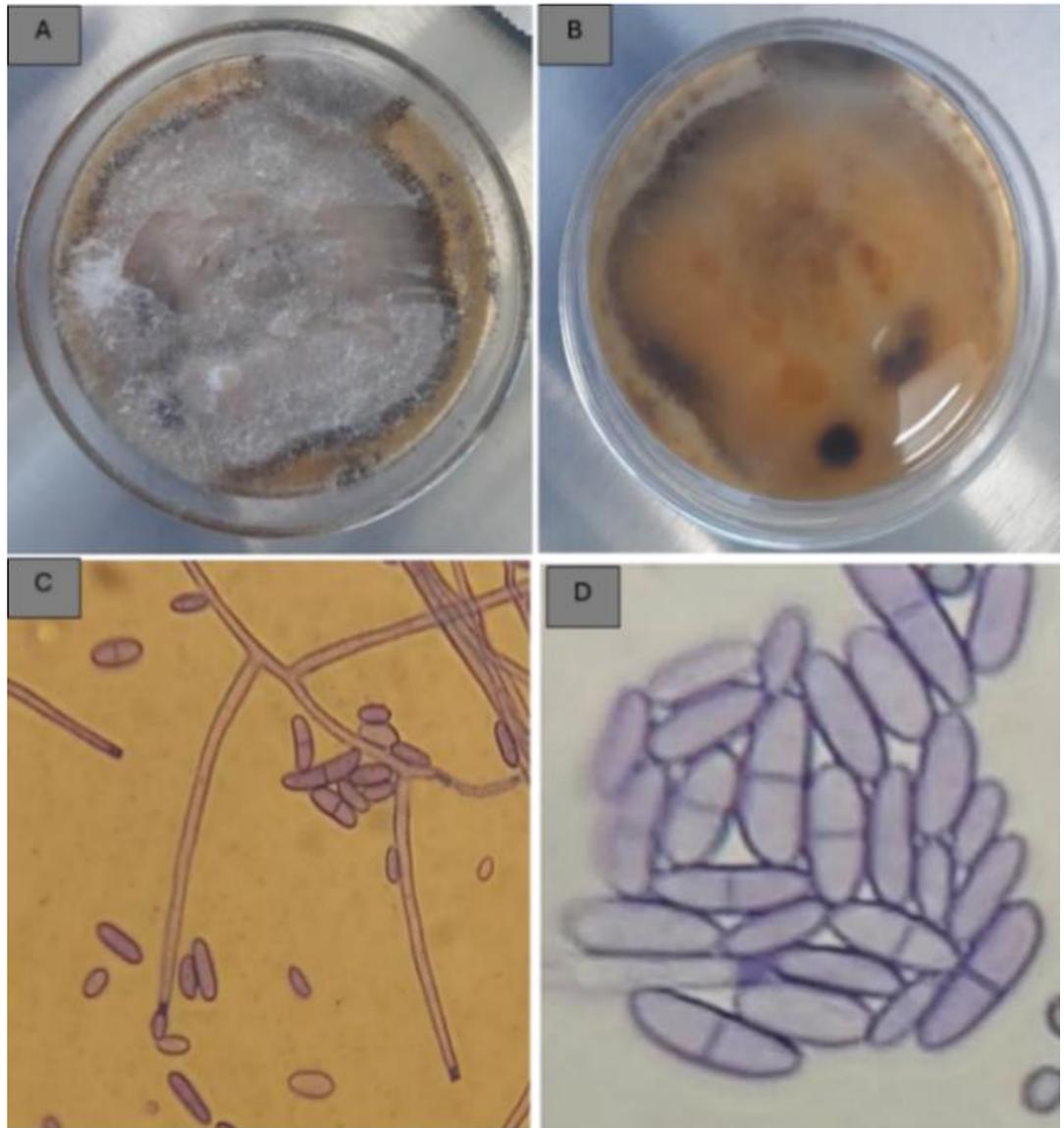


Figura 11. *Acremonium sp. 2.* A) Características de la colonia en PDA en vista superior, B) Características de la colonia en PDA en vista inferior, C) Fiálides, D) Macroconidios. Fuente: Samudio Y. 2024.

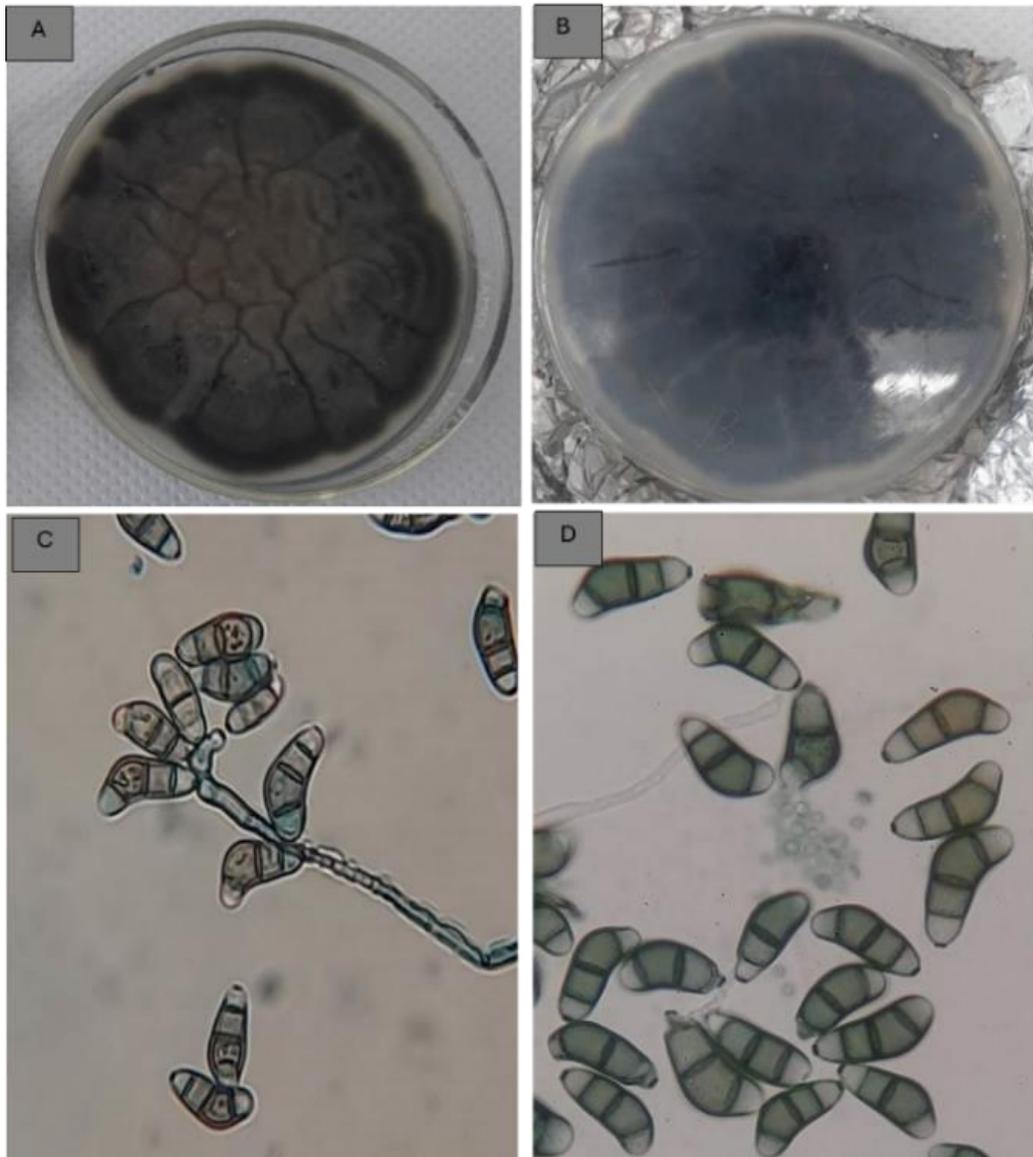


Figura 12. *Curvularia* sp. A) Características de la colonia en PDA en vista superior, B) Características de la colonia en PDA en vista inferior, C) Conidióforo, D) Macroconidios. Fuente: Samudio Y. 2024.

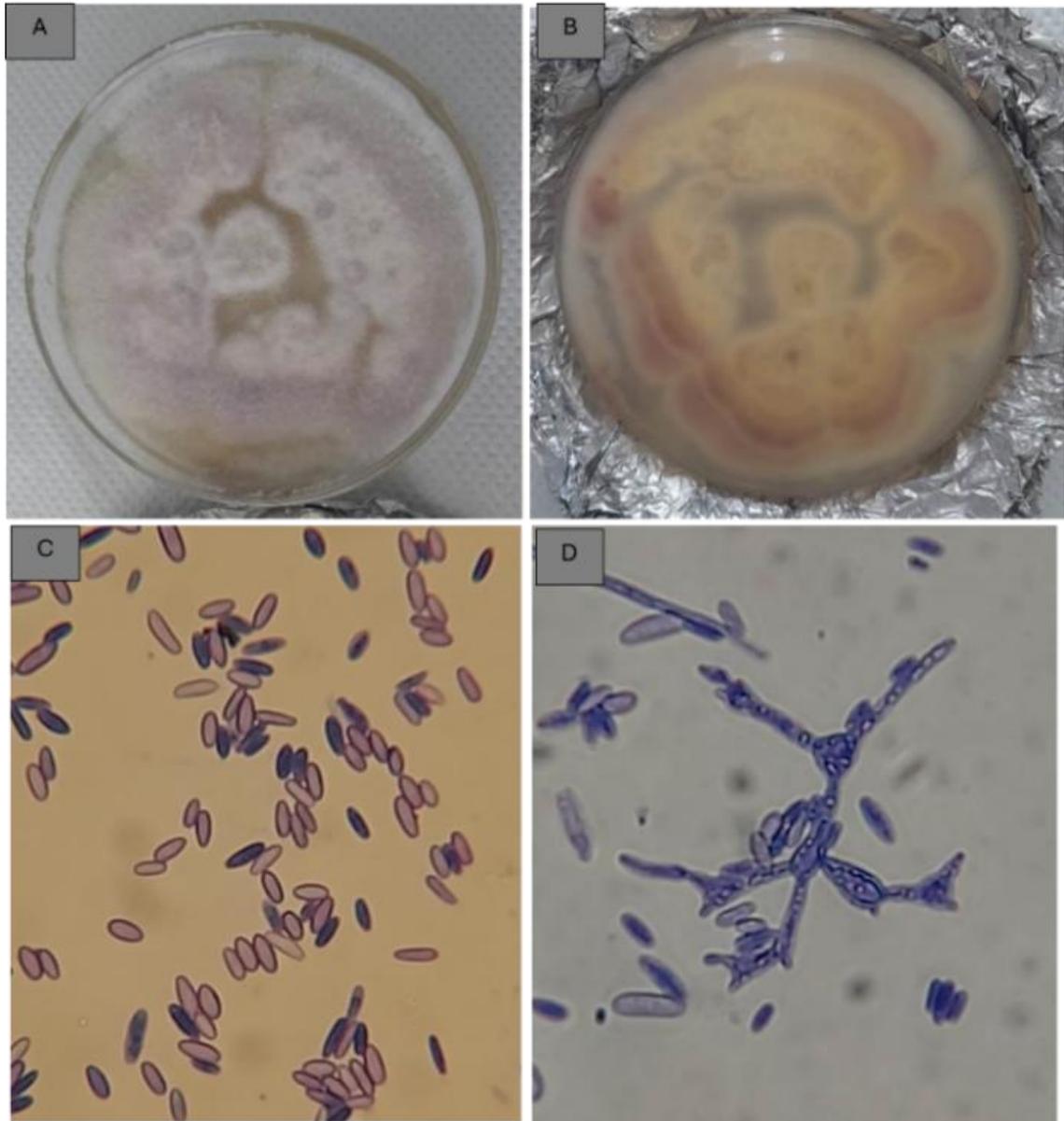


Figura 13. *Acremonium* sp3. A) Características de la colonia en PDA en vista superior, B) Características de la colonia en PDA en vista inferior, C) Conidios, D) Clamidosporas. Fuente: Samudio Y. 2024.

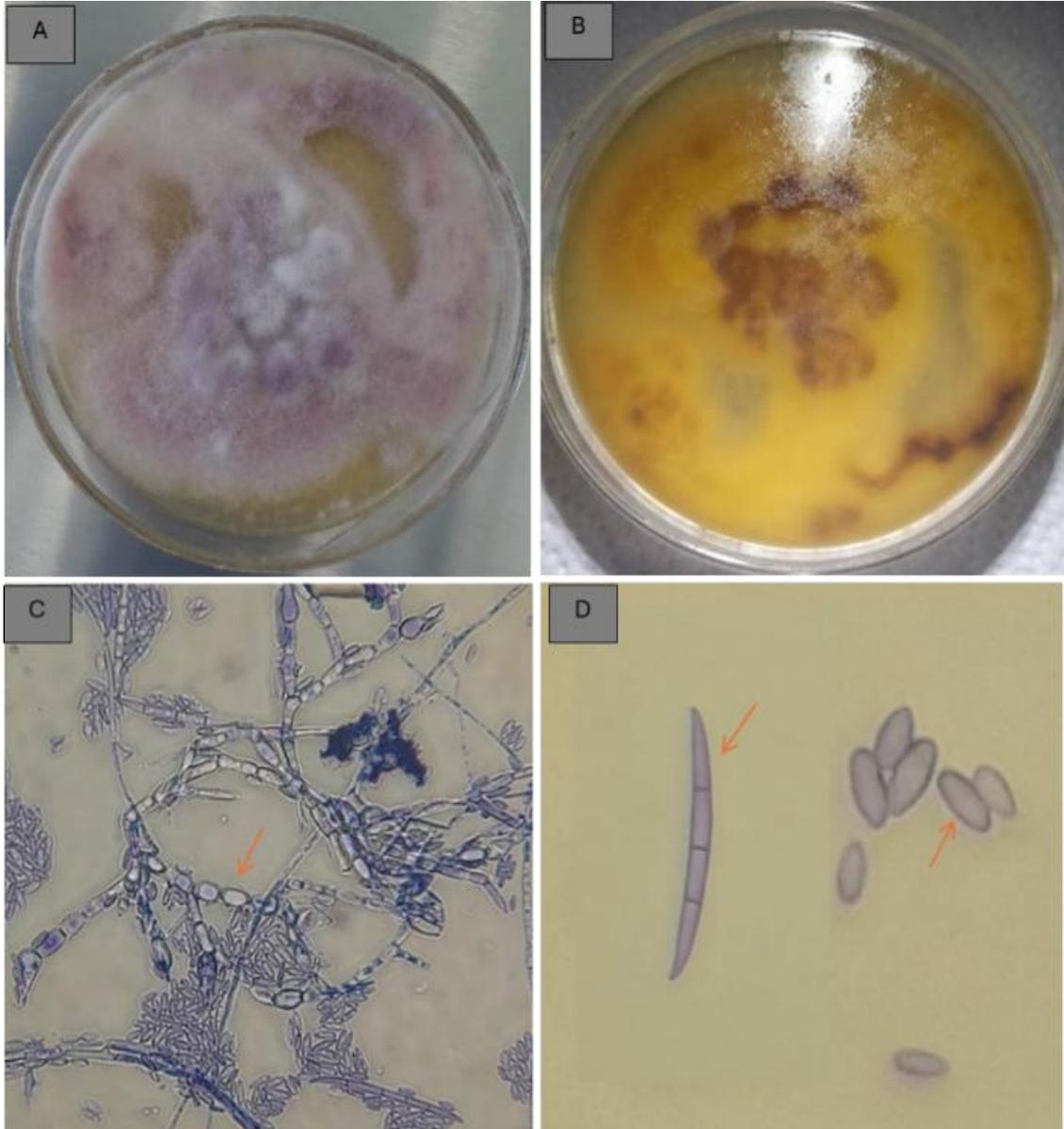


Figura 14. *Fusarium sp1*. A) Características de la colonia en PDA en vista superior, B) Características de la colonia en PDA en vista inferior, C) Clamidosporas, D) Izq. Macroconidios; dere. Microconidio. Fuente: Samudio Y. 2024.

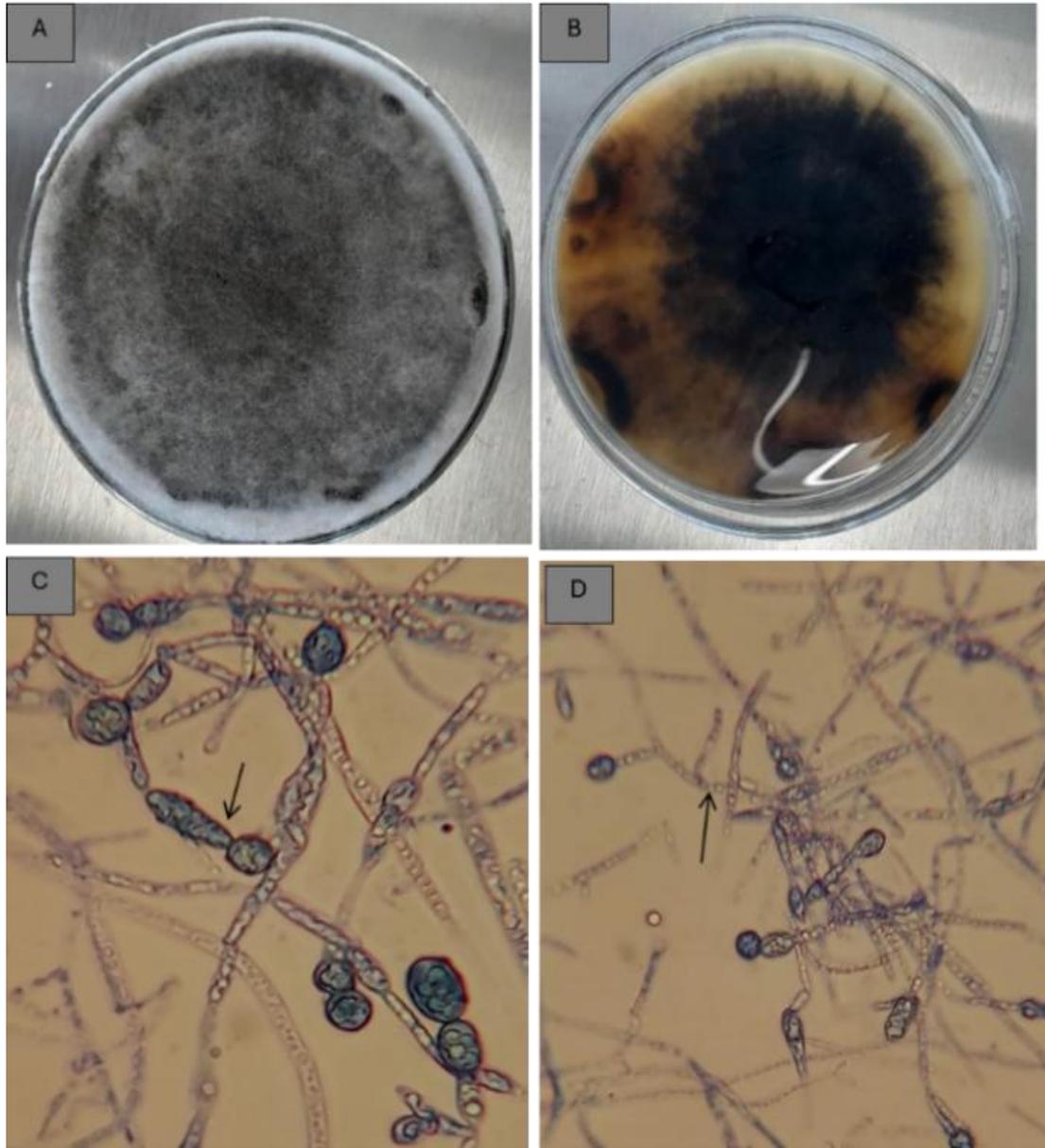


Figura 15. *Scytalidium* sp. A) Características de la colonia en PDA en vista superior, B) Características de la colonia en PDA en vista inferior, C) Clamidosporas, D) Hifas.
Fuente: Samudio Y. 2024

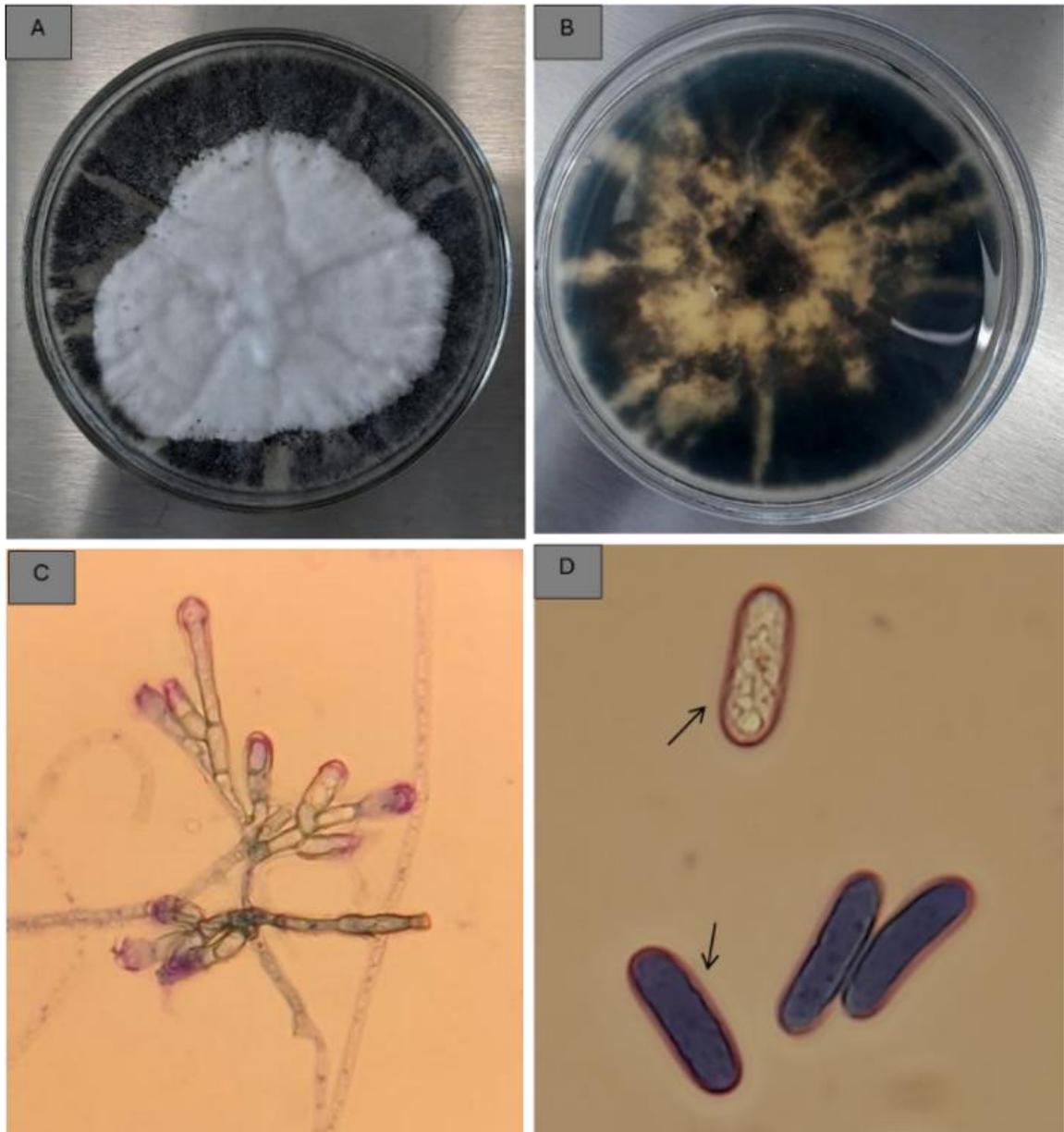


Figura 16. *Colletotrichum* sp2. A) Características de la colonia en PDA en vista superior, B) Características de la colonia en PDA en vista inferior, C) Conidióforo, D) Macroconidios. Fuente: Samudio Y. 2024.

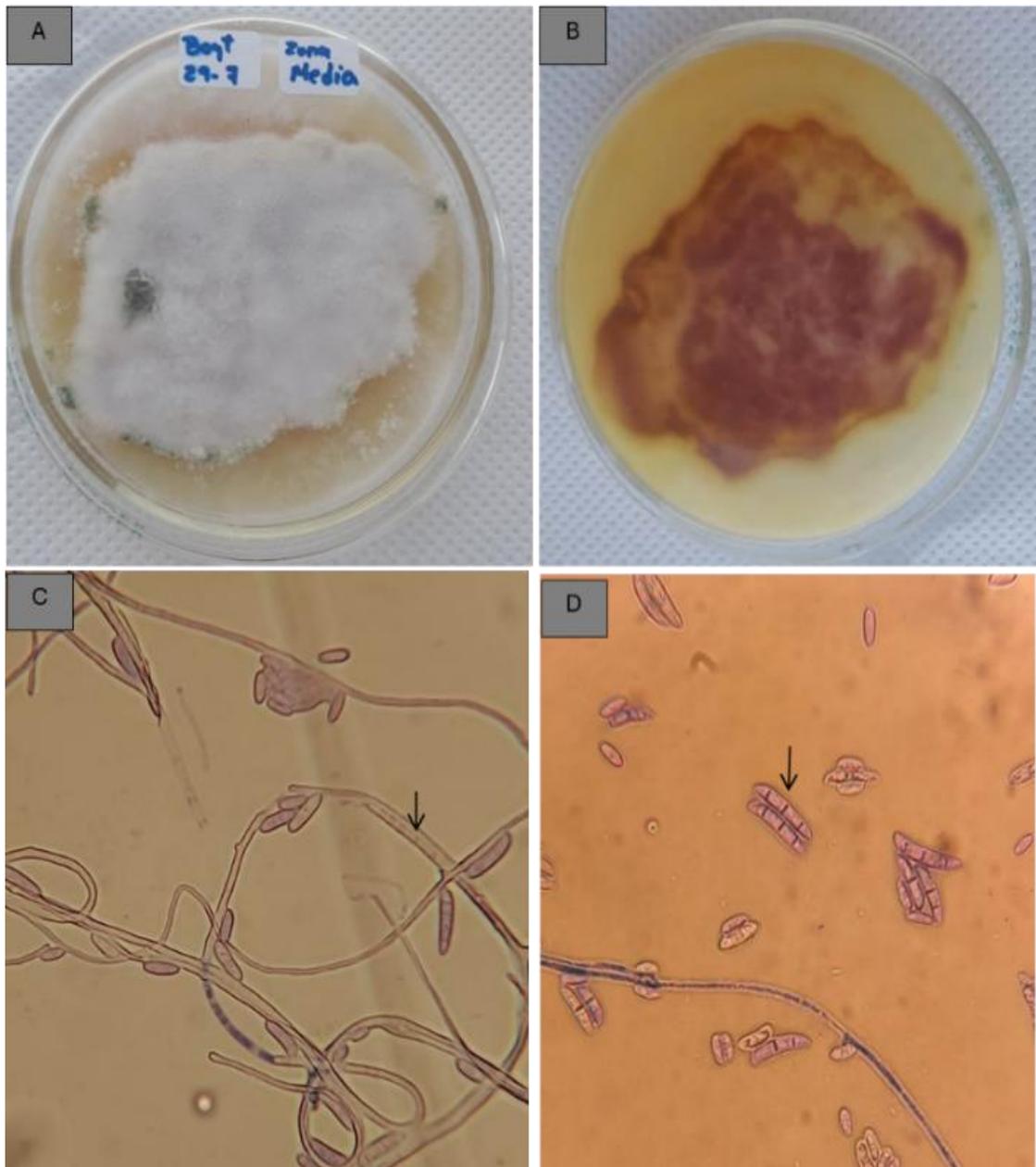


Figura 17. *Fusarium sp2*. A) Características de la colonia en PDA en vista superior, B) Características de la colonia en PDA en vista inferior, C) Hifas, D) Macroconidios.
Fuente: Samudio Y. 2024.

Tabla 4. Hongos identificados y sus características.

MORFOESPECIE DE HONGO	CARACTERÍSTICA DE LAS COLONIAS EN PDA	FORMA Y TAMAÑO DE LOS MACROCONIDIOS	FORMA Y TAMAÑO DE LOS MICROCONIDIOS	CARACTERÍSTICA DE OTRAS ESTRUCTURAS)	ROL IDENTIFICADO
1 <i>Colletotrichum</i> sp. (Las Minas)	Crecimiento en forma de roseta, color grisáceo con blanco, al reverso grisáceo con amarillo.	Alargados y ovalados, sin septos. A veces agrupados de 2 a 4 en algunos casos hasta 6 macroconidios unidos	No presenta	Setas marrones con 2-3 septos	Endófito Micorrícico, Fitopatógeno, Promotoras en la producción de auxinas (Xiaoya et al., 2015; Trinidad-Ángel

					et al., 2017; Shah et al. 2019).
<p><i>Colletotrichum</i> sp. 2 (RFM)</p>	<p>Crecimiento circular, grisáceo y blanco, al reverso gris oscuro con pequeñas manchas amarillas.</p>	<p>Alargados y ovalados, no presenta septos</p>	<p>No presenta</p>	<p>Conidióforos largos.</p>	<p>Endófito Micorrícico, Fitopatógono, Promotoras en la producción de auxinas (Xiaoya et al., 2015; Trinidad-Ángel et al., 2017; Shah et al., 2019).</p>

<p><i>Stanjemonium</i> sp. (RFM)</p>	<p>Crecimiento circular, blanco en forma de lana y a los bordes verde pálido, al reverso color crema tenue.</p>		<p>Cilíndricas y redondas</p>	<p>Conidióforos fasciculados y fiálides en racimos.</p>	<p>Saprófitos (Johnson, D. 2024).</p>
<p><i>Acremonium</i> sp. 1 (Rio Sereno)</p>	<p>Crecimiento circular, rosado con blanco en forma de lana, al reverso rosado naranja con líneas crema similares a estrias.</p>	<p>Cilíndricos, fusiformes, no tienen septos</p>	<p>No presenta</p>	<p>Fiálides cortas</p>	<p>Micorrízico, Saprófitos (Xiaoya et al., 2015; Hou et al., 2023).</p>

<p><i>Acremonium</i> sp. 2 (Boquete)</p>	<p>Crecimiento circular, Grisáceo-blanco, al reverso crema con gris oscuro.</p>	<p>Cilíndricos (1-3 septos)</p>	<p>Redondos con ornamentación verrugosa.</p>	<p>Fiálides grandes</p>	<p>Micorrícico, Saprófitos (Xiaoya et al., 2015; Hou et al., 2023).</p>
<p><i>Acremonium</i> sp. 3 (Rio Sereno)</p>	<p>Crecimiento circular, morado claro con blanco en forma de lana, al reverso morado con rosado con líneas crema.</p>	<p>Cilíndricos no tienen septos</p>	<p>No presenta</p>	<p>No presenta</p>	<p>Endófito Micorrícico, Saprófitos (Gamboagaitán s. f.; Xiaoya et al., 2015; Hou et al., 2023).</p>

<p><i>Curvularia</i> sp. (Rio Sereno)</p>	<p>Radialmente estriado con borde lobulado, dura y de color negro, al reverso negro-gris.</p>	<p>Reniforme, fusiformes (1-3 septos) con extremos hialinos y en el extremo superior como especie de una boquilla oscura.</p>	<p>No presenta</p>	<p>No presenta</p>	<p>Endófito, saprofito y Fitopatígeno. (Marin et al. 2020; Fungal ecology, 2017).</p>
<p><i>Fusarium</i> sp.1 (Rio Sereno)</p>	<p>Crecimiento circular, algodonoso, purpura con blanco, al reverso crema pálido con rojo vino.</p>	<p>Alargadas y curvadas similares a una banana, (3 septos).</p>	<p>Sin septos, con forma ovalada</p>	<p>Alta presencia de clamidosporas</p>	<p>Producción de ácido giberélico (Fitohormona). Producción de ácido ascórbico el cual promueve crecimiento y</p>

					desarrollo del huésped. (Shah et al., 2019; Yu et al., 2015).
<i>Fusarium</i> sp. 2 (Boquete)	Crecimiento circular, rosado-blanco algodonoso, al reverso rosado intenso.	Formas ovaladas, fusiforme, bananas (1-3 septos).	No presenta	No presenta	Producción de ácido giberélico (Fitohormona). Producción de ácido ascórbico el cual promueve crecimiento y desarrollo del huésped.

					(Shah et al., 2019; Yu et al., 2015).
<i>Scytalidium</i> sp. (Las Minas)	Crecimiento circular, algodonoso grisáceo, al reverso un gris más intenso	No presenta	No presenta	Clamidosporas en forma redondas y alargadas.	Saprófitos, patógenos (Grooters, 2021; Jutta et al. 2021)

CAPÍTULO V. Consideraciones finales

5.1. Conclusiones

- En este estudio se determinó la diversidad de hongos endófitos presentes en la raíz de *Peristeria elata* en las Minas Herrera, Rio Sereno y Boquete Chiriquí, con un total de 10 morfoespecies encontrados que pertenecen a un total de 6 géneros de hongos siendo: *Acremonium*, *Colletotrichum*, *Curvularia*, *Fusarium*, *Scytalidium*, *Stanjemonium*. En Las Minas Herrera se encontraron *Colletotrichum*, *Scytalidium* y *Stanjemonium* y en Rio Sereno y Boquete *Acremonium*, *Curvularia* y *Fusarium*.
- Se identificó que *Acremonium* sp. 1, sp. 2 y sp. 3 y *Fusarium* sp.1 y sp. 2 (Boquete y Rio Sereno) presentaron variantes en cuanto a crecimiento y forma de sus conidios. Por lo que en estudios posteriores deberá determinarse si pertenecen a la misma especie o a especies diferentes.
- La técnica empleada con el medio de cultivo PDA permitió el crecimiento de los hongos endófitos en un periodo de 4 a 8 días.

5.2. Recomendaciones

- Se recomienda la utilización de técnicas moleculares para la identificación de las especies de los endófitos encontrados y los microorganismos no identificados mediante la extracción de ADN.
- Realizar estudios sobre el control de fitopatógenos en orquídeas, específicamente *Peristeria elata*, a través del uso de hongos endófitos que ayuden a contrarrestar los efectos negativos que provocan signos de enfermedad.
- Se recomienda para futuras investigaciones el uso estricto de desinfección del área de trabajo para evitar contaminaciones externas.

Referencias Bibliográficas

- *Acremonium spp.* | *INSPQ.* (s. f.). Institut National de Santé Publique Du Québec. <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/acremonium-spp#:~:text=Acremonium%20species%20are%20infrequent%20pathogens,subjects%20%7B2105%3B%20316%7D>.
- Arenas, R. (2008). *Micología Médica Ilustrada*, FREELIBROS.ORG. <https://anyflip.com/vede/gwnz>
- Arditti, J., & Ghani, A. K. A. (2000). Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications. *Tansley Review No. 110. 145(3), 367–421. The New Phytologist.* <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.2000.00587.x>
- Amy M. Grooters, 87 - *Miscellaneous Fungal Diseases*, Editor(s): Jane E. Sykes, *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat (Fifth Edition)*, W.B. Saunders, 2021, Pages 1094-1104, ISBN 9780323509343, <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-50934-3.00087-2>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323509343000872>)
- ANAM. 2010. Línea base de la reserva forestal Montuoso. Gobierno de la República de Panamá. 48 pág.
- Barrios, M., Estrada, E., Vásquez, F., Álvarez, G., Rodríguez, F., & Beroy, V. (2010, 4 agosto). *LÍNEA BASE DE LA RESERVA FORESTAL MONTUOSO*. The International Tropical Timber Organization.
- https://www.itto.int/files/itto_project_db_input/2902/technical/L%C3%ADnea%20base%20Reserva%20Forestal%20Montuoso.pdf?v=1709399164

- Barnett L.H. y Hunter B.B. 2006. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth Edition. American Phytopathological Society. https://www.academia.edu/35499449/Illustrated_genera_of_imperfect_fungi_fourth_edition_Barnett_y_Hunter_pdf_pdf
- Batty A. L., K.W. Dixon, M. C. Brundrett y K. Sivasithamparam. 2002. Constraints to symbiotic germination of terrestrial orchid seed in Mediterranean bushland. *New Phytologist*. 152: 511-521.
- Bratcher, J. (2021). Aislamiento de hongos endófitos foliares y fitopatógenos en cinco árboles de la Reserva Forestal Montuoso provincia de Herrera. Licenciatura en Biología con orientación en Microbiología y Parasitología, Universidad de Panamá]. https://up-rid.up.ac.pa/6631/1/jonathan_bratcher.pdf
- Burica Press, Panamá por Dentro (2007). Reserva Forestal El Montuoso, Características generales. <https://burica.wordpress.com/2007/07/06/reserva-forestal-el-montuoso-caracteristicas-generales>
- Cannon, P., Damm, U., Johnston, P., & Weir, B. (2012). Colletotrichum – current status and future directions. *Studies In Mycology*, 73, 181-213. <https://doi.org/10.3114/sim0014>
- CASTELLANI, A. 1939. Viability of Somen Pathogenic Fungi in Distilled Water. J. 226 pág.
- Centro ANAM Reserva Forestal El Montuoso - Herrera - Descubre Panamá. (2024, 30 agosto). *Descubre Panamá*. <https://www.descubre.com.pa/senderos/reserva-forestal-el->

- Gamboagaitán, M. A. (s. f.). *HONGOS ENDÓFITOS TROPICALES: CONOCIMIENTO ACTUAL y PERSPECTIVAS*.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-548X2006000300001
- Garibaldi, C. (2016). Bienes y servicios ecosistémicos, y su percepción social en la Reserva Forestal el Montuoso. *Uuniversidaddepanam*.
https://www.academia.edu/116147004/Bienes_y_servicios_ecosist%C3%A9micos_y_su_percepci%C3%B3n_social_en_la_Reserva_Forestal_el_Montuoso?uc-sb-sw=64835003
- Gitta Jutta, Johanna Bußkamp, Eeva Terhonen, Kathrin Blumenstein, Chapter 10 - Fungi inhabiting woody tree tissues, Editor(s): Fred O. Asiegbu, Andriy Kovalchuk, In *Forest Microbiology*, Forest Microbiology, Academic Press, 2021, Pages 175-205, ISBN 9780128225424, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822542-4.00012-7>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128225424000127>)
- Hou, L., Giraldo, A., Groenewald, J., Rämä, T., Summerbell, R., Huang, G., Cai, L., & Crous, P. (2023). Redisposition of acremonium-like fungi in Hypocreales. *Studies In Mycology*, 105(1), 23-203. <https://doi.org/10.3114/sim.2023.105.02>
- Instituto de Meteorología e Hidrología de Panamá. (s. f.).
<https://www.imhpa.gob.pa/es/>
- Johnson, Dereck. (16 de diciembre de 2024). *Stanjemonium grisellum*. MycoCosm. Obtenido de <https://mycocosm.jgi.doe.gov/Stagr1/Stagr1.home.html>
- Koneman E, Y Roberts G. 1987. *Micología práctica de laboratorio*. 3ª edición, buenos aires, editorial medica panamericana.221 pág.

- Lana, T. G.; Azevedo, J. L.; Pomella, A. W.; Monteiro, R. T.; Silva, C. B.; y Araújo, W. L. 2011. Endophytic and pathogenic isolates of the cacao fungal pathogen *Moniliophthora perniciosa* (Tricholomataceae) are indistinguishable based on genetic and physiological analysis. *Gen. Mol. Res.* 10:326 - 334
- *Las Minas en la provincia de Herrera - Municipio y distrito de Panamá.* (s. f.). <https://www.distrito.com.pa/distrito-las-minas.html>
- López, W.; Sanchez, K.; Herrera, F.; Santana, R.(2018). Identificación de aislados de *Fusarium* spp. asociados a *Solanum quitoense* Lam en Pastaza, Ecuador. Vol.45, No.4. Pag 40-42. https://up-rid.up.ac.pa/6631/1/jonathan_bratcher.pdf
- Marin-Felix, Y., Hernández-Restrepo, M. y Crous, PW Filogenia multilocus del género *Curvularia* y descripción de diez nuevas especies. *Mycol Progress* **19**, 559–588 (2020). <https://doi.org/10.1007/s11557-020-01576-6>
- Mata, G., D. Salmones (eds.), 2021. Técnicas de aislamiento, cultivo y conservación de cepas de hongos en el laboratorio. Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, México. XX pp.
- M. Machouart, P. Menir, R. Helenon, D. Quist, N. Desbois, *Scytalidium* and *scytalidiosis*: What's new in 2012?, *Journal de Mycologie Médicale*, Volume 23, Issue 1, 2013, Pages 40-46, ISSN 1156-5233, <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2013.01.002>.
(<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1156523313000036>)
- Matsumata Y., A. Amira, & S. Ito. 2009. Colonization pattern of mycorrhizal fungi associated with two rare orchids, *Cephalanthera falcata* and *C. erecta*. *Ecological Research* 24:1023-1031.

- Mendieta, J. (2022). La Flor Nacional de Panamá *Peristeria elata*. ArcGIS. StoryMaps.
<https://storymaps.arcgis.com/stories/9366e15cec014e1f980a2303bc738ef7>
- NParks | *Peristeria elata*. (s. f.).
<https://www.nparks.gov.sg/florafaunaweb/flora/5/8/5889>
- Ordóñez, N. F., Tupac Otero, J., & Díez, M. C. (2012). Hongos endófitos de orquídeas y su efecto sobre el crecimiento en *Vanilla planifolia* Andrews. *Acta agronómica*, 61(3), 282-290. http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-28122012000300010
- Ortega, P. (2023). ¿En qué países se cultiva *Peristeria elata*, la orquídea del Espíritu Santo? *El Economista*. <https://www.economista.com.mx/los-especiales/En-que-paises-se-cultiva-Peristeria-Elata-la-orquidea-del-Espiritu-Santo-20230409-0001.html>
- Ovando, L.; Damon, A.; Bello, R.; Ambrosio, D.; Albores, V.; Adriano, L.; y Salvador, M. 2005. Isolation of endophytic fungi and their mycorrhizal potencial for the tropical epiphytic orchids *Cattleya skinneri*, *C. aurantiaca* and *Brassavola nodosa*. *Asian J. Planto Sci.* 4:309 - 315.
- Otero Ospina, J. T., & Bayman, P. (2009). Germinación simbiótica y asimbiótica en semillas de orquídeas epífitas. *Acta Agronómica*, 58(4), 270- 276. <https://www.redalyc.org/pdf/1699/169916220006.pdf>
- Pain, N. A., Green, J. R., Gammie, F., & O'connell, R. J. (1994). Immunomagnetic isolation of viable intracellular hyphae of *Colletotrichum lindemuthianum* (Sacc. &

- Magn.) Briosi & Cav. from infected bean leaves using a monoclonal antibody. *New Phytologist*, 127(2), 223-332. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1994.tb04274.x>
- Pedraza-Santos, M. E. (2017). La propagación masiva de orquídeas (Orchidaceae); una alternativa de conservación de especies silvestres. *Agro Productividad*, 10(6).
 - Rasmussen, H. N. (1995). *Terrestrial orchids: from seed to mycotrophic plant*. Cambridge University Press, 460 p.
 - Rasmussen, H. N. y D.F. Whigham. 2002. Phenology of roots and mycorrhiza in orchid species differing in phototrophic strategy. *New Phytologist*. 154 (3): 797-807.
 - Réblová, M., Gams, W., & Seifert, K. (2011). Monilochaetes and allied genera of the Glomerellales, and a reconsideration of families in the Microascales. *Studies In Mycology*, 68, 163-191. <https://doi.org/10.3114/sim.2011.68.07>
 - Rodriguez RJ, Redman RS. (2000). *Colletotrichum* as a model system for defining the genetic basis of fungal symbiotic lifestyles. In: *Colletotrichum. Host Specificity, Pathology and Host-Pathogen Interaction* (Prusky D, Freeman S, Dickman MB, eds). APS Press, St Paul, USA: 114–130 https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Colletotrichum.%20Host%20Specificity,%20Pathology%20and%20Host-Pathogen%20Interaction&author=RJ%20Rodriguez&author=RS%20Redman&publication_year=2000&
 - Rodriguez, R. J., White, J. F., Jr, Arnold, A. E., & Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytologist*, 182(2), 314-330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x>

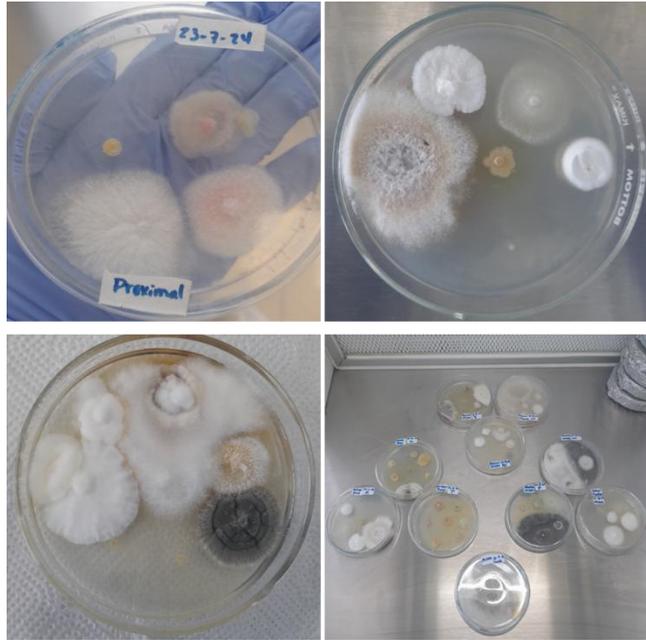
- Rodríguez, J. (2016). Micobiota endófito del género *Maxillaria* ruiz & pav. (orchidaceae) en dos reservas naturales del ResearchGate. Revista de Investigaciones Universidad del Quindío. Vol 1. Pag 25. https://www.researchgate.net/publication/309105779_micobiota_endofita_del_genero_maxillaria_ruiz_pav_orchidaceae_en_dos_reservas_naturales_del_departamento_del_quindio.
- Ruo-Dan Tian, Meng-Ke Sheng, Ying-Fei Zhao, Chun-Nan Wen, Miao Liu, Bing-Ji Ma, α -pyrone derivatives from the endophytic *Fusarium* sp. L33 isolated from *Dioscorea opposita*, *Phytochemistry Letters*, Volume 62, 2024, Pages 14-17, ISSN 1874-3900, <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2024.06.002>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1874390024000879>)
- Sánchez-Fernández, R. E., Sánchez-Ortiz, B., Sandoval-Espinosa, Y. K., Ulloa-Benítez, A., Armendáriz-Guillén, B., García-Méndez, M., & Macías-Rubalcava, M. (2013). Hongos endófitos: fuente potencial de metabolitos secundarios bioactivos con utilidad en agricultura y medicina. *TIP* 16: 132-146. . [https://doi.org/10.1016/s1405-888x\(13\)72084-9](https://doi.org/10.1016/s1405-888x(13)72084-9)
- Shah, S., Shrestha, R., Maharjan, S., Selosse, M. A., & Pant, B. (2019). Isolation and characterization of plant growth-promoting endophytic fungi from the roots of *Dendrobium moniliforme*. *Plants*, 8(1), 5.
- Singh, S. K; Strobel, G. A.; Knighton, B.; Geary, B.; Sears, J.; y Ezra, D. 2011. An endophytic *Phomopsis* sp. possessing bioactivity and fuel potential with its volatile organic compounds. *Mol. Ecol* 61:729 – 739.

- Schulz B. 2006. Mutualistic interactions with fungal root endophytes. En: B. Schulz, C. J. Boyle & T. N. Sieber. (eds.), *Microbial root endophytes* Vol 9. 261- 280, Springer, Berlin, Heidelberg.
- Sun, X., & Guo, L. G. (2012). Endophytic fungal diversity: review of traditional and molecular techniques. *Mycology*, 3(1), 65-76. doi:10.1080/21501203.2012.656724.
- Taylor, J. E, K.D. Hyde y E. B. Jones. 1999. Endophytic fungi associated with the temperate palm *Trachycarpus fortune* both within and outside of its natural geographic range. *New Phytologist*. 142: 335-346.
- The Green Corner (2023). *Peristeria elata*
<https://thegreencorner.es/producto/peristeriaelata/>
- The root endophytic fungus *Curvularia geniculata* from *Parthenium hysterophorus* roots improves plant growth through phosphate solubilization and phytohormone production, *Fungal Ecology*, Volume 27, Part A, 2017, Pages 69-77, ISSN 1754-5048, <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2017.02.007>.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1754504817300302>
- Tian, R. D., Sheng, M. K., Zhao, Y. F., Wen, C. N., Liu, M., & Ma, B. J. (2024). α -pyrone derivatives from the endophytic *Fusarium* sp. L33 isolated from *Dioscorea opposita*. *Phytochemistry Letters*, 62, 14–17.
<https://doi.org/10.1016/J.PHYTOL.2024.06.002>
- Timtimd. (s. f.). *Fungal Genera* | Genus *stanjemonium*.
<https://fungalgenera.org/genus/stanjemonium.html>
- Trinidad-Ángel, E., De Jesús Ascencio-Valle, F., Ulloa, O. A., Ramírez-Ramírez, O. C., Ragazzo-Sánchez, J. A., Calderón-Santoyo, M., & Rosales, P. U. B. (2017). Identificación y caracterización de *Colletotrichum* spp. causante de antracnosis en

aguacate de Nayarit, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 19, 3953-3964. <https://doi.org/10.29312/remexca.v0i19.664>

- Tsavkelova, E., Cherdyntseva, T., Klimova, S., Shestakov, A., Botina, S., & Netrusov, A. (2007). Orchid-associated bacteria produce indole-3-acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin. *Archives of Microbiology*, 188(6), 655–664.
- Wackett, L. P. (2014). Microbial strain collections and information. *Microbial Biotechnology*, 7(4), 371-372. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12135>
- Xiaoya, M.; Kang, J.; Nontachaiyapoom, S.; Wen, T.; & Hyde, K. D. (2015). Non-mycorrhizal endophytic fungi from orchids. *Current science*, 109(1) 72-87.
- Xing, Y. M.; Chen, J.; Cui, J. L.; Chen, X. M.; y Guo, S. X. 2011. Antimicrobial activity and biodiversity of endophytic fungi in *Dendrobium devonianum* and *Dendrobium thrysiflorum* from Vietman. *Curr. Microbiol.* 62:1218 – 1224
- Young, V. (2022). La flor del Espíritu Santo. El Faro Canal de Panamá. <https://elfarodelcanal.com/la-flor-del-espiritu-santo/>
- Yu, Y., Cui, Y. H., Hsiang, T., Zeng, Z. Q., & Yu, Z. H. (2015). Isolation and identification of endophytes from roots of *Cymbidium goeringii* and *Cymbidium faberi* (Orchidaceae). *Nova Hedwigia*, 101(1-2), 57-64.
- Zhang N, Castlebury LA, Miller AN, Huhndorf SM, Schoch CL, et al. (2006). Una descripción general de la sistemática de los *Sordariomycetes* basada en una filogenia de cuatro genes. *Mycologia* 98: 1076–1087

Anexo



Fuente: Samudio Y. 2024
Crecimiento de más de un hongo por cultivo



Fuente: Samudio Y. 2024
Contaminación de las muestras por el hongo *Aspergillus* sp.



1. Corte de raíces para la siembra en PDA. 2. Raíces en bolsas ziploc trasladadas al laboratorio. 3. Platos Petri con PDA envueltos en papel aluminio para introducirlos en la auto clave. 4. Microtúbulo con sepas puras. 5. Listado de cepas puras en estado sólido en el CITEV.

MINISTERIO DE AMBIENTE DIRECCIÓN DE ÁREAS PROTEGIDAS Y BIODIVERSIDAD DEPARTAMENTO DE BIODIVERSIDAD SECCIÓN DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS Y BIOLÓGICOS (SARGEB) PERMISO DE ACCESO A RECURSOS GENÉTICOS Y/O BIOLÓGICOS			
A. DATOS DEL PERMISO			
Tipo de Permiso: Acceso a Recurso Biológico	Número de Solicitud: 0283-2024	Fecha de validez: Desde: 30 de octubre de 2024	
Tipo de Acceso: Colecta, Observación y Otros	Utilización: Fines Científicos	Hasta: 30 de octubre de 2027	
Tipo de Recurso: Flora	Número de Permiso ARB-0111-2024		
B. DATOS DEL SOLICITANTE			
Persona Natural / Persona Jurídica: LUIS MANUEL VARGAS	No. de Identificación personal / Generales de inscripción: 4-146-2703		
Contraparte Nacional que respalda la investigación: Universidad Autónoma de Chiriquí			
Persona Jurídica Internacional: (Solamente para acceso a recurso genético con fines comerciales) N/A			
C. DATOS DEL PROYECTO			
Título del Proyecto: Estrategias para la regeneración de <i>Peristeria elata</i> Hook, en áreas boscosas de Chiriquí y Herrera utilizando plántulas obtenidas mediante cultivo in vitro			
Objetivo del Proyecto: Establecer protocolo para la regeneración de <i>Peristeria elata</i> Hook en áreas boscosas de Chiriquí y Herrera, Basándose la producción de plántulas.			
D. RECURSO BIOLÓGICO Y/O GENÉTICO A ACCEDER			
Nombre común	Nombre científico	Cantidad	Descripción
Flor del Espíritu Santo	<i>Peristeria elata</i>	15	Se colectaran 3 plantas con flores en las siguientes áreas protegidas PILA, PNVB, BPPS, PNGOMH, RFM
Microorganismos presente en <i>P. elata</i>	<i>Por encontrar</i>	No determinada	Los microorganismos encontrados en los tejidos de hojas y raíces de <i>P. elata</i> además del suelo será identificados y procesados para futuros estudios que permitan determinar posibles interacciones con <i>P. elata</i>
Plantas, macrohongos y animales localizados en torno a poblaciones silvestres de <i>P. elata</i>	<i>Por encontrar</i>	No determinada	Se colectaran tres muestras de cada planta, microhongos y animales invertebrados (solo en caso abundante) en el caso de los vertebrados serán observados, en caso de que requiera capturarlos, serán liberados una vez se le identifique
Lugar de Estudio Cuenta con el Consentimiento libre informado previo de la Empresa Cultivos Marinos S.A.		Bocas del Toro y Chiriquí (PILA, PNVB, BPPS), Herrera (RFM) Cocle (PNGOMH).	
E. PARTICIPANTES DE LA INVESTIGACIÓN			
Nº	Nombre	Numero de Identificación	
1	Oscar Martínez	4-279-133	
2	Osiris Murcia	4-730-392	
3	Yllen Samudio	4-787-679	
Obligaciones que deben cumplir los responsables. A) Portar en todo momento una copia de la resolución correspondiente; B) Los investigadores principales y sus colaboradores deben reportarse a cualquiera de las oficinas del Ministerio de Ambiente más cercana al sitio de estudio antes de iniciar las actividades de campo, con el fin de solicitar la colocación del sello o nombre y firma del funcionario en la copia del permiso, además deben reportarse ante las autoridades tradicionales cuando se trate de territorios indígenas; C) Entregar a la Sección de Acceso a Recursos Genéticos (SARGEB) un informe impreso y digital, en español, o la publicación científica con resumen en español, una vez culminada la validez de la resolución. El informe comprenderá, como mínimo, los siguientes puntos: Nombre del titular del permiso, Título del proyecto, Número de permiso, Objetivos, Lugar de estudio, incluyendo coordenadas, Recurso biológico (nombre científico, cantidad, descripción), Resultados preliminares (para renovación de permiso), Resultados finales y/o Artículo científico; D) Entregar la certificación de depósito de muestras, emitida por la Colección Biológica de Referencia reconocidas por el Ministerio de Ambiente. Excepto aquellos casos que no se cuente con una Colección Biológica de Referencia, indicándose en la Resolución respectiva; E) El investigador debe cumplir con las regulaciones particulares del área protegida o privada; F) Los recursos biológicos y genéticos sobrantes de las investigaciones sin fines comerciales quedarán a disposición del Ministerio de Ambiente			
Este permiso es emitido por:	Técnico Evaluador: Anauri Ayarza	 TOMÁS FERNÁNDEZ LOIZA Director de Áreas Protegidas y Biodiversidad CON PASO FIRME - AMBIENTE	
Dirección de Áreas Protegidas y Biodiversidad	Jefe de Departamento: Eric Núñez		
Fecha de emisión: 30 de septiembre de 2024	Apartado C, Zona 0843, Balboa, Ancón, Panamá, Albrook, Calle Diego Domínguez, Edificio 804. www.miambiente.gob.pa		

Permiso de Colecta de *Peristeria elata*



Universidad Autónoma de Chiriquí
Vicerrectoría Académica
Sistema de Bibliotecas e Información
Certificado de originalidad



Fecha: 21/5/2025

Facultad: Ciencias Naturales y Exactas.

Escuela: Biología.

Se certifica que, tras llevar a cabo el proceso de análisis de originalidad y detección de similitudes en el trabajo de investigación titulado "Diversidad de hongos endófitos en raíces de Peristeria elata Hook. (Orchidaceae) en estado silvestre y cultivadas en el área de Las Minas (Herrera), Boquete y Río Sereno (Chiriquí)" presentado por el/la estudiante YLEN MITZELA SAMUDIO CEDEÑO, con número de cédula N.º 4-787-679, con la asesoría del profesor Dr. Orlando Cáceres; el trabajo cumple con el 100% de originalidad, de acuerdo con el informe emitido por el profesor asesor.

Es importante señalar que el proceso de análisis de plagio se ha realizado utilizando la herramienta Turnitin y siguiendo procedimientos estandarizados para asegurar la precisión de los resultados.

Nota: El uso de la herramienta Turnitin fue aprobada por el Consejo Académico #5 - Sesión extraordinaria - 22 de mayo de 2023 y modificada el 6 de octubre de 2023


Eibar Amaya
Responsable de
departamento




Ada Chávez
Directora del
SIBIUNACHI