TITULO DEL PROYECTO

INVENTARIO DE LA DIVERSIDAD DE HONGOS MACROMICETOS DEL ÁREA DE CONSERVACIÓN KEKÉN

Responsable Técnico Dr. Jorge Humberto Ramírez Prado

Fecha terminación octubre 31 de 2022

Este proyecto buscó crear un inventario inicial de la biodiversidad de los hongos macromicetos presentes en el Área de Conservación Kekén.

Se realizaron dos viajes de colecta al ACK entre los meses de Julio y septiembre. Las fechas se determinaron de acuerdo a la temporada de lluvias, dado que se requirió programar las colectas al menos una semana después de tener lluvia abundante y constante por dos semanas. De igual manera, se realizó un registro fotográfico detallado de los macromicetos encontrados y sus estructuras características. Se hizo un registro del sustrato en el que se encontraron. Se tomó muestras de los basidiocarpos en tubos eppendorf, por triplicado, y se conservaron en nitrógeno líquido o hielo seco. Igualmente se colectaron esporas.

La extracción de ADN genómico de las muestras se llevó a cabo utilizando reactivos comerciales especializados (p. ej. DNeasy Plant de QIAGEN o Plant/Fungi DNA Isoation kit de Norgen). La calidad del ADN genómico obtenido se verificó en geles de agarosa. La concentración fue cuantificada contra marcadores de peso molecular en dichos geles y mediante espectrofotometría (nanodrop). Las muestras con calidad y concentración adecuadas fueron utilizadas como templados para amplificar las regiones marcadoras seleccionadas (ITS1-5S-ITS2), utilizando los juegos de iniciadores (primers) reportados en literatura. La extracción de ADN genómico, se cuantificó y la subsecuente amplificación de regiones marcadoras se llevaron a cabo en el laboratorio de Genómica Computacional (UBT, CICY), los fragmentos amplificados fueron secuenciados por duplicado (reacciones directa e inversa) mediante la técnica de SANGER (terminación de cadena) por la compañía MACROGEN (Seul, Corea del Sur).

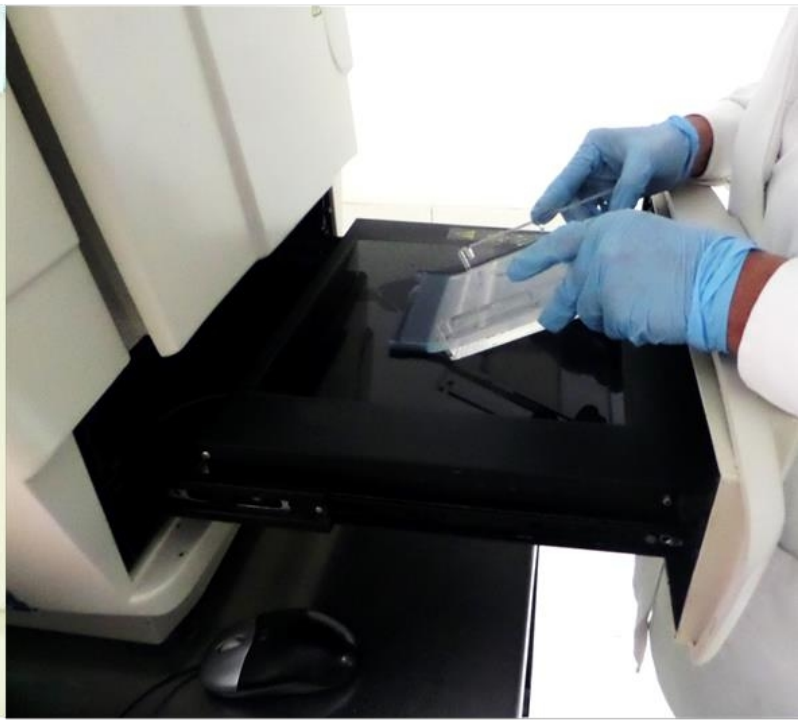
Las secuencias obtenidas fueron procesadas mediante el software sequencher v.5 (revisión de limpieza, calidad y asignación incorrecta de nucleótidos), alineando cada par de secuencias (directa e inversa). Cabe destacar que la secuencia seleccionada (ITS1-5S-ITS2) es el código de barras oficial utilizado por la Barcode of Life Database (BOLD), así como contenida en las bases de datos más importantes, tales como el consorcio INSD (GenBank, DDBJ y EMBL), UNITE y RefSeq Target Loci (RTL).

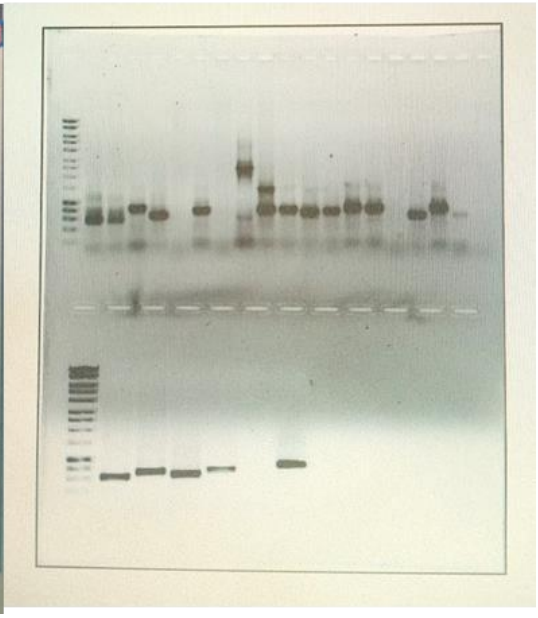
Para determinar las especies de macromicetos colectados, las secuencias procesadas fueron comparadas contra las bases de datos arriba mencionadas. A continuación, se presenta un resumen gráfico de las principales actividades y metodologías llevadas a cabo.

COLECTA Y PROCESO DE MUESTREO

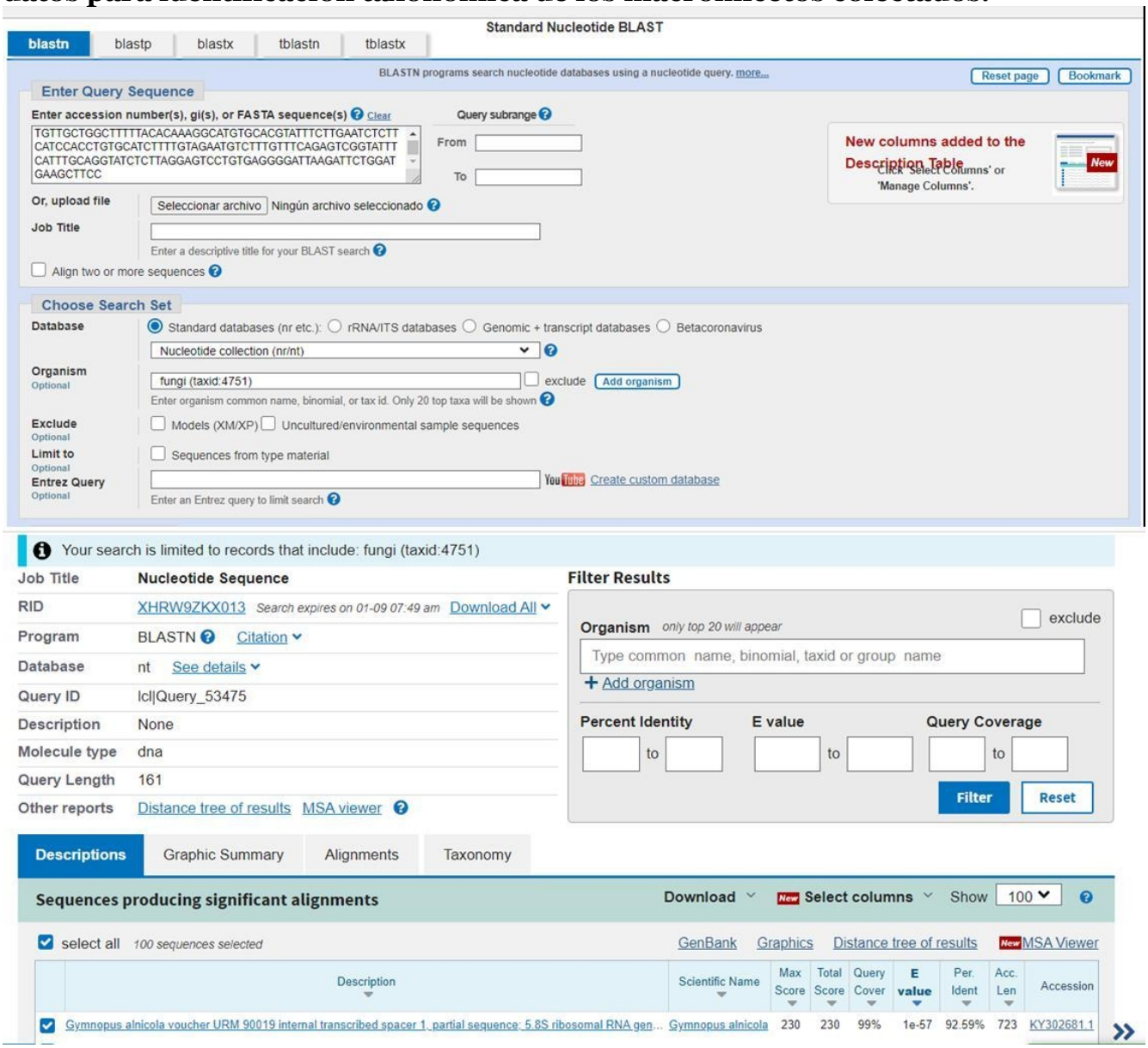
Manejo de muestras de macromicetos para extracción y purificación de material genómico (ADN).

Amplificación de regiones marcadoras (ITS).





Secuenciación de regiones marcadoras (ITS) y comparación en bases de datos para identificación taxonómica de los macromicetos colectados.



“Poliporos”, es la presencia de múltiples poros en su superficie inferior, a través de las cuales las esporas son liberadas. Con cada ciclo de crecimiento las capas de poros se intercalan formando complejos patrones.

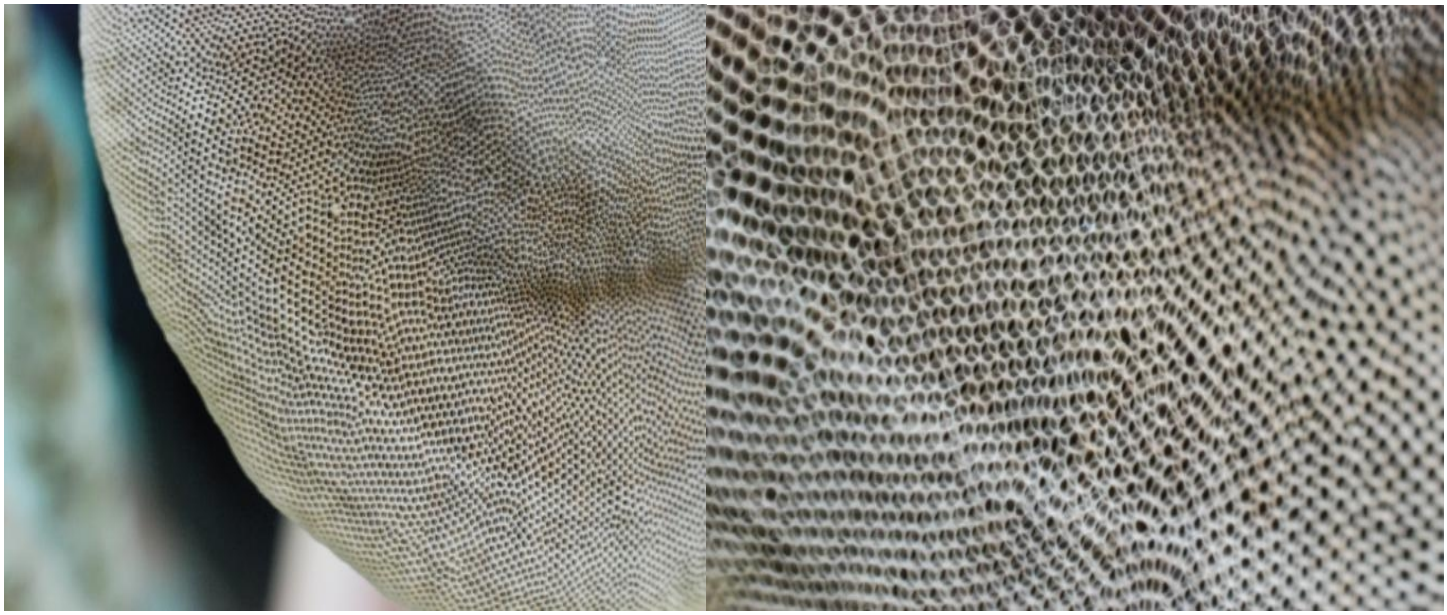


Figura 1. Patrones de poros en la superficie inferior de poliporos colectados en el ACK.

Los poliporos en general son hongos saprófitos descomponedores de materia orgánica, por lo que se les encuentra principalmente en restos de troncos o en árboles muertos.

Figura 2. *Hexagonia sp*. (Posiblemente *Hexagonia variegata*)

Figura 3. *Trametes sp*. (Posiblemente *T. flavida* o *T. elegans*).

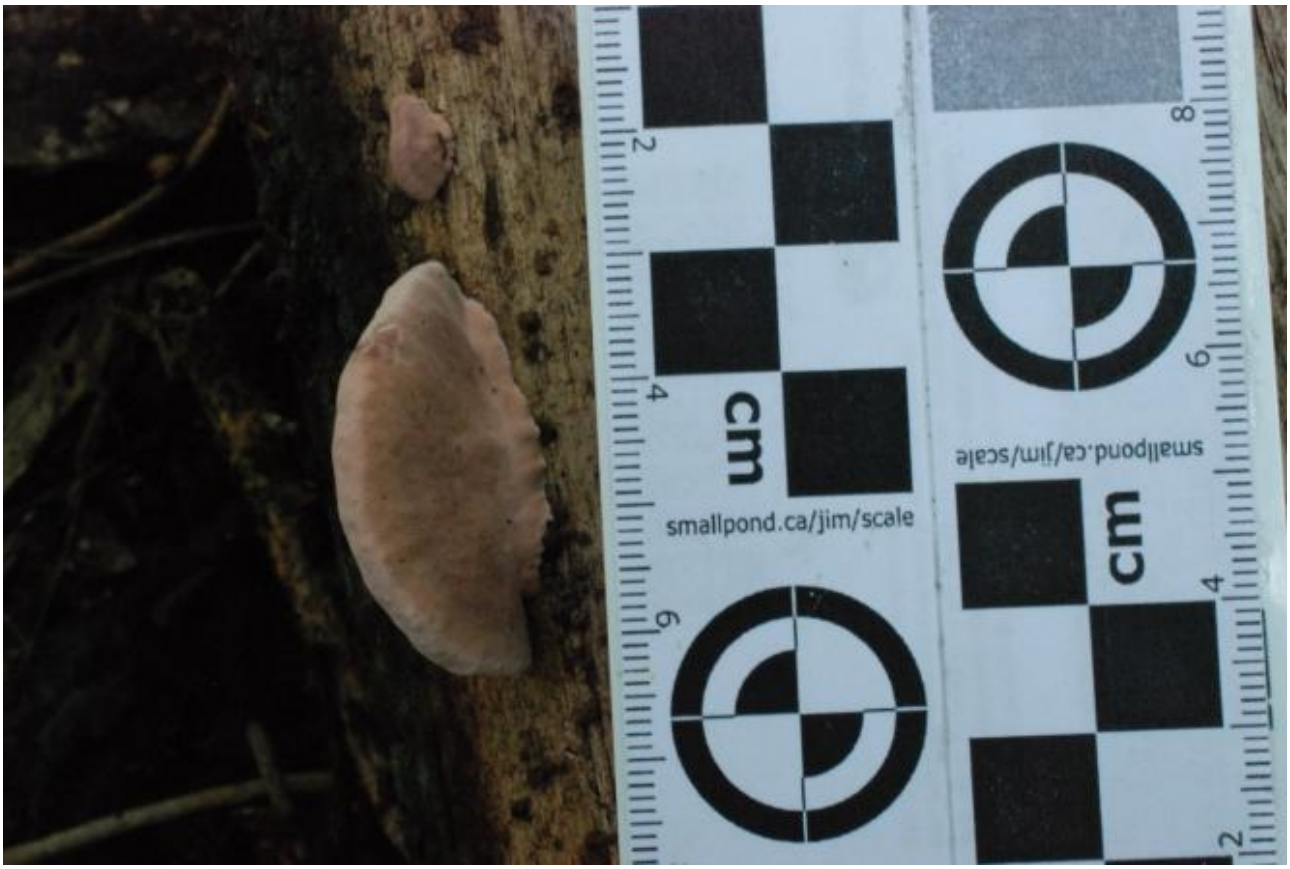


Figura 4. *Hapalopilus sp*.

Figura 5. *Pycnoporus sanguineus*.

Figura 6. *Fulvifomes* sp.

Se lograron obtener muestras de hongos macromicetos de diversos géneros que requieren condiciones de mayor humedad. Al contrario de los poliporos, muchos de estos géneros tienen cuerpos fructíferos muy efímeros y blandos que sólo surgen con las condiciones de humedad necesarias para la dispersión de sus esporas. Estos presentan“lamelas”, también conocidas como “laminillas” o “agallas”.

A continuación se muestran algunos de los macromicetos que lograron ser identificados.

Figura 7. *Agaricus* sp. (Posiblemente *Agaricus sinodeliciosus*)

Figura 8. *Gymnopilus* sp. (Posiblemente *G.* cf. *subearlei* o *G. medius*)

Figura 9. *Marasmius* sp. (Posiblemente *Marasmius epiphyllus*).

Figura 10. *Schizophyllum commune*.

Figura 11. *Laccaria amethystina*.

Para llevar a cabo la identificación taxonómica se recurrió a la metodología de secuenciación de las regiones intertranscritas de los genes ribosomales (ITS), debido a la variada composición de las paredes celulares de los hongos macromicetos colectados, el éxito en el proceso tuvo diferencias significativas para cada uno de ellos. De los 23 hongos macromicetos colectados sólo fue posible extraer material genético (ADN) de 18 muestras con suficiente calidad para su amplificación y posterior secuenciación. De las 18 muestras enviadas a secuenciar, sólo se recuperó información de secuencia limpia para 11. Con esta información, aunada a comparaciones con reportes fotográficos en diversas bases de datos micológicas, nos fue posible identificar con certeza (a nivel de género al menos) a 11 macromicetos presentes en el Área de Conservación Kekén (los cuales se pueden ver en las 11 figuras de éste informe).