AFINIDADES FISIOLOGICAS EN ALGUNOS HONGOS FILAMENTOSOS DEL MEDIO AMBIENTE.

Estudio Preliminar*

W. E. GARDINI; C. R. VALLES; J. H. VELÁSQUEZ; y NANCY CANALES **

El diagnóstico y la taxonomía de los hongos filamentosos está basado en los caracteres morfológicos de sus órganos de reproducción (3, 6). Estas estructuras diferenciales no siempre se presentan típicas debido a la existencia de innumerables especies y a la dificultad que estas no son estables en los medios de cultivo. Las investigaciones recientes se orientan hacia el estudio de la fisiología de los hongos con el fin de encontrar nuevas bases taxonómicas más simples y precisas.

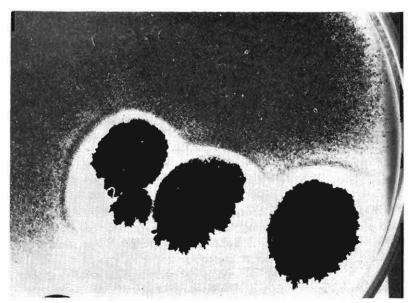
El propósito del presente trabajo es estudiar la acción fermentativa de los hongos contaminantes sobre los carbohidratos, la producción de la enzima desoxirribonuclecisa y señalar algunos aspectos del antagonismo existente entre la flora ambiental.

MATERIAL Y METODOS

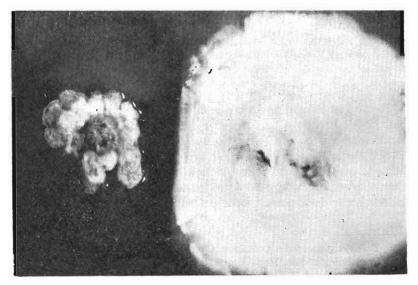
Se hace el estudio de 14 cepas de hongos aislados del medio ambiente donde una de ellas, la cepa Penicillium ACI-9 tuvo efectos inhibitorios sobre las demás. La cepa del Blastomyces dermatitidis (Bd-1159-Sao Paulo), fue incluida en el experimento para probar el efecto inhibitorio que sobre ésta podría tener la cepa de Penicilium ACI-9. El aislamiento se hizo en medio agar-tomate, preparado en nuestro laboratorio a partir de tomates frescos sin adición de otra sustancia nutriti-

^{*} Trabajo presentado al Primer Congreso Nacional de Microbiología y Parasitología, Fac. Med., Univ. Nacional de San Agustín de Arequipa (Perú). Del 8-12 Oct. 1964.

^{**} Departamento de Microbiología, Sección de Micología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Mayor de San Marcos



Fotografía Nº 1: Acción inhibitoria marcada del Penicillium (cepa ACI-9) sobre una cepa de Aspergillus.



Fotografía Nº 2: Acción inhibitoria escasa del Penicillium (Cepa ACI-9) sobre el Blastomyces dermatitidis.

va ni el ajuste del pH. El medio agar-tomate resultó ser excelente inhibidor de las bacterias ambientales por su pH. 4.2-4.5, permitiendo solo el desarrollo de los hongos filamentosos.

La clasificación, se hizo por sus caracteres morfológicos siguiendo el sistema propuesto por Coudert (3), Atlas de Iconographia Mycologica de Verona y Benedek (6).

Para determinar la acción fermentativa se usó la neopeptona purificada (4). Se prepararon series del medio con 18 carbohidratos diferentes a una concentración final del 3% después de haber agregado púrpura de bromocresol y cloromicetina 0.2 mg. por cc. de medio. Los carbohidratos se esterilizaron por filtración. Las siembras se dejaron a 25°C. hasta los 15 días. La reacción positiva estaba dada por un viraje total del medio hacia el color amarillo y por la formación de colonias exuberantes.

En la determinación de la producción de la DNAsa por los hongos se empleó el medio con pH. 8.0 a base de 15 gr. de agar, 20 gr. de triptosa, 2 gr. de ácido desoxirribonucleico altamente polimerizado, 5 gr. de cloruro de sodio, recomendado por Jeffries y Col. (5). El medio esterilizado a 121°C. x 15′, se vertió sobre placas que previamente contenían una capa de agar en solución salina al 2%. A los 15 días de sembradas las placas, se investigó la producción de DNAsa por el método de Osowiecki y Dobrzanski (7). Sobre los cultivos se dejó caer 5 cc. de una solución acuosa de verde de metilo al 1%. La presencia de DNAsa, fue objetivada por la aparición de un halo azul oscuro al rededor de las colonias en contraste con la coloración verde del resto del medio y por la posterior decoloración del mismo a las 2 o 3 horas.

Para demostrar los efectos inhibitorios del Penicillium, cepa ACI-9, sobre las demás cepas de hongos filamentosos se sembró ésta en agartomate y en medio de Sabouraud y después de 5 días de desarrollo a 25°C. se sembraron cada una de las demás especies a una distancia de 1-2 cm. Los efectos se registraron en grados de inhibición de marcado, moderado y ninguno.

RESULTADOS Y DISCUSION

En el Cuadro N^{\wp} 1, se muestra los resultados de la fermentación de carbohidratos y la producción de DNAsa por cepas de hongos filamentosos. Se aprecia que en la fermentación hay preferencia por determinados carbohidratos tales como la sacarosa, galactosa, manosa, mal-

tosa, rafinosa, melibiosa, en orden decreciente. Puede notarse en las diferentes especies de Aspergillus una marcada diferencia para fermentar el adonitol, arabinosa, dulcitol y melecitosa. Esta diferencia se manifiesta de una manera más estable entre variedades de un mismo género, así la cepa Penicillium (ACI-9) fermentó sólo la galactosa, manosa y rafinosa; mientras que el Penicillium bicolor, fermentó un mayor número de carbohidratos. En el mismo Cuadro $N^{\rm Q}$ 1, se encuentra que todas las cepas producen la enzima DNAsa. Los resultados de esta enzima concuerdan con los hallazgos de Jeffries y Col. (5) para el Penicillium y el Aspergillus, usando técnica diferente. Es de remarcar que si bien no se pueden establecer diferencias entre los hongos en cuanto a la producción de DNAsa, sin embargo puede servir de base para posteriores investigaciones como los referidos en las bacterias (1, 5, 7, 8).

En el Cuadro Nº 2, se muestra los resultados del antagonismo entre el Penicillium cepa ACI-9 y los 14 tipos de hongos (13 contaminantes y 1 patógeno). Se ha encontrado efectos inhibitorios marcados con el Aspergillus fumigatus, Aspergillus orizae, Cunninghamella, Penicillium bicolor, Rhizopus; el efecto fue escaso con Aspergillus nigricans, Aspergillus ochraceus, Alternaria, Blastomyces dermititides cepa Bd-1159-Sao Paulo. En la Fotografía Nº 1, se demuestra el efecto inhibitorio marcado del Penicillium cepa ACI-9 sobre una variedad de Aspergillus y en la Fotografía Nº 2 se observa que la misma cepa inhibe escasamente el desarrollo normal del Blastomyces dermatitidis. Por los resultados se aprecia que dentro de la flora ambiental hay variedades de hongos que viven en simbiosis y en un antagonismo manifiesto. Asimismo, es de importancia señalar el efecto que el Penicillium cepa ACI-9 produce sobre el Aspergillus fumigatus y sobre el Blastomyces dermatitidis, especies vinculadas a infecciones en el hombre y los animales.

SUMARIO Y CONCLUSIONES

Se ha aislado del medio ambiente 14 grupos de hongos filamentosos contaminantes empleando el medio de agar-tomate fresco. En ellos se investigó las reacciones de fermentación selectiva a 18 carbohidratos, sus reacciones mutuas y la producción de desoxirribonucleasa (DNAsa).

Se encontró que había preferencia por fermentar determinados carbohidratos como la sacarosa, galactosa, manosa, maltosa, rafinosa, melibiosa, por el Aspergillus fumigatus, Aspergillus nigricana, Aspergillus

Cuadro Nº 1. Fermentación de Carbohidratos y producción de DNAsa en Hongos del Medio Ambiente

ŗ	Producción	de Desoxirri- bonucleasa (DNAsa)	 Marcada	Moderada	Marcada	Marcada	Marcada	Marcada	Marcada	Marcada	Marcada Marcada Marcada Marcada	Marcada	Marcada
	!	Trehalosa	+1	+	+	+	+	+		+	+	+	1
-		Salicina	+I	+	+	+	1	i	+	+1		ļ	ı
1		Sorbiltol	1	+	+	4-	+	+	+	+	+	+	1.
		Sacarosa	+1	+	+	+	+	+	+	+	+++	+	+
·		Rhamnosa	ļ	+	+1	+	+	1		+	+ +	+	+
		Rafinosa	+	+	+	+	+	1	+	+	+1 ++	+	+
F	or o	Melibiosa	1	+	+	-}-	+	I	+	+	‡ +	+	+-
1	ACION e indicador	Melecitosa	1	+	1	+	+	+		+	1111	i	I,
		Mannosa	+1	+	+	+	+	+	+	+	++++	+	+
1	FERMENT Neopeptona	Maltosa	1	+	+	+	+ + + + +	+++	+	+			
	FEI Neop	Levulosa	+	+	+	I	Ħ	+	J	†I	+ +	+	∔l i
	en	Lactosa	. I	+	1	+	+	1	+	Ħ	+++	+	4-
		Inositol	<u> </u>	‡	I	1	1	I	1	{	+1	I	1
The state of		Glucosa	· +	+	+	+	+	1	+		+ +	+	1
1		Galactosa	+	+	+	+	+	+	+	+	++++	+	+
		Dulcitol	. 1	+	1	+	I	l	I	I	1111	1	1 1
į		Arabinosa	ľ	+	+	+	+	I	+	+	+ +	+	+
1		Adonitol	1	1	1	+	+	I	1	+	+ +	+	
A		Hongos Contaminantes	Aspergillus fumigatus	Aspergillus nigricans	Aspergillus ochraceus	Aspergillus oryzae	Alternaria	Cunninghamella	Cladosporium herbarum	Fusarium roseum	Glenospora (A-22) Hormodendrum (A-1) Penicillium, bicolor(A-5) Penicillium, sp. (ACI-9),	Rhizopus	Trichophyton, sp. (A-13)

* Se utilizaron carbohidratos al 3% y las reacciones se registraron hasta los 15 días.

ochraceus Aspergillus orizae, Alternaria, Cunninghamella, Clados porium herbarum, Fusarium roseum, Glenospora, Hormodendrum, Penicillium bicolor, Penicillium sp. cepa ACI-9, Rhizopus y Trichophyton sp.

Que las variedades de hongos dentro de un mismo género tienen diferente poder fermentativo tal como sucede con el Aspergillus fumigatus, Aspergillus nigricans, Aspergillus ochraceus y Aspergillus orizae, sobre el adonitol, arabinosa, dulcitol y melecitosa.

Los 14 grupos de hongos filamentosos ambientales han producido DNAsa, empleando como medio de cultivo el agar-triptosa-ácido desoxi-rribonucleico y como reactivo el colorante verde de metilo.

La variedad de Penicillium, cepa ACI-9, de escaso poder fermentativo sobre la mayoría de los 18 carbohidratos, presentó poder inhibitorio sobre el desarrollo del Aspergillus nigricans, Aspergillus ochraceus, Alternaria, Blastomyces dermatitidis y en mayor grado sobre el Aspergillus fumigatus, Aspergillus orizae, Cunninghamella, Penicillium bicolor y Rhizopus.

CUADRO Nº 2

Cuadro Nº 2. Antagonismo del Penicillium aislado del medio ambiente sobre los hongos filamentosos

Hongos afectados	Efectos inhibitorios del Penicillium, cepa ACL-9				
Aspergillus fumigatus	(A- 6)	MARCADO			
Aspergi]lus nigricans	(A-17)	ESCASO			
Aspergillus ochraceus	(A-11)	ESCASO			
Aspergillus oryzae	(A-12)	MARCADO			
Alternaria	(A-2)	ESCASO			
Cunninghamella	(A-16)	MARCADO			
Cladosporium herbarum	(A-19)	Ninguno			
Fusarium roseum	(A-3)	Ninguno			
Glenospora	(A-22)	Ninguno			
Hormodendrum	(A-1)	Ninguno			
Penicillium bicolor	(A-5)	MARCADO			
Rhizopus	(A-9)	MARCADO			
Trichophyton, sp.	(A-13)	Ninguno			
Blastomyces dermatitidis cepa Bd-1159-Sao Paulo		ESCASO			