



UNIVERSIDAD DE COSTA RICA

ESQUELA DE BIOLOGIA

"Aislamiento de hongos productores de antibióticos  
de muestras de suelo de la provincia de  
San José, Costa Rica"

Tesis presentada para optar al grado académico  
Licenciada en Biología

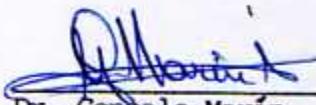
EVA CRISTINA MEZA BADILLA

Director de Tesis:  
DR. GONZALO MARIN A.

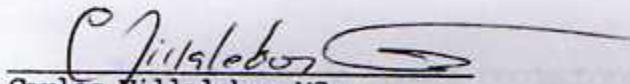
1986

AISLAMIENTO DE HONGOS PRODUCTORES DE ANTIBIOTICOS  
 DE MUESTRAS DE SUELO DE LA PROVINCIA DE  
 SAN JOSE, COSTA RICA

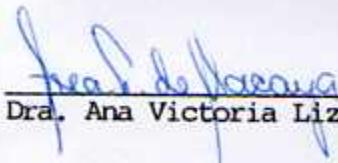
Aprobada

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Gonzalo Marín

Director de Tesis

  
\_\_\_\_\_  
Carlos Villalobos MSc.

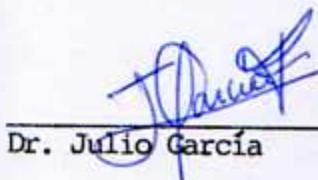
Director de Escuela

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Ana Victoria Lizano

Miembro de Tribunal

  
\_\_\_\_\_  
Lic. Maryssia Nassar

Miembro de Tribunal

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Julio García

Miembro de Tribunal

  
\_\_\_\_\_  
EVA CRISPINA MEZA BADILLA

Sustentante

Indicaciones

Resumen

Introducción

Material y métodos

**"Aislamiento de hongos productores de antibióticos  
de muestras de suelo de la provincia de  
San José, Costa Rica"**

Resultados

Discusión

Conclusiones

Referencias

Bibliografía

INDICE

	PAGINAS
Dedicatoria	
Agradecimiento	
Introducción	1
Revisión de literatura	3
Objetivos de la investigación	18
Materiales y métodos	19
Resultados	23
Discusión y conclusiones	38
Apéndice	43
Bibliografía	54

DEDICATORIA

A mi madre y papá por su amor, apoyo y ayuda en todo lo que he hecho en esta vida.

Al doctor Manuel María, Director de la Sección de Microbiología y Parasitología del Departamento de Microbiología e Inmunología, por su orientación, estímulo y apoyo en la realización de esta tesis y por el apoyo que me ha brindado en todo momento.

Al doctor Miguel Elías, Director de la Facultad de Medicina, por su apoyo y estímulo.

A mi familia y amigos que me han apoyado en todo momento y me han dado fuerza para seguir adelante.

A los miembros del tribunal de esta tesis, quienes aceptaron aceptar esta tesis y aprobar la tesis correspondiente.

A los profesores y funcionarios de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, y a todos los que me han ayudado en esta tesis.

A la Sección de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, por su apoyo y estímulo.

A quienes llenaron  
mi vida de paz y  
alegría con amor,  
les dedico esta tesis.

Eva.

A mi familia y amigos que me han apoyado en todo momento y me han dado fuerza para seguir adelante.

A los miembros del tribunal de esta tesis, quienes aceptaron aceptar esta tesis y aprobar la tesis correspondiente.

A mi madre

A mi papá

## AGRADECIMIENTO

A mis padres y hermanos a cuyo estímulo y ayuda se debe en gran parte la conclusión de esta tesis.

Al Doctor Gonzalo Marín, Coordinador de la Sección de Micología y Director del Departamento de Microbiología e Inmunología, por su valiosa orientación y asesoría en la investigación y por el apoyo y estímulo que me brindó en todo momento.

Al Doctor Misael Chinchilla, Decano de la Facultad de Microbiología por su comprensión y cariño.

A mi maestro y amigo ausente físicamente, al Doctor Andrés Vesalio Guzmán Calleja, a quien le debo la mayoría de mis triunfos.

A los integrantes del tribunal de tesis, quienes siempre estuvieron dispuestos a conceder la oportuna sugerencia.

A mis profesores y compañeros de la Escuela de Biología de la Universidad de Costa Rica, y a mis amigos y compañeros de trabajo, en la Escuela Autónoma de Ciencias Médicas de Centro América, afiliada a la Universidad Autónoma de Centro América, por el apoyo moral y ayuda que siempre he recibido.

Y a las muchas personas que me han ayudado a finalizar esta tesis, particularmente a Gerardo Carballo y Orlando Montero Ugalde quienes colaboraron en forma especial.

A todos

Muchas Gracias

## INTRODUCCION

El estudio de la Biología del suelo es de mucho interés e importancia, dado que de su conocimiento se obtendrá siempre una contribución al bienestar de la humanidad.

El suelo es depósito de vida y el laboratorio dentro del cual tienen lugar la mayor parte de los cambios que permiten la continuación de la misma. En él se encuentran las raíces de nuestras plantas, los mamíferos cavadores y otros animales, así como numerosos microorganismos dentro de los que podemos mencionar las bacterias y los hongos. En el suelo ocurren las transformaciones más complejas de la materia y durante estos cambios, esos microorganismos juegan un papel significativo.

El hombre conociendo la capacidad metabólica de los hongos, se ha encargado de promover ciertas actividades bajo condiciones controladas en el laboratorio y la industria, con lo cual aprovecha los productos que se obtienen de su crecimiento y esto constituye la base de una cantidad de procesos de fermentación, tales como la elaboración del pan, vino, cerveza y licores en general, la producción comercial de muchos ácidos orgánicos y la manufactura de sustancias antibióticas, entre las cuales destaca la penicilina (6-20-15). Numerosos productos alimenticios pueden también obtenerse de la actividad de los hongos y es así como se ha creado una industria láctea con una importante producción especialmente de quesos; se ha logrado la fermentación de diversas semillas como las del cacao, se ha llegado a la elaboración de diversas comidas típicas, de algunos

pueblos de la tierra, en las que la acción de los hongos sobre granos como arroz y otros cereales han creado hábitos alimenticios particulares. Es también conocida la afición del hombre a ingerir directamente esos hongos, dada la gran variedad de los mismos y de sus sabores.

Las sustancias antibióticas producidas, convenientemente utilizadas, han contribuído al control de las enfermedades infecciosas, las cuales son causadas especialmente por bacterias y esto ha sido el motivo de un profundo impacto en el mundo actual al aumentar considerablemente el promedio de vida de los seres humanos. La gran demanda de esas sustancias con motivo de la Segunda Guerra Mundial, llevó a intensificar los estudios sobre las mismas y los organismos capaces de producirlas, encontrándose en algunos hongos, bacterias, algas y plantas superiores. Con un mejor conocimiento de esos antibióticos, se ha logrado obtenerlos aún por síntesis química (8,24).

El trabajo que les presento, se llevó a cabo con la finalidad de aislar hongos productores de antibióticos antibacterianos de muestras de suelo, recogidas en la Provincia de San José y constituye el primer ensayo de esta naturaleza hecho en Costa Rica.

Espero que el mismo sea un estímulo para la realización posterior de nuevas investigaciones sobre el mismo tema o en campos relacionados y más especializados, los que pueden ser fuente de conocimientos de ingresos y de trabajo en nuestro país.

### REVISION DE LITERATURA

Los hongos han sido reconocidos desde el inicio de la humanidad y - su estudio fue relacionado siempre a sus usos y aplicaciones como fuente de alimentos, en las fermentaciones y en medicina por su capacidad de provocar intoxicaciones en algunas personas que los ingerían o bien por producir infecciones y alergias que pueden afectar los tejidos de hombres y animales aún causando la muerte.

Linneo, que fue el padre de la biología sistemática, colocó los hongos en el reino vegetal y allí permanecieron por mucho tiempo. No obstante cada vez fue más claro que la frontera entre los reinos animal y vegetal no era única, y que muchos grupos de organismos, como los hongos, se superponían a esta división hecha por el hombre.

Haeckel (1866) propuso un tercer reino, los Protistos, para incluir allí todos los organismos que claramente no pertenecían al reino vegetal ni al reino animal. Esta idea ha sido ampliada por otros biólogos, y así Copeland (1956) y Barkley (1968), han propuesto cuatro reinos de organismos vivos (2).

Whittaker (1969) propuso un sistema de cinco reinos (2). En el sistema antiguo los hongos se clasificaban en el reino de las plantas como una división o phylum thallophyta (Subphylum Fungi - Algae)., luego se consideró como un subreino y actualmente se le da el rango de reino (6).

El cuadro No. 1 resume la tesis de algunos autores.

Cuadro No. 1

REINOS BIOLÓGICOS ACEPTADOS POR ALGUNOS AUTORES Y  
LA POSICIÓN DE LOS HONGOS (3)

---

Haeckel (1866* 1894)	Copeland (1938* 1956)	Barkley (1939* 1970)	Whittaker (1947 1969)
		Vira	
Protophyta	Mychota	Monera	Monera
Protozoa	Protoctista	Protista	Protista
Metaphyta			
Phylum: Thallophyta	Phylum: Inophyta	Phylum: Mycophyta Fungi	Fungi
(Algae, Mycetes (hongos), Líquenes)	(hongos)		
Phyla: Diaphyta	Plantae	Plantae	Plantae
Anthophyta			
Metazoa	Animalia	Animalia	Animalia

---

\* Fecha en la cual el sistema fue presentado

La clasificación de estos microorganismos presenta innumerables dificultades, pues las diferencias de opinión entre los micólogos sobre la misma son tan numerosas y, a menudo, tan grandes, que en la literatura especializada se encuentran serias discrepancias.

Por ejemplo Alexopoulos (6) incluye a los hongos en el reino Myceteae que consta de tres divisiones:

División I Gymnomycota con las subdivisiones: Acrasiogymnomycotina y Plasmodiogymnomycotina.

División II Mastigomycota con las subdivisiones: Haplomastigomycotina y Diplomastigomycotina.

División III Amastigomycota con las subdivisiones: Zygomycotina, Ascomycotina, Basidiomycotina y Deuteromycotina.

Sin embargo la División I de Alexopoulos es cuestionada por otros autores que consideran que los organismos incluidos en esta división pertenecen al reino Protoctista (3).

Los hongos muestran semejanzas y diferencias que permiten su identificación e inclusión en las diversas clasificaciones hechas. Entre las características que se pueden mencionar tenemos:

Son organismos heterotróficos, no tienen la capacidad de producir su propio alimento, dado que carecen de pigmentos foto o quimiosintéticos, por lo que deben obtenerlo por un proceso de absorción. Para utilizar ciertas fracciones de materiales nutritivos de su medio ambiente, ellos secretan enzimas a su alrededor, con las que degradan diversas sus

tancias hasta compuestos que pueden ser absorbidos a través de su membrana celular (15).

Son eucarióticos, presentando núcleos bien definidos rodeados por una membrana. También, con raras excepciones, tienen paredes celulares definidas, las cuales sin embargo muestran una composición química diferente a las de las plantas verdes. Son generalmente inmóviles, aunque en algunos estadios de su ciclo vital pueden observarse células reproductoras móviles. No poseen tallos, raíces ni hojas y carecen de un sistema vascular desarrollado como los tipos vegetales más evolucionados. Son por lo general filamentosos y sus estructuras somáticas muestran poca diferenciación y prácticamente ninguna división de trabajo (6). Algunos tienen sólo un talo unicelular como es el caso de las levaduras.

Las estructuras somáticas están formadas típicamente por hilos o filamentos microscópicos cuyas ramas dispuestas en todas direcciones se extienden sobre o dentro del sustrato utilizado como alimento. Se denomina a cada uno de estos filamentos con el nombre de hifa. La hifa está constituida por una pared tubular delgada, transparente, interiormente llena o sólo revestida por un estrato de protoplasma de espesor variable. Según la especie de que se trate, el protoplasma puede ser continuo o en la hifa se presentan septos transversales que no impiden el paso del protoplasma (6).

En cuanto a su habitat, se clasifican como parásitos o saprófitos, pero la mayoría, son capaces de vivir sobre materia orgánica muerta, como lo demuestra el hecho de poder cultivarlos en el laboratorio sobre medios artificiales.

Los hongos que viviendo sobre la sustancia muerta son incapaces de infectar los organismos vivos, se llaman saprobios obligados; en tanto que aquellos que según las circunstancias pueden causar enfermedad o vivir sobre sustancia orgánica muerta, se llaman parásitos facultativos - (o saprobios facultativos); y los que sólo pueden vivir sobre protoplasma vivo, parásitos obligados (6).

La distribución de los hongos es cosmopolita (2). Son microorganismos aeróbicos y en condiciones de anaerobiosis pueden, en muchos casos, modificar su metabolismo hacia procesos de fermentación más que de aumento del volumen de la materia que la componen, como ocurre con la levadura. Requieren de carbono, hidrógeno, nitrógeno y los macro y microelementos en grados variables. (15).

Los hongos del suelo prefieren un medio ácido para su crecimiento, siendo el óptimo alrededor de pH6.

Otros factores que influyen en el crecimiento son edáficos, climáticos y algunos bióticos como en el caso de la presencia o ausencia de raíces. (7, 13).

La mayoría de los hongos crecen entre 0 y 35 grados centígrados, pero las temperaturas óptimas se ubican entre 20 y 30 grados centígrados (6, 15).

Aunque la luz no es necesaria para su crecimiento, resulta esencial para la esporulación de muchas especies (6).

Típicamente se reproducen tanto sexual como asexualmente. En general, la reproducción asexual es más importante para la propaga-

ción de la especie, ya que origina la producción de numerosos individuos, particularmente porque el ciclo asexual por lo común se repite varias veces al año, en tanto que el estado sexual de muchos hongos se presenta sólo una vez (40, 6).

Por las características antes descritas, los hongos son organismos que se prestan para realizar investigaciones en el laboratorio, pues su crecimiento es rápido y se pueden cultivar en medios artificiales. Por este motivo y con el deseo de dejar una clara visión de los estudios - que han sido hechos en aislamiento de hongos del suelo, parece de interés presentar un resumen en el cual se agrupan esos hongos de acuerdo a la experiencia de Gilman (20), tal y como aparece en el cuadro No. 2.

Cuadro No. 2

PRINCIPALES HONGOS QUE SE AISLAN EN EL SUELO SEGUN GILMAN (1963)

Clase	Orden	Familia	Género
1. Phycomycetes	Mucorales	Mucoraceae	<u>Absidia</u> , <u>Rhizopus</u> <u>Mucor</u>
	Peronosporales	Pythiaceae	<u>Pythium</u>
2. Ascomycetes	Sphaeriales	Chaetomiaceae	<u>Chaetomium</u> <u>Saccharomyces</u>
3. Fungi imperfecti	Moniliales	Moniliaceae	<u>Trichoderma</u> <u>Aspergillus</u> , <u>Oospora</u> <u>Monilia</u> , <u>Botrytis</u> <u>Penicillium</u> <u>Verticillium</u>
		Dematiaceae	<u>Pullularia</u> , <u>Humicola</u> <u>Curvularia</u> , <u>Torula</u> <u>Dicoccum</u> , <u>Alternaria</u>
		Tuberculariaceae	<u>Fusarium</u>
	Sphaeropsidales	Sphaeropsidaceae	<u>Phoma</u> , <u>Sphaeronaema</u>
	Melanconiales	Melanconiaceae	<u>Cryptomela</u>
4. Mycelia sterilia			<u>Rhizoctonia</u> <u>Sclerotium</u>

Las características principales de las clases que incluyen hongos - del sueben las cuales no se contemplan los Basidiomycetes se resumen como sigue: \*

1. Phycomycetes:

Cuerpo vegetativo no especializado y convertido totalmente en un órgano reproductivo llevando a veces rizoides fusiformes, o bien de tipo miceliar y muy extenso.

Esporas asexuales producidas en esporangios o como pseudoconidios móviles o inmóviles. Reproducción sexual por conjugación de gametangios similares para formar zigósporas, por conjugación de planogametos, o mediante la fertilización de una célula huevo por anterozoides móviles - para formar oosporas. En todos los casos, las esporas sexuales son el resultado directo de fusión nuclear y celular.

2. Ascomycetes:

Micelio bien desarrollado (excepto en las Sacaromicetáceas y algunas Tafrináceas), filiforme, por lo general muy ramificado y septado. Presencia de esporas asexuales formadas por distintos métodos y de esporas sexuales típicamente dentro de un saco, el asca, el cual generalmente está protegido por fructificaciones conocidas como ascocarpos. Estas esporas en la mayoría de los casos están en número definido dentro de cada saco, generalmente múltiplo de dos.

3. Fungi imperfecti:

Micelio formado de hifas septadas, hialinas o coloreadas, o de células que se reproducen por gemación. Hifas claramente individuales

o, a veces, entrelazadas formando un tejido plectenquimatoso. Estromas frecuentemente presentes. Fructificación consistente en conidióforos solitarios o bien agrupados en laminillas o en receptáculos conidiales (picnidios). Nunca basidios o ascos típicos. Los hongos imperfectos no presentan esporas sexuales conocidas y son las formas asexuales de miembros de otras divisiones, principalmente ascomicetes.

#### 4. Mycelia sterilia:

Hongos que carecen de esporas sexuales o asexuales. Se agrupan en dos géneros que producen sobre el micelio esclerocios de forma definida o indefinida.

El otro grupo de sumo interés que no es analizado por Gilman es el de los Basidiomycetes, los cuales se caracterizan por la formación de esporas sexuales en una estructura de aspecto globoso, la basidia, que forma esterigmas al extremo de los cuales se presentan las basidiósporas.

Todos estos grupos de hongos presentan representantes capaces de producir sustancias de tipo antibiótico, las cuales como ya se mencionó han revolucionado la terapéutica general de las enfermedades infecciosas, ya que constituyen armas realmente eficaces contra azotes como la tuberculosis y la sífilis, frente a los que la medicina era prácticamente impotente (32).

Los antibióticos son metabolitos secundarios de ciertos microorganismos que interfieren con el metabolismo y crecimiento de otros (23).

La importancia práctica de sustancias con esas características, - probablemente fue descubierta por Pasteur y Joubert 1877, quienes obser- varon, en los cultivos, el antagonismo entre el Bacillus anthracis y -- otras bacterias. Ese conocimiento dio base para el descubrimiento de - la piocianasa, antibiótico soluble en agua obtenido de Pseudomonas ae- ruginosa por Emmerck y Low en 1899 (13, 24).

A la palabra antibiosis se le daba un sentido muy amplio en la li- teratura biológica antigua. Dicha palabra proviene de la definición - dada por Vuillemin que dice; "le damos el nombre de antibiótico al -- agente activo cuando un ser vivo destruye la vida de otros".

Marchal Ward 1889 aplicó el término antibiótico a una asociación - de organismos en la que uno de ellos lesiona al otro. En 1928 Papacos- tas y Gaté resumieron los conocimientos que se tenían sobre las asocia- ciones microbianas y propusieron que se definiera la palabra "antibio- sis" del modo siguiente:

"Cuando en un cultivo se presentan diversas especies bacterianas y se mezclan deliberadamente, la acción nociva que un organismo ejerce so- bre otro se le llama antibiosis" (44, 39, 24).

Este campo de investigación quedó estancado y la posibilidad de - producir agentes quimioterápicos a partir de microorganismos, no se vol- vió a tomar en consideración hasta que aparecieron los trabajos de Fle- ming (1929) y Dubos (1939) (21).

Fleming partió de una observación casual. Una placa de agar - san- gre cultivada con estafilococos, se contaminó accidentalmente con un --

hongo del género Penicillium el que produjo alrededor de la colonia una amplia zona de inhibición en el desarrollo del estafilococo. El hongo se identificó luego como Penicillium notatum y el principio activo penicilina (18).

En 1941 la penicilina fue introducida como un importante agente -- quimioterápico.

En 1942 Waksman propuso el empleo del término antibiótico para definir "aquellas sustancias químicas de origen microbiano dotadas de actividad antimicrobiana".

Al progresar la búsqueda de nuevos antibióticos, el sentido de esta denominación se ha ido ampliando para incluir en ella no solamente las sustancias químicas de origen microbiano, sino aquellas procedentes de tejidos vegetales, animales y hongos (39).

Más de tres mil antibióticos han sido descritos, de los cuales cerca del veinticinco por ciento son producidos por hongos. Una gran proporción son producidos por bacterias, especialmente por Actinomycetes. El cuadro No. 3 resume la producción de antibióticos comercialmente importantes.

Cuadro No. 3

PRODUCCION DE ANTIBIOTICOS COMERCIALMENTE IMPORTANTES (8)

Grupo de Organismos	Número total de Anti bióticos descubiertos	Número de los usa- dos comercialmente
Myxomycota	4	0
Eumycota (total antibióticos 768)		
1. Mastigo y Zygomycotina	14	0
2. Ascomycotina	61	0
3. Basidiomycotina	140	0
4. Deuteromycotina	553	8
<u>Penicillium</u> (123)		
<u>Aspergillus</u> (115)		
<u>Fusarium</u> (946)		
<u>Trichoderma</u> (13)		
Bacterias { Actinomycetes	2.078	72
{ Otros	372	10
Plantas verdes y animales	854	0

Solo ocho de los antibióticos naturales de hongos, han sido usados comercialmente; tal y como se observa en el cuadro No. 3. Estos antibióticos son: Penicilina G, V y O, cefalosporina C(CPC) griseofulvina, fumagilina, ácido fusídico, sicanina, variotina y xantocilina, de estos solamente los antibióticos griseofulvina, ácido fusídico, y los Beta - lactámicos tienen importancia clínica (25, 8).

La familia Aspergillaceae incluye los géneros Penicillium y Aspergillus, los cuales producen la gran mayoría de antibióticos importantes (8, 25). El cuadro No. 4 presenta algunas de las características de los antibióticos producidos por estos dos géneros de hongos.

Cuadro No. 4

AGENTES ANTIBIOTICOS ORIGINADOS DE HONGOS (39, 21, 8)

Antibiótico	Organismo	Descubridor	Actividad contra
Acido penicílico	<u>Penicillium puberulum</u>	Alsberg y Black, 1913	Gram Positivo
Penicilina	<u>Penicillium notatum</u> <u>Penicillium chrysoogenum</u>	Fleming, 1929	Gram Positivo y algunos Gram negativos
Citrina	<u>P. citrinum</u>	Hetherington, <u>et al</u> , 1931	Gram Positivo
Fumigatina	<u>Aspergillus fumigatus</u>	Anslow y Raistrick	Gram Positivo
Claviformina	<u>P. claviforme</u>	Chain, Florey y Jennings, 1942	Gram Positivo y Negativo
Fumigacina	<u>A. fumigatus</u>	Waksman, Horning y Spencer, 1942	Gram Positivo
Clavacina	<u>A. clavatus</u>	Waksman, Horning y Spencer, 1942	Gram Positivo y Negativo
Acido aspergílico	<u>A. flavus</u>	White y Hill, 1943	Gram Positivo y Negativo
Flavicina	<u>A. flavus</u>	Bush y Goth, 1943	Gram Positivo
Acido helvólico	<u>A. fumigatus</u>	Chain, <u>et al</u> , 1943	Gram Positivo
Patulina	<u>P. patulum</u>	Raistrick, <u>et al</u> , 1943	Gram Positivo y Negativo
Acido gigántico	<u>A. giganteus</u>	Philpot, 1943	Gram Positivo
Flavacidina	<u>A. flavus</u>	Mckee, <u>et al</u> , 1944	Gram Positivo
Griseofulvina	<u>P. griseofulvum</u>	Oxford, <u>et al</u> , 1939	Hongos

Es interesante notar en el cuadro No. 4 que de un hongo se puede extraer más de un antibiótico, asimismo se ha observado que los principales antibióticos sintetizados por hongos son todos producidos por más de un género (25). Actualmente otro gran número de antibióticos de que se dispone se obtienen no de hongos verdaderos, sino de Actinomycetes.

La composición química de un antibiótico es muy compleja y variada e incluye lípidos, almidones, derivados de proteínas (polipéptidos que contienen aminoácidos que no se encuentran en proteínas normales, por ejemplo: gramicidina S con el aminoácido ornitina), compuestos de azufre y de hierro (26). Estas sustancias además, presentan diferencias en sus propiedades físicas y farmacológicas, en el espectro antibacteriano y en el mecanismo de acción (21).

El mecanismo de acción en general de los antibióticos, cualquiera que sea su procedencia, se clasifica en:

- a) Antibióticos que inhiben la síntesis de la pared de la célula bacteriana. Ejemplos: penicilinas, cefalotina, cicloserina, bacitracina, cefalosporina.
- b) Agentes que modifican la permeabilidad de la membrana celular. Ejemplos: polimixinas, anfotericina, colistimetato.
- c) Agentes que inhiben principalmente la síntesis de proteínas por sus efectos sobre los ribosomas. Ejemplos: cloranfenicol, tetraciclinas, aminogluco-sidos, ácido fusídico.
- d) Agentes que afectan el metabolismo del ácido nucleico. Ejemplos: rifampicina, ácido nalidíxico, griseofulvina.

### Objetivos de la Investigación

1. Aislar e identificar hongos presentes en muestras de suelo.
2. Relacionar las características del suelo con la presencia de hongos y bacterias.
3. Estudiar la actividad antibiótica de esos hongos sobre diferentes cepas bacterianas de interés médico.
4. Analizar la posible relación entre hongos productores de antibióticos y la presencia de bacterias en el suelo.

### MATERIALES Y METODOS

El trabajo de investigación de esta tesis se llevó a cabo en los Laboratorios de Micología de la Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

Se recolectaron cien muestras de suelo de diferentes lugares en la Provincia de San José, y se anotaron para cada una de ellas las características de humedad, color y consistencia.

Para el aislamiento de los hongos se hicieron suspensiones de cada una de las muestras, mediante el pesaje de un gramo de suelo que fue adicionado a tubos conteniendo diez centímetros cúbicos de solución salina. De esta solución 1:10 peso/volumen, se procedió a hacer diluciones volumen/volumen de uno en diez mil ( $1:10^4$ ), uno en cien mil ( $1:10^5$ ) y uno en un millón ( $1:10^6$ ).

Un centímetro cúbico de cada una de las diluciones fue sembrado por vaciado en placas de Petri a las que se agregaron los medios de cultivo Sabouraud Glucosa Agar y Papa Dextrosa Agar, ambos producidos por la Casa Bioxon de México. Todas las placas así sembradas se incubaron a temperatura ambiente, por un período de seis días, durante los cuales se observó el crecimiento de los microorganismos y se efectuaron conteos de hongos y bacterias para establecer una relación en cuanto al número presente en las muestras de suelo. Los hongos que crecieron por ese método, se aislaron como cultivo puro en tubos de ensayo conteniendo medio de Sabouraud Glu-

cosa Agar y posteriormente se procedió a la identificación de los mismos. Para esto, se utilizó un montaje directo entre porta y cubreobjetos y se usó como colorante el azul de lactofenol. Además, en todos los casos en que no se observó presencia de esporas u otras estructuras características, se procedió a efectuar un cultivo en lámina en medio de Sabouraud Glucosado para lo cual se sembraron las cepas en una placa de Petri, conteniendo un triángulo de vidrio y un portaobjetos estériles, sobre el que se colocó el medio de cultivo cortado en cubos de un centímetro de lado. Una vez sembrado el hongo, se puso sobre la preparación un cubreobjetos estéril, se adicionaron cinco centímetros cúbicos de agua destilada y se incubó a temperatura ambiente hasta observar la madurez de los cultivos, momento en que los cubreobjetos con el hongo adherido a ellos se montaron en azul de lactofenol.

El género o especie de los hongos estudiados, se estableció de acuerdo a las claves presentadas por diversos autores (2, 20).

Las pruebas de antibiosis se efectuaron con bacterias Gram positivas y Gram negativas, que se obtuvieron de materiales clínicos de pacientes internados en uno de los Hospitales de San José.

Estas bacterias fueron Staphylococcus aureus y Streptococcus sp., como Gram positivas y Escherichia coli y Klebsiella sp., como Gram negativas. Todos los cultivos se efectuaron en el medio de Mueller-Hinton y con períodos de incubación a 37 grados centígrados por 24 y 48 horas.

La capacidad de antibiosis de los hongos aislados se estudió mediante dos sistemas diferentes:

a. Los hongos aislados se sembraron en placas de Petri conteniendo medio de Sabouraud Glucosado, mediante una estría en el centro de las mismas, incubándose a temperatura ambiente durante cuarenta y ocho horas o más de acuerdo a la velocidad de crecimiento del hongo. Después de ese período, se sembraron las bacterias en estriás transversales al rayado del hongo y se incubaron las placas de Petri a 37 grados centígrados, por un período de hasta setenta y dos horas, con observación diaria de las mismas.

b. Los hongos aislados se sembraron en tubos de ensayo conteniendo diez centímetros cúbicos de Sabouraud Glucosado sin agar y se mantuvieron en incubación a temperatura ambiente por 15 días. A los tres y luego a los quince días de incubación, discos de papel de filtro estériles de un centímetro de diámetro fueron humedecidos con el medio líquido y colocados en placas de Petri con medio de Mueller-Hinton, en cuya superficie había sido previamente sembrada cada una de las bacterias en estudio. Estas placas fueron incubadas a 37 grados centígrados por 48 horas observándose también a las 24 horas.

Como parte de la investigación, se trató de analizar la competencia biológica que pueden mostrar los hongos y las bacterias, para lo cual se hicieron suspensiones en solución salina de las bacterias y de cinco de los hongos aislados.

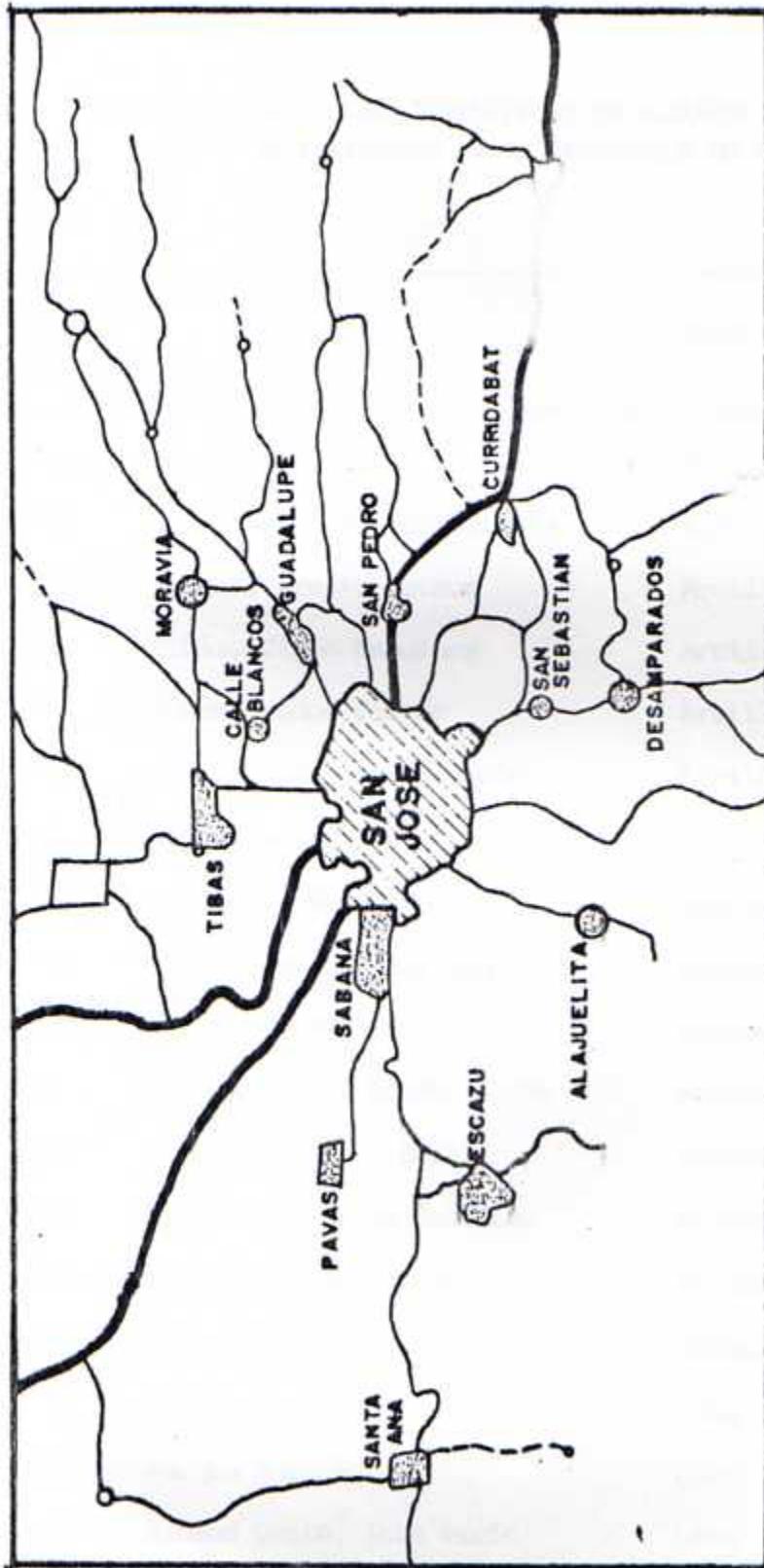
Placas de Petri conteniendo tierra estéril fueron inoculadas con un centímetro cúbico de las suspensiones y con mezclas de suspensiones de bacterias y hongos. Para establecer el número de microorganismos

colocados en cada placa, se hicieron de inmediato suspensiones de las tierras inoculadas y por vaciado se sembraron placas de medio de cultivo apropiado. Nuevos recuentos de microorganismos se realizaron a los ocho y quince días de la incubación a temperatura ambiente. Tanto estos cálculos como los efectuados con las muestras de suelo iniciales, se hicieron con la ayuda de un contador de bacterias Quebec.

### RESULTADOS

La recolección de las muestras de suelo se efectuó en los lugares indicados en la figura No.1, en la cual se nota una variada ubicación de las zonas estudiadas, con la finalidad de cubrir una gran extensión de la provincia de San José.

Las características macroscópicas del suelo se presentan en el cuadro No. 5. Debido a la constante repetición de esas características en los tres grupos establecidos de acuerdo a la textura, únicamente hemos incluido 25 muestras, con las que podemos ver como las arcillosas, en las cuales el contenido de materia orgánica es probablemente bajo, son las que retienen un alto grado de humedad, en tanto que los tipos arenosos o con aspecto de limo, en general fueron aún más secas.



**Figura N° 1**

MAPA DE LA PROVINCIA DE SAN JOSE, MOSTRANDO LAS LOCALIDADES DONDE SE COLECTARON MUESTRAS DE TIERRA PARA LA INVESTIGACION.

■ 5-10 % MUESTRAS.

● 30 % MUESTRAS.

Cuadro No. 5

LOCALIZACION DE CARACTERISTICAS DE ALGUNAS MUESTRAS DEL SUELO  
RECOLECTADAS EN LA PROVINCIA DE SAN JOSE

Número Muestra	Localización	Textura	Color	Grado de Humedad
5	Correo Central	Arcillosa	Café	+++
15	Curridabat, frente Iglesia	Arcillosa	Café claro	+++
20	Sabana, frente Datsun	Arcillosa	Café	+++
44	Tibás, Cinco Esquinas	Arcillosa	Café	+++
48	Desamparados Centro	Arcillosa	Negra	+++
58	Sabana Oeste, lote vacío	Arcillosa	Gris	+++
61	San Sebastián	Arcillosa	Café	+++
2	Parque La Merced	Arenosa	Negra	+
19	Sabana, orilla del Lago	Arenosa	Negra	+
47	Tibás, cafetal	Arenosa	Negra	+
51	Desamparados, frente Jorón	Arenosa	Gris	-
55	Desamparados, cafetal	Arenosa	Negra	++
63	Santa Ana, Plaza Deportes	Arenosa	Café	-
69	Santa Ana, Río de Oro	Arenosa	Negra	++
70	Paso Ancho	Arenosa	Negra	+
4	Parque Central	Limo	Negra	+
13	Parque Morazán	Limo	Negra	++
22	Sabana Oeste, lote vacío	Limo	Negra	+

Número Muestra	Localización	Textura	Color	Grado de Humedad
27	Sabana, Bar Chicote	Limo	Negra	+
31	Sabana, frente Los Ranchos	Limo	Gris	++
35	Sabana, Estatua León Cortés	Limo	Negra	++
49	Desamparados, Col. Monseñor Odio	Limo	Negra	+
52	Desamparados, Parque	Limo	Café	+
54	Desamparados, Iglesia Bta	Limo	Café	-
65	Santa Ana Centro	Limo	Negra	+

---

- Seca      + Poca humedad      ++ Normal      +++ Muy húmeda

En el cuadro No. 6 se presentan los resultados de las muestras de suelo analizadas y se deduce de él, que las muestras arcillosas tienen en general un menor contenido de microorganismos en tanto que números variables se obtienen en los otros tipos de suelo.

Cuadro No. 6

NUMERO DE MICROORGANISMOS PRESENTES  
EN VARIOS DE LOS SUELOS ESTUDIADOS

Número de Muestra	Número de bacterias* /por gramo	Número de hongos* /por gramo
5	2.000	2.000
15	7.000	4.000
20	4.000	3.000
44	5.000	7.000
48	19.000	4.000
58	8.000	1.000
61	10.000	9.000
2	20.000	70.000
19	4.000	41.000
47	220.000	6.000
51	20.000	23.000
55	40.000	7.000
63	4.000	2.000
69	13.000	8.000
70	10.000	30.000
4	176.000	40.000

Número de Muestra	Número de bacterias* /por gramo	Número de hongos* /por gramo
13	20.000	25.000
22	12.000	10.000
27	13.000	17.000
31	168.000	4.000
35	75.000	5.000
49	76.000	6.000
52	20.000	6.000
54	7.000	4.000
65	125.000	15.000

---

\*Partículas formadoras de colonias

Después del recuento de microorganismos se procedió al aislamiento e identificación de los hongos; las características de cada uno de ellos se anotan a continuación:

1. Absidia glauca

Colonia de crecimiento rápido, algodonosa, con micelio café amarillento. Microscópicamente presenta estolones irregulares, a veces levantados y alargados indefinidamente; en otros casos encorvados hacia el sustrato al cual están unidos sus extremos por medio de un conjunto de rizoides; o erectos y con esporangio terminal. Las ramas fértiles están aisladas, o en grupos de dos, tres o cuatro. Columelas redondeadas, mamiformes provistas de una protuberancia muy corta. Esporas redondas incoloras.

2. Absidia sp

Colonia de crecimiento rápido, algodonosa con micelio blanco grisáceo. Microscópicamente presenta estolones y rizoides. Los esporangios se localizan en los estolones, en grupos de dos. Esporas hialinas ovales.

3. Aspergillus sp

Colonias de crecimiento rápido, pulverulentas con micelio blanco al principio a azul - verde, amarillo a verde o a negro o puede permanecer del color inicial. Microscópicamente presenta hifas septadas - ramificadas, con células de pie que originan la estructura conidial, los conidióforos como ramas aproximadamente perpendiculares al eje longitudinal de la célula de pie. Conidióforos simples o septados,-

alargándose hacia el ápice y ensachándose en vesículas elípticas, semiesférica o globosas, fértiles, las cuales producen fiálides paralelas o racemosas en grupos terminales o irradia toda la superficie de conidios que varían considerablemente en color, tamaño, forma y ornamentaciones, formando cadenas simples dispuestas en cabezuelas radiadas o reunidas en masas columnares.

#### 4. Aspergillus niger

Colonias de crecimiento rápido, pulverulentas con micelio blanco. Microscópicamente presenta conidióforos que nacen directamente del sustrato, lisos, simples, de longitud y diámetro muy variable.

Cabezuelas conidiales globosas de color café negruzco, fiálides típicamente en dos series cubriendo densamente la vesícula de conidios globosos.

#### 5. Curvularia sp

Colonias de crecimiento rápido, glabra, vellosas o membranosas con micelio negro, café u oliva oscuro. Microscópicamente presenta hifas septadas, conidióforos filamentosos, simples, septados. Conidios apicales dispuestos en verticilos, de color olivo o café; curvados, con tres o cuatro septos.

#### 6. Clasterosporium sp

Colonias de crecimiento lento, membranosas, con micelio negro. Microscópicamente presenta hifas septadas, ramificadas de color -

oscuro.

Conidióforos erectos cortos, septados, con conidios terminales, ovals.

7. Dicoccum sp

Colonia de crecimiento rápido, algodonosa con micelio al principio blanco, luego rojo y con el tiempo oscuro a casi negro. Microscópicamente presente hifas rastreras, ramificadas, septadas de color oscuro. Conidios únicamente en el extremo de ramas laterales cortas y erectas, bicelulares redondeados, con pared espinosa.

8. Fusarium solani

Colonia de crecimiento rápido, algodonosa con micelio rosado. Microscópicamente presenta hifas septadas y conidióforos simples, los macroconidios aproximadamente cilíndricos en la parte media, con clamidósporas intercalares.

9. Fusarium sp

Colonias de crecimiento rápido, algodonosa o afelpadas con micelio gris, amarillo o púrpura. Microscópicamente presenta microconidios típicamente globosos en forma de limón o piriformes y macroconidios largos fusiformes, elipsoides o en forma de hoz.

10. Graphium sp

Colonia de crecimiento moderado, pulverulenta con micelio blanco al principio y negro con el tiempo. Microscópicamente presenta conidios en cabezuelas mucilaginosas en los ápices del coremio, hialinos, unicelulares.

11. Mucor sp

Colonias de crecimiento moderado, aterciopeladas, con micelio gris o café. Microscópicamente presenta un micelio profusamente ramificado, con ramas de grosor muy fino. Esporangióforos emergiendo individualmente del micelio, con esporangios terminales sencillos, o ramificados con esporangios similares en todos los extremos de las ramas. Columelas presentes, de varias formas, incoloras o coloreadas. Esporas esféricas con membrana lisa.

12. Paecilomyces

Colonias de crecimiento rápido, pulverulentas, con micelio variable de verde a café o violeta. Microscópicamente presenta hifas septadas hialinas, conidióforo con fiálides en verticilos. Las fiálides son más anchas en la base y se van adelgazando en el ápice. Las esporas son esféricas, unicelulares.

13. Penicillium sp

Colonias de crecimiento rápido, pulverulentas, musgosas o algodonosas, con micelio verde, azul-verdoso, violeta, rojo, negro, gris, amarillo o blanco, al principio puede ser blanco y se colorea después de madurar los conidios. Microscópicamente presenta hifas vegetativas rastreras, septadas, ramificadas. Conidióforos erectos, generalmente simples, septados, con un verticilo apical de esterigmas o compuestos con ramas y métulas con verticilos de esterigmas nacidos directamente del ápice ligeramente abultado de los conidióforos. Algunas veces se

producen conidióforos secundarios que nacen en el ápice del conidióforo principal. Conidios en cadenas formando típicamente una cabezuela en escobilla, de diversas formas, globosos, ovoides, o elípticos, lisos o ásperos.

14. Rhizopus nigricans

Colonias de crecimiento rápido, granular, con micelio negro. Microscópicamente presenta tres tipos de hifas, las que sostienen el esporangio, los estolones que se difunden en el medio y los rizoides que se adhieren al sustrato. Esporangióforos rara vez solitarios, unidos en grupos de tres a cinco. Columelas anchas, semiesféricas. Esporas desiguales, irregularmente redondas u ovoides de color azul gris.

15. Rhizopus sp

Colonia de crecimiento rápido, algodonosa con micelio gris. Microscópicamente presenta tres tipos de hifas, dos sumergidas en el sustrato y otra aérea. Esporangióforos sencillos, o en grupos de dos, tres o más. Los esporangios blancos al principio, se tornan negro azulosos en la madurez. Columelas semiesféricas, esporas redondas de color café, con pared lisa.

16. Rhodotorula sp

Colonia de crecimiento moderado, levaduriforme, rojo - anaranjado. Microscópicamente presenta un talo unicelular.

17. Sepedonium sp

Colonia de crecimiento rápido, musgosa con micelio blanco, con el tiempo amarillo. Microscópicamente presenta hifas rastreras, extendi-

das y muy ramificadas. Conidios solitarios, o dos o tres terminales, globosos, hialinos, verrucosos.

18. Torula sp

Colonia de crecimiento moderado o granular con micelio gris, negro o verde oliváceo. Microscópicamente presenta hifas ramificadas, septadas, hialinas u oscuras. Conidios formados por fragmentación total del filamento en esporas que parecen yemas, consecuentemente unidos en cadenas que se separan en células individuales, de color negro o verde, globosos u ovales, lisos a verrucosos.

19. Trichoderma sp

Colonia de crecimiento rápido, algodonosa con micelio blanco. Microscópicamente presenta hifas septadas originando un micelio aplanado sólido. Conidióforos erectos, saliendo de ramas laterales corta ramificadas, ramificación comunmente opuesta, sin el ápice hinchado y produciendo de manera terminal cabezuelas de conidios. Conidios pequeños, globosos, hialinos.

20. Trichosporium sp

Colonia de crecimiento rápido, pulverulenta con micelio verde oscuro. Microscópicamente presenta hifas irregularmente ramificadas. Conidios a los lados de las hifas, globosos, lisos de color café.

21. Verticilliastrum sp

Colonia de crecimiento moderado, musgosa, con micelio verde. Microscópicamente presenta hifas septadas, ramificadas. Conidióforos ra-

mificados verticilarmente, opuestos o alternos.

Las ramas fértiles terminan en dos fiálides claviformes las cuales forman un ángulo recto por su posición y llevan un conidio en cada ápice. Conidios globosos hialinos.

## 22. Verticillium sp

Colonia de crecimiento lento, pulverulenta, con micelio blanco al principio, luego verde oscuro. Microscópicamente presenta hifas septadas, ramificadas. Conidióforos erectos, septados, ramificados. Ramas primarias y secundarias verticiladas; ramitas terminales normalmente en forma de botella con el ápice notablemente puntiagudo. Conidios uno en cada ramita, redondos, débilmente coloreados.

Una vez identificados los hongos aislados se procedió a realizar las pruebas de antibiosis a 50 cepas de hongos diferentes, por medio de los sistemas mencionados; del primero se obtuvieron los resultados que aparecen en el cuadro No. 7, donde seis hongos inhiben el crecimiento de las bacterias mientras que 44 cepas no presentan este fenómeno, en el segundo método no se obtuvo ningún resultado positivo.

Cuadro No. 7

INHIBICION DEL CRECIMIENTO BACTERIANO PROVOCADO  
POR VARIAS CEPAS DE HONGOS

Cepa	Microorganismos	<u>E. coli</u>	<u>Klebsiella sp</u>	<u>Staphylococcus aureus</u>	<u>Streptococcus sp</u>
58.4	<u>Penicillium sp</u>			X	XXXX
65.4	<u>Penicillium sp</u>			XX	XXXX
12.4	<u>Penicillium sp</u>		XXXX		XXXX
15.3	<u>Penicillium sp</u>	XX	X	X	XX
13.5	<u>Aspergillus sp</u>	XX	XX	XXX	XXXX
23.4	<u>Fusarium sp</u>				XXXX

X Inhibición apenas visible 25%

XX Inhibición 50%

XXX Inhibición 75%

XXXX Inhibición 100%

De la experiencia sobre la competencia biológica "in vitro", realizada mediante la inculación de muestras de suelo con bacterias, hongos o mezclas de los microorganismos, se obtuvo el resultado que se presenta en el cuadro No. 8.

Cuadro No. 8

NUMERO DE COLONIAS DE BACTERIAS Y HONGOS AISLADOS  
DE SUELOS INOCULADOS EXPERIMENTALMENTE

Cultivos	Bacterias		Hongos	
	Cultivo Mixto	Control*	Cultivo Mixto	Control*
<u>E. coli</u> + <u>Aspergillus sp</u>	22	365	20	26
<u>E. coli</u> + <u>Penicillium sp</u>	44	365	14	26
<u>E. coli</u> + <u>Fusarium sp</u>	244	365	27	39
<u>S. aureus</u> + <u>Aspergillus sp</u>	420	554	16	26
<u>S. aureus</u> + <u>Penicillium sp</u>	1	554	14	26
<u>S. aureus</u> + <u>Fusarium sp</u>	0	554	28	39
<u>Klebsiella sp</u> + <u>Aspergillus sp</u>	1448	65	0	26
<u>Klebsiella sp</u> + <u>Penicillium sp</u>	83	65	1	26
<u>Klebsiella sp</u> + <u>Fusarium sp</u>	360	65	15	39

\* Cultivos puros de los microorganismos

Como Apéndice se presentan algunas fotografías de los hongos y de los resultados de las pruebas de inhibición de bacterias.

### DISCUSION Y CONCLUSIONES

Las propiedades del sustrato determinan la cantidad y diversidad de microorganismos que pueden desarrollarse en un momento dado. Por esta razón la composición de las tierras que sirvieron como muestra en la investigación es un factor determinante, y así se observó que en aquellas con alto grado de humedad y arcillosas, el crecimiento de hongos y bacterias fue menor en comparación con los otros tipos de muestras.

Al respecto, se ha observado que los hongos son capaces de reproducirse en ambientes húmedos, siendo la humedad relativa más baja cercana al 70% (16). En algunos casos específicos, un aumento de esa humedad relativa puede ser perjudicial para un hongo, ya que permite la reproducción de microorganismos, bacterias u otros hongos, que compiten por el medio ambiente. De la misma manera la disponibilidad de materia orgánica es un factor de gran importancia; por lo tanto las muestras arcillosas, con alto grado de humedad y poco contenido orgánico, probablemente no permiten un crecimiento tan abundante como se puede suponer en otros sustratos.

Los estudios que tienden a aislar seres vivos en condiciones de laboratorio, pueden verse afectados por diferentes motivos, entre los que se pueden citar sustancias nutritivas, temperatura, pH, concentración de oxígeno y antagonismo biológico. Todas estas características, en su estado natural, crean un ambiente definido el cual con frecuencia no puede ser reproducido en su totalidad en el laboratorio.

Por este motivo, con el aislamiento efectuado en este trabajo se trató de cultivar las especies de hongos que crecen más fácilmente en medios y condiciones artificiales, en el entendido de que, muchas otras con requerimientos nutricionales muy específicos o de lento crecimiento, no pudieron ser demostradas. Se logró sin embargo el cultivo de hongos de 22 géneros diferentes que incluyen aproximadamente 70 especies.

Es necesario aclarar que en algunos casos al mencionar el nombre de una especie, en realidad se habla de un grupo de hongos de morfología muy semejante pero de especies distintas, tal es el caso que se presenta en el género Aspergillus, donde el término Aspergillus niger se refiere a un grupo de cerca de diez especies distintas.

Se hace difícil interpretar con los resultados obtenidos, cuál es la función que en el suelo desarrollan esas especies de hongos. En el cuadro No. 6, en que se indica la concentración de bacterias y hongos en algunas de las muestras de suelo, se observa que hay en general un mayor número de colonias bacterianas aisladas que de colonias de hongos, lo cual puede ser simplemente un resultado debido a las características propias de cada grupo de microorganismos. En estos cultivos, lo que se puede medir es el número de "partículas formadoras de colonias" y el hecho de que las bacterias sean seres unicelulares favorece la disgregación de las colonias del suelo, dando así un recuento más alto que el de hongos, los que por ser filamentosos pueden formar colonias a partir de masas de micelio o conidios. En el cuadro No. 8, en que se presenta la relación de hongos y bacterias

en suelo estéril "in vitro", se encuentran resultados que parecen indicar una actividad antagonista de los hongos contra las bacterias, - dado que en los controles el número de bacterias y hongos se mantuvo constante en tanto que en las mezclas de E. coli y S. aureus con los distintos hongos ese número fue siempre menor. Un resultado diferente, sin embargo, fue el de Klebsiella sp cuyo número en algunas de las mezclas fue considerablemente mayor.

El objetivo principal de este trabajo fue la búsqueda de hongos productores de antibióticos con acción en particular sobre bacterias patógenas. De los resultados obtenidos al estudiar 50 cepas de hongos de diferentes géneros, se desprenden varias conclusiones y la primera de ellas no es realmente la que en un inicio se esperaba, ya que sólo seis cepas, cuatro del género Penicillium y una de Aspergillus y Fusarium fueron capaces de inhibir el crecimiento bacteriano por el método en que se utilizó medios de cultivo sólidos. Es este doce por ciento una representación real de la capacidad de los hongos de inhibir bacterias? o es, sólo un resultado inducido por el medio de cultivo empleado?.

La experiencia adquirida no nos permite concluir sobre cuál es la respuesta correcta. Sin embargo, en el cuadro No. 3 se presenta una imagen sobre el número de sustancias antibióticas producidas por varios grupos microbianos. Se puede observar como los hongos producen diversos principios antibióticos de los cuales sólo ocho tienen

una aplicación práctica. Los Actinomycetes, bacterias filamentosas, muestran una mayor capacidad para producir ese tipo de sustancias. Se pueden plantear así varias preguntas, aún a riesgo de que sean consideradas como anatemas de la ciencia. Son los hongos en general productores de antibióticos como se considera corrientemente?; son sólo unos pocos géneros de hongos los que tienen entonces capacidad de producir esos principios?, el hecho de que los Actinomycetes fueron durante mucho tiempo considerados hongos, influyó para que se tenga una idea errónea de la capacidad de los hongos verdaderos para producir antibióticos?.

Fue, como algunos autores lo indican, Alexander Fleming un hombre afortunado al haber obtenido una contaminación por un hongo productor de antibióticos, en sus cultivos de bacterias susceptibles?. Cualquiera que sean las respuestas, sí se puede asegurar que gracias a ese hongo contaminante se abrió la puerta a lo que podemos denominar la "era de los antibióticos" en la cual el hombre ha tenido la oportunidad de lograr una importante victoria sobre muchas de las enfermedades infecciosas.

Otra conclusión que se obtiene es que en la mayoría de los casos, la acción antibiótica se presenta en mayor proporción contra bacterias Gram positivas (Staphylococcus sp y Streptococcus sp) en tanto que sólo tres cepas muestran una actividad menor sobre bacterias Gram negativas (Escherichia coli y Klebsiella sp).

Al relacionar los resultados del cuadro No. 7 con los que se pre

sentaron en el cuadro No. 8 se encuentra una identidad en cuanto a la actividad antibacteriana, con disminución en el número de bacterias - Gram positivas y un aumento importante del número de colonias de Klebsiella sp.

La producción y purificación de un principio antibiótico no pudo ser demostrada de los cultivos que se hicieron en medio líquido y -- con períodos de incubación variables. Ninguno de esos cultivos de las 50 cepas de hongos inhibió el crecimiento bacteriano, lo que puede deberse a una baja concentración de sustancias en esos medios o bien que el antagonismo observado sea el producto de alguno de los otros mecanismos de competencia biológica que pueden darse entre los seres vivos, como pueden ser la competencia por nutrientes o producción de toxinas.

Para finalizar, quiero hacer la indicación de que más que respuestas a los fenómenos planteados en este trabajo, han surgido una serie de interrogantes sobre la actividad antagónica de los hongos. - Espero que estas preguntas, que ahora quedan planteadas, sirvan de estímulo para nuevas investigaciones que podrían establecerse sobre los microorganismos como tales o bien sobre la importancia de los sustratos y de los elementos nutritivos que los componen.

A P E N D I C E



Figura No. 2. Colonia con micelio blanco, sin esporulación



Figura No. 3. Colonia de Absidia sp cubriendo toda la placa de petri



Figura No. 4. Colonia gigante de Aspergillus sp, grupo niger



Figura No. 5. Colonia gigante de Aspergillus sp, grupo niger



Figura No. 6. Colonia de Aspergillus sp



Figura No. 7. Colonia de Aspergillus sp



Figura No. 8. Colonia de Clasterosporium sp



Figura No. 9. Colonia de Fusarium sp

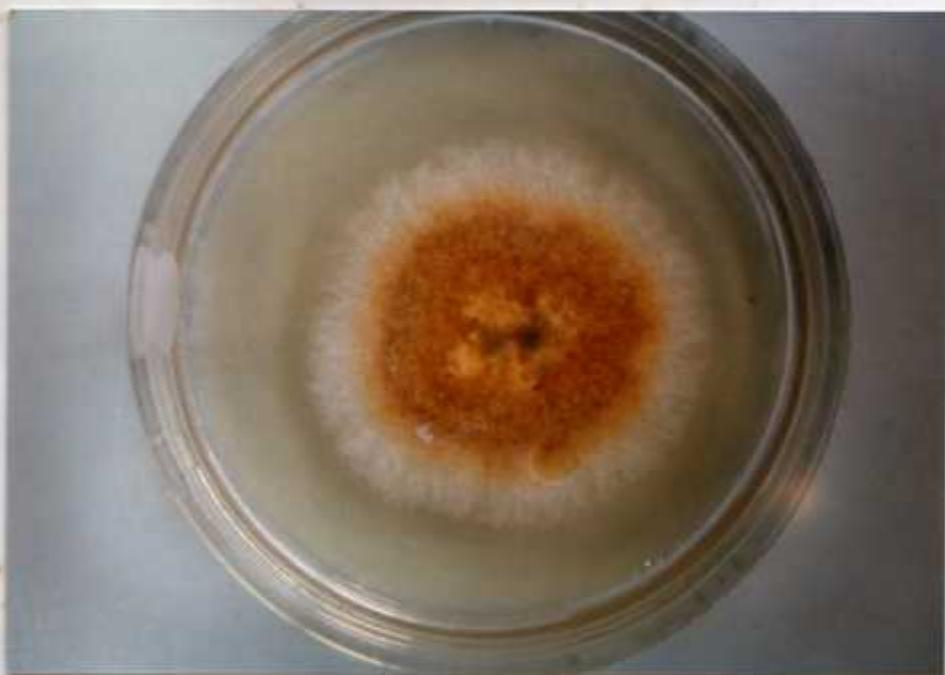


Figura No. 10. Colonia de Paecilomyces sp

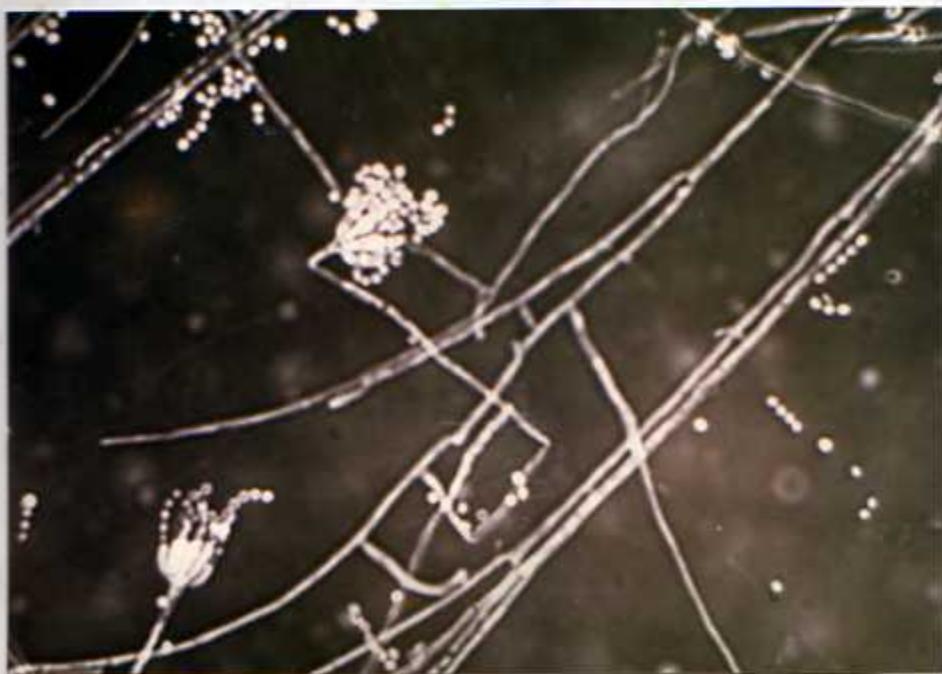


Figura No. 11. Penicillium sp, mostrando conidióforo simple



Figura No.12. Penicillium sp, mostrando conidióforo complejo

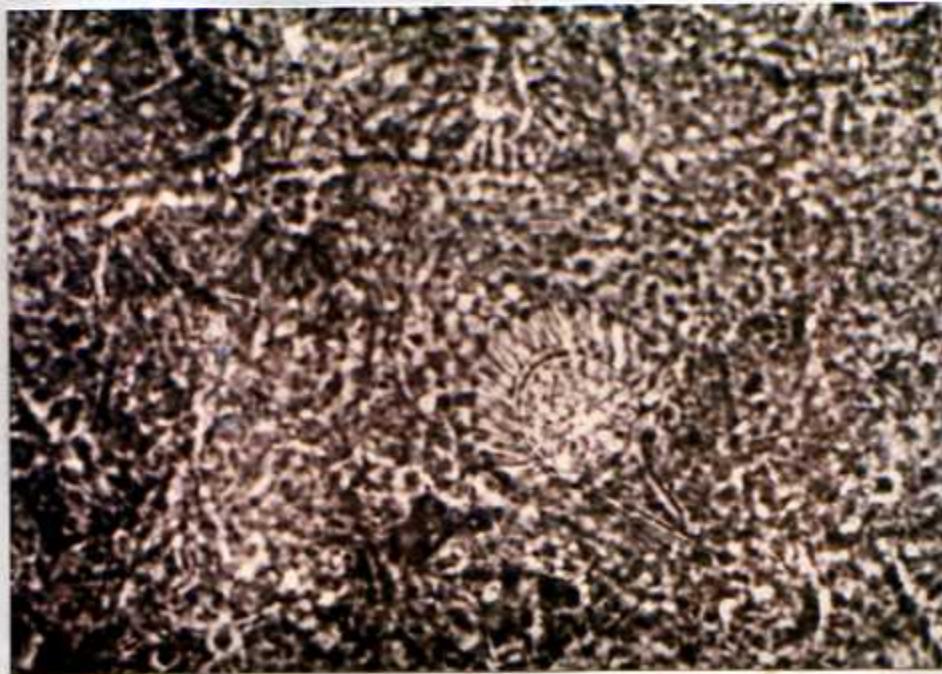


Figura No. 13. Aspergillus sp, mostrando conidióforo y micelio



Figura No. 14. Fusarium sp., se observa macroconidios e hifas

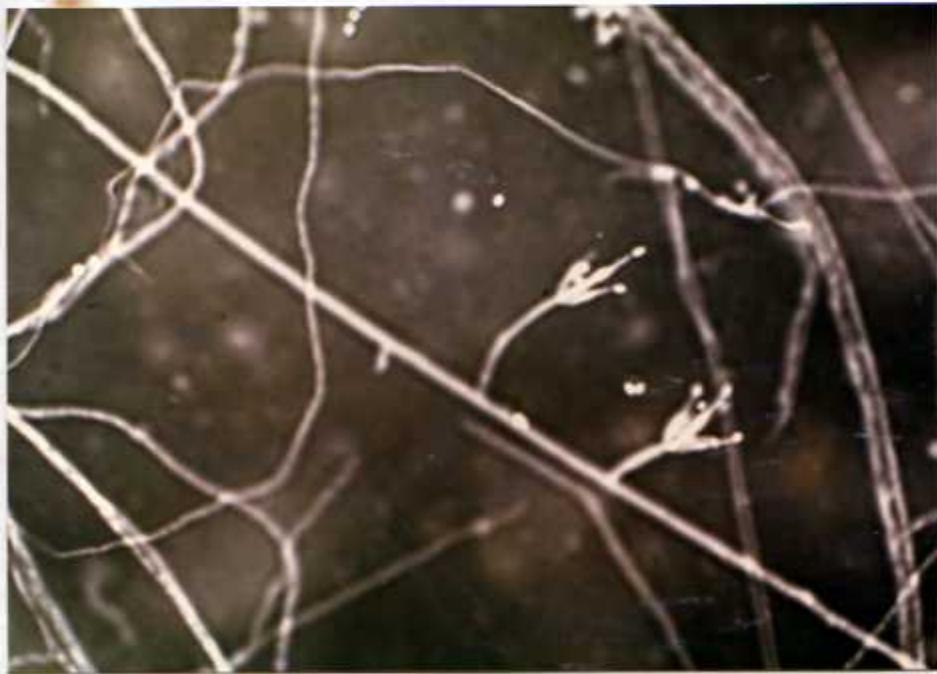


Figura No: 15. Paecilomyces sp., se muestra conidióforo y micelio



Figura No. 16. Cultivo puro de Klebsiella sp



Figura No. 17. Cultivo de Fusarium sp



Figura No. 18. Cultivo mixto de E. coli y Fusarium sp

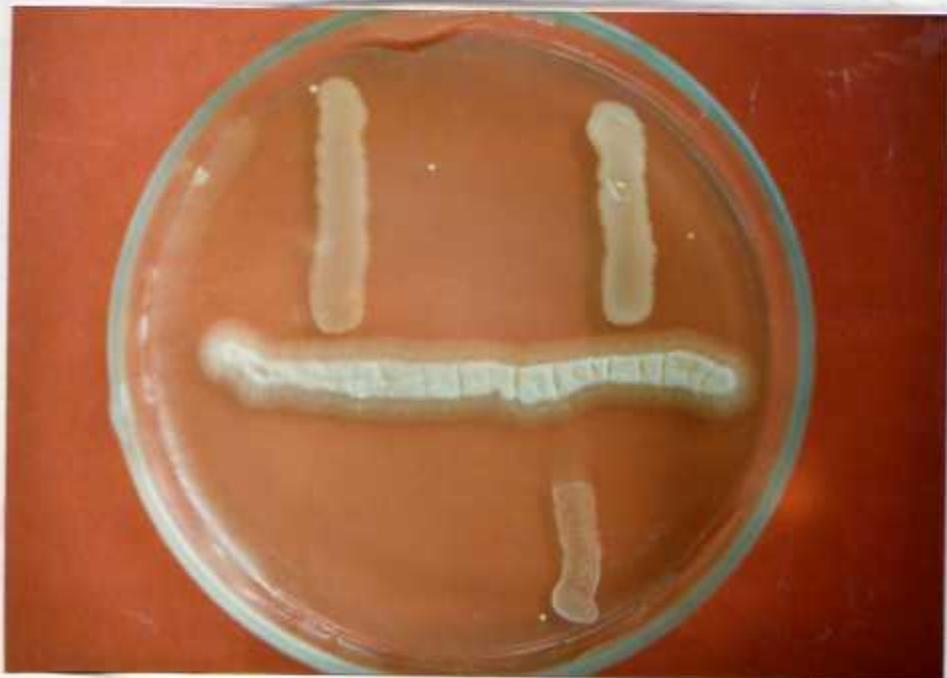


Figura No. 19. Pruebas de antibiosis  
Penicillium sp. inhibiendo a S aureus (inferior derecha)  
Streptococcus sp (inferior izquierda)



Figura No. 20. Penicillium sp. y Klebsiella sp., no ejerció inhibición



Figura No. 21. Penicillium sp. y S. aureus con inhibición en un 25%



Figura No. 22. Penicillium sp., mostrando inhibición a S. aureus (superior izquierda) y Streptococcus (superior derecha)

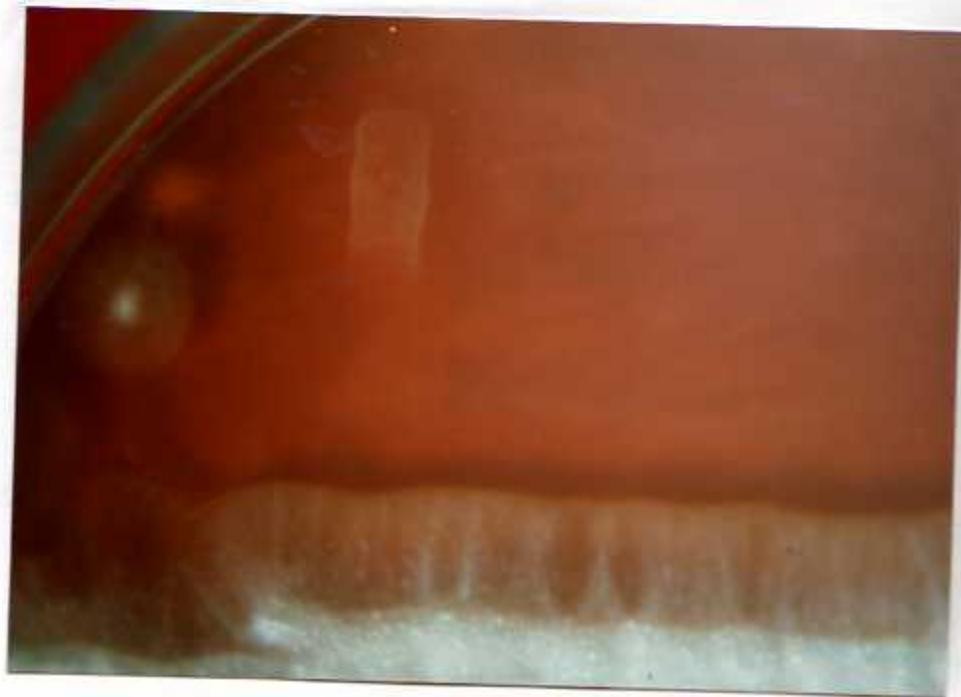


Figura No. 23. Penicillium sp., mostrando inhibición a E. coli en un 50%

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

1. Abraham, E.P. 1974. Some aspects of the development of the penicillins and cephalosporins. *Dev. Ind. Microbiol.* 15, 1-50.
2. Ainsworth, G.C. 1973. Introduction and Keys to Higher Taxa. Vol. 4A. pp. 1-7. Academic Press. INC. New York.
3. Ainsworth, G.C. 1976. Introduction to the history of Mycology. Cambridge University Press. Cambridge.
4. Ajello, L. 1956. Soil as a natural reservoir for human pathogenic fungi. *Science*, 123, 876.
5. Alexander, M. 1977. Introduction to soil. 2da ed. John Wiley - and Sons. U.S.A.
6. Alexopoulos, C. 1979. Introducción a la Micología. Editorial Universitaria Buenos Aires, Argentina.
7. Apinis, A.E., C.G.C. Chesters y H.K. Taligoola 1972. Colonization of Phragmites communis leaves by fungi. *Nova Hedwigia Z. --- Kryptogamenkd.* 23, 313.
8. Bérdy, J. 1974. Recent developments of antibiotic research and classification of antibiotics according to chemical structure. *Adv. Appl. Microbiol.*, 18, 309 - 406.
9. Bjorkman, E. 1949. Soil antibiotics acting against the root - rot fungus. *Physiol Plant* 1, 1.
10. Blasco, M. 1970. Curso de Microbiología de Suelos, IICA. Turrialba, Costa Rica.
11. Briam, P.W. 1951. Antibiotics production by fungi. *Bot. Rev.* 17, 357.

12. Broadbent, D. 1966. Antibiotics produced by fungi. Bot. Rev. 32, 219.
13. Brock, T.D. 1966. Principles of Microbial Ecology. Prentice -Hall Englewood. Cliffs New York. U.S.A.
14. Burrows, W. 1968. Textbook of Microbiology W.B. Sanders Co. New York. U.S.A.
15. Cooke, W.B. 1979. The Ecology of Fungi. CRC Press Inc. Florida, U.S.A.
16. Deacon, Jw. 1980. Introduction to modern Mycology. Blackwell - Scientific Publications. Vol.7. U.S.A.
17. Dubos, Rj y J.C. Hirsh. 1965. Bacterial and Mycotic Infections of man. 4ta Ed. Lippincott Co. Philadelphia. U.S.A.
18. Fleming, A. 1929. On the antibacterial action of cultures of a Penicillium, with special reference to their use in the - isolation of B. influenzae. British Journal of Experimental Pathology. 10, 226-236.
19. Garret, S.D. 1963. Soil fungi and soil fertility. Pergamon Press. London.
20. Gilman, J.C. 1963. Manual de los hongos del suelo. 2da Ed. Compañía Editorial Continental S.A. México.
21. Goodman, L.S. 1980. Bases farmacológicas de la terapéutica. 5a ed. Editorial Interamerica. 914- 1006. México.
22. Gray, T.R.G. y S.T. William. 1971. Soil, Micro-organisms. Longman Group Limited. London.
23. Guzmán, G. 1973. Some distributional relationships between Mexican and American mycoflora. Mycologia 62, 1319 - 1333.

24. Harrison T.R. 1983. Principles of Internal Medicine 10a ed. Volumen 1. Mc. Graw - Hill. Book Co.
25. Hopwood, Da y M.J. Merrick. 1977. Genetics of Antibiotic production. Bacteriological Reviews. 41 (3): 595 - 635.
26. Jawetz, E, J. L. Melnick y E.A. Adelberg. 1979. Manual de Microbiología Médica 8a ed. Editorial El Manual Moderno S.A. México.
27. Molina Ll, M. 1957. Microbiología de suelos y técnicas fitopatológicas. Vol. No.24. Editorial Universitaria Guatemala. Guatemala.
28. Nolan, C y E. Margoliash 1968. Comparative aspects of primary structures of proteins. Annu. Rev. Biochem. 37: 727-790.
29. Park, D. 1967. The importance of antibiotics and inhibiting substances, EN Soil Biology - Burges, A y F: Raw. Eds., Academic Press, New York 435 - 445.
30. Porter, C.L y J.C. Carter. 1938. Competition among fungi. Bot. Rev. 4, 165.
31. Rogers, D.P. 1948. A comparison of evolutionary tendencies in plants, fungi and animals, Bull. Torrey. Bot. Club. 75 (Abstr) 442-443.
32. Sénez, J.C. 1979. Microbiología General. Editorial Alhambra. S.A. España.
33. Stallings. J.H. 1984. El suelo, su uso y mejoramiento. Compañía - Editorial Continental S.A. México.
34. Steinberg. R.A. 1939. Growth of fungi in synthetic nutrient solutions. Bot. Rev 5, 327 - 338.
35. Steinberg, R. A. 1950. Growth of fungi in synthetic nutriente solutions II. Bot. Rev. 16, 208-241.

36. Talbot, P.H.B. 1971. Principles of fungal taxonomy. The Macmillan Press. London.
37. Waksman, S.A. 1917. Is there any fungus flora of the soil? Soil - Sci. 3, 565-567.
38. Waksman, S.A. 1916. Soil fungi and their activities. Soil Sci 2, - 103-115.
39. Wallace, E.Ah. 1970. History of the development of antibiotics. Clinical medicine 10-17.
40. Warcup. J.H. 1967. Fungi in soil. Rev. Soil Biology. Burges A y F. Raw. Eds., Academic Press. New York 51-102.
41. Waterworth, Pamela e I, Phillips 1985. Prueba Internacional para antimicrobianos No.1. Schering Corporation U.S.A. 1-8.
42. Weindlin, R. 1938. Association effects of fungi. Bot. Rev. 4, 475-486.
43. Weinstein, M.J, G.H. Wagman y J.A. Waitz 1977. Descubrimiento y - aislamiento de la sisomicina. Tribuna Médica Internacional. Suplemento especial. Baymicina (Sulfato de sisomicina) 3-6 y 9-13.
44. Welch, H. 1955. Principios y Práctica de la terapia antibiótica. Medical Encyclopedia Inc. New York.
45. Whittaker, R.M. 1959. New concepts of kingdoms of organisms. Science 1963. 150-168.

