

EXUDADOS GOMOSOS DE ACACIA GLOMEROSA Y ENTEROLOBIUM CYCLOCARPUM: SUSTRATO PARA EL CULTIVO DE HONGOS

ACACIA GLOMEROSA AND ENTEROLOBIUM CYCLOCARPUM GUM EXUDATES: FUNGÍ CULTURE SUBSTRATE

Mesa C., L.¹; Rodríguez V., S.¹; Romero, M.¹; Semprum, G.¹; León R., G.²

¹ Cátedra de Micología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina de La Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

² Centro de Investigaciones en Química de los Productos Naturales. Facultad de Humanidades y Educación de La Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

RESUMEN

Se evaluó el comportamiento de *Sincephalastrum racemosum*, *Monoascus ruber* y *Trichophyton mentagrophytes* en el medio de cultivo con base en la mezcla de los exudados gomosos de *Acacia glomerosa* y *Enterolobium cyclocarpum*. Estos polímeros nativos están constituidos por galactosa, arabinosa, ramnosa, ácidos uránicos y proteínas y presentan como micronutrientes nitrógeno, calcio y magnesio. Se realizaron estudios de la morfología colonial y cultivos en lámina. Las características micromorfológicas que identifican estas especies fúngicas se observaron inequívocamente en el sustrato con base en las gomas; las mismas fueron comparables a las exhibidas en el sustrato de referencia: hojas secas de *Canna generalis*, capacho. El crecimiento y desarrollo de *S. racemosum*, *M. ruber* y *T. meraagmphytes* en la mezcla de los exudados gomosos podría deberse a la capacidad enzimática de estos hongos para utilizar la fuente carbonada de los polímeros usados. Los resultados obtenidos corroboran las bondades de los medios de cultivo con base en exudados gomosos como sustratos idóneos para la identificación de hongos. Este hecho puede tener implicaciones económicas en cuanto estos sustratos compitan con otros medios de cultivo tradicionales.

Palabras claves: *Sincephalastrum racemosum*, *Monoascus ruber*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Acacia glomerosa*, *Enterolobium cyclocarpum*,

EXUDADOS GOMOSOS DE ACACIA GLOME

medios de cultivo.

ABSTRACT

The behavior of fungi species *Sincephalastrum racemosam*, *Monoascus ruber* and *Trichophyton mentagmphytes* on a substrate prepared with a mixture of *Acacia glomerosa* and *Enterolobium cyclocarpum* exudates was assessed. These native polymers are constituted by galactose, arabinose, rhamnose, uronic acid and proteins, presenting nitrogen, calcium and magnesium as trace elements. Colony morphology and laminate culture studies were made. Micromorphological characteristics of each of these fungi species were unmistakably observed in the gum substrate; these were comparable to those observed in the reference culture: dried leaves of *Canna generalis*. The growth and development of *S. racemosum*, *M. ruber* and *T. mentagrophytes* in the gum exudate mixture may be related to the enzymatic ability of these fungi to use the carbón source of the polymers. The results obtained confirm the benefits of the gum exudate substrate as an ideal culture medium for the identification of fungi. This fact may have economical implications since these substrates may begin to compete with traditional cultures.

Key words: *Sincephalastrum racemosum*, *Monoascus ruber*, *Trichophyton menlagrophytes*, *Acacia glomerosa*, *Enterolobim cyclocarpum*, culture media.

INTRODUCCIÓN

Los hongos son microorganismos nutricionalmente poco exigentes, se desarrollan en sustratos que contengan agua y material orgánico.⁷ Como fuente de energía y para la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas utilizan el carbono. Este elemento puede provenir de carbohidratos simples y complejos (monooligo y polisacáridos).

Los macro y microelementos (azufre, calcio, magnesio, hierro, manganeso, cobre, etc.) y vitaminas (B₁, B₂, B₆, C, etc.) participan también en este proceso.¹⁴ Se ha usado una variedad de sustratos para lograr el desarrollo "in vitro" de los hongos.^{1,3,5,9,10}

Los exudados gomosos son polímeros complejos que excretan las especies botánicas en condiciones adversas de humedad y temperatura; estos productos naturales, gomas, están constituidos por un conjunto de monosacáridos que

EXUDADOS GOMOSOS DE ACACIA GLOME

pueden ser aprovechados por los hongos para su crecimiento. Los resultados obtenidos en el aislamiento e identificación de los hongos saprofitos y parásitos en medios de cultivo con base en exudados gomosos son halagadores. [6,11,12,15](#)

En este trabajo se evaluó la eficacia de un medio de cultivo con base en los exudados gomosos de *Acacia glomerosa* y *Enterolobium cyclocarpum* para la identificación de las especies *Sincephalastrum racemosum*, *Monoascus ruber* y *Trichophyton mentagrophytes*. Se utilizaron hojas secas de *Canna generalis* (capacho) como sustrato referencial.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Origen de los materiales:

Los exudados gomosos crudos y secos de *Acacia glomerosa* (tiamo) y *Enterolobium cyclocarpum* (caro-caro) fueron proporcionados por el Centro de Investigaciones en Química de los Productos Naturales, Facultad de Humanidades y Educación de La Universidad del Zulia.

Las hojas secas de *Canna generalis* (capacho), se colectaron en el área de los jardines adyacentes de la Facultad de Medicina, LUZ. Se usaron las cepas de colección: *Trichophyton mentagrophytes* (Robin), Blanchard, 1896, Z.CM-1284; *Sincephalastrum racemosum* Cohn, Z-CM aire (Zulia, Cátedra de Micología, Escuela de Bioanálisis, LUZ) y *Monoascus ruber* Tieghem, CBS-68nR₂ (Central Alburean Von Schimtnel Cultures). Se utilizó como solidificante Bacto Agar de Laboratorio, Difco, Detroit, Michigan, U.S.A.

2. Métodos:

a. Preparación de los sustratos: Los exudados gomosos crudos de *A. glomerosa* y *E. cyclocarpum* se pulverizaron y se disolvieron en cantidades equivalentes, en un volumen de agua destilada suficiente para preparar la concentración seleccionada (2%). La disolución de las gomas se facilitó por agitación constante (agitador magnético, Thomas Magnetic Stirrer, modelo 15, U.S.A.), durante una hora. Se filtró a través de un tamiz de gasa y algodón, con la finalidad de eliminar las partículas insolubles. Se ajustó el pH a 7.0 con solución de NaOH 0.1N. Se calentó hasta ebullición en baño María y esterilizó en autoclave (15 libras de presión, 121 °C), por 15 minutos. El material vegetal, hojas secas de *Canna generalis*, se cortó en trozos de 1cm² y se esterilizó bajo

EXUDADOS GOMOSOS DE ACACIA GLOME

las mismas condiciones.

b. Estudio macro y microscópico de los hongos investigados:

b.1 Ensayo macroscópico.-Características de las colonias: las cepas seleccionadas se inocularon en placas de Petri que contenían el sustrato a ensayar: *Acacia glomerosa* - *Enterolobium cyclocarpum* - Agar (AEA). Se incubaron a 28°C (Estufa Thelco), durante 7 días. Se evaluaron las características macroscópicas.

b.2. Ensayo microscópico: se realizaron cultivos en lámina² en el medio AEA y en trocitos de hojas soportados por una gota de agar. Se incubaron a 28°C. por 3,5 y 7 días. Se utilizó lactofenol (azul o claro), como líquido de montaje.

RESULTADOS

Las características macro y microscópicas que permitieron la identificación de los hongos: *Sincephalastrum racemosum*, *Monoascus ruber* y *Trichophyton mentagrophytes* se muestran en las Tablas 1,2 y 3 y en las Figuras 1-6. Los parámetros analíticos de los exudados gomosos de *Acacia glomerosa* y *Enterolobium cyclocarpum* obtenidos previamente aparecen en la Tabla 4.

Tabla 1. Características de *Sincephalastrum racemosum* en los sustratos ensayados.

Estructuras (µm)	AEA*			Material Vegetal**		
	Incubación (días)					
	3	5	7	3	5	7
Esporangióforos	19.9-350.2x 3.3-11.4	48-780x 2.8-8.5	48-780x 2.8-8.8	49.5-660x 2.8-6.0	36-1164x 2.8-8.5	27.6-1.16x 5.5-8.5
Vesículas	11-34.2	11.4-23.1	14.3-28.6	11.2-51.7	13.4-45.6	11.4-64.5
Merosporangios	7.7-9.9x 3.3-4.4	9.9-12.0x 3.3-5.5	13.5-15.4x 3.3-5.5	13.2-22.0x 2.2-3.3	14.4-23.0x 2.2-4.4	16.5-24.2x 3.3-4.4
Merosporos	2.2-6.6	3.3-6.6	3.3-7.7	3.3-6.6	3.3-6.6	3.3-6.6

Macroscópicas: En el medio de crecimiento AEA: grado de crecimiento (moderado), aspecto (ligeramente lanoso), color del anverso (gris claro), color del reverso (gris oscuro).

Microscópicas: En ambos sustratos: Hifas vegetativas (ramificadas, ramificadas), esporangióforos (con rizoides, curvados lateralmente), vesículas (globosas o subglobosas, pardas, terminales y laterales), merosporangios (de pared delgada, hialina, cilíndricos), merosporos (hialinos a marrón pálido, de pared delgada, finamente rugosa, globosos u ovoides).

**Acacia glomerosa* - *Enterolobium cyclocarpum* - Agar.

**Hojas secas de *Catua generalis*.

EXUDADOS GOMOSOS DE ACACIA GLOME

Tabla 2. Características de *Monoascus ruber* en los sustratos ensayados.

Estructuras (µm)	AEA*			Material Vegetal	
	Incubación (días)				
	3	5	7	3	5
Ascomas	19.9-48.4	19.9-51.3	19.9-59.8	19.9-34.2	22.8-49.6
Pedicelo	22.8-85.5	17.1-85.5	39.9-180	20.9-85.5	19.9-94.4
Ascosporos	4.4-5.5x3.3	4.4-5.5x3.3	4.4-5.5x3.3	3.3-4.4x1.1-2.2	3.3-5.5x2.2-4.4
	4.4-6.6	5.0-7.0	5.0-7.0	4.0-6.6	4.0-6.6
Conidios	5.5-9.9x4.4-7.7	5.5-8.8x3.3-6.6	6.6-8.8x4.4-6.6	5.5-8.8x4.4-7.7	6.6-9.9x5.5-8.8

Macroscópicas: En el medio de crecimiento AEA: grado de crecimiento (moderado), aspecto (lanoso), color (marrón rojizo claro), color del reverso (marrón rojizo oscuro).

Microscópicas: En ambos sustratos: Ascomas (de pared hialina a marrón rojiza, formados al extremo termina de hasta 150µ de largo, ocasionalmente hasta 100µ). ascosporos (ovales a elipsoidales, de pared hialina, lisa de base truncada, formados en cadena, de pared delgada).

**Acacia glomerosa* - *Enterolobium cyclocarpum* - Agar.

** Hojas de *Canna generalis*.

kasmera/tablas/Mesa et al

Tabla 3. Características de *Trichophyton mentagrophytes* en los sustratos ensayados.

Estructuras (µm)	AEA*			Material Vegetal	
	Incubación (días)				
	3	5	7	3	5
Microconidias	3.3-4.4x1.1	3.3-4.4x1.1	3.3-4.4x1.1-2.2	3.3-4.4x2.1-2.2	2.2-4.4x2.2-3.3
	1.1-2.2	2.2-3.3	2.2-3.3	1.1-2.2	2.2-3.3
Macroconidias	22.8-34.2x5.7-8.5	23-37x5.7-8.5	23-37x5.7-8.5	22.8-25.6x5.7-8.5	22.8-35.6x6.0-8.5

Macroscópicas: En el medio de crecimiento AEA: grado de crecimiento (moderado), aspecto (ligeramente granuloso), color anverso (crema), color del reverso (beige).

Microscópicas: En ambos sustratos: Microconidias (globosas, dispuestas en racimos, piriformes a los lados de las macroconideas (escasas, en forma de torpedo, pared lisa, con 3 a 5 septos), hifas en espiral.

**Acacia glomerosa* - *Enterolobium cyclocarpum* - Agar.

** Hojas de *Canna generalis*.

EXUDADOS GOMOSOS DE ACACIA GLOME

Tabla 4. Datos analíticos de Acacia glomerosa y Enterolobium cyclocarpum.

Parámetros	<i>A. glomerosa</i>	<i>E. cyclocarpum</i>
Humedad (%)	11.29	36
Cenizas (%)	7	3.95
Táranos (%)	-13	0.2
Rotación específica (°)	2.82	-20
Nitrógeno (%)	15	0.19
Viscosidad intrínseca (ml.g ⁻¹)	1475	100
Peso equivalente (g)	12	765
Ácidos urónicos (%)		23
<u>Azúcares neutros después de la hidrólisis. (%)</u>		
Galactosa	43	46
Arabinosa	31	19
Rhamnosa	14	12

DISCUSIÓN

Los experimentos de identificación con las cepas de las especies : *S. racemosum*, *M. ruber*, *T. mentagrophytes* en el medio de cultivo con base en la mezcla de los exudados gomosos de *A. glomerosa* y *E. cyclocarpum* mostraron un desarrollo adecuado y las características microscópicas (vegetativas y de reproducción) típicas de estas especies.[8,16](#) Es importante destacar que las características micromorfológicas de los hongos estudiadas en el medio con base en las gomas (AEA) fue similar al observado en el medio vegetal (Fig. 1-6).

EXUDADOS GOMOSOS DE ACACIA GLOME

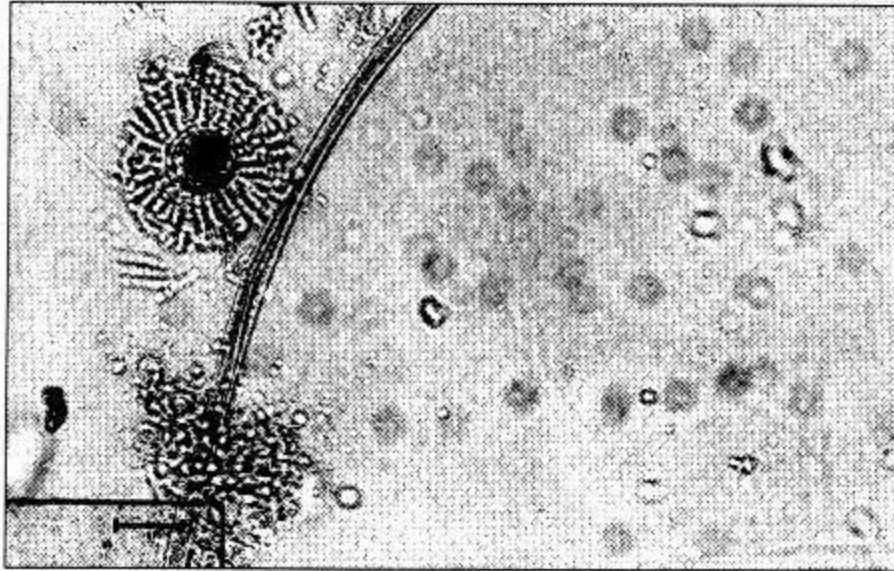


Fig. 1. *Sincephalastrum racemosum* en medio de cultivo AEA. Aumento 400x. Se observa esporangióforos con vesícula globosa, merosporangios cilíndricos.

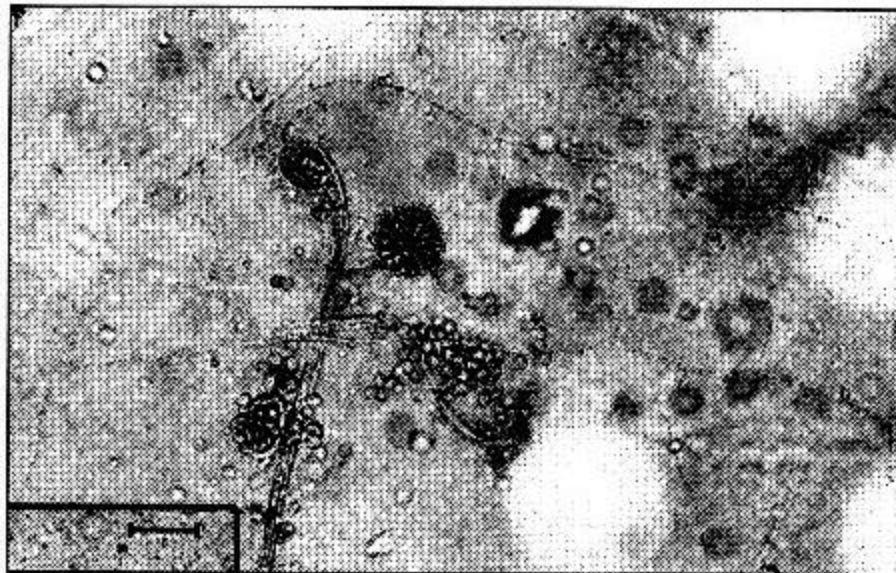


Fig. 2. *Sincephalastrum racemosum* en hojas secas de *Canna generalis*. Aumento 400x. Se observa esporangióforos curvados, merosporangios cilíndricos y merosporos globosos.

EXUDADOS GOMOSOS DE ACACIA GLOME

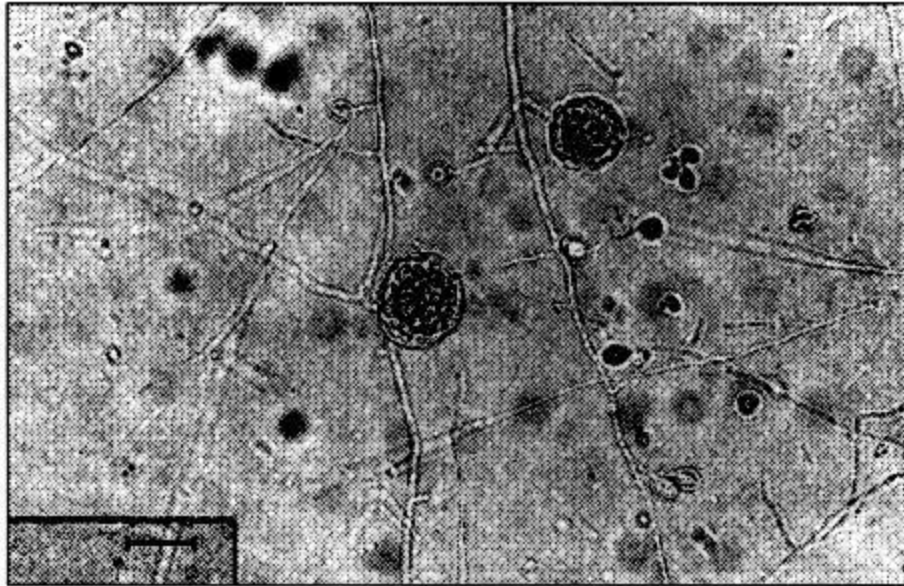


Fig. 3. *Monoascus ruber* en medio de cultivo AEA. Aumento 400x. Se observa ascomas surgiendo de pedicelo corto, ascosporos ovales y conidias piriformes.

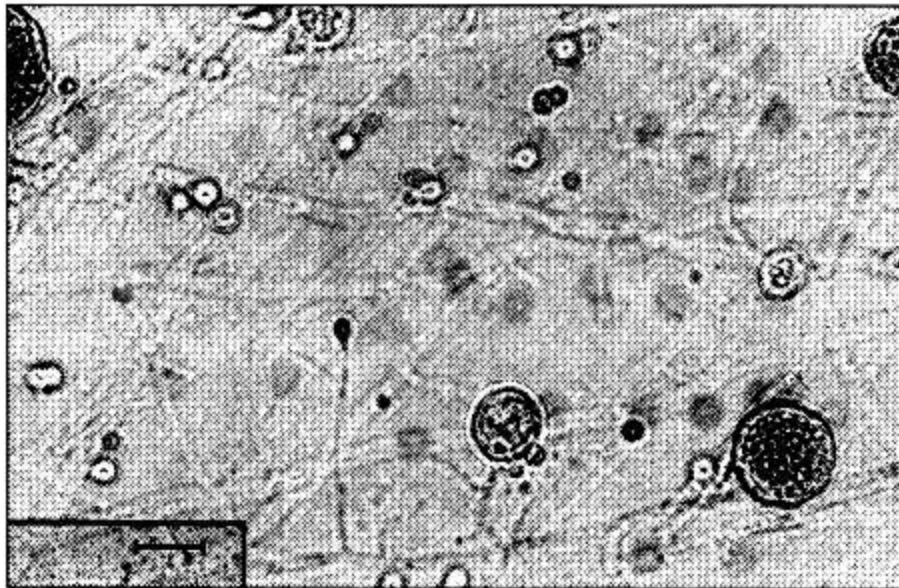


Fig. 4. *Monoascus ruber* en hojas secas de *Canna generalis*. Aumento 400x. Se observa ascomas surgiendo de pedicelos y conidias ovales y piriformes.

EXUDADOS GOMOSOS DE ACACIA GLOME

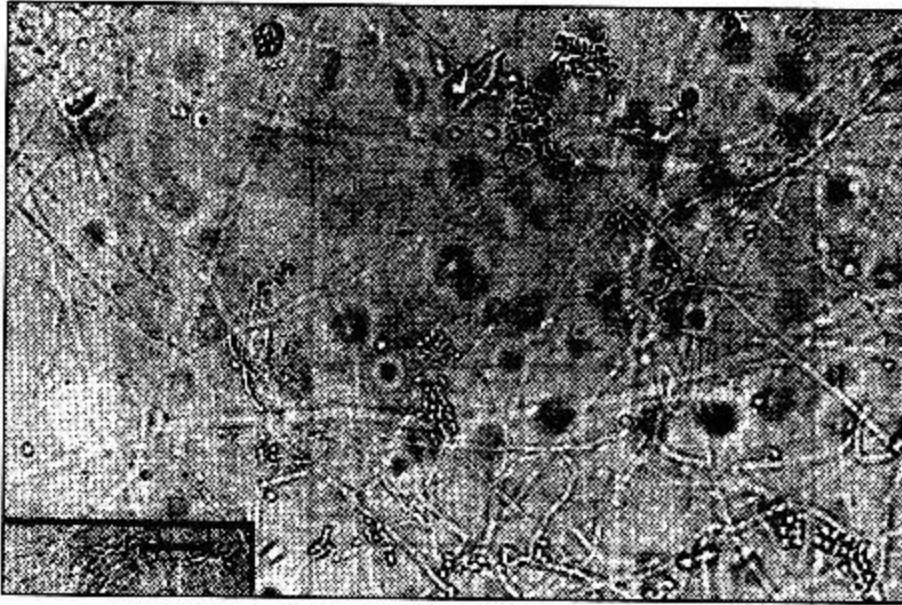


Fig. 5. *Trichophyton mentagrophytes* en medio de cultivo AEA. Aumento 400x. Se observa micelio delgado, microconidias globosas y piriformes, agrupadas; hifas en espiral.



Fig. 6. *Trichophyton mentagrophytes* en hojas secas de *Canna generalis*. Aumento 400x. Se observa micelio, microconidias agrupadas y a los lados de las hifas.

EXUDADOS GOMOSOS DE ACACIA GLOME

La selección del material vegetal (hojas secas de *Canna generalis*, capacho) como referencia se debió a que éste es un medio natural para el crecimiento de los microorganismos. Por otra parte, los estudios previos con sustratos con base en gomas^{6,11,12,15} fueron tomados como criterio para ensayar simultáneamente el comportamiento de los hongos *S. racemosum*, *M. ruber* y *T. mentagrophytes* tanto en la mezcla de las gomas como en el material vegetal.

La presencia de monosacáridos (galactosa, arabinosa y ramnosa) y proteínas en la composición de la estructura de las gomas usadas como sustrato,⁴ sugiere que los hongos fueron capaces de aprovechar los constituyentes antes mencionados para su crecimiento y reproducción.¹³

Los estudios que al respecto han sido realizados hasta el presente, plantean la necesidad de ahondar en los mismos para conocer las interacciones que ocurren entre el hongo y el sustrato; este conocimiento coadyuvaría al posible aprovechamiento de algunos hongos en la biotecnología.

Los resultados obtenidos en esta investigación corroboran las bondades de los medios de cultivo con base en exudados gomosos, para estudios de aislamiento e identificación de hongos. Es oportuno enfatizar que estos medios son viables, económicos y de fácil preparación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BORELLI, D. Medios caseros para Micología. Arch. Venez. Med. Trop. Para Med. 1969; 4: 301-310.
2. BORELLI, D. Nota Técnica sobre cultivo en lámina de hongos frágiles. Rev. Policlínica de Caracas. XVII. 1954; 131; 285-290.
3. CERUZZI, F. Nuevo recurso vegetal para la preparación de cultivos bacteriológicos. Rev. Fac. Cienc. Med. Córdoba. 1982; 40(1-2): 17.
4. CLAMENS, C.; RINCÓN, E.; VERA, A.; SANABRIA, L.; LEÓN DE PINTO, G. Species widely disseminated in Venezuela which produce gum exudates. Food Hydrocolloids. 2000; 14(3): 253-257.
5. EMELE, F.; AGBONLAHOR, D.; AHANOTU, C. Euphorbia hirta leaves and Musa sapientum fruits in culture media for fungi. Mycoses. 1998;41(II-12): 229-233.

EXUDADOS GOMOSOS DE ACACIA GLOME

6. GONZÁLEZ- M. E.; MESA, L.; RODRÍGUEZ-V, S.; NAVARRO, J.; LEÓN-P..G. Sustrato con base en exudados gomosos para el aislamiento de hongos atmosféricos. Rev. Mex. Micología. 1998; 14: 22-28.

7. HERRERA, T.; ULLOA, M. El Reino de los Hongos. Micología Básica y Aplicada. México. Fondo de Cultura Económica y Universidad Autóctona de México, 1992; p. 22.

8. KWON-CHUNGK; BENNETT, J. Medical Mycology. Pennsylvania, U.S.A. Lea & Febiger. 1992; p 145.

9. MÁRQUEZ, A.; DA SILVA, A. Agua de coco en cultivo de cogumelos. Rev. Bras. Pat. Clin. 1981; 17(1): 7-13.

10. MARSHALL, V; POULSON COOK, S.; MOLDENHAUER, J. Comparative mold and yeast recovery analysis (Effect of differing incubation temperature ranges and differing grown the medial PDA J. Pharm SciTechnol. 1998; 52(4): 165-169.

11. MESA, L. Y LEÓN DE PINTO, G. Exudados gomosos de Laguncularia racemosa como medio cultivo para hongos. Investigación .Clínica. 1993; 34(2): 85-98.

12. MESA, L.; RODRÍGUEZ, V. S.; BELTRÁN, O.; QUINTERO, J.; SÁNCHEZ, E.; PÁEZ, F. G.; LEÓN DE PINTO, G. Comportamiento de Aspergidas niger en las exudados gomosos de Cercidium praecox y Cedrela adorata. Boletín Micológico. 1997; 12(1-2): 35-39.

13. MORE-LANDERCKER, E. Growth. In Fundamentals of the fungi. 2ed. New Jersey; Prentice-Hall. Inc. Engleword Cliffs. 1982; 131: p 284.

14. ROBINSON, P. Practical Fungal Physiology. New York. John Wily & Sons Lid. 1978; p 79.

15. RODRÍGUEZ, V.S.; MESA, L.; PÁEZ, F.G.; LEÓN DE PINTO, G. Comportamiento de Sporothrix schenckii y Cladosporium carrionii en medios a base de exudados gomosos, Kasmera. 1997; 25: 1-7.

16. SAMSON, R. Introduction to food borne fungi. 2ed. Delft; Central Albureau Voor Schimmel cultures. 1984; pp 22 y 38.