

MICROBIOLOGÍA

Técnicas básicas para la observación de hongos

Nombre del alumno: **Jazmín Mazariegos Aguilar** Fecha: **_15/03/2022_**

MESA: **#3 Punto extra**

Docente a Cargo: Ma. De los Ángeles Venegas Castro

INTRODUCCIÓN A LOS HONGOS FILAMENTOSOS.

La micología es la ciencia que estudia los hongos, estos organismos fueron durante mucho tiempo considerados miembros del reino de las plantas. Whitaker en 1969 propuso la clasificación de todos los organismos en cinco reinos, distribuyendo a todos los de estructura celular eucariota en cuatro reinos en función de criterios estructurales y nutricionales, los hongos por su estructura multicelular y su nutrición heterótrofa y absorptiva se agruparon en el reino de los hongos, esta clasificación ha sido ampliamente aceptada.

Recientemente nuevas aproximaciones moleculares y filogenéticas al estudio de los microorganismos, han puesto de manifiesto que la vida sobre la Tierra se puede agrupar en tres categorías o dominios, de los cuales dos tienen organización procariota (dominio Archaea y dominio Bacteria) y el tercero agrupa a los organismos con estructura celular tipo eucariota (dominio Eukarya), en este dominio los hongos son reconocidos como uno de los cinco reinos eucariotas, hongos, animales, plantas, cromistas y protozoos (Hawksworth, 1995). Estructura celular

Los denominados microhongos son microorganismos cuyas colonias en la naturaleza son frecuentemente de dimensiones microscópicas y el estudio de sus características, su fisiología y su ecología deben ser analizadas en detalle con métodos microbiológicos aislándolos del resto de los organismos y cultivándolos en cultivos puros.

En ambientes naturales, junto con las levaduras, están estrechamente asociados con las bacterias y compiten con ellas por los nutrientes. Los sencillos requerimientos para su cultivo convirtieron a algunas especies como *Neurospora crassa* y *Aspergillus nidulans* en modelos para estudios en otras ramas de la Ciencia como la Fisiología y la Genética.

Poseen organización celular eucariota y la característica más relevante es la presencia de pared celular, constituida en un 80-90 % de polisacáridos complejos, proteínas y glucoproteínas. Entre los polisacáridos el elemento más representativo es la quitina, un polímero de N-acetil-D-glucosamina. Constituye el elemento central o parte interna configurando el esqueleto a modo de red de microfibrillas, prácticamente presente en todos los grupos con excepción de los Oomicetos, donde esta red microfibrilar está formada por microfibrillas de celulosa. Rodeando a este esqueleto se encuentra una capa de polisacáridos formando una matriz cementante.

Esta matriz presenta una gran diversidad en cuanto a los azúcares y a los tipos de enlaces que la configuran, se pueden encontrar homopolímeros, heteropolímeros o polisacáridos muy complejos. Dentro de estos polisacáridos predominan los mananos y glucanos, otros elementos como lípidos, polifosfatos e iones completan la composición de la pared celular. Tal es la complejidad de la pared que ha sido utilizada por algunos autores en quimiotaxonomía, llegando a establecer grupos basados en los componentes mayoritarios de la pared como son la quitina y los glucanos. Además de estos componentes de naturaleza polisacáridica, muchos hongos filamentosos contienen en la pared pigmentos oscuros formados por polímeros ramificados derivados de compuestos fenólicos, conocidos como melaninas. A estos pigmentos se les han atribuido funciones de fotoprotección, resistencia a la lisis enzimática e incluso también funciones estructurales. La membrana citoplasmática de la mayoría de los hongos contiene ergosterol. Este compuesto se utiliza como medida indirecta para valorar la biomasa fúngica. Con este mismo fin se pueden utilizar también otros componentes estructurales básicos de las células fúngicas, como es la valoración colorimétrica de N-acetilglucosamina, monómero de la quitina. La gran mayoría de los hongos son organismos pluricelulares y, como ocurre en otros organismos, también aquí encontramos una división de funciones. El organismo está configurado por unas estructuras tubulares, denominadas hifas, cuya función es fundamentalmente la absorción de nutrientes; todo el conjunto de hifas configura el micelio

A su vez, el micelio puede ser: Aéreo: porque se extiende por encima del sustrato y normalmente es la parte que soporta todas las estructuras reproductoras. Micelio vegetativo: constituido por una masa que penetra en los diferentes sustratos como puede ser el suelo, un hospedador, restos de madera o un medio de cultivo. Su función es obtener los nutrientes. Las células que forman las hifas están separadas entre sí, en la mayoría de los casos, por tabiques o septos, que normalmente están perforados. Entre los septos de los diferentes grupos de hongos filamentosos hay diferencias interesantes. Así por ejemplo, en los Ascomicetos el septo es relativamente simple con un único poro central, en algunas especies de tamaño bastante grande de tal forma que permite el paso de orgánulos incluso del núcleo. En otros casos las perforaciones son pequeñas y abundantes y no permiten el paso de orgánulos como el núcleo o las mitocondrias pero sí se establece una continuidad

entre los compartimentos de las hifas. El septo más complejo lo presentan algunos Basidiomicetos y se denomina doliporo.

En muchas ocasiones cuando una célula de una hifa sufre algún daño, estos poros son sellados para evitar que el resto del organismo se vea afectado. En el caso de los hongos pertenecientes a los Zygomycetos, se presentan hifas que carecen de septos entre las células, salvo cuando se tienen que delimitar las estructuras reproductoras. Estas hifas, no septadas, se denominan cenocíticas. Cuando el micelio fúngico se reproduce, una pequeña porción se diferencia de forma asexual o mediante un proceso sexual. Las estructuras reproductoras poseen generalmente un gran valor taxonómico ya que presentan una gran diversidad en tamaños, formas, ornamentación y colores. En algunos organismos se forman estructuras macroscópicas complejas.

Los hongos, además de ser objetos básicos de interés para el conocimiento y la investigación, desempeñan un papel fundamental en la naturaleza participando activamente en el ciclo del carbono y contribuyendo a reciclar la materia orgánica. La mayoría de los hongos son saprófitos y obtienen sus nutrientes a partir de organismos muertos. Constituyen el principal grupo de organismos responsables del reciclaje de la materia viva y esta actividad es esencial para la continuación de la vida sobre la tierra. La función más destacable es que son considerados organismos fundamentalmente degradadores. El interés en estos organismos es múltiple. En algunas áreas destacan especies que tienen una gran importancia en la industria agroalimentaria con importantes repercusiones económicas, por ejemplo:

En la producción de quesos como el camembert y el roquefort destacando las especies de *Penicillium camemberti* o *P. roqueforti*. En la producción de bebidas fermentadas como el sake o la salsa de soja obtenidos a partir de cultivos de *Aspergillus oryzae* y *A. soya*. También destacan en la industria farmacéutica por su interés para la producción de enzimas como celulasas, amilasas, peroxidasas y proteasas, ácidos orgánicos como el ácido cítrico utilizado en alimentos y como sustituto de polifosfatos en detergentes. La especie más importante utilizada es *Aspergillus niger*. También los hongos son explotados para la producción de proteínas para consumo humano como el “quorn”, a partir de micelio de *Fusarium graminearum*, con casi un 50% del peso seco de naturaleza proteica y una extremada versatilidad para transformarse en sucedáneos de una gran variedad de alimentos como carne de ternera, pollo, pescado, galletas o formando parte de sopas (Rennenberg, 2008).

La biomasa fúngica presenta numerosas ventajas como alimento por su alto contenido proteico y porque contiene, prácticamente, todos los aminoácidos esenciales para el hombre y los animales. Las paredes de quitina suponen una fuente de fibra y presentan bajo contenido en grasas. Otra característica sumamente importante es la ausencia de colesterol.

Otro aspecto que merece ser destacado en la industria agroalimentaria es la implicación de los hongos en la alteración de los alimentos y las materias primas. Estas alteraciones van

desde la producción de podredumbres, fundamentalmente por organismos fitopatógenos durante el cultivo (la precosecha) o durante el almacenamiento (postcosecha), hasta la producción de compuestos tóxicos como las micotoxinas, producidas por hongos toxicogénicos que contaminan las materias primas y alimentos y producen estos metabolitos secundarios si las condiciones para su síntesis son favorables. El consumo de estos alimentos o sus derivados produce intoxicaciones en el hombre y en los animales, conocidas como micotoxicosis. Por último no podemos dejar de destacar los antibióticos, que marcaron el principio de una nueva era de lucha contra las enfermedades infecciosas. Antibióticos, como las penicilinas producidas inicialmente por *Penicillium notatum* y *Penicillium chrysogenum* y las cefalosporinas producidas por especies de *Cephalosporium*. Otro aspecto que se debe destacar es su papel como patógenos de vegetales. Los hongos filamentosos son responsables de las enfermedades vegetales más graves e importantes.

Algunas especies son capaces de producir estructuras muy especializadas para iniciar la colonización y en la mayoría de los casos una gran cantidad y diversidad de enzimas (celulasas, pectinasas, xilanasas etc.) para romper y colonizar las estructuras vegetales. Muchos producen también toxinas que se comportan, junto con las enzimas, como importantes factores de virulencia.

Finalmente, también pueden comportarse como patógenos de animales y del hombre. Pueden producir: Alergias por inhalación de esporas (rinitis, asma, alveolitis). Intoxicaciones por la ingestión de alimentos contaminados con micotoxinas. Micosis, cuya importancia puede ir desde infecciones superficiales por afectar a tejidos como la piel o las uñas, convertirse en infecciones subcutáneas que se inician en la piel y se difunden a tejidos subcutáneos o transformarse en infecciones sistémicas por vía linfática y en estos casos pueden afectar a cualquier órgano. Muchas especies normalmente saprófitas pueden verse implicadas en micosis oportunistas, especialmente en pacientes inmunocomprometidos, que pueden tener consecuencias fatales. Se sugiere el trabajo con aislamientos de diferentes géneros ampliamente distribuidos, como *Penicillium*, *Aspergillus* y *Rhizopus*, que tienen interés como contaminantes habituales o como productores de compuestos con aplicaciones en diferentes industrias.

OBJETIVO

Observación macroscópica y microscópica de colonias de diferentes especies de hongos filamentosos sobre sustratos naturales

MATERIAL

- Caja Petri
- Cúter

- Hisopos
- Agua bebible
- 3 agujas capoterias
- Azul de metileno

MATERIAL BIOLÓGICO:

- 10 muestras diferentes e hongos
- 1 muestra de algas

En color amarillo se resaltan los materiales que deberás traer, adicional a la caja de material que siempre llevarás al laboratorio.

OBSERVACIÓN MACROSCÓPICAS Y MIOCROSCÓPICAS

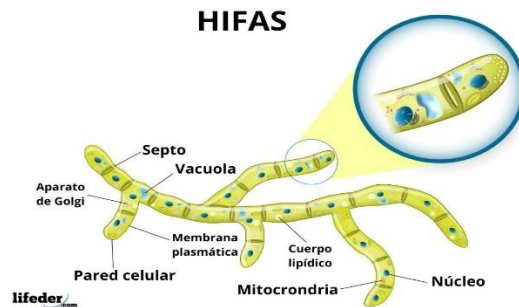
Se observará el crecimiento de diferentes especies de hongos tanto Macroscópicos, cómo microscópicos.

1.- Observar y describir la apariencia de cada hongo que se haya llevado al laboratorio, hacer anotación sobre su morfología y anatomía.

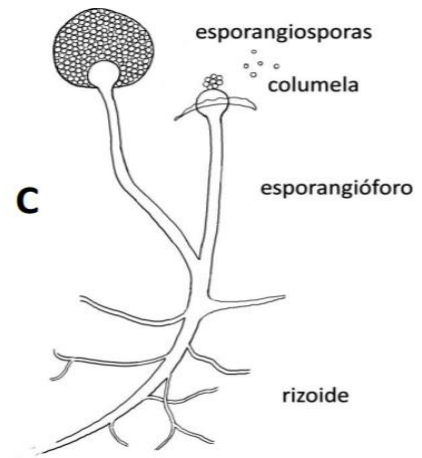
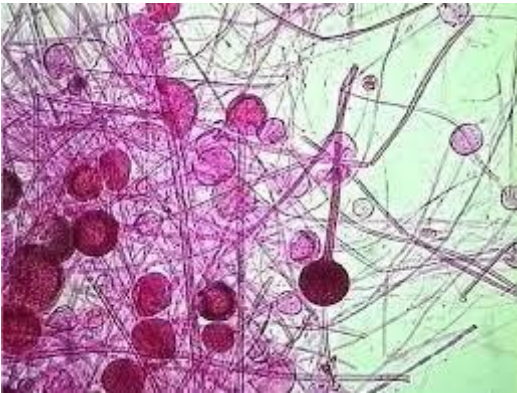
2.-

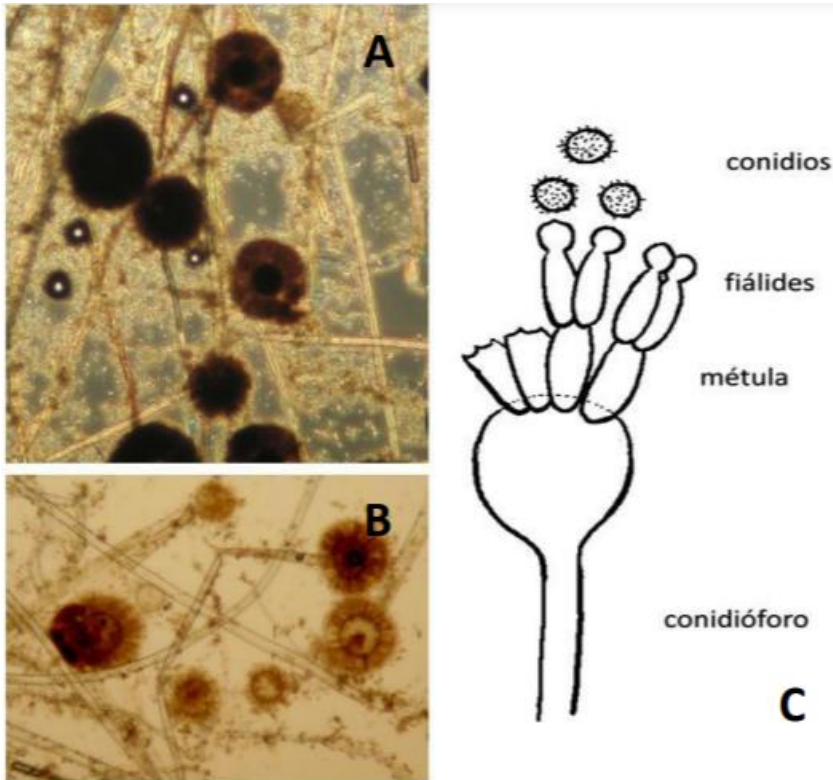


2.- Realiza un corte del pie y colócala al microscopio, para ello usa el portaobjetos, una gota de agua y cubre la muestra.



3.- En el caso de hongos mucilaginosos, húmedos y moho. Frota con un hisopo húmedo la superficie que vayas a analizar y posteriormente barre el hisopo sobre la superficie del portaobjetos, agrega una gota de agua y cubre.





OBSERVACIONES

Primero se empezó limpiando la mesa y lavando todos los instrumentos, luego ya con las muestras en la mesa vimos cual usaríamos para analizarlas, en total se llevaron 11 muestras, de las cuales en 2 no se encontraron o no logramos ver los hongos microscópicos, se llevaron muestras como: hongos macroscópicos, muestras de caparazón de una tortuga, hongos de pie y de melón, chayote, fresa, papaya ya echados a perder. Se limpió el microscopio y se empezaron a tomar las muestras en el portaobjetos y cubriendo con un cubreobjetos para ver los hongos microscópicos.

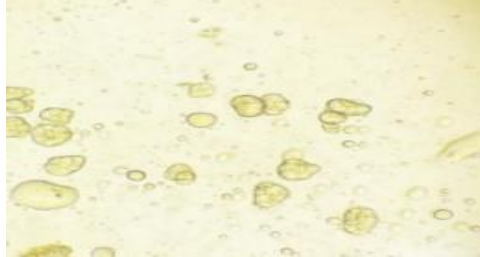
Muestra 1

- Primero para la muestra 1 se tomó la muestra que se obtuvo del caparazón de tortuga, en esta muestra se logró ver una alga y un hongo al fondo, la muestra venía en un hisopo, tenía pelitos llamados micelios y tenía un color verde, para pasar la muestra al microscopio se pasó el hisopo en el portaobjetos se le pasó el hisopo con la muestra, y luego se le colocó una gotita de agua potable y se colocó el cubreobjetos después se colocó la muestra en el microscopio con el objetivo 10, logramos observar una fusión de hongo con alga, se miraban ramitas de color verde y más al fondo se lograba ver el hongo.



Muestra 2

- Para la segunda muestra fue tomada de una pequeña parte de un troco de un árbol y se tomó de la misma manera, se colocó la muestra en el cubreobjetos se le puso una gota de agua potable y se le puso el cubreobjetos, se observó con el objetivo 40, se veían unas manchas que estas eran una serie de hongos además tenían un color que era entre verde y amarillo, por lo tanto se logró varios hongos.



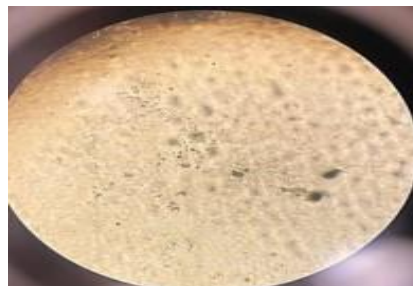
Muestra 3

- La 3era muestra se logró ver hongos que estaban roto, para esta muestra primero se tomó un pedazo de papaya que ya estaba echado a perder, tenía manchas de moho y olía feo, con un hisopo húmedo se pasó a la papaya para obtener la muestra y luego se pasó el hisopo al portaobjetos, se colocó una gota de agua potable y se le puso el cubreobjetos, se llevó al microscopio para observarlo, y con el objetivo de 40 se observó unos puntos carotos y estaban largos, tenían un color amarillo, se podían observar filamentos y esporas, que esto indicaba que habían hongos rotos dado a que las esporas son células que producen ciertos hongos.



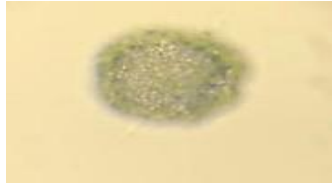
Muestra 4

- La cuarta muestra se tomó de una lámina pequeña de un champiñón que no estaba lavado, luego se colocó la muestra en el portaobjetos, se le puso agua y se cubrió con el cubreobjetos, se llevó al microscopio y se observó con el objetivo de 10, se veían manchas negras que eran miles de esporas.



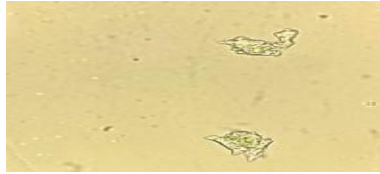
Muestra 5

- Esta muestra fue tomada de una fresa que tenía moho y filamentos, se tomó la muestra con un hisopo que se le paso a la fresa suavemente y se pasó en el portaobjetos, se le colocó una gota de agua potable y se cubrió con un cubreobjetos, se llevó al microscopio con objetivo 40 se vio un hongo esporangio el cual tenía forma de arbolito y no se logró ver esporas.



Muestra 6

- La muestra número 6 fue un huevo podrido, se tomó la prueba y se colocó en el portaobjetos, se colocó una gota de agua potable y se cubrió con un cubreobjetos y se llevó al microscopio, y se observó con el objetivo 40, se observó manchas de color amarillento y de diversos tamaños.



Muestra 7

- La muestra fue tomada de un tanque de agua, donde microscópicamente se logró ver un hongo y unas algas, se colocó la muestra en el portaobjetos, se le colocó una gota de agua, y se colocó el cubreobjetos, en el microscopio se observó con el objetivo 10 se pudo observar unas manchitas que eran esporas lo cual era de la célula que produjo el hongo.



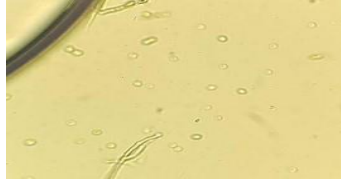
Muestra 8

- En la octava muestra se tomó de un chayote que se encontraba con mucho moho y se veía muy feo y también olía desagradable, primero se tomó con un hisopo, se froto en la parte que se veía que tenía moho y se colocó en el portaobjetos y luego se colocó una gota de agua potable, se cubrió con un cubreobjetos y se llevó al microscopio, se observó con el objetivo 10 y se logró ver un hongo esporangio con hifa.



Muestra 9

- ✚ En esta muestra numero 9 fue obtenida de la taza de un baño, se tomó la muestra en un portaobjetos, se colocó una gota de agua, se cubrió con un cubreobjetos y se llevó al microscopio y se observó con el objetivo 10, y se logró ver un hongo fragmentado.



Muestra 10

- ✚ La muestra numero 10 fue tomada de una parte de un melón que ya tenía moho, se colocó la muestra en el portaobjetos, que tomo con un hisopo, se colocó una gota de agua y se cubrió con un cubreobjetos, luego se llevó al microscopio, se veían manchas de diferentes tamaños y se logró ver un hongo.



RESULTADOS

El objetivo se logró, ya que si observamos hongos microscópicos, logramos encontrar 10 muestras de hongos microscópicos donde observamos diferentes colonias de hongos.

Conclusión

Fue una buena práctica, el objetivo se logró al 100%, fue un poco desagradable el olor de algunas muestras pero se logró cumplir con las 10 muestras de hongos y logramos observarlos y conocerlos mejor, los hongos pudimos observarlos macroscópicamente y microscópicamente.

CUESTIONARIO.

I.- Recientemente nuevas aproximaciones moleculares y filogenéticas al estudio de los microorganismos han puesto de manifiesto que la vida sobre la Tierra se puede agrupar en tres categorías o dominios, ¿Cuáles son? **R= Dominio Archaea, Dominio bacteria y Dominio**

eukarya. En el dominio eukarya se agrega a los organismos con estructura celular eucaria. En el dominio Archaea y bacteria tienen organización procariota.

2.- Los hongos, además de ser objetos básicos de interés para el conocimiento y la investigación, desempeñan un papel fundamental en la naturaleza participando activamente en? **Ciclo de carbono y contribuyendo a reciclar la materia orgánica**

3.- ¿A qué pigmentos se les han atribuido funciones de fotoprotección, resistencia a la lisis enzimática e incluso también funciones estructurales? **Melaninas.**

4.- ¿Qué tipo de organización celular y característica más relevante a nivel de pared celular poseen los hongos? **Poseen una organización celular eucariota y la pared celular está constituida en un 80-90% de polisacáridos complejos, proteínas y glucoproteínas.**

5.- ¿Cómo se les denominan a las hifas no septadas? **Cenocíticas**