

Capítulo 7

Hongos: formas filamentosas y levaduras

Objetivos

- Describir las colonias macroscópicas de hongos.
- Practicar las diferentes formas de siembra.
- Elaborar montajes en frescos.
- Identificar las estructuras importantes en la reproducción asexual de los hongos.

Introducción

Los hongos provienen de la palabra griega (*mykes*: seta). Son microorganismos quimioorganotrofos o heterotrófos, e ingieren su alimento por absorción. Su pared está hecha de un polisacárido llamado quitina, pero también puede contener celulosa. No son móviles, pero en algunos casos sus esporas sí lo son; pueden ser haploides, homocarióticos, heterocarióticos, dicarióticos o diploides, etc.

El nombre de hongos se ha designado a organismos que se parecen morfológicamente entre sí, pero que no están filogenéticamente relacionados y por tanto forman un grupo heterogéneo de seres vivos (Bruns, White & Taylor, 1991). En contraste, los hongos comúnmente llamados verdaderos, son un grupo monofilético formado por organismos eucarióticos y heterótrofos

que se nutren por absorción, presenta crecimiento apical y tiene quitina en su pared celular (Jennings, 1995; Kevin, 2005; Maheshwari, 2005; Ferrera-Cerrato & Alarcón, 2007).

Para estudios en el laboratorio se dividen en tres grupos importantes:

- Hongos filamentosos o mohos.
- Hongos levaduriformes.
- Setas

Hongos filamentosos

Los mohos son hongos filamentosos, cada filamento aislado se llama hifa. Cada filamento crece fundamentalmente en el ápice, por extensión de la célula terminal. Las hifas crecen formando bolas compactas que colectivamente se conocen como micelio o talo. El micelio puede ser septado o aseptado o cenocítico (Figura 33).

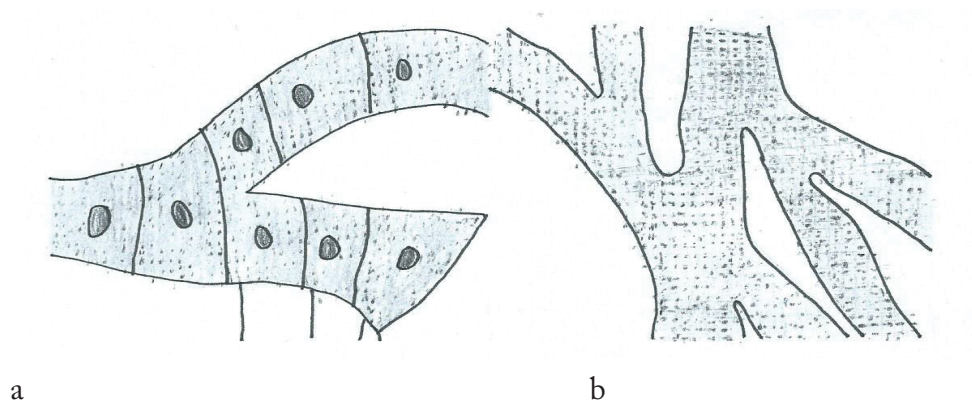


Figura 33.Tipos de hifas: a. Hifa septada, b. Hifa aseptada.

Fuente: Aura Lizarazo Forero

Tipos de micelio

Micelio vegetativo, porción del micelio que se extiende en el sustrato del medio de cultivo y tiene como función la absorción del agua y los nutrientes.

Micelio aéreo o micelio reproductor, es la porción que se proyecta sobre el sustrato.

Levaduras

Las levaduras son hongos unicelulares. Normalmente son células ovales o cilíndricas.

Morfología macroscópica

Es esencial que la descripción se base en cultivos, de 1 a 3 semanas de edad.

Textura

- *Cremoso*:
Blando de consistencia (levaduriforme).
- *GRANULAR*:
Más grueso que polvoriento.
- *POLVORIENTO*:
Como harina, polvo, talco.
- *ATERCIOPELADA*:
Como terciopelo o pana.
- *ALGODONOSA*:
Lanosa.

El orden de jerarquía de la característica que debe tomarse en cuenta al observar una colonia es: *granular* o *polvorienta* tiene prioridad sobre *aterciopelada*, aunque sea granular o polvorienta en pequeña proporción.

Color

- *Colores brillantes*: azul, verde, amarillo.
- *Dematiáceos*: castaño, gris o negro.
- *Pigmentos difusibles al medio*.

Morfología microscópica

Típicamente, los hongos se reproducen asexual y sexualmente, formando esporas en estructuras reproductoras características, con base en las cuales se separan los diferentes filos.

Reproducción sexual o fase perfecta o teleomorfa o meiospórico

La reproducción sexual la hacen a través de los siguientes pasos:

1. Un núcleo haploide de una célula donante (macho) penetra el citoplasma de una célula receptora (hembra).
2. Se fusionan los núcleos para formar un núcleo zigótico diploide.
3. Por meiosis, el núcleo diploide origina cuatro núcleos haploides, algunos de los cuales pueden ser recombinantes genéticos.

De este proceso de reproducción sexual, resultan las esporas sexuales, las cuales son usualmente más resistentes al calor que las esporas asexuales, y presentan latencia, es decir, ellas solo germinan cuando son activadas ya sea por un calentamiento suave o por ciertas sustancias químicas (Figura 34).

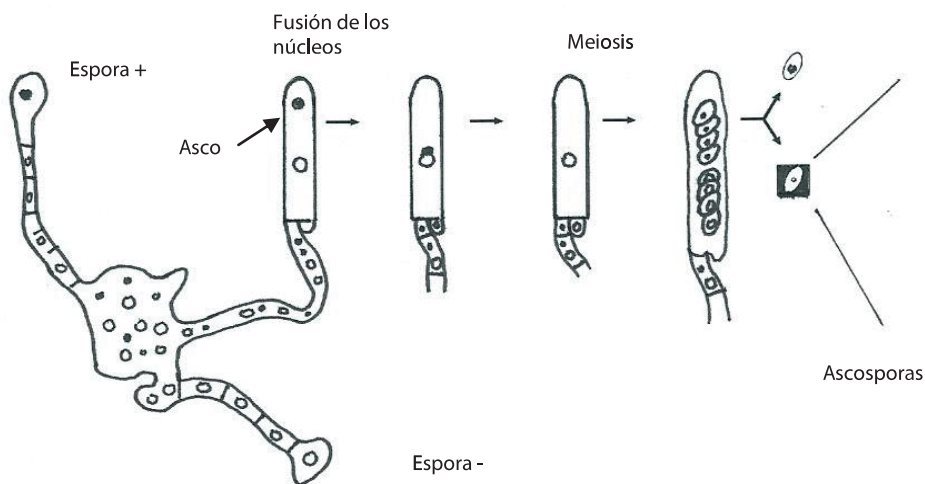


Figura 34. Ejemplo de la reproducción sexual.

Fuente: Aura Lizarazo Forero

Reproducción asexual o fase imperfecta o anamorfa

Los procesos asexuales implican división de los núcleos y formación de nuevos hongos sin participación de gametos y sin fusión nuclear. También se denomina multiplicación vegetativa. Este tipo de reproducción se da a partir de **micelio vegetativo** y del **micelio aéreo** (Figura 35).

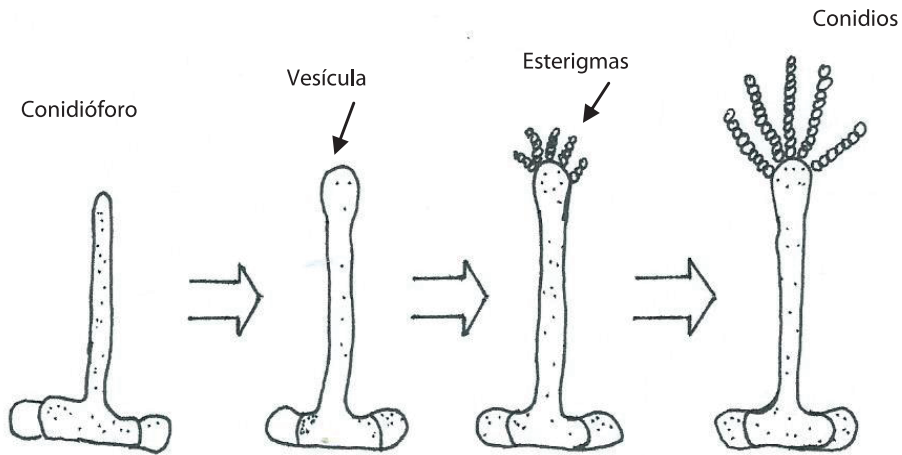


Figura 35. Ejemplo de la reproducción asexual.

Fuente: Aura Lizarazo Forero

La reproducción asexual se lleva a cabo por diferentes mecanismos que incluyen:

1. Esquizogénesis, o fisión, o bipartición.
2. Gemación.
3. Formación mitótica de esporas o esporulación seguida de germinación de las esporas.
4. Fragmentación de hifas o formación de conidios.

Estas esporas no presentan latencia, es decir ellas pueden germinar cuando dispongan de humedad aún en ausencia de nutrientes.

1. Esquizogénesis, o fisión o bipartición:

Se observa únicamente en hongos unicelulares. Consiste en la elongación y formación de un tabique transversal en las células y la invaginación de la membrana, dando por resultado dos células exactamente iguales. Ejemplo, algunos hongos levaduriformes: *Schizosaccharomyces* sp.

2. Gemación:

Da lugar a las blastosporas. El protoplasma de las células forma a partir de la pared un pequeño crecimiento externo, llamado brote o yema. Luego de la

formación de una yema o célula hija, por evaginación de la membrana, resultan dos células (madre e hija), de diferente tamaño. El brote puede separarse de la célula madre o quedar unido a ella, y si se forman nuevos brotes, llegan a constituirse pequeñas cadenas de células o pseudomicelios. Esta reproducción se puede observar en diversos hongos, especialmente levaduras. Ejemplo, *Saccharomyces cerevisiae* (Figura 36).

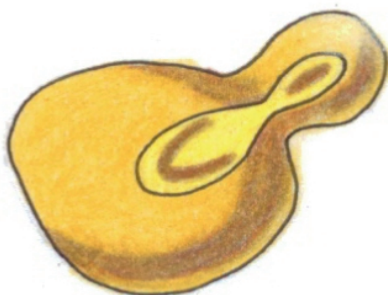


Figura 36. Levaduras en gemación.

Fuente: Aura Lizarazo Forero

De las hifas aéreas se originan y se extienden por la superficie del micelio cuerpos de fructificación especializados que dan lugar a una variedad de esporas o conidios.

3. Formación mitótica de esporas:

Las esporas se forman a veces en cualquier sitio del micelio, separadas unas de otras, o pueden quedar agrupadas, dispuestas de manera constante y característica por cada grupo de hongos, constituyendo cuerpos fructíferos denominados esporóforos o esporangios, dentro de los cuales se producen las esporas.

Esporas:

Por su origen, disposición, agrupamiento, número de células, estructura y otros caracteres, las esporas reciben nombres muy diversos como esporangiosporas, conidiosporas, clamidiosporas, artrosporas, zoosporas, aplanosporas, picnidiosporas, entre otros términos.

- *Tamaño:* microscópico, aunque de dimensiones muy diversas.

- *Forma*: puede ser esférica, hemisférica, cilíndrica, ovoide, poliédrica, de huso, de hoz u otra.
- *Aspecto externo de su pared*: son lisas, estriadas, verrugosas, punteadas o aciculadas.
- *Color*: con coloraciones amarillas, rojizas, anaranjadas, verdes, azules o negruzcas.
- *Número de células*: pueden ser unicelulares, bicelulares o pluricelulares.
- *Esporangiosporas*: son esporas que se forman dentro de una estructura en forma de saco, denominada esporangio. La hifa que porta el esporangio se denomina esporangióforo (del griego *Phoros*: “que sostiene”). Este tipo de esporulación es característico de Zygomycetos (Figura 37).
- *Conidiosporas*: son esporas delgadas que se encuentran en grupos o solas sobre hifas especializadas llamadas conidióforos. Algunos autores llaman conidiosporas a todas las esporas asexuales.
- *Clamidosporas*: esporas esféricas u ovoides de pared gruesa que se forman dentro de las hifas somáticas. Son más resistentes al calor y a la desecación que las otras esporas asexuales.
- *Astrosporas*: son esporas de paredes delgadas que se forman por fragmentación de las hifas.

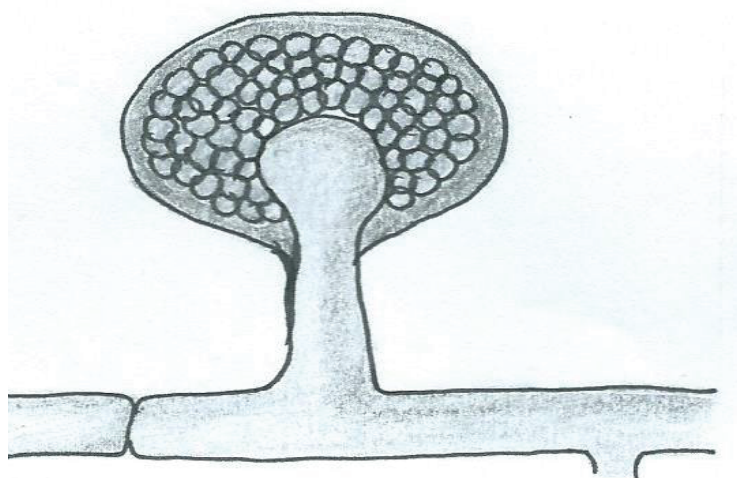


Figura 37. Formación de esporas (*Mucor*).

Fuente: Aura Lizarazo Forero

4. Fragmentación de hifas o formación de conidios

Los conidios se forman de un elemento preexistente, pues en la parte terminal o intercalar de una hifa se configura un conidio después de la constitución de un tabique. El conidio es una mitospora (de origen mitótico) no móvil, no se forma dentro de un saco, se desprende fácilmente de la célula que da origen y no se crea por segmentación del citoplasma. El segmento especializado de la hifa que sostiene la cabeza de fructificación que tiene los conidios, se llama conidióforo. Los conidióforos pueden ramificarse en segmentos secundarios denominados métulas, que, a su vez, forman segmentos productores de conidios: las fiálides (ejemplo, *Penicillium*, véase Figura 38).

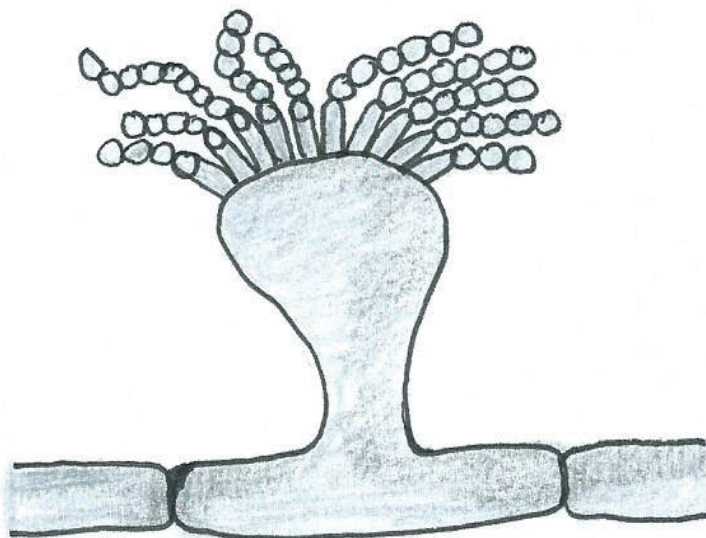


Figura 38. Formación de conidios (*Penicillium*).

Fuente: Aura Lizarazo Forero

Si los conidios toman el color azul al hacer una lámina con el azul de lactofenol, se llaman hialoconidios (ejemplo, *Fusarium*, véase Figura 39).

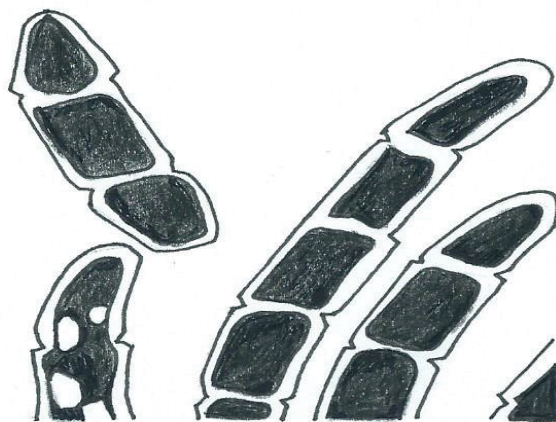


Figura 39. Formación de conidios (*Fusarium*).

Fuente: Aura Lizarazo Forero

Si los conidios tienen el color café son faeconidios (ejemplo, *Curvularia*, véase Figura 40).

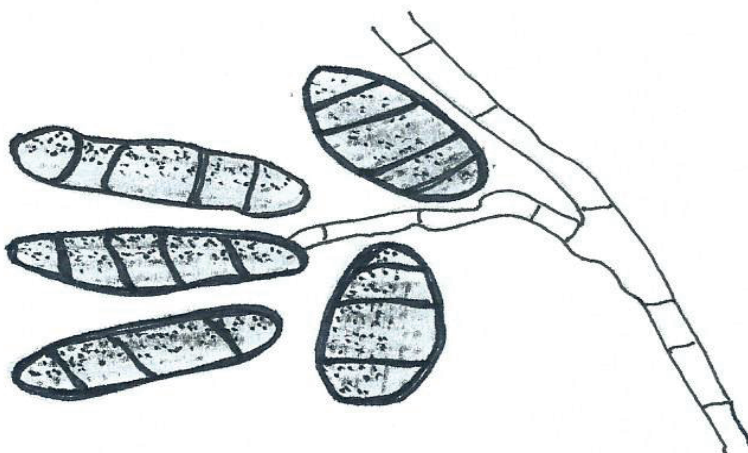


Figura 40. Formación de conidios (*Curvularia*).

Fuente: Aura Lizarazo Forero.

Según el número de células que tenga un conidio, se llama:

- *Ameroconidio*: si tiene una sola célula (sin septo).
- *Didimoconidio*: si tiene dos células (un solo septo).

- *Dictioconidio*: si tiene septos transversales y horizontales.
- *Fragmoconidio*: si tiene septos horizontales.

Del micelio vegetativo se forman tres tipos de esporas o conidios:

- *Blastoconidios*:espora de reproducción asexual, que se origina por gemación, como la de las levaduras y algunos hongos filamentosos. Ejemplo, *Torulopsis*, *Kloeckera*, y *Candida*, dentro de las levaduras. *Monilia* y *Cladosporium*, dentro de los hongos filamentosos.
- *Clamidioconidios (clamidosporas)*: se forman a partir de células preexistentes en la hifa, que se engrosa y a menudo se agranda. Las clamidoconidias pueden encontrarse dentro de la hifa (intercalar), junto a uno de sus lados (sésil) o en su extremo (terminal).
- *Arthroconidios*: también se forman a partir de células preexistentes en las hifas, que se agrandan y engrosan. Cuando maduran, estos conidios se liberan por la lisis de las células adyacentes de la hifa. Ejemplo, *Geotrichum*.

Materiales y reactivos

Portaobjetos

Cubreobjetos

Asa micológica

Microscopio

Esteroscopio

Azul de lactofenol

Tubos y cajas de medio Sabouraud

Tubos y cajas medio PDA (agar dextrosa patata)

Muestras de verduras, frutas, etc., enmohecidas

Muestras tomadas del ambiente

Azul de lactofenol

microcultivos

Pinzas

Cinta transparente

Procedimientos

1. Exposición al ambiente

Exponga las cajas de Sabouraud PDA durante 20 minutos en el lugar indicado previamente. Marque las cajas especificando lugar, hora, fecha. Incube entre 28-30 grados centígrados hasta que se observe crecimiento (hacer seguimiento por 5 días).

2. Recuento microscópico directo de levaduras

Para realizar este procedimiento los estudiantes deben revisar el capítulo 5

3. Siembra

- *Tipos de siembra*

Siembra en tubo:

1. Flamee el asa micológica.
2. Destape el tubo de medio de cultivo.
3. Introduzca el asa micológica y enfríela en el medio haciendo una canal.
4. Tome con el asa ya fría un inóculo de una colonia fúngica.
5. Destape nuevamente el tubo estéril, introduzca el asa y coloque el inóculo en el canal.

Siembra en caja de Petri:

1. Flamee el asa micológica.
2. Enfríe el asa en un extremo de la caja de Petri con medio estéril.
3. Tome el inóculo de colonia fúngica.
4. Coloque el inóculo en el centro de la caja.
5. Incube a temperatura de 25-30 °C los tubos y cajas e incube por 5 días.

Teniendo en cuenta las indicaciones previas, siembre en la caja de Petri o tubos a partir de los alimentos enmohecidos. Incube a 25-30 grados centígrados, hasta que se observe crecimiento (aproximadamente 5 días).

3. Microcultivo

1. Siembre utilizando el montaje (Figura 39).
2. Una vez que haya realizado su siembra, adicione agua estéril y lleve a incubación a temperatura ambiente de 4-8 días.

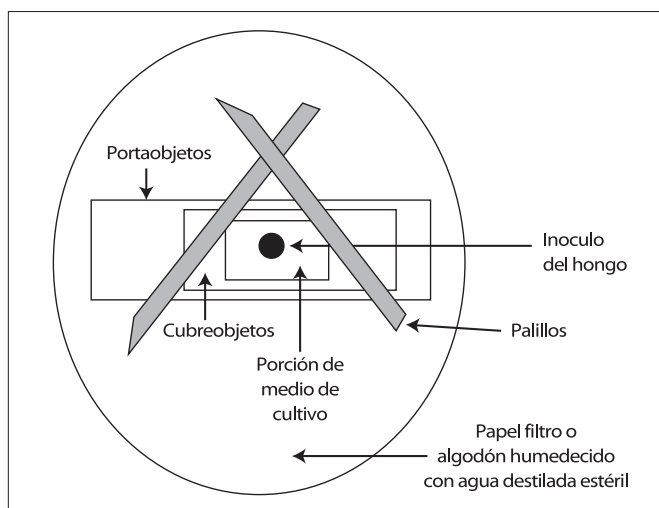


Figura 39. Montaje del microcultivo (vista desde la base).

Fuente: Aura Lizarazo Forero

4. Morfología macroscópica

Describe la morfología macroscópica de los diferentes cultivos que se han aislado de acuerdo con los parámetros anteriormente explicados.

5. Morfología microscópica

Para la observación de hongos, se utilizan generalmente líquidos de montaje, como por ejemplo agua (hongos acuáticos), KOH o azul de lactofenol.

• Hongos miceliales

Montaje entre portaobjeto y cubreobjeto:

1. Tome una lámina y agréguele una gota de azul de lactofenol.
2. Flamee el asa micológica.

3. Destape el cultivo cerca al mechero y enfríe el asa.
4. Tome un inóculo pequeño.
5. Lleve el inóculo a la gota de azul de lactofenol.
6. Separe el inóculo con ayuda de otra asa o con un cubreobjeto.
7. En forma inclinada coloque una laminilla sobre el montaje evitando la formación de burbujas.

Montaje directo o por impronta con cinta transparente:

1. Tome una lámina y agréguele una gota de azul de lactofenol.
2. Corte una tira de 5 cm de cinta transparente y tómela de los extremos.
3. Presione levemente la parte central de la cinta sobre la muestra del hongo que está sobre el alimento.
4. Transfiera o pegue la cinta sobre la lámina, pegándola primero de un extremo y luego del otro, cuidando de que quede bien estirada.

• *Hongos levaduriformes*

Repita los pasos del procedimiento Montaje entre portaobjeto y cubreobjeto, pero utilizando el asa bacteriológica redonda, exceptuando el paso 6.

Observación microscópica:

1. Realícelas en 10X y 40X.
2. Haga dibujos con base en lo que está observando, compare con las ayudas didácticas aportadas por el docente para identificar las estructuras y complete el siguiente cuadro:

Hongo número	Morfología macroscópica	Morfología microscópica	
		Reproducción asexual	Género
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			

7.1 Estructuras vegetativas

Objetivo

Adquirir destreza para la identificación de las estructuras vegetativas.

Introducción

Algunos hongos forman en los micelios y en las hifas estructuras especiales de gran interés que es importante conocer (Herrera & Ulloa, 1998).

- Plecténquimas (del gr. *plektós*: trenzado, entrelazado, y *énchyma*: relleno).
- Prosénquima (del gr. *prós*: cerca, junto a, hacia, y *énchyma*: relleno).
- Seudoparénquima (del gr. *pseudos*: falso, y *parénchyma*: un tejido de las plantas superiores).
- Estroma (del gr. *stroma*: alfombra, colchón, almohadilla).
- Esclerocios (del gr. *sklerós*: duro).
- Rizoides (del gr. *rhiza*: raíz, y *eídes* aspecto) y estolones (del lat. *stolo*, *stolonis*: retoño, renuevo).
- Haces o cordones miceliales o rizomorfos (del gr. *rhiza*: raíz, y *morphé*: forma).
- Vainas de micorrizas (del gr. *mykes*: hongo, *rhiza*: raíz).
- Apresorios (del lat. *appresorium*: presionar, comprimir).
- Haustorios (del lat. *haustorium*: extraer, devorar).
- **Plecténquimas**: término general que se utiliza para designar a todos los tipos de tejidos fúngicos. Los dos tipos más comunes prosénquima yseudoparénquima.
- **Prosénquima**: las hifas que lo componen se disponen paralelamente unas a otras, entrelazándose o anastomosándose, pero conservando su individualidad, y fácilmente se pueden reconocer los elementos hifales individuales (Figura 41).

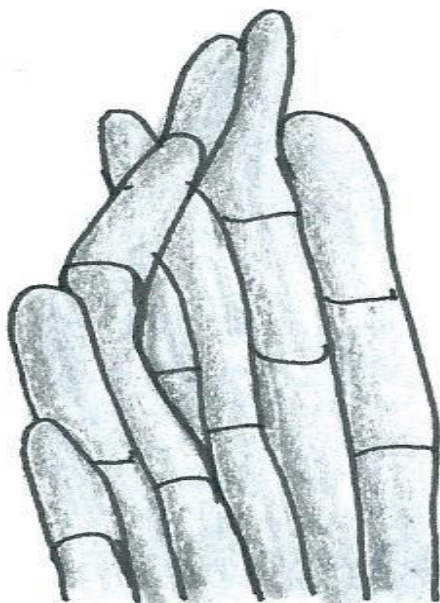


Figura 41. Prosénquima.

Fuente: Aura Lizarazo Forero

- *Seudoparénquima*: está formada por hifas íntimamente unidas y aún soldadas por una sustancia intersticial. Las hifas han perdido su individualidad y recuerdan un verdadero tejido (Figura 42).

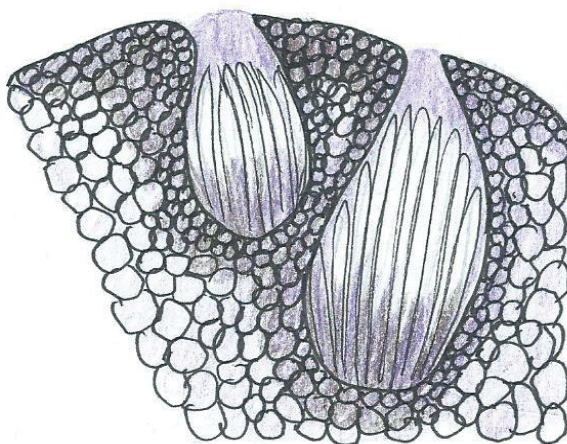


Figura 42. Pseudoparénquima.

Fuente: Aura Lizarazo Forero

- **Estroma:** es una masa compacta de hifas somáticas, constituida de plecténquima, de formas diversas, sobre la cual o dentro de la cual se producen comúnmente hifas fértiles que generan órganos reproductores (véase Figura 43).

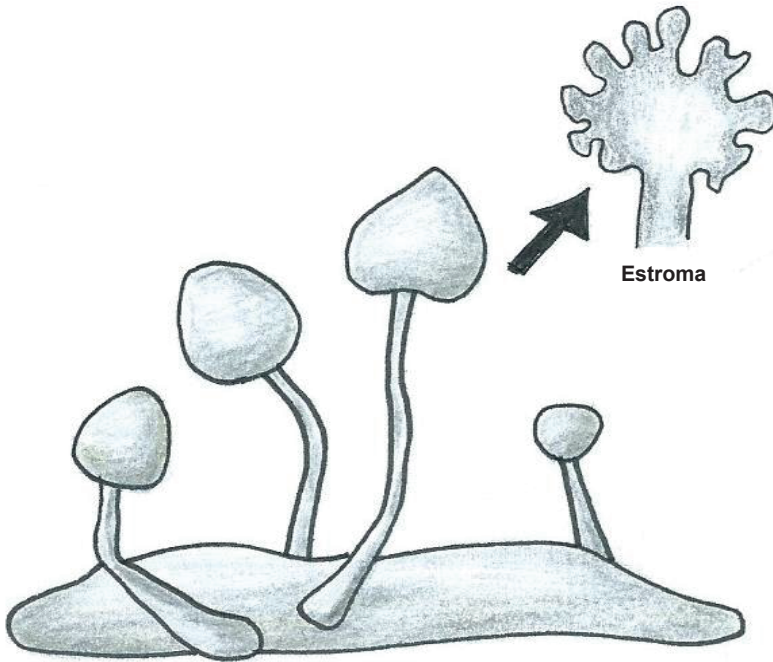


Figura 43. Estroma originado por germinación de un esclerocio.

Fuente: Aura Lizarazo Forero

- **Esclerocios:** masas redondeadas duras, compactas y negruzcas de naturaleza pseudoparenquimática, con una corteza firme, frecuentemente quitinizada y médula, llenas de sustancias de reserva y empleadas por el hongo para la supervivencia en condiciones desfavorables, que se forman en diversos sitios del micelio de algunos hongos. Según las especies, alcanzan desde el tamaño de una cabeza de alfiler hasta varios centímetros (Figura 44).



Figura 44. Esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum*.

Fuente: Aura Lizarazo Forero

- **Rizoides:** están formadas de hifas ramificadas, a veces con aspecto de roseta, y que adquiere la apariencia de raicillas. Sus funciones son la fijación del micelio al sustrato y la absorción de sustancias nutritivas (Figura 45).
- **Estolones:** son hifas vegetativas aéreas y no ramificadas que conectan dos grupos de rizoides (Figura 45).

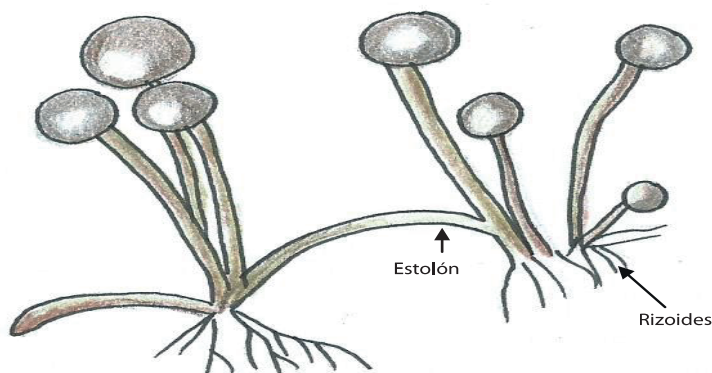


Figura 45. Rizoides y estolones (*Rhizopus*).

Fuente: Aura Lizarazo Forero

- **Haces o cordones miceliales o rizomorfos:** son cordones de micelios muy compactos, gruesos y resistentes. Capaces de alcanzar varios metros de longitud, con un grosor de 1 mm, generalmente oscuro. Funcionan como órganos de absorción y conducción de sustancias nutritivas (Figura 46).



Figura 46. Rizomorfos de *Armillariella mellea*.

Fuente: Aura Lizarazo Forero

- **Vainas de micorrizas:** órgano compuesto por la asociación simbiótica entre las hifas de algunos hongos y las raíces de plantas vasculares. Es una especie de manto fúngico que los hongos ectomicorrizas forman en torno a las raíces de estas plantas (Figura 47).

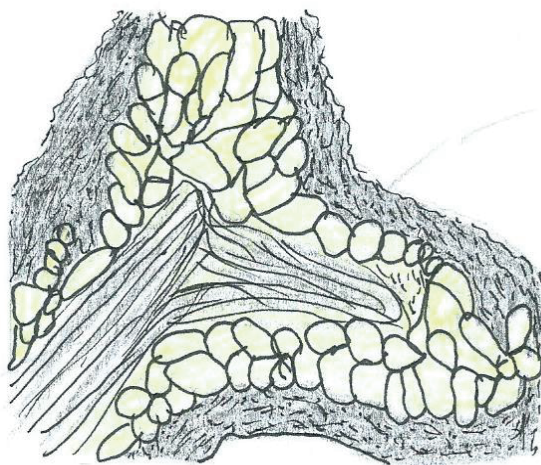


Figura 47. Micorriza. Corte longitudinal de raíz de pino por *Pisolithus tinctorius* mostrando el manto micorrícico y la red de Harting.

Fuente: Aura Lizarazo Forero

- **Apresorios:** hinchamiento aplanado que se forma en el tubo de germinación de una espora o en una hifa vegetativa, y que se adhiere a la superficie del hospedante antes de penetrarlo con una hifa infectiva que se origina de dicho hinchamiento, característico de hongos fitopatógenos (Figura 48).

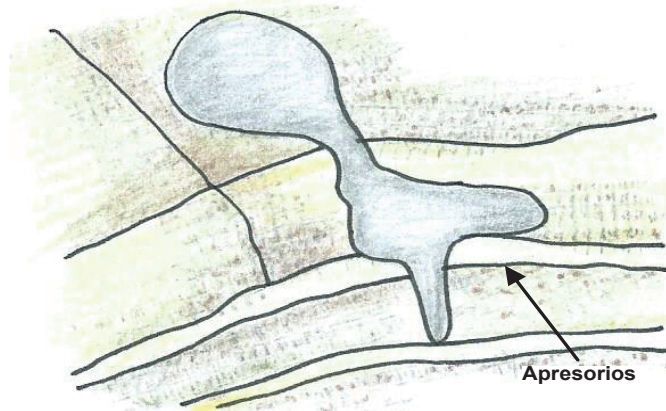


Figura 48. Apresorios de *Pythium* sp.

Fuente: Aura Lizarazo Forero

- **Haustorios:** órgano absorbente con paredes muy delgadas, que se origina de la hifa de un hongo parásito y que penetra en una célula hospedante. Los haustorios son formados principalmente por parásitos obligados que absorben sustancias nutritivas del hospedante (Figura 49).

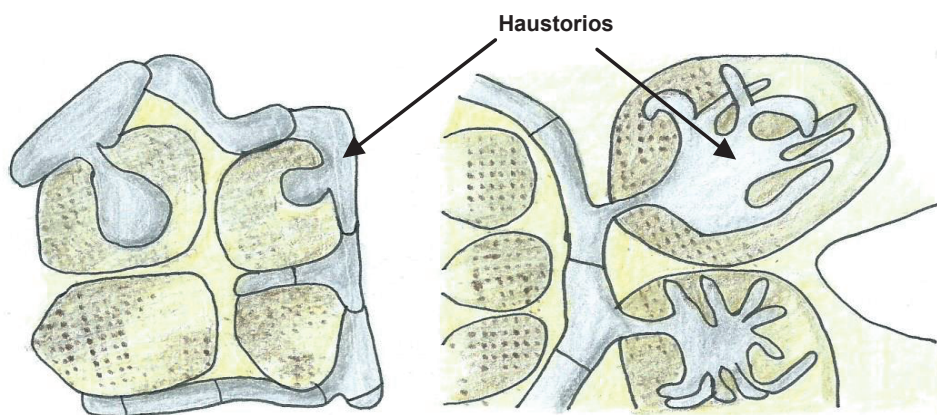


Figura 49. Haustorio de una roya en células de pino.

Fuente: Aura Lizarazo Forero

Materiales y reactivos

Montajes de estructuras vegetativas

Esclerocios

Muestras de plantas con lesiones por hongos

Procedimiento***Observación microscópica***

1. Observe los preparados en 10X y 40X.
2. Haga dibujos con base en lo que está observando, compare con las ayudas didácticas aportadas por el docente, para identificar las estructuras.

7.2 Efecto de las condiciones ambientales sobre el crecimiento y esporulación de los hongos**Objetivo**

Demostrar el efecto que tienen el medio de cultivo, la temperatura y la luz, sobre el crecimiento y esporulación de hongos.

Materiales y reactivos

Portaobjetos

Cubreobjetos

Asa micológica

Microscopio

Esteroscopio

Incubadoras graduadas a 15,28 Y32 °C

Cámara con luz negra

Azul de lactofenol

Cajas con medio PDA (agar dextrosa patata), malta-sal agar (MSA) cajas con agar agua (AA)

Aislados de *Aspergillus* spp

Azul de lactofenol

Procedimiento

1. Siembre el hongo en cada medio de cultivo e incube a 15 °C, temperatura ambiente, 28 °C, y 32 °C y en la cámara provista con luz negra.
2. Tomar registro de crecimiento y esporulación cada 2 y 8 días.

7.3 Aislamiento de hongos del suelo

Objetivo

Evaluar las poblaciones de hongos del suelo

Introducción

Los hongos junto con las bacterias realizan importantes servicios en el suelo, relacionados con la degradación de compuestos orgánicos e inorgánicos, inmovilización o retención de nutrientes, dinámica del agua, ciclos biogeoquímicos y la supresión de enfermedades. Las hifas de los hongos unen físicamente las partículas del suelo, creando agregados estables que ayudan a aumentar la infiltración y retención del agua. Son los que mayormente contribuyen a la biomasa del suelo constituyendo alrededor del 70 por ciento del peso seco, la formación de redes, generación de enzimas y metabolitos les permite degradar compuestos de alto peso molecular, como la celulosa y las ligninas presentes en materiales orgánicos de origen vegetal. Muchos de los metabolitos secundarios de los hongos son ácidos orgánicos, por lo que ayudan a aumentar la acumulación de materia orgánica rica en ácidos húmicos, que son unos de los principales componentes de las sustancias húmicas, las cuales son los constituyentes principales del humus.

Están presentes en el suelo con estructuras especializadas para los períodos de dormancia, las cuales incluyen esporangióforos, conidias, oosporas, ascosporas, basidiosporas, clamidosporas y esderocios.. Un solo hongo individual puede incluir muchos cuerpos fructíferos esparcidos por un área de aproximadamente 27 metros (<https://extension.illinois.edu/soil/index.html>).

El micelio fungal también puede estar metabólicamente inactivo en el suelo porque éste tiene un extenso efecto fungistático que se conoce como fungistasis del suelo. Esta ocurre en la mayor parte de los suelos excepto en

algunos profundos, altamente ácidos y predominantemente fríos. La adición de materiales orgánicos de fácil descomposición anula la fungistasis del suelo. Eliminado este efecto las esporas fungales y otros propágulos germinan y el micelio fungal empieza de nuevo el crecimiento activo.

La fungistasis del suelo parece estar asociada con la actividad microbiana, ya que la esterilización la elimina. Pero la naturaleza de los agentes fungistáticos sin embargo aún está por identificarse

El estudio de los hongos del suelo utilizando métodos cuantitativos y cualitativos ha sido muy difícil. Las técnicas tradicionales de aislamiento con diluciones o suspensiones del suelo en cajas de Petri cubiertas con un agar apropiado tienen un valor limitado en muchos aspectos. Estos análisis pueden dar sólo información general acerca de las especies presentes y su distribución. Pero es difícil distinguir las colonias que provienen de esporas o de hifas que estén en el suelo o de propágulos inactivos que germinan cuando son puestos en medios apropiados (Dix y Webster, 1995).

Materiales

Frascos y tubos para las diluciones de la muestra

Recipientes con 100 ml de agua destilada estéril

Agua destilada estéril

Balanza

Peachimetro

Micropipetas

Cajas de Petri estériles

Portaobjetos y cubreobjetos

Incubadora a 28°C

Agar de Martín, Agar agua, agar Saboraud, agar Czapek-Dox, agar PDA

Violeta de genciana

Azul de lactofenol

Ácido acético

Muestras de suelos: rizosfera, suelo total

Recipientes plásticos transparentes

Procedimiento

Observación directa

1. Pese 150 g de suelo
2. Colóquelo en un recipiente plástico
3. Sumerja dos portaobjetos limpios en una solución de agar agua (AA) para que se cubran con una película fina y delgada
4. Introdúzcalo los portaobjetos en el suelo del recipiente dejando afuera una pequeña porción
5. Cubra el recipiente con un plástico transparente, perfórelo para permitir la entrada del aire e incúbelo a temperatura de 28°C por una semana.
6. Al cabo de este tiempo remueva los portaobjetos con cuidado, tratando de mantenerlos inclinados para no dañar unas de las caras, que será teñida.
7. Posteriormente déjelos secar o fíjelos al calor
8. Limpie suavemente una de las caras y remueva todas las partículas grandes de suelo.
9. Después de que estén limpios, sumérjalos en ácido acético durante 1 a 3 minutos
10. Remueva el exceso de ácido acético.
11. Tiña con violeta de genciana durante 5 a 10 minutos
12. Lávelos con agua
13. Séquelos al aire y observa al microscopio (10X, 100X)
14. Realice esquemas

Aislamiento y crecimiento de hongos en medios de cultivo

1. Tome 10 g de suelo (Medir pH)
2. Suspéndalo en 100 mL de agua destilada estéril
3. Realice diluciones de 10^{-2} y 10^{-3}
4. Vierta 1 mL de cada una de las diluciones en dos cajas de petri estéril
5. Adicione 15 mL de agar Martín en dos cajas y 15 mL de agar Czapek-Dox en las otras dos cajas (temperatura del agar de 40°C)
6. Mezcle bien

7. Deje solidificar
8. Incube a 28°C durante 8 días.

Suspensiones de suelo en cajas de Petri

1. Pese 0.005 a 0.015 g de suelo y dispérselo en 15 ml de agar Saboraud, cierre y marque las cajas
2. Tome con un asa estéril una pequeña cantidad de suelo y póngala en la base de una caja de Petri estéril vacía
3. Agréguele una gota de agua destilada estéril y macérela
4. Adicione 10 ml de agar PDA fundido
5. Mezcle
6. Deje solidificar
7. Incubar de 28°C durante 8 días.
8. Subcultive los hongos que se desarrollan de los fragmentos del suelo

Contenido de la humedad del suelo

1. Pese 10 g de suelo
2. Póngalo en una estufa a 60°C por 48 horas
3. Cuando la muestra esté seca pásela en una balanza analítica
4. El contenido de humedad del suelo se calcula por la diferencia de peso entre el suelo húmedo y el seco

Lectura

Una vez que se han formado colonias visibles, se seleccionan para el recuento de colonias **las cajas que tengan de 15 a 150 colonias**. Calcule el número de hongos por gramo de suelo seco: dividiendo el número promedio de colonias por caja entre el peso seco del suelo en gramos.

Realice morfología macroscópica y microscópica.

7.4 Aislamiento de hongos acuáticos

Objetivo

Aislar e identificar especies de hongos de muestras de aguas

Introducción

Los hongos pueden encontrarse siempre que exista materia orgánica no viviente, aunque algunas especies son patógenas y otras parasitarias. El agua corriente no contaminada de los arroyos tienen una proporción relativamente grande de especies que constituyen los auténticos hongos acuáticos. Especies que poseen zoosporas flageladas y gametos, pertenecientes a los Chytridiomycota, Oomycota, Hyphomycetes y hongos del suelo.

El agua moderadamente contaminada puede portar células o esporas de los tres tipos, aunque presenta normalmente menos hongos acuáticos verdaderos e Hyphomycetes acuáticos mientras que los hongos del suelo son más numerosos.

Materiales

Frascos con 90 ml de solución peptonada

Tubos tapa rosca con 9 ml agua peptonada.

Medios de cultivo agar Czapek-Dox

Micropipetas

Incubadora a 28°C

Mecheros

Muestras de aguas

Rastrillos

Procedimiento

1. Realizar las diluciones de acuerdo al grado de contaminación de la muestra
2. Sembrar por duplicado en los medios de agar Czapek-Dox
3. Incubar las cajas a 28°C por 3, 5 y 7 días.
4. Realizar recuento
5. Realizar montaje con azul de lactofenol de las colonias fúngicas

