

ESTUDIO DE LOS HONGOS FILAMENTOSOS AISLADOS DE LAS AGUAS DEL RIO COATZACOALCOS *

Por Jovita Martínez,**
Diana Garza-Garza ** y
Amanda Trujillo **

INTRODUCCION

LA PRESENCIA de sustancias nocivas provenientes de las zonas industriales y urbanas en las aguas de los ríos, provoca una serie de graves problemas como son: la incapacidad de regeneración de la flora normal, disminución de la mezcla de gases vitales, lo que origina la muerte de la microflora y fauna; en otros casos, se presenta el problema contrario en el cual la presencia de ciertas sustancias provoca el crecimiento desmedido de la flora existente en el fondo de las corrientes, que consumen gran cantidad de oxígeno, ocasionando la muerte de otras especies que lo necesitan para sobrevivir; además, forman grandes bancos que obstaculizan la corriente y causan el estancamiento de las aguas, generando en esta forma la evaporación y la formación de zonas insalubres. Todo esto se traduce en el desequilibrio ecológico de la microflora y fauna de estos ríos.

En los últimos años, investigadores de diferentes países, tratando de resolver este tipo de problemas, se han interesado en conocer y discutir el papel de los hongos acuáticos en la hidrobiología de ríos, lagos y lagunas de los Estados Unidos (Cooke 1969) y en la distribución de las bacterias y hongos en relación a los diferentes tipos de contaminantes agregados al agua de los ríos de Tokio, de acuerdo con diferentes factores físicos y químicos, como época del año, pH, contenido de sales, etc. Asimismo, se han hecho estudios de la microflora de ríos de los Estados Unidos, en los lugares más afectados por la contaminación proveniente de las comunidades riverleñas y en diferentes épocas del año, tratando de encontrar un parámetro en la calidad de las aguas (Harvey, 1952).

Existen también estudios sobre los hongos presentes en la Planta de Tratamiento de Aguas Negras de Nueva Jersey, a diversos niveles de profundidad y

* Modificación del trabajo que uno de los autores (Martínez) presentó como tesis profesional en la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, del I.P.N., el 25 de mayo de 1973, bajo la dirección de los otros dos autores.

** Laboratorio de Micología, Departamento de Microbiología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, México, D. F.

en las diferentes estaciones del año (Cooke 1969) y, por último, existen trabajos sobre el estudio de hongos filamentosos que pueden actuar sobre los desechos, que frecuentemente se encuentran contaminando las aguas, descomponiéndolos en sustancias más sencillas o asimilables para otros organismos, como es el caso de algunos hongos que utilizan los productos resultantes de la transformación del petróleo o los elementos que se obtienen de la manufactura del papel (White *et al.*, 1948 y Cooke, 1969), de la descomposición del algodón o de otros materiales hechos a base de celulosa (Cooke 1969). Entre los trabajos antes mencionados, no existe ninguno acerca de la microflora fúngica de ríos tropicales, de los cuales nuestro país cuenta con gran número y de los que no existe ningún trabajo de este tipo, de ahí el interés de hacer el estudio ecológico de hongos filamentosos en el río Coatzacoalcos, que dentro de la República es quizá uno de los de más alta contaminación industrial, y sentar las bases para estudios posteriores referentes a la capacidad metabólica de estos hongos y su posible utilización en la autopurificación de las aguas, para tratar así de preservar los ecosistemas, evitando en cuanto sea posible que se rompa el equilibrio entre ellos.

MATERIALES Y METODOS

La toma de muestras se hizo en 11 estaciones de monitoreo, situadas entre Minatitlán y Coatzacoalcos, correspondientes a los puntos más importantes en relación a la contaminación proveniente de las zonas industriales que circundan al mencionado río. Partiendo de Minatitlán a Coatzacoalcos los lugares estudiados son los siguientes: 1) Minatitlán, 2) Uxpanapa, 3) San Francisco, 4) Paso Nuevo, 5) Nanchital, 6) Teapa, 7) Fertilizantes Fosfatados de México, 8) Pajaritos, 9) Vertedero Pajaritos, 10) Puente y 11) Bocana. Es de interés mencionar dos importantes afluentes del río Coatzacoalcos; los ríos San Francisco y Teapa, el primero por traer consigo los desechos de la refinería y los de Guanos y Fertilizantes, el segundo por traer los de la zona industrial de Pajaritos y los de Fertilizantes Fosfatados de México (Fig. 1).

Se tomaron dos series de muestras durante los meses de octubre y noviembre de 1971; éstas se realizaron a diferentes niveles de profundidad: en superficie, a 1.5 mts., a 5 mts., y en el fondo, en recipientes previamente esterilizados y se mantuvieron en refrigeración hasta su análisis.

En el laboratorio de Microbiología Sanitaria, del Departamento de Microbiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, se efectuó el recuento total de hongos por el método de diluciones en placa vaciada, utilizando el medio de Kauffman No. 3, modificado por la adición de extracto de levadura y rosa de Bengala y el de papa dextrosa agar (PDA, Difco). Las cajas se incubaron a 28°C y las lecturas se hicieron a las 72 horas (Tabla I).

ASLAMIENTO E IDENTIFICACION DE LOS HONGOS

A los cinco días de incubación nos fueron proporcionadas las cajas para el estudio de los hongos; se seleccionaron las colonias mejor aisladas, para resem-

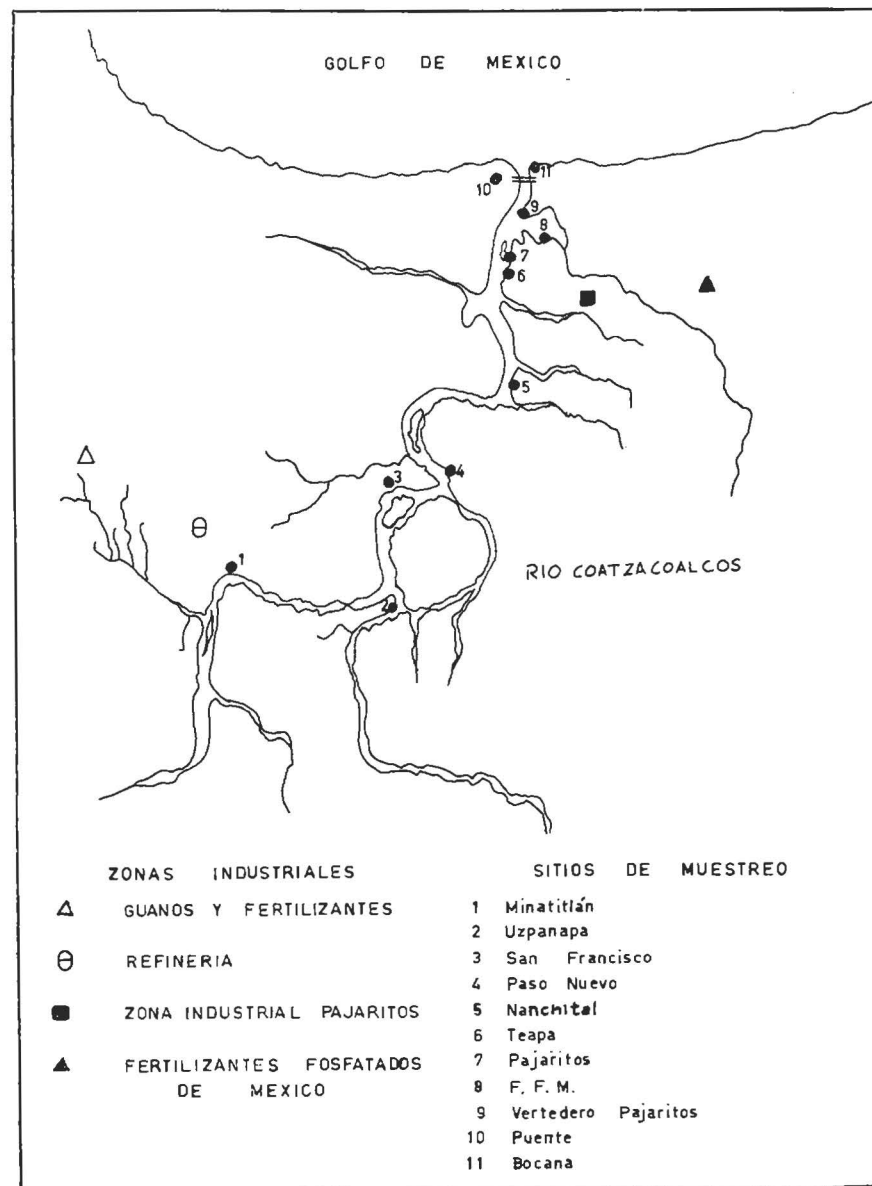


FIG. 1. Zona de estudio del río Coatzacoalcos en el Estado de Veracruz.

TABLA 1

Recuento total de hongos (No./ml)

Sitio de muestreo	Profundidad	1a. serie	2a. serie
Minatitlán	Superficie	180	36
"	5 mts	112	70
"	10 mts	--	64
Uspanapa	Superficie	80	40
"	5 mts	10	80
"	Fondo	--	93
San Francisco	Superficie	--	130
"	5 mts	--	50
"	Fondo	--	1000
Pajaritos	Superficie	30	41
"	5 mts	30	22
"	10 mts	--	14
Vertedero Pajaritos	Superficie	85	--
"	Fondo	160	--
Teapa	Superficie	60	96
"	5 mts	220	--
"	1.5 mts	--	92
"	3.5 mts	--	39
Fert. Fosf. de Méx.*	Superficie	--	13
"	5 mts	--	15
"	Fondo	--	28
Nanchital	Superficie	--	29
"	5 mts	--	52
"	Fondo	--	3200
Paso Nuevo	Superficie	--	23
"	5 mts	--	2200
"	Fondo	--	19
Puente	Superficie	--	20
"	5 mts	--	60
"	Fondo	--	8
Bocana	Superficie	30	38
"	Fondo	90	55

* Fertilizantes fosfatados de México.

brar en tubos con medio de PDA y corn meal agar (CMA, Difco). A las colonias que resultaron ser una mezcla de dos o más hongos se les practicó una serie de diluciones y cultivo en placa vaciada en los medios de PDA y rosa de Bengala para obtener colonias puras. Una vez obtenidas así las colonias, se procedió a identificar los hongos empleando la técnica de microcultivo descrita por Ridell (1950), usando los medios de PDA, CMA adicionado de glicerol al 8.8% y el medio "A", cuya fórmula es: 1. Glucosa 7.5 g., extracto de levadura 1.5 g., agar 10.0 g., agua destilada 1000 ml; esterilizar a 15 lbs. por 15 minutos. 2. Solución de microelementos, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.097 g., $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.088 g., $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.031 g., agua destilada 100 ml., esterilizar por filtración. Adicionar 1 ml. de la solución 2 al medio 1 cuando éste se encuentre entre 45-50°C. Se incubaron a 28°C, y se observaron periódicamente hasta la aparición de esporulación característica. Posteriormente se sustituyó el glicerol por formol al 10% y se dejó como fijador por 3 horas. Posteriormente, de los portaobjetos y cubreobjetos se obtuvieron preparaciones fijas, teñidas por la técnica de azul

algodón acético y en fresco por la adición de azul de algodón lactofenol. Las preparaciones fueron examinadas microscópicamente para su identificación y las cepas esporuladas fueron clasificadas según las claves de Barron (1968), Barnett y Hunter (1972), Bessey (1965) y Gilman (1971).

El total de muestras de agua examinadas fueron 41 de donde se aislaron 150 cepas de hongos, 45 en la primera serie y 105 en la segunda. Las 105 cepas fueron examinadas microscópicamente y se clasificaron en tres grandes grupos de acuerdo con las características de su micelio: a) micelio hialino cenocítico, b) micelio hialino tabicado y c) micelio fuliginoso (Tabla 2). En esta ta-

TABLA 2

Agrupación de los hongos aislados según su tipo de micelio

Tipo de micelio	No. de hongos 1a. serie	No. de hongos 2a. serie
Micelio hialino cenocítico	1	5
Micelio hialino tabicado	29	65
Micelio fuliginoso	15	35
TOTAL	45	105

bla se observa que los hongos más comúnmente aislados fueron los de micelio hialino tabicado, enseguida los de micelio fuliginoso y finalmente los de micelio hialino cenocítico, tanto en la primera como en la segunda serie.

Las tablas 3 y 4 nos muestran el número de hongos aislados y el número de hongos identificados en cada lugar de muestreo, tanto de la primera como de la segunda serie, en donde observamos que sólo 68 cepas de las 150 aisladas, fueron identificadas, lo que representa un 45.3% y el 54.7% restante están por

TABLA 3

Número de hongos aislados e identificados de los diferentes sitios de muestreo

1a. Serie.

Sitio de muestreo	No. de muestra	No. de hongos aislados	No. de hongos identificados
Bocana	Superficie	1	3
"	Fondo	2	6
Teapa	Superficie	3	7
"	5 mts	4	3
Uspanapa	Superficie	5	5
"	5 mts	6	1
Pajaritos	Superficie	7	4
"	5 mts	8	2
Minatitlán	Superficie	9	2
"	5 mts	10	4
Vert. Pajaritos *	Superficie	11	3
"	Fondo	12	5

* Vertedero Pajaritos.

TABLA 4

Número de hongos aislados e identificados de los diferentes sitios de muestreo.

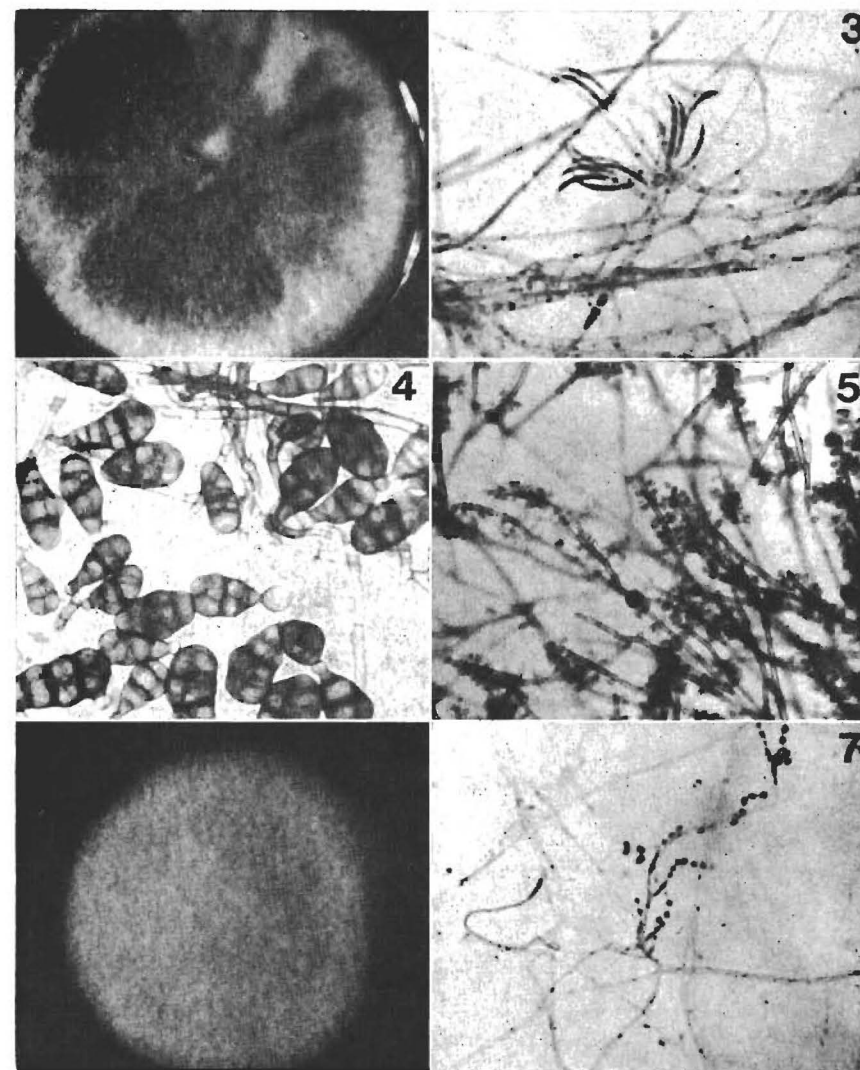
2a. Serie.

Sitio de muestreo	No. de muestra		No. de hongos aislados	No. de hongos identificados
Bocana	Superficie	I	8	3
"	Fondo	II	6	0
Minatitlán	Superficie	III	4	2
"	5 mts	IV	8	1
"	Fondo	V	4	0
Paso Nuevo	Superficie	VI	2	0
"	5 mts	VII	3	1
"	Fondo	VIII	2	0
Teapa	Superficie	IX	8	1
"	1.5 mts	X	6	3
"	Fondo	XI	3	2
Nanchital	Superficie	XII	2	1
"	5 mts	XIII	3	2
"	Fondo	XIV	4	3
San Francisco	Superficie	XV	3	1
"	5 mts	XVI	12	7
"	Fondo	XVII	1	0
Fert. Fosf. Méx.	Superficie	XVIII	5	3
"	5 mts	XIX	7	2
"	Fondo	XX	1	0
Pajaritos	Superficie	XXI	1	1
"	5 mts	XXII	1	0
"	Fondo	XXIII	1	1
Puente	Superficie	XXIV	1	1
"	5 mts	XXV	2	0
"	Fondo	XXVI	1	0
Uspanapa	Superficie	XXVII	4	1
"	Fondo	XXVIII	1	1
"	5 mts	XXIX	1	0
Total			150	68

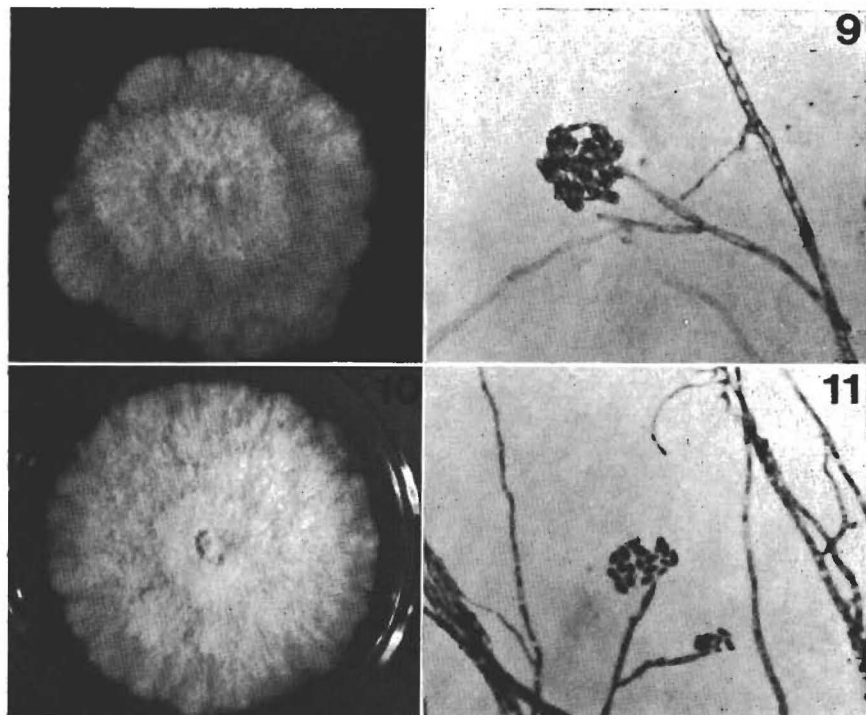
identificar (82 cepas). El número de hongos identificados en cada sitio de muestreo, fue muy variable, de 0% hasta 100%.

Los hongos identificados están comprendidos en 12 géneros diferentes, que están anotadas en la tabla 5; el género más comúnmente aislado fue *Penicillium*, en seguida los géneros *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Rhinoctadiella*, y se aisló una sola cepa de los géneros *Monocillium*, *Gliocladium*, *Cephalosporium* y *Neurospora*. En el género *Aspergillus*, del cual se aislaron 9 cepas, 4 de ellas se lograron identificar hasta especie, tres correspondieron a *A. niger*, una a *A. terricola* y otra cepa a *Aspergillus* del grupo *Glaucus*. En las figs. 2-11 se presentan características macro y microscópicas de algunas de estas cepas.

Para saber si existía una flora específica en los lugares de muestreo, se relacionaron los géneros identificados, el número de cada uno de ellos, el sitio de muestreo y la profundidad a que fueron tomadas la primera y segunda serie



FIGS. 2-7. 2: *Fusarium* sp. colonia obtenida a 28°C durante 15 días en PDA. 3: Morfología microscópica de *Fusarium* sp. 4: *Alternaria* sp., dictiosporas de un cultivo incubado a 28°C durante 15 días en PDA. 5: *Rhinoctadiella* sp., morfología microscópica en PDA a 28°C por 15 días. 6: *Monocillium* sp., colonia obtenida a 28°C durante 15 días en PDA. 7: Morfología microscópica de *Monocillium* sp.



FIGS. 8-11. 8: *Gliocladium* sp., colonia obtenida a 28°C durante 15 días en PDA. 9: morfología microscópica de *Gliocladium* sp. 10: *Cephalosporium* sp., colonia obtenida a 28°C durante 8 días en PDA. 11: Morfología microscópica de *Cephalosporium* sp.

TABLA 5
Número de géneros y especies de hongos identificados

Hongos	No. de cepas aisladas
<i>Penicillium</i> sp.	21
<i>Aspergillus</i> sp.	4
<i>Aspergillus niger</i>	3
<i>Aspergillus</i> Gpo. <i>Glaucus</i>	1
<i>Aspergillus terricola</i>	1
<i>Paecilomyces</i> sp.	8
<i>Cladosporium</i> sp.	7
<i>Trichoderma</i> sp.	6
<i>Fusarium</i> sp.	6
<i>Alternaria</i> sp.	4
<i>Rhinocladiella</i> sp.	3
<i>Monocillium</i> sp.	1
<i>Gliocladium</i> sp.	1
<i>Cephalosporium</i> sp.	1
<i>Neurospora</i> sp.	1
Total	68

(datos que se pueden apreciar en las tablas 6 y 7). Se observó, sin embargo, que la flora no es específica en ningún lugar, ya que algunos géneros de la primera serie no están presentes en la segunda; un ejemplo de esto se encuentra en Bocana, en la superficie, de la 1a. serie, donde se aisló el género *Alternaria* y en la 2a. serie ya no se encontró; el mismo caso se presentó en Pajaritos, también en la superficie, con los géneros *Rhinocladiella* y *Cladosporium* presentes en la 1a. serie pero no en la 2a.

TABLA 6
Géneros y especies de hongos identificados de cada sitio de muestreo
1a. Serie.

No. muestra	Sitio de muestreo		Géneros y especies identificados
1	Bocana	Superficie	<i>Alternaria</i> sp. (2) *
2	"	Fondo	<i>Cladosporium</i> sp. (2)
3	Tecapa	Superficie	<i>Cladosporium</i> sp. (2)
4	"	5 mts	<i>Alternaria</i> sp. (1) <i>Fusarium</i> sp. (1)
			<i>Trichoderma</i> sp. (1)
			<i>Gliocladium</i> sp. (1)
			<i>Penicillium</i> sp. (1)
5	Uspanapa	Superficie	<i>Neurospora</i> sp. (1), <i>Fusarium</i> sp. (1)
			<i>Aspergillus</i> Gpo. <i>Glaucus</i> (1)
			<i>Penicillium</i> sp. (1)
6	"	5 mts	<i>Paecilomyces</i> sp. (1)
7	Pajaritos	Superficie	<i>Rhinocladiella</i> sp. (2), <i>Penicillium</i> sp. (1),
			<i>Cladosporium</i> sp. (1)
8	"	5 mts	<i>Cladosporium</i> sp. (1)
			<i>Trichoderma</i> sp. (1)
9	Minatitlán	Superficie	<i>Cladosporium</i> sp. (1)
10	"	5 mts	<i>Trichoderma</i> sp. (1), <i>Fusarium</i> sp. (1)
			<i>Aspergillus niger</i> (1)
			<i>Paecilomyces</i> sp. (1)
11	Vert. Pajaritos	Superficie	<i>Trichoderma</i> sp. (1), <i>Fusarium</i> sp. (1)
			<i>Penicillium</i> sp. (1)
12	"	Fondo	<i>Aspergillus niger</i> (1)
			<i>Penicillium</i> sp. (1)

* Número de cepas aisladas.

TABLA 7
Géneros y especies de hongos identificados de cada sitio de muestreo
2a. Serie.

No. muestra	Sitio de muestreo		Géneros y especies identificados
I	Bocana	Superficie	<i>Trichoderma</i> sp. (2) (*)
			<i>Paecilomyces</i> sp. (1)
II	"	Fondo	Ninguna identificada
III	Minatitlán	Superficie	<i>Monocillium</i> sp. (1),
			<i>Cladosporium</i> sp. (1)
IV	"	5 mts	<i>Cephalosporium</i> sp. (1)
V	"	Fondo	Ninguna identificada

Cont. Tabla 7

Nº muestra	Sitio de muestreo		Géneros y especies identificados
VI	Paso Nuevo	Superficie	Ninguna identificada
VII	"	5 mts	<i>Fusarium</i> sp. (1)
VIII	"	Fondo	Ninguna identificada
IX	Teapa	Superficie	<i>Rhizoglyphus</i> sp. (1)
X	"	1.5 mts	<i>Alternaria</i> sp. (1)
			<i>Fusarium</i> sp. (1)
			<i>Penicillium</i> sp. (1)
XI	"	Fondo	<i>Penicillium</i> sp. (1)
			<i>Paecilomyces</i> sp. (1)
XII	Nanchital	Superficie	<i>Penicillium</i> sp. (1)
XIII	"	5 mts	<i>Paecilomyces</i> sp. (2)
XIV	"	Fondo	<i>Aspergillus</i> sp. (1)
			<i>Aspergillus niger</i> (1)
			<i>Penicillium</i> sp. (1)
XV	San Francisco	Superficie	<i>Penicillium</i> sp. (1)
XVI	"	5 mts	<i>Aspergillus</i> sp. (1)
			<i>Penicillium</i> sp. (6)
XVII	"	Fondo	Ninguna identificada
XVIII	Fert. Fosf. Mex.	Superficie	<i>Penicillium</i> sp. (3)
XIX	"	5 mts	<i>Paecilomyces</i> sp. (2)
XX	"	Fondo	Ninguna identificada
XXI	Pajaritos	Superficie	<i>Penicillium</i> sp. (1)
XXII	"	5 mts	Ninguna identificada
XXIII	"	Fondo	<i>Aspergillus terricola</i> (1)
XXIV	Puente	Superficie	<i>Aspergillus</i> sp. (1)
XXV	"	5 mts	Ninguna identificada
XXVI	"	Fondo	Ninguna identificada
XXVII	Uspanapa	Superficie	<i>Aspergillus</i> sp. (1)
XXVIII	"	Fondo	<i>Penicillium</i> sp. (1)
XXIX	"	5 mts	Ninguna identificada.

* Número de cepas aisladas.

En la tabla 8 se agrupa a los hongos en relación a su capacidad de esporulación, donde se ve que 70 de los 150 hongos aislados no presentaron esta capacidad en los tres medios utilizados para este propósito; 68 fueron capaces de esporular y fueron identificados, 7 de ellos formaron picnidios sin ninguna otra estructura característica de reproducción y 5 más fueron capaces de esporular, pero presentaron dificultad para su identificación.

TABLA 8

Agrupación de los hongos en relación a su capacidad de esporulación

	No. de hongos
Esporulados e identificados	68
Esporulados no identificados	5
Con picnidios	7
No esporulados	70
Total	150

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a todas aquellas personas que de una u otra manera ayudaron al desarrollo de este trabajo; particularmente a la QBP. Alba Nérida Nájera por haber proporcionado el material del cual se aislaron las cepas, al doctor Amado González Mendoza por la toma de las fotomicrografías, así como a la QBP. Ma. de los Angeles Sandoval y al QBP. Héctor Rodríguez por sus acertadas indicaciones para la identificación de los hongos, todos ellos miembros del Departamento de Microbiología de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del I.P.N. Al doctor Gastón Guzmán se le dan las gracias por haber facilitado el mapa base para el aquí presentado, así como por sus indicaciones y observaciones en el texto del trabajo.

LITERATURA CITADA

- Barnett, H. L., y B. B. Hunter 1972. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess Publishing Company.
- Barron, G. L., 1968. *The Genera of Hyphomycetes from soil*. The William & Wilkins Company, Baltimore.
- Bessey, E. A., 1965. *Morphology and Taxonomy of Fungi*. Hafner Publishing Company, Nueva York.
- Cooke, W. B., et al., 1969. *Our Mouldy Earth. A study of our environment with emphasis on water*. U.S. Department of the Interior, Federal Water Pollution Control Administration. Advanced Waste Treatment Research Laboratory, Cincinnati, Ohio.
- Gilman, J., 1971. *A Manual of Soil Fungi*. The Iowa State University Press, Ames, Iowa.
- Harvey, J. V., 1952. Relationship of aquatic fungi to water pollution. *Sewage and Industrial Wastes*, 24: 1159-1165.
- Ridell, W. R., 1950. Permanent stained mycological preparations obtained by slide culture. *Mycologia*, 42: 265-270.
- White, W. L., R. T. Darby, G. W. Stechert y K. Sanderson, 1948. Assay of cellulolytic activity of molds isolated from fabrics and related items exposed in the tropics. *Mycologia* 40: 34-84.

RESUMEN

Se hizo un estudio ecológico de la microflora fúngica del río Coatzacoalcos durante los meses de octubre y noviembre de 1971. Se aislaron 150 cepas de hongos filamentosos, de las cuales 68 fueron identificadas dentro de 12 géneros: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Monocillium*, *Neurospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Rhizoglyphus* y *Trichoderma*, que se consideran de habitat terrestre. De las cepas restantes, 70 no esporularon en los medios utilizados, 7 desarrollaron solamente picnidios y 5 presentaron esporulación pero no se llegó a su identificación. No se encontró una flora específica en las estaciones de muestreo, ni en los diferentes niveles de profundidad a que fueron tomadas las muestras.

ABSTRACT

It was done an ecological study of fungic microflora from Coatzacoalcos river during October and November in 1971. Of the 150 isolated strains of filamentous

fungi, 68 were identified in 12 genera: *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cephalosporium*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Monocillium*, *Neurospora*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Rhinocladiella* and *Trichoderma* all of them considered of terrestrial habitat; 70 of the other strains, didn't produce any sporulation in the media used, 7 only formed picnidia, and the last 5 strains could not be identified even though they produced some kind of sporulation. It was not found any correlation with specific flora in the sample stations and in the different levels of the sample stations.