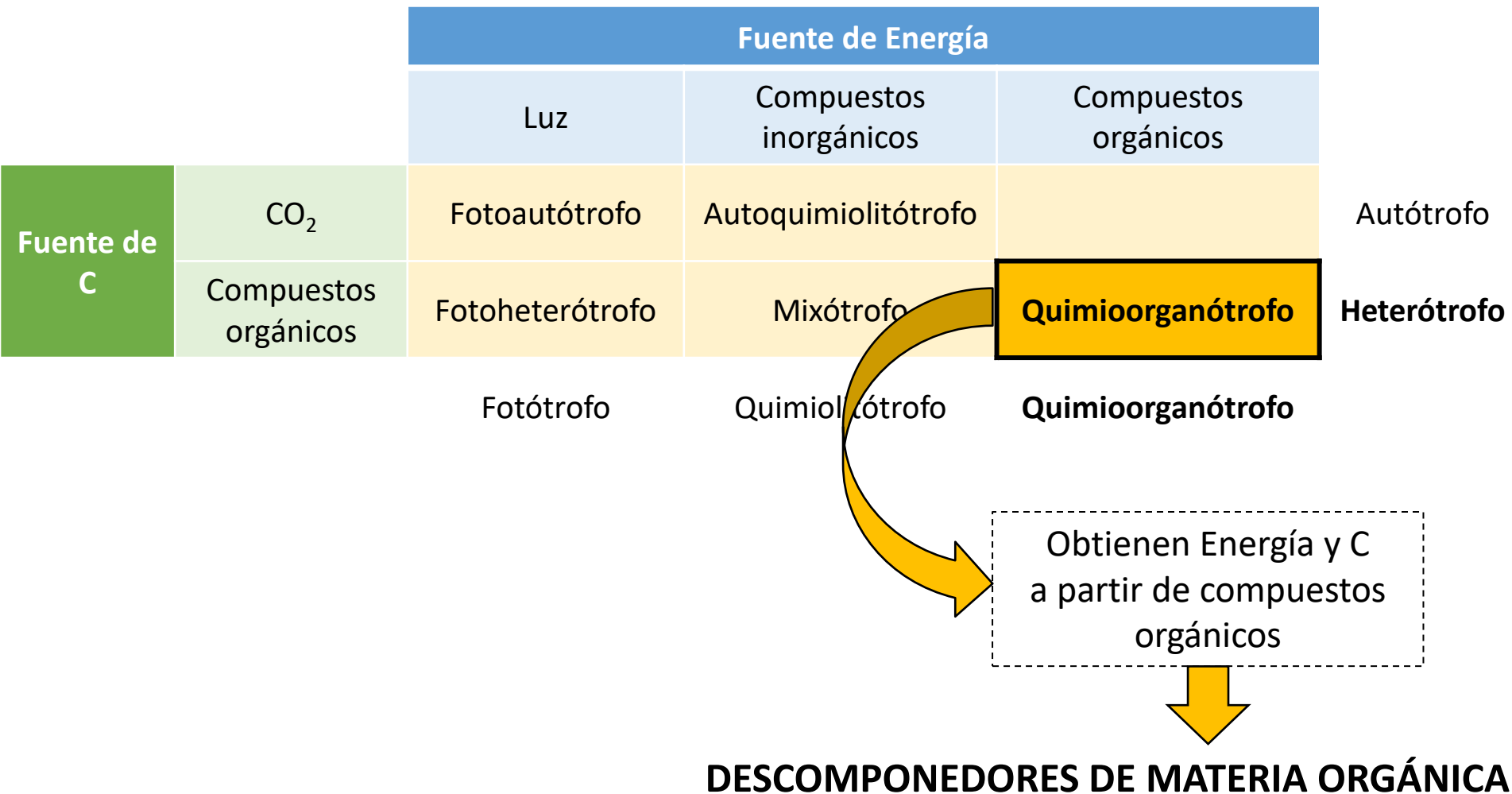


NUTRICIÓN Y METABOLISMO FÚNGICO

Dr. Maximiliano Sortino
msortino@fbioyf.unr.edu.ar

HONGOS → EUCARIOTAS QUIMIOHETERÓTROFOS



Pueden ser

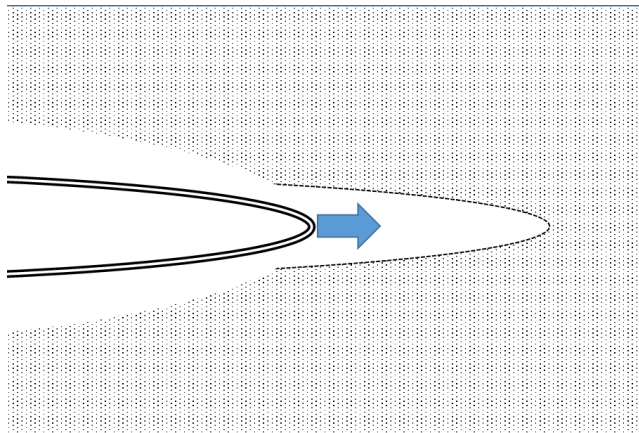
- **Parásitos:** viven sobre organismos vivos
- **Saprófitos:** viven sobre materia orgánica muerta
- **Simbióticos:** formando asociaciones con otros seres vivos. Ej. líquenes y micorrizas



Obtención de nutrientes

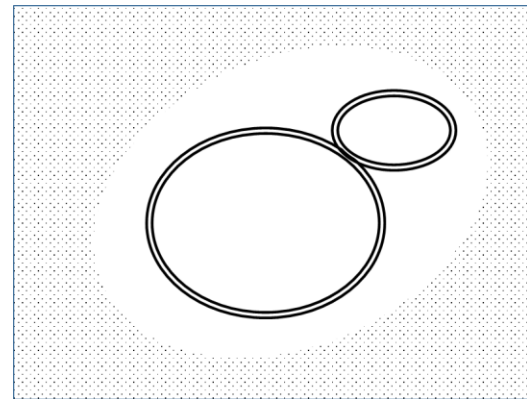
Hongos filamentosos

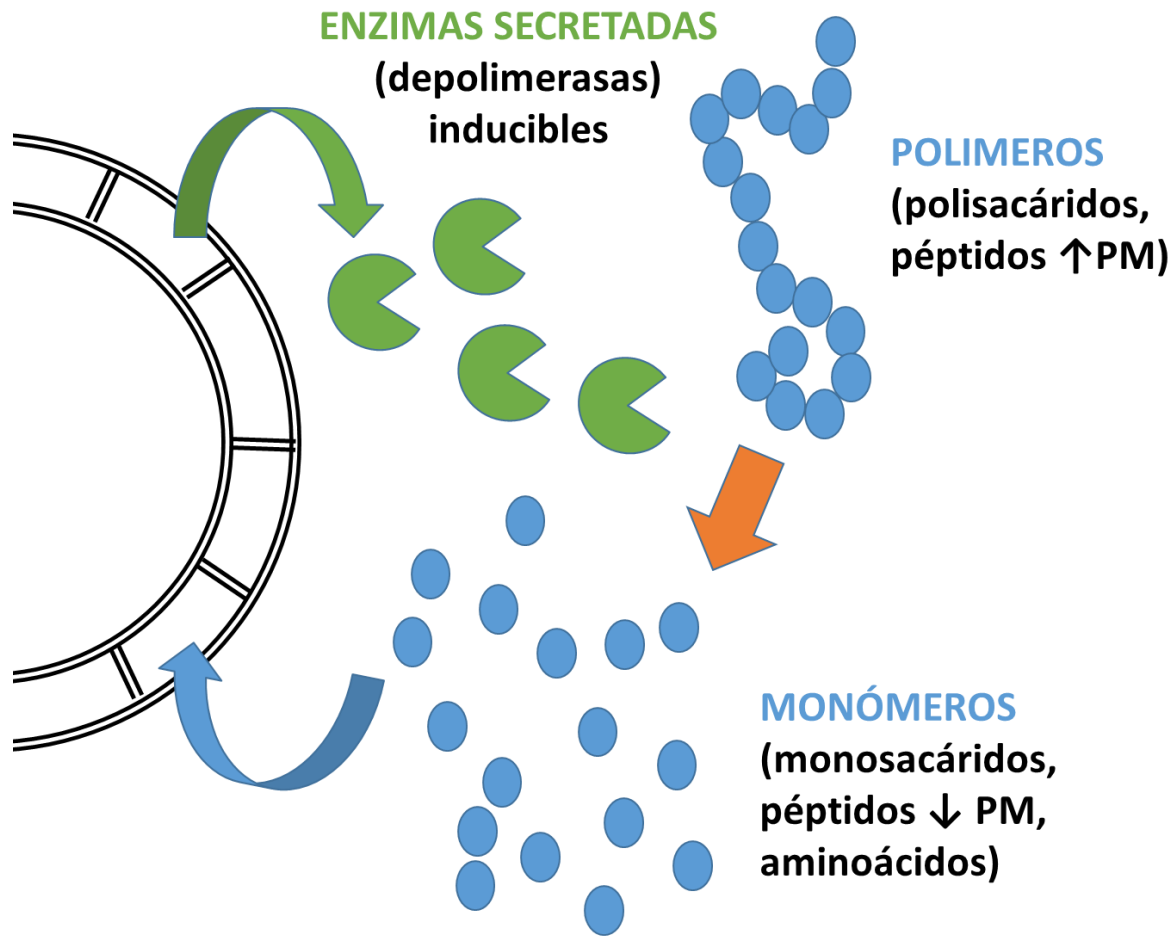
- Liberan al medio enzimas degradativas
- Crean zonas de erosión
- El crecimiento apical permite extenderse hacia zonas frescas de sustrato



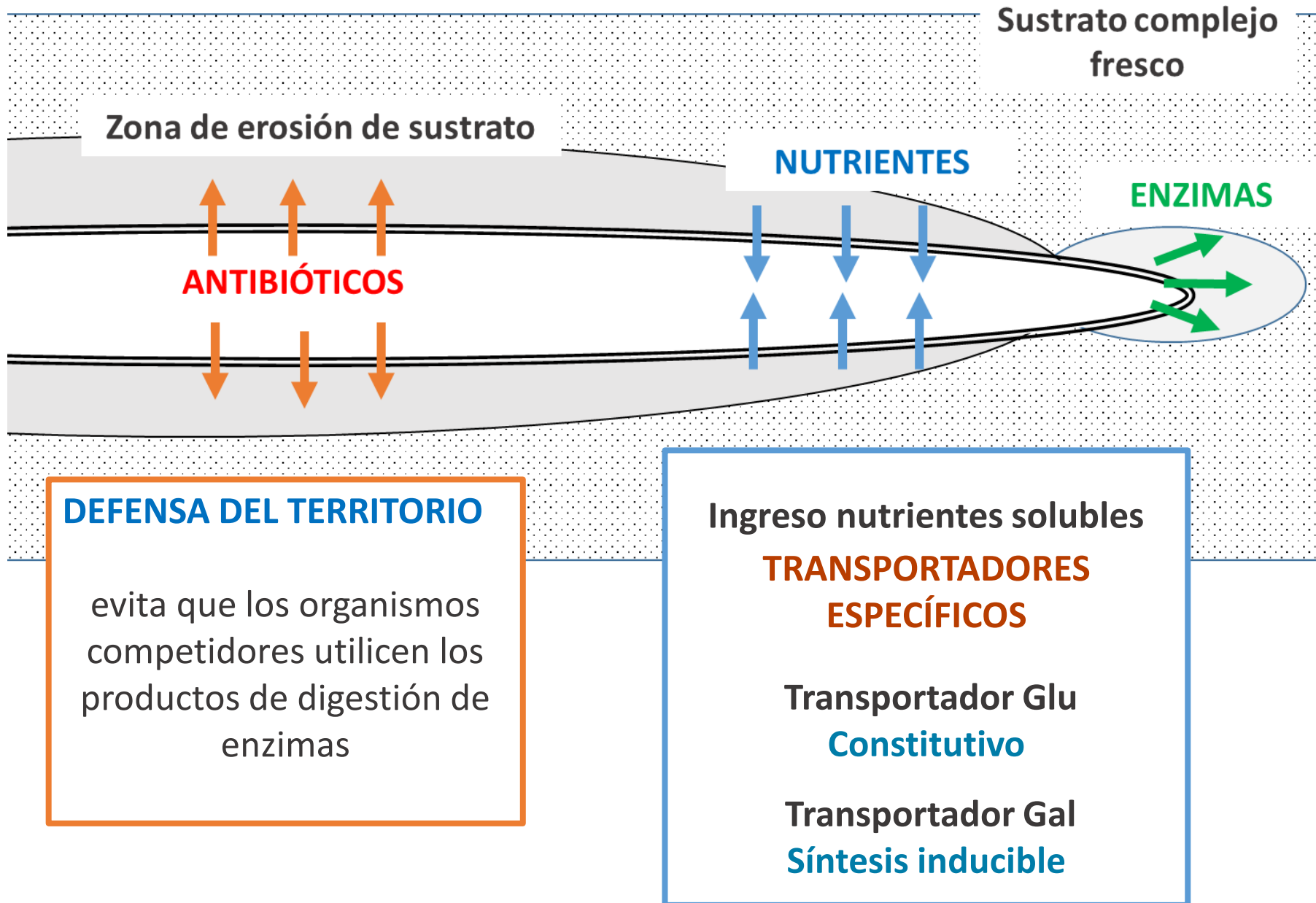
Hongos levaduriformes

- No producen depolimerasas
- Crecen en ambientes ricos en nutrientes solubles simples (superficies de hojas, frutas o en mucosas)

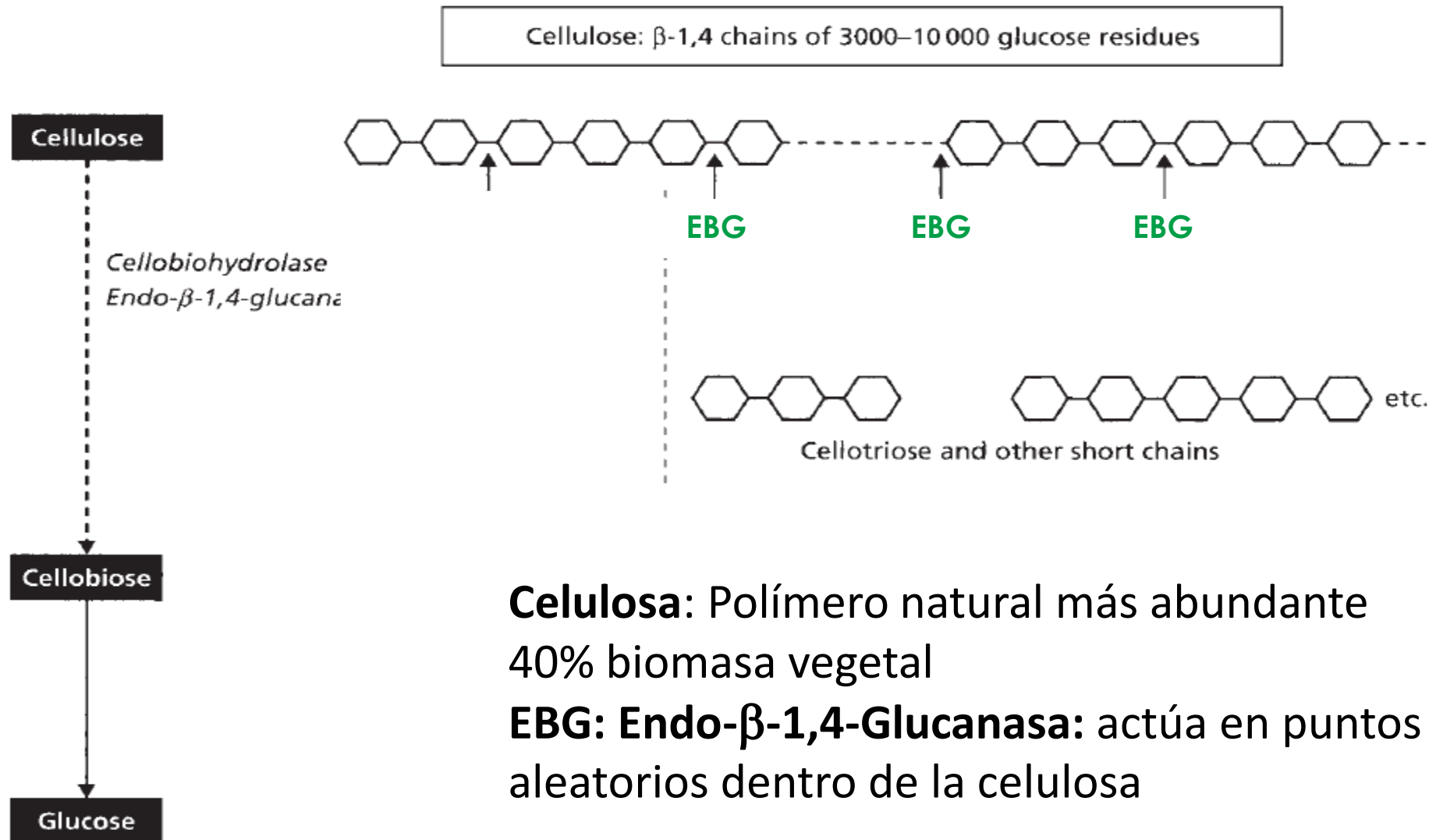




Hongos filamentosos



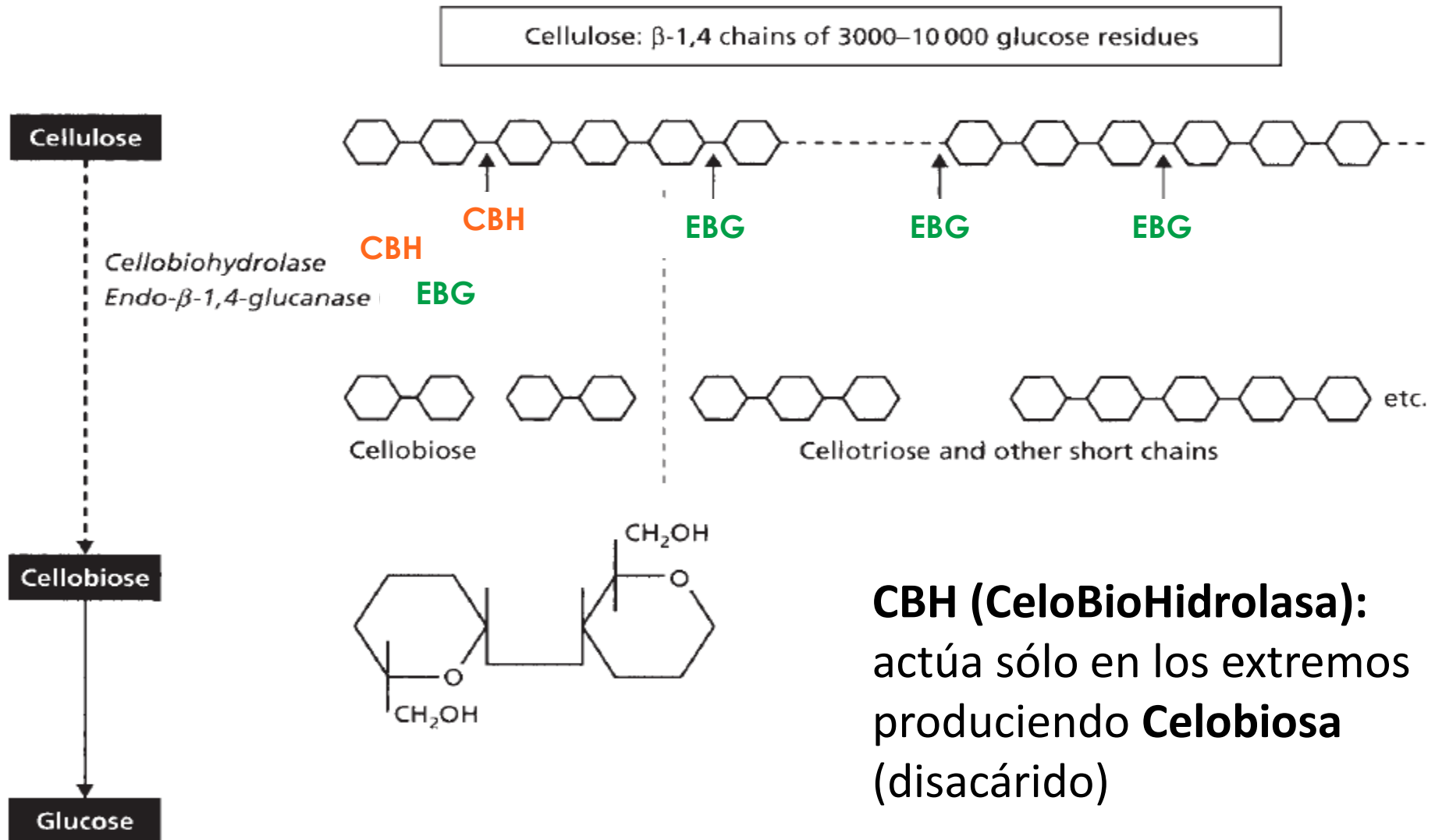
DEGRADACIÓN DE CELULOSA



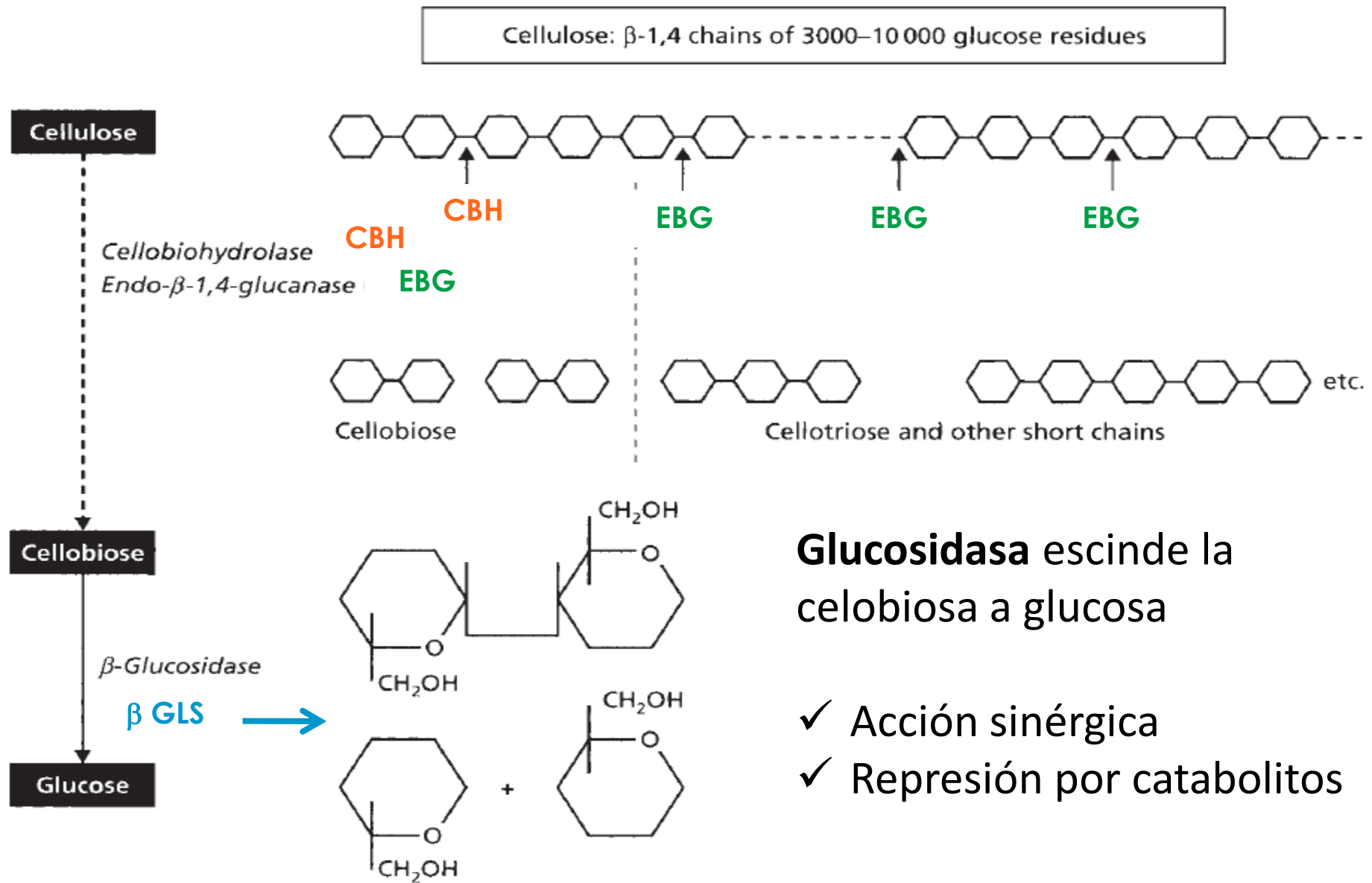
Celulosa: Polímero natural más abundante
40% biomasa vegetal

EBG: Endo- β -1,4-Glucanasa: actúa en puntos
aleatorios dentro de la celulosa

DEGRADACIÓN DE CELULOSA



DEGRADACIÓN DE CELULOSA



Glucosidasa escinde la celobiosa a glucosa

- ✓ Acción sinérgica
- ✓ Represión por catabolitos

Glucólisis
Vía Embden-Meyerhoff

Vía de las
Pentosas
Fosfato

Monosacáridos
Glu

Xilosa
Hemicelulosa

Energía

Gliceraldehído 3P
P-di hidroxí acetona

NADPH

Energía

NADH

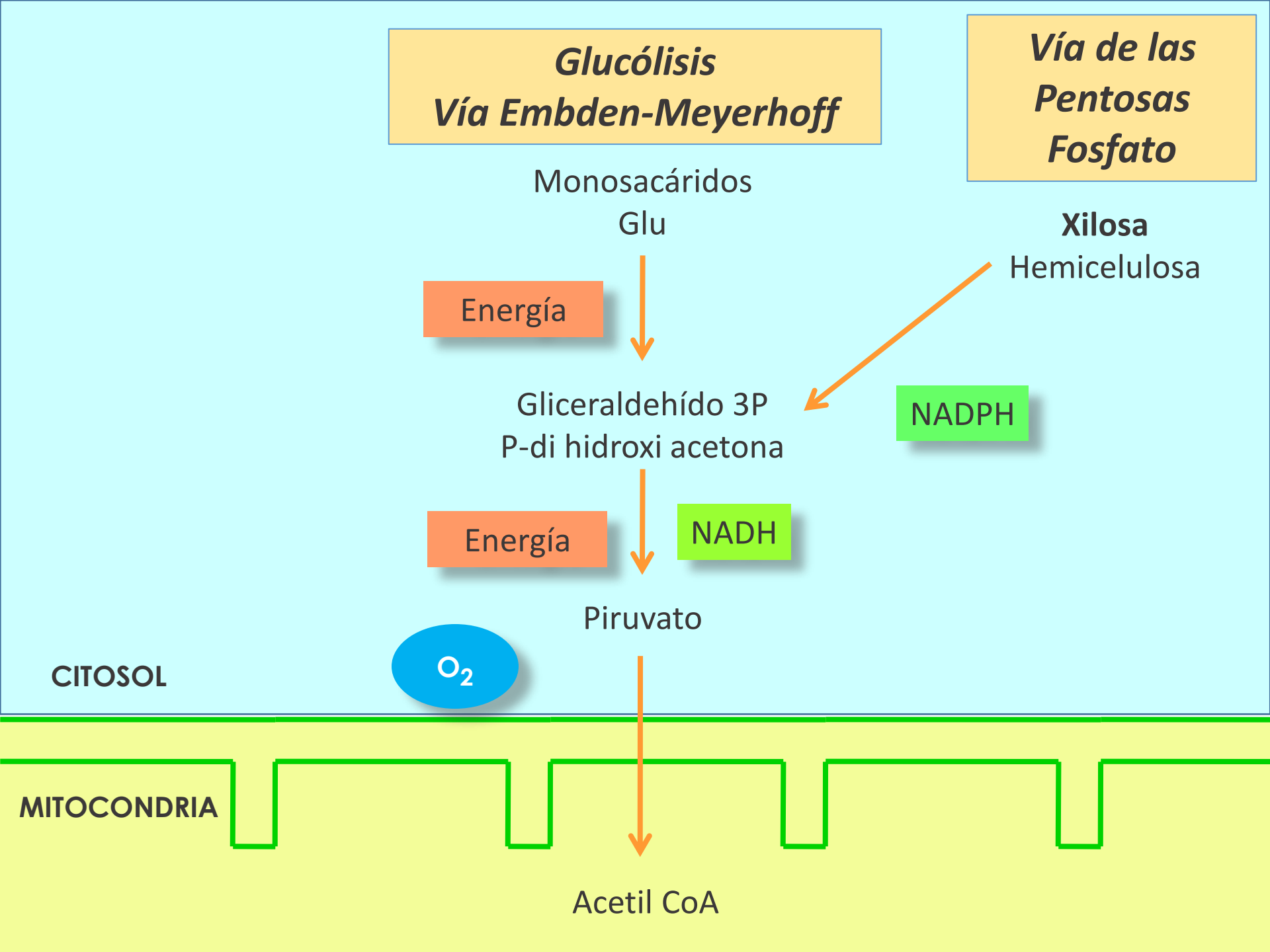
Piruvato

O₂

CITOSOL

MITOCONDRIA

Acetil CoA



CITOSOL

Piruvato

MITOCONDRIA

Acetil CoA

Citrato

Oxalacetato

Ciclo ácidos
tricarboxílicos

α - Ceto
glutarato

Energía

NADH

NADPH

FADH₂

+

O₂

Cadena
transportadora e⁻

RESPIRACIÓN
AERÓBICA

+

NO₃⁻

Aceptor final e⁻

RESPIRACIÓN
ANAERÓBICA

Glucólisis
Vía Embden-Meyerhoff

Vía de las
Pentosas
Fosfato

Monosacáridos

Glu

Xilosa
Hemicelulosa

Energía

NADPH

Gliceraldehído 3P
P-di hidroxí acetona

Energía

NADH

Piruvato

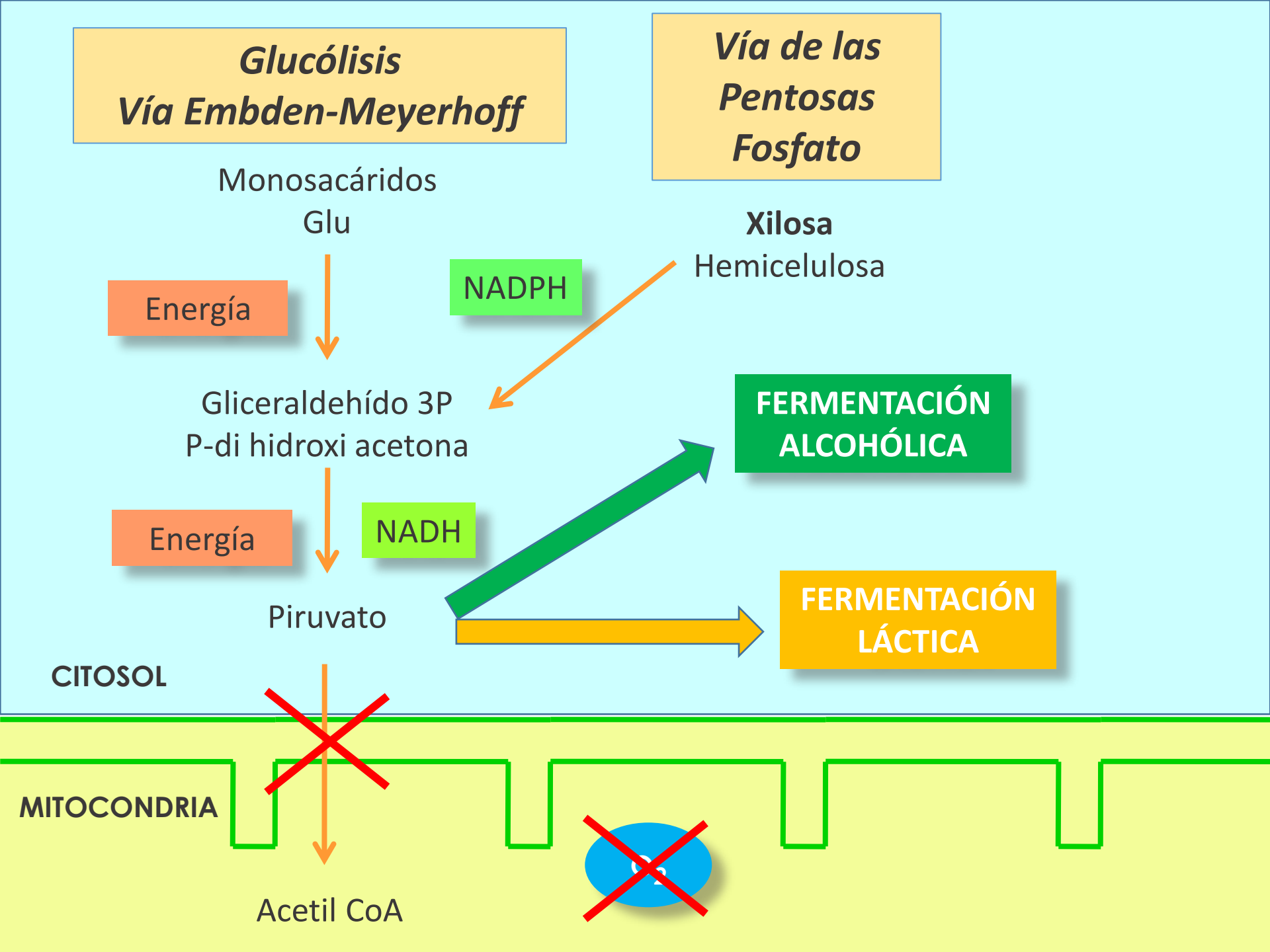
FERMENTACIÓN
ALCOHÓLICA

FERMENTACIÓN
LÁCTICA

CITOSOL

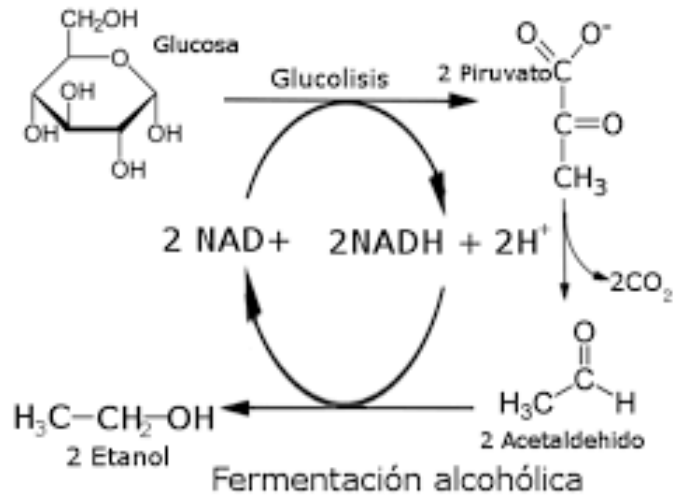
MITOCONDRIA

Acetil CoA

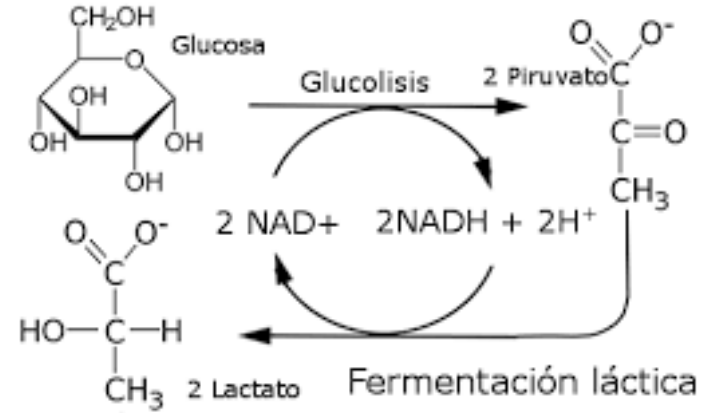


Fermentación

alcohólica

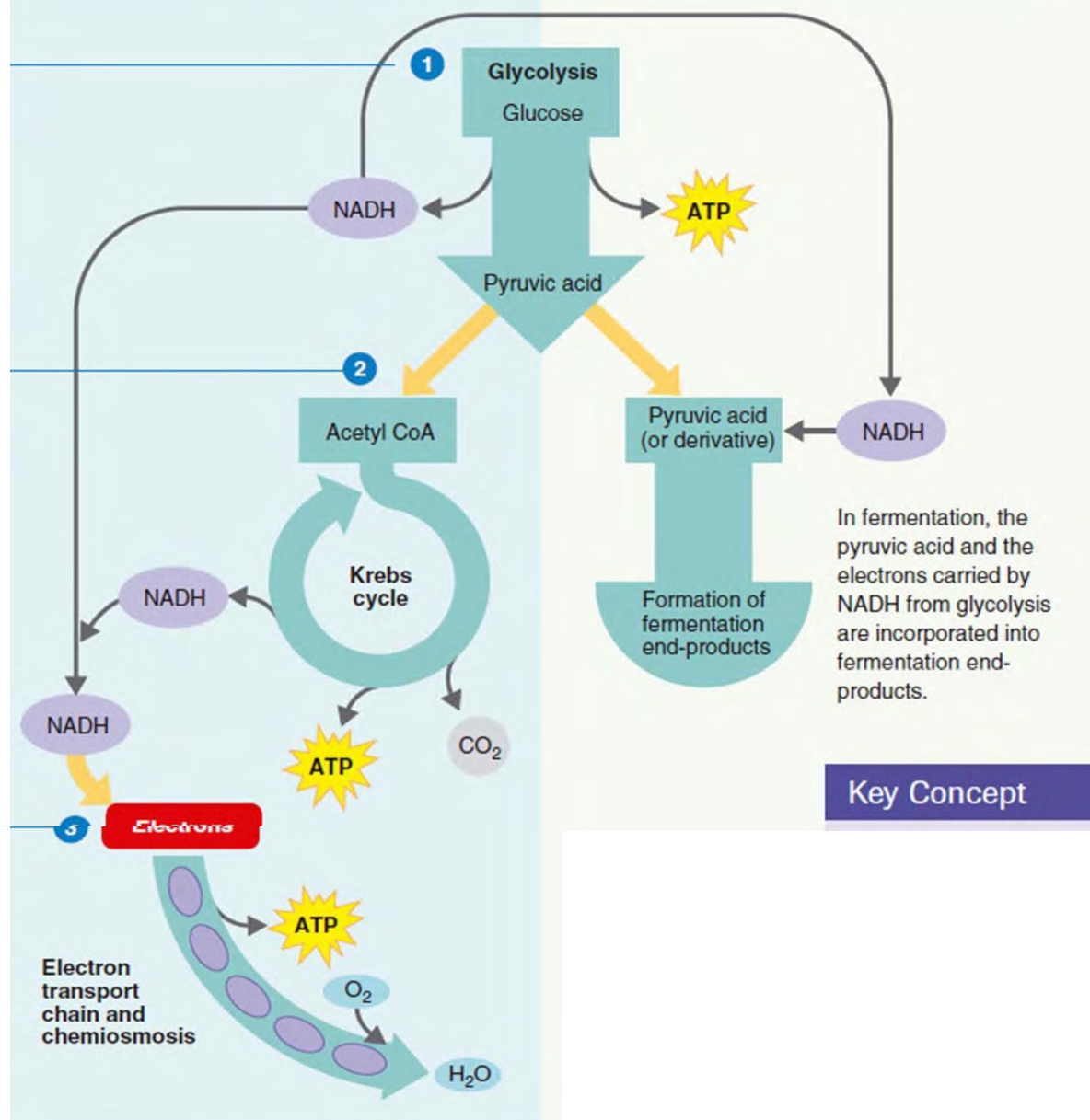


láctica



RESPIRATION

FERMENTATION



Condiciones ambientales para el crecimiento

Macro y micronutrientes

Temperatura

pH

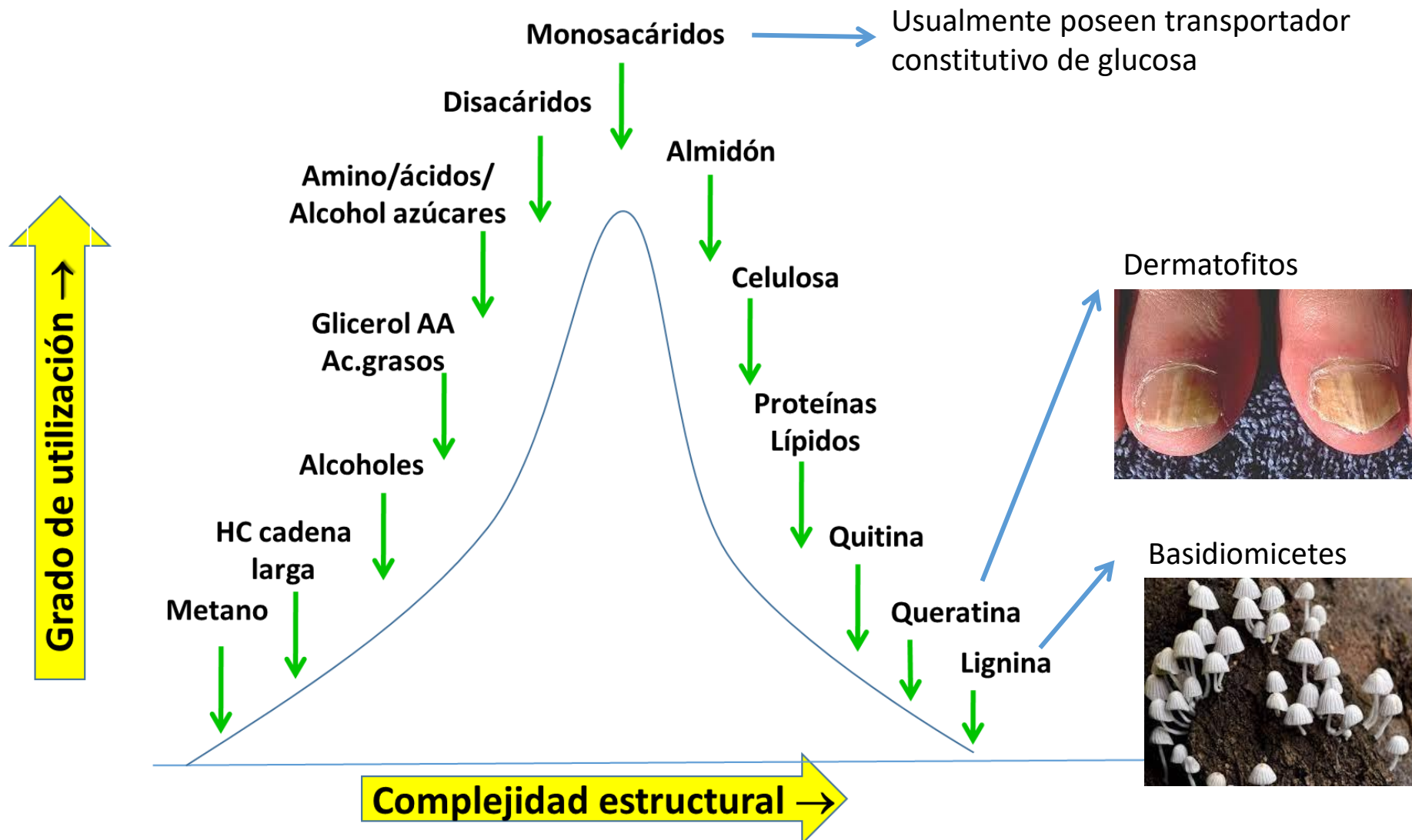
Oxígeno

Disponibilidad de agua

Luz

Condiciones ambientales para el crecimiento:

macronutrientes - CARBONO



Condiciones ambientales para el crecimiento:

Macronutrientes

Nitrógeno

- Las fuentes de N pueden ser: Aminoácidos > Amonio > Nitrato

Fósforo, Magnesio, Potasio, Azufre

Micronutrientes

Hierro, Zinc, Manganeso, Cobre, Calcio

Vitaminas (la mayoría son capaces de sintetizarlas)

Tiamina, biotina, piridoxina

REQUERIMIENTOS NUTRICIONALES *in vitro*



MEDIO AMBIENTE

Interacciones competitivas →
reduce el crecimiento *in vivo*



LABORATORIO MICROBIOLOGÍA

No hay interacciones competitivas

Mayoría hongos crecen en medios...

- con **compuestos naturales**

Agar Papa Dextrosa

Agar Extracto Malta

Agar Harina Maíz

- con **↑ carbohidratos** (≠ fuentes)
- con alguna fuente **nitrogenada** NH_4^+ , NO_3^- , AA
- ligeramente ácidos (**pH 5 – 6**)

Clasificación de medios de cultivo

Generales

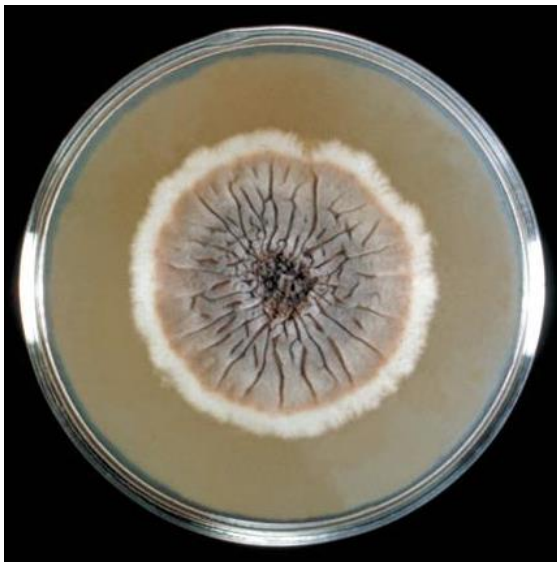
Selectivos

Diferenciales

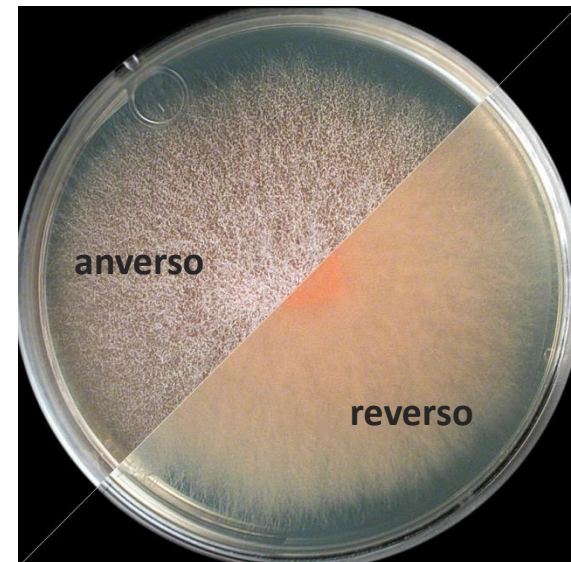
Mejorados

MEDIOS DE CULTIVO GENERALES

- Sabouraud (Sb) : glucosa + peptona de carne
- Agar Papa Dextrosa (APD): glucosa + extracto de papa



Medio Sb glucosa



Medio APD

Clasificación de medios de cultivo

Generales

Selectivos

Diferenciales

Mejorados

MEDIOS DE CULTIVO SELECTIVOS

- Sabouraud + cloranfenicol (SbCl)
- DRBC: Glucosa + peptona + Diclorán + Rosa de Bengala + cloranfenicol



Medio Sb-glu- Cloranfenicol



Medio DRBC

Clasificación de medios de cultivo

Generales

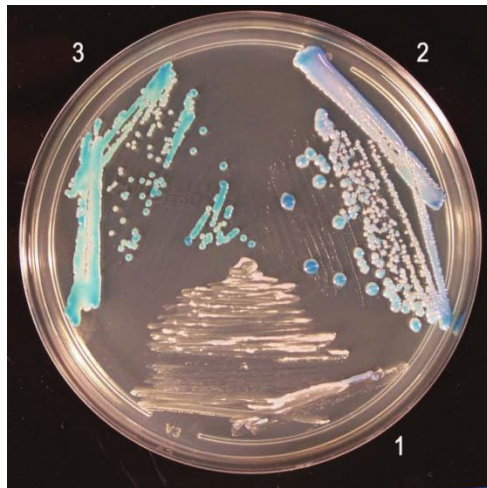
Selectivos

Diferenciales

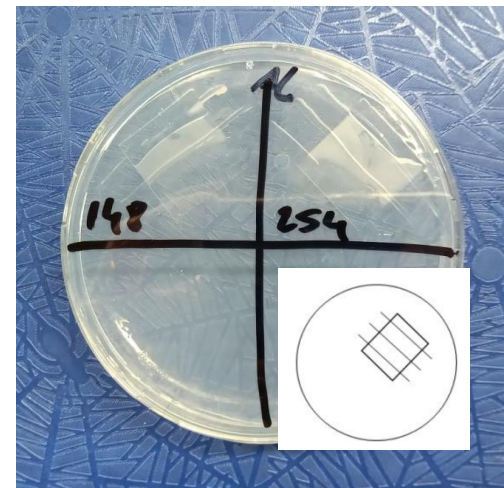
Mejorados

MEDIOS DE CULTIVO DIFERENCIALES

- Chromagar *Candida*: glucosa + reactivo cromogénico + cloranfenicol
- Agar Harina de Maíz: filtrado de harina de maíz amarillo (AHM)
- Agar Semillas de Girasol: glucosa + extracto de semillas de girasol (ASG)



Medio Chromagar *Candida*



Medio AHM

Clasificación de medios de cultivo

Generales

Selectivos

Diferenciales

Mejorados

MEDIOS DE CULTIVO MEJORADOS

- Agar Sangre
- Agar Cerebro - Corazón
-



Medio agar sangre



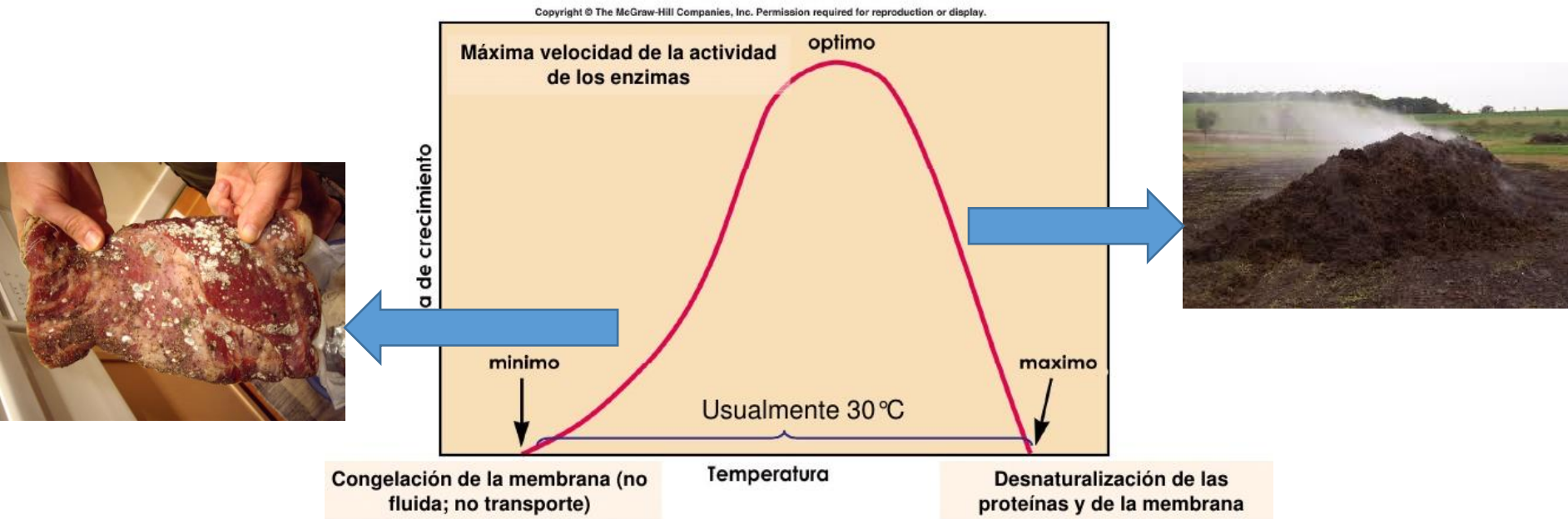
Medio agar cerebro corazón

Condiciones ambientales para el crecimiento: temperatura

MESÓFILOS (10-35°C)

(T° óptima 20-30°C)

Condiciones industria y laboratorio



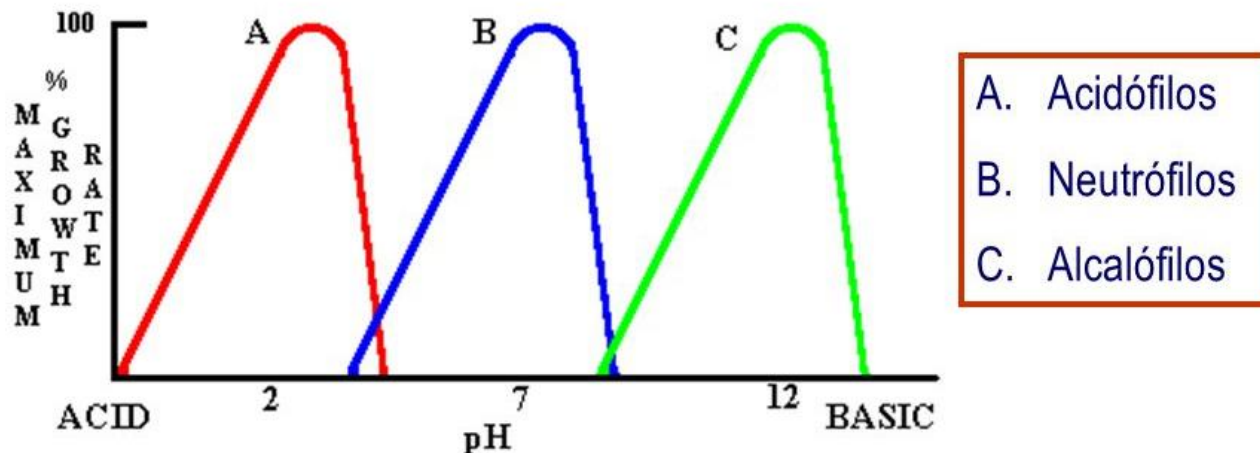
↓ T° Propiedades Macromoléculas
y propiedades Físicas sist. Acuosos

Complejidad celular eucariotas
limita T° hasta 60-65°C

Condiciones ambientales para el crecimiento:

pH

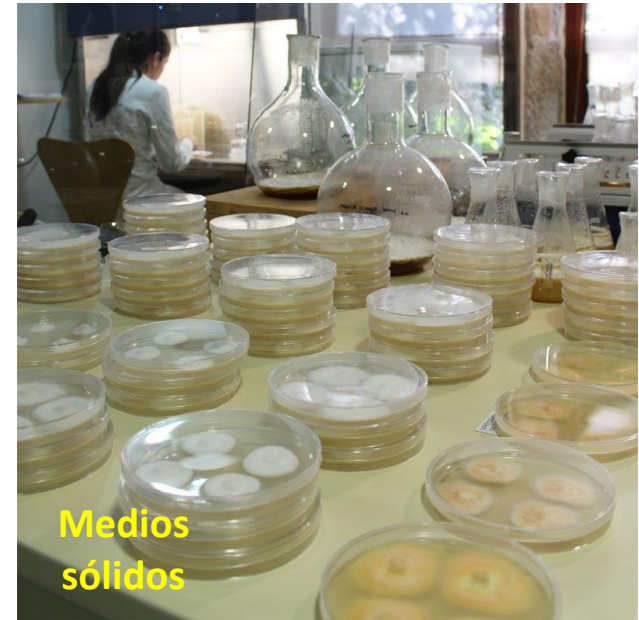
- **pH óptimo:** levemente ácido (5 – 6)
- La mayoría pueden crecer a **pH 4 – 8,5**
- Las bacterias crecen a pH neutro a levemente alcalino **(7-8)**
- Pueden Δ pH x intercambio iones $\rightarrow$ necesitan buffers (KH_2PO_4 - K_2HPO_4)
- Pueden Δ pH de su microambiente (raíces, estomas)



Condiciones ambientales para el crecimiento: oxígeno

- La mayoría son **Aerobios** (necesitan oxígeno en alguna etapa de su ciclo de vida)
- **Anaerobios facultativos** (principalmente levaduras): crecen con o sin oxígeno. Fermentación de azúcares y respiración anareobia

Fermentación en
medio líquido



Medios
sólidos



Medio líquido en
agitación



Medios líquidos en
reposo

Condiciones ambientales para el crecimiento:

disponibilidad de agua

- **Todos** necesitan agua
- **Necesario para:** -
 - ingreso de nutrientes,
 - actividad de enzimas extracelulares,
 - medio de reacciones en el citosol,
 - crecimiento de las hifas,
 - turgencia para penetrar sustratos sólidos
- Algunos hongos tienen tolerancia al stress hídrico: producen daños en alimentos almacenados



Sustratos sólidos



Hongos en silos

Condiciones ambientales para el crecimiento: luz

- La mayoría pueden crecer **sin o con poca luz** (naturaleza, laboratorio)
- Aumenta la pigmentación (carotenoides y melaninas) protección contra especies reactivas de oxígeno y UV
- Tiene efecto sobre la diferenciación fúngica: disparador estructuras sexuales y asexuales



Metabolitos primarios y secundarios

METABOLITOS PRIMARIOS

- Son productos del metabolismo general
- Se producen en reacciones anabólicas o catabólicas
- Durante la fase de crecimiento exponencial
- Contribuyen a la producción de biomasas o energía
- Son indispensables para la vida
- Ejemplos: aminoácidos, monosacáridos, lípidos, etc.

METABOLITOS SECUNDARIOS

- Son productos del metabolismo especial
- Son producidos a partir del metabolismo primario
- Se forman al final de la fase de crecimiento exponencial
- Depende de las condiciones de crecimiento
- Distribución taxonómica restringida
- No son indispensables para la vida
- Ejemplos: antibióticos, hormonas, toxinas

Metabolitos secundarios fúngicos de importancia ecológica y comercial



- **Antibióticos:** penicilinas, cefalosporinas
- **Antifúngicos:** griseofulvina
- **Pigmentos:** melaninas y carotenos (protección contra luz UV y especies reactivas de oxígeno)
- **Hormonas vegetales:** giberelinas (horticultura)
- Hormonas sexuales fúngicas
- Productos farmacéuticos: ciclosporina
- **Micotoxinas:** aflatoxinas, fumonisinas



Pruebas metabólicas para identificación

AUXONOGRAMA → asimilación.

Capacidad de crecer en
aerobiosis utilizando:



■ ≠ hidratos de carbono como
única fuente de energía

YNB (medio base con Nitrógeno)
+ discos con ≠ azúcares

■ ≠ compuestos nitrogenados

YCB (medio base con Carbono)
+ discos con ≠ compuestos nitrogenados

Pruebas metabólicas para identificación

ZIMOGRAMA → fermentación.

Capacidad de crecer en anaerobiosis utilizando **≠ hidratos de carbono**

- Medio básico con Nitrógeno
- ≠ azúcares
- indicador pH
- tapón parafina / vaselina



- FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA → Producción de CO_2
- FERMENTACIÓN LÁCTICA → Cambio de pH

Especies		C. albicans	C. dubliniensis	C. tropicalis	C. parapsilosis	C. lusitanae	C. guilliermondii	C. kefyr	C. zeylanoides	C. famata	C. glabrata	C. krusei	C. lipolytica
Asimilación de:	Glucosa	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Maltosa	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	0	
	Sacarosa	v	v	+v	+	+	+	+	0	+	0	0	0
	Lactosa	0	0	0	0	0	0	+	0	+v	0	0	0
	Galactosa	+	+	+	+	+	+	+	0v	+	0	0	v
	Melibiosas	0	0	0	0	0	+	0	0	+	0	0	0
	Cellobiosas	0	0	+v	0	+	+	+	0v	+	0	0	0
	Inositol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Xilosa	+	0	+	+	+	+	+v	0	+	0	0	0
	Rafinosa	0	0	0	0	0	+	+	0	+	0	0	0
	Trealosa	+	0v	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0
	Dulcitol	0	0	0	0	0	+	0	0	+v	0	0	0
Fermentación de:	Glucosa	+	+	+	+	+	+	+	0 ^d	v	+	+	0
	Maltosa	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	
	Sacarosa	0	0	+v	0	v	+ ^d	+	0	d	0	0	0
	Lactosa	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
	Galactosa	v	v	+v	v	+	+ ^d	+	0	0	0	0	0
	Trealosa	v	v	+v	0	v	+ ^d	0	0v	d	+v	0	0

+, positivo; 0, negativo; v, variable; d, débil.

Pruebas metabólicas para identificación

AUXONOGRAMA → asimilación.

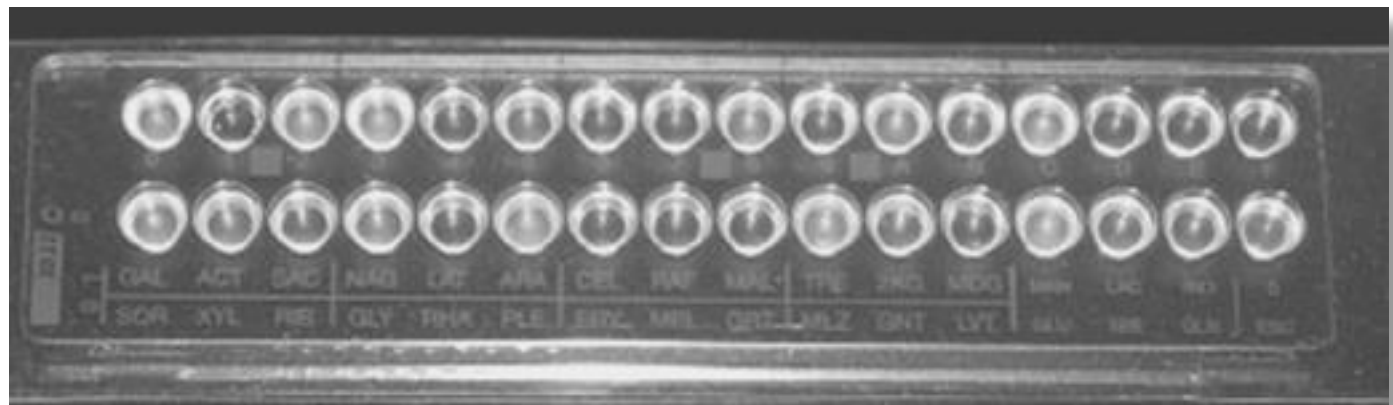
Capacidad de crecer en aerobiosis utilizando **≠ hidratos de carbono**

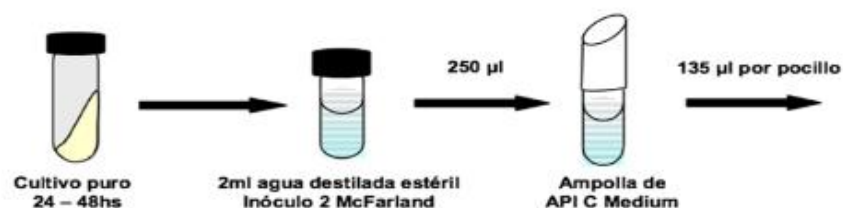
API 20C

API 32C

Galerías con 32
cúpulas

- 29 sustratos carbonados deshidratados
- control negativo
- sensibilidad a la cicloheximida
- prueba colorimétrica para la esculina





Incubación 24-48 hs



+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	A	B
GAL	ACT	SAC	NAG	LAT	ARA	CEL	RAF	MAL	TRE	2KG	MDG
SOR	XYL	RIB	GLY	RHA	PLE	ERY	MEL	GRT	MUZ	GNT	LVT
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
7	1	4	3								

+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-
0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	A	B
GAL	ACT	SAC	NAG	LAT	ARA	CEL	RAF	MAL	TRE	2KG	MDG
SOR	XYL	RIB	GLY	RHA	PLE	ERY	MEL	GRT	MUZ	GNT	LVT
1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
1	0	0	0								

+	-	-	
C	D	E	F
MAN	LAC	INO	
1	2	4	
1			

PERFIL DUDOSO

Galería	ID 32 C V4.0
Perfil	7142100017
Nota	

Taxón significativo	% ID	T	Pruebas en contra			
Candida dubliniensis	99.4	0.5	SBE	0%		

Taxón siguiente	% ID	T	Pruebas en contra			
Candida sake	0.5	0.43	TRE	85%	GLY	83%

Sistemas automatizados



Bibliografía

- Nutrición y Metabolismo. Temas de micología básica- Aída Amelia Van Gelderen; ISBN 13 978-950-554-424-0 ISBN 10 950-554-424-3- Editorial Universidad Nacional de Tucumán
- Fungal Nutrition. Fungal Biology. J. W. Deacon. Blackwell publishing. USA
- Fungal Metabolism and Fungal Products. Fungal Biology. J. W. Deacon. Blackwell publishing. USA