
**CARACTERIZACIÓN DE HONGOS ANTAGÓNICOS DE TRES HUMEDALES
SUBSUPERFICIALES UTILIZADOS PARA EL TRATAMIENTO DE AGUAS
RESIDUALES DOMESTICAS**

**CHARACTERIZATION ANTAGONISTIC FUNGI USED IN SUBSURFACE WETLANDS
FOR TREATING DOMESTIC WASTEWATER**



David Ernesto Reyes Ibarguen, Biologo, B.S.c.

Facultad de Ciencias Naturales
Universidad del Valle
Cali - Colombia
reyes8483@gamil.com

Cecina Torres González, M.Sc.

Profesor Titular
Departamento de Biología
Universidad del Valle
Cali - Colombia
celina.torres@correounivalle.edu.co

RESUMEN

A fin de conocer el antagonismo que se produce entre las bacterias patógenas humanas y los hongos, se recogieron muestras de la rizósfera de tres humedales ubicados en la empresa Acuavalle (Ginebra), así como de las aguas residuales que los alimentan. Se identificaron los hongos y las bacterias presentes en las muestras potencialmente patógenas y luego se puso a prueba para identificar el antagonismo entre los microorganismos, utilizando diferentes sustratos para el crecimiento. Se encontró que los hongos aislados, producen metabolitos secundarios para inhibir el crecimiento de las bacterias cuando se utiliza el extracto de malta. También que mediante el uso de agar nutritivo, morfoespecies de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* son capaces de inhibir el crecimiento de bacterias. Al comparar los diferentes

**Recibido: 26 Abril 2011 *Aceptado 3 Mayo 2011*

índices de diversidad de hongos, el humedal heliconia mostró mayor riqueza de morfoespecies. El humedal Phragmites tuvo la menor diversidad de los humedales y el control de la riqueza de especies menores.

PALABRAS CLAVE

Hongos antagonistas, bacterias patógenas, rizósfera, humedales.

ABSTRACT

In order to know the antagonism that occurs between bacteria pathogenic human and fungi, were collected rhizosphere samples from three wetlands located in the company Acuavalle (Geneva), as well as wastewater that feed them. We identified fungi and bacteria present in potentially pathogenic samples collected and then was tested to identify antagonism between microorganisms, using different substrates for growth. It was found that fungi isolated, produce secondary metabolites to inhibit the growth of bacteria when using malt extract. Also that by using nutrient agar, morphospecies of the genera Aspergillus and Penicillium are able to inhibit the growth of bacteria. When comparing the different rates of fungal diversity, the heliconia wetland showed higher morphospecies. The Phragmites wetland had the lowest diversity and control wetland the lower species richness

KEYWORDS

Antagonistic fungi, pathogenic bacteria, rhizosphere, wetlands

1. INTRODUCCIÓN

Los cuerpos de agua, son afectados permanentemente por factores antrópicos y naturales. Dentro de los factores generados en la naturaleza, se destacan el clima, la geología, la geomorfología, la escorrentía, los suelos y las características de la cuenca que definen la hidrodinámica de las corrientes. Entre los factores antrópicos los

más destacados son los incendios forestales; las descargas de aguas residuales, los vertimientos de residuos peligrosos, los drenajes mineros, los derrames de petróleo, las escorrentías agrícola, pecuaria y urbana; la erosión, los lixiviados de rellenos sanitarios y los resultantes de las actividades recreativas (AWWA, 1990) (citado por Castro, 2003). Todos los aspectos anteriores afectan la calidad y cantidad de un recurso hídrico cada vez más escaso y contaminado, indispensable para el sostenimiento de la vida en el planeta, haciendo inaplazable el planteamiento de acciones para controlarlos. Las descargas de aguas residuales de los asentamientos humanos, se destacan de manera especial dentro de ese conjunto de factores, por incrementar la contaminación de los cuerpos de agua, afectar las diferentes formas de vida, intensificar los riesgos de transmisión de enfermedades por la presencia de patógenos y limitar los usos del recurso hídrico (Castro, 2003).

Actualmente existe una amplia variedad de sistemas tecnológicos para la depuración de las aguas residuales municipales dentro de los cuales se encuentran los humedales artificiales. Estos son sistemas de tratamiento acuático, en los cuales el flujo de agua se realiza en superficie libre o a través del suelo y se usan plantas o animales para el tratamiento de dichas aguas (Gonzalez y Vélez, 2005). La vegetación emergente más utilizada comúnmente en los humedales incluye cattails (*Typha* sp.), carrizos (*Phragmites communis*) de uso común en los sistemas europeos, rushes (*Juncos* sp.), bulrush (*Scirpus* sp.) y sedges (*Carex* sp.) (Crites y Tchobanoglous, 2001). Es importante mencionar que las raíces de las plantas sumergidas proporcionan sustrato para los procesos microbiológicos y dado que la mayoría de las macrofitas emergentes pueden translocar oxígeno de las hojas a las raíces, se presentan micorrizas aerobias en la superficie de las raíces y los rizomas. El resto del medio sumergido tiende a carecer de oxígeno, lo cual limita la remoción biológica del amoníaco por nitrificación, pero aún así, el sistema es efectivo en la remoción de DBO, SST, metales y algunos contaminantes orgánicos prioritarios, dado que su tratamiento puede ocurrir bajo condiciones aerobias y anóxicas (US EPA a, b, 2000) (citado por González y Vélez, 2005).

Los humedales tienen 3 funciones básicas que los hacen atractivos para el tratamiento de aguas residuales: la primera consiste en fijar físicamente los contaminantes en la superficie del suelo, la segunda, en emplear, utilizar y transformar elementos por intermedio de los microorganismos; y la tercera alcanzar niveles de trata-

miento que tengan bajos consumos de mantenimiento y energía. Además, este tipo de tecnología permite remociones importantes de materia orgánica, nutrientes y microorganismos patógenos mediante procesos bioquímicos que se organizan en la rizósfera, debido a la relación simbiótica existente entre las plantas acuáticas y los microorganismos que colonizan las raíces de las plantas y el medio de soporte (Lara, 1999). Los microorganismos involucrados en la remoción de patógenos en los humedales artificiales, corresponden a protozoarios y bacterias (Orozco, 1996); en este trabajo se identificaron y evaluaron la acción antagonista (por metabolitos secundarios) de hongos presentes en la rizósfera de los humedales ubicados en Ginebra Valle sobre bacterias patógenas presentes en las aguas residuales que llegan a dichos humedales, debido a que estos microorganismos tienen la capacidad de producir metabolitos secundarios y comportarse como antagonistas de diferentes especies de bacterias, deteniendo el crecimiento de estas (Gerardi y Zimmerman, 2005). Para evaluar la capacidad antagonista se tomaron muestras de rizósfera de los tres humedales y del agua residual que entra a estos para aislar los hongos y las bacterias, para poder observar *In Vitro* si efectivamente los hongos producen metabolitos secundarios que inhiban el crecimiento de las bacterias patógenas presentes en el agua residual.

2. METODOLOGÍA

Se estudió la presencia de hongos antagonistas en la segunda carga de tres humedales artificiales, llamados Heliconia, Phragmites y Control debido a la vegetación presente (el humedal Control no posee vegetación). Los humedales están ubicados en el municipio de Ginebra que se encuentra a 60 Km de la Ciudad de Santiago de Cali, sus coordenadas son 30° 43' 50" de latitud norte y 76° 16' 20" de longitud oeste, presentan una altitud de 1040 msnm y su temperatura promedio es de 23°C.

2.1 Toma de muestra

Se tomaron tres muestras al azar de rizósfera, en tres sitios diferentes de cada humedal. Las muestras recolectadas, se guardaron en bolsas plásticas selladas y se introdujeron en neveras con hielo seco. Este protocolo se realizó al inicio y al final de la segunda carga. También se tomó una muestra de agua residual que entra a los humedales, la cual se depositó en un material de vidrio

estéril y se refrigeró inmediatamente en una nevera.

Obtención de cultivos puros

Para poder realizar las pruebas de antagonismo, se emplearon técnicas microbiológicas para el aislamiento e identificación de los hongos y bacterias aeróbicas indicadoras. Las muestras de rizósfera colectadas, fueron llevadas al laboratorio y filtradas con un tamiz de 60 μ m para lograr mayor uniformidad. Cada muestra fue diluida en 90 ml de agua destilada estéril (ADE), y de manera progresiva se realizaron siete diluciones, transfiriendo 10 g de la muestra de rizósfera de una disolución más concentrada a una menor (disolución de 10^{-1} a 10^{-7}) y así sucesivamente hasta llegar a la dilución de 10^{-7} . Para homogenizar cada solución se usó un agitador.

Una vez obtenidas las diluciones, se tomó 1 ml de cada dilución (solo para las diluciones de 10^{-4} en adelante) y se sembraron en cajas petri estéril agregando 20 ml de PDA. Los cultivos se incubaron durante siete días, manteniendo una temperatura constante de 27°C.

Al crecer los hongos, las características macroscópicas definieron las colonias seleccionadas para realizar el proceso de purificación, por lo cual se volvieron a sembrar colonias en nuevas cajas petri con PDA, obteniendo así cultivos puros de hongos que se identificaron y describieron sus estructuras reproductivas (esporas y conidios), como también la forma de las hifas, del micelio y las características de la colonia (color, textura).

De las muestras de agua recolectadas, se separó 1ml de cada una y se diluyó en 99 ml de caldo lactosado estéril, incubándolo durante 24 horas a 37°C. Posteriormente 1ml del cultivo, se sembró por estrías en agar MacConkey incubándolo durante 24 horas a 37°C. A continuación, se hicieron aislamientos de las diferentes colonias, basándose en la morfología microscópica de estas sobre el medio de cultivo. Dichos aislamientos se realizaron en agar nutritivo, se sembraron por estría y se incubaron a 37°C, durante 24 horas. Una vez las bacterias crecieron, se procedió a realizar las pruebas bioquímicas para poder identificar las enterobacterias.

Para aislar e identificar *Pseudomonas aeruginosa*, se tomó una muestra del caldo lactosado empleando un asa de argolla y se sembró por estrías en una caja petri que contenía 20 ml de agar cetrimide, que se incubó durante 24 horas a 37°C. Una vez se observó el crecimiento de bacterias se verificó si presentaba crecimiento microbiano de color verde fosforescente, el cual fue

aislado en agar nutritivo.

Bioensayos

Se tomaron cinco muestras por cada morfoespecie de hongos identificados para realizar los bioensayos y se colocaron en 50 ml de extracto de malta, dejándolos incubados durante 15 días a temperatura ambiente, posteriormente, se introdujeron 4 aros de papel absorbente estéril.

Por otra parte, se tomaron con un asa de argolla cinco colonias de cada uno de los cultivos puros de las bacterias identificadas. Una muestra de cada colonia se transfirió a un tubo que contenía 5 ml de caldo nutritivo y se incubó a 35°C hasta que la turbidez coincidió con la turbidez estándar (0.5 MacFarland). Al alcanzar la turbidez estándar las muestras se dejaron reposar durante 15 minutos y posteriormente se sumergieron en un isótopo de algodón, no tóxico, estéril.

Cada suspensión de inóculos fue agitada varias veces, antes de humedecer la superficie seca de una placa de Muller-Hinton, que se pasó tres veces por una superficie de Agar.

Las placas se colocaron en una cámara de flujo laminar durante un periodo de 3 a 5 minutos para que la superficie del agar se seque. A continuación los cuatro aros de papel absorbente estéril, incubados en el caldo de malta se colocaron en cada placa de bacteria patógena

identificada. Se realizaron tres repeticiones por cada hongo y por bacteria. Durante una semana se midió la capacidad de inhibición producida por los hongos en cada placa y se estimó el promedio de la misma.

Análisis de datos

Las observaciones obtenidas fueron sometidas a una prueba de Kolmogorov Smirnov, para verificar si tenían una distribución normal. Como esta no se presentó se procedió a realizar estadística descriptiva.

Se calculó la diversidad de los humedales, determinando los índices de diversidad de Simpson (Ds), la varianza para cada índice, el primer y segundo número de Hill (N1 y N2). Se utilizó el estadístico t-student para identificar diferencias significativas entre los Ds de los humedales.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El muestreo de los diferentes humedales y el análisis microbiológico de suelo a cada una de las muestras, determinó que en humedal Heliconia hay 19

Tabla 1. Morfoespecies fúngicas encontradas en los tres humedales.

Humedal Heliconia		Humedal Phragmites		Humedal control	
Especie	UFC	Especie	UFC	especie	UFC
<i>Aspergillus sp1</i>	5 * 10 ⁴	<i>Chaetomium sp1</i>	1 * 10 ⁴	<i>Aspergillus sp3</i>	1 * 10 ⁴
<i>Aspergillus sp2</i>	1 * 10 ⁷	<i>Cladosporium sp4</i>	1 * 10 ⁷	<i>Cladosporium sp7</i>	1 * 10 ⁶
<i>Cladosporium sp1</i>	1 * 10 ⁵	<i>Cladosporium sp5</i>	1 * 10 ⁴	<i>Cladosporium sp8</i>	1 * 10 ⁴
<i>Cladosporium sp2</i>	2 * 10 ⁵	<i>Cladosporium sp6</i>	1 * 10 ⁴	<i>Epicocum sp1</i>	1 * 10 ⁴
<i>Cladosporium sp3</i>	1 * 10 ⁶	<i>Mucor sp2</i>	1 * 10 ⁴	<i>Penicillium sp8</i>	1 * 10 ⁶
<i>Fusarium sp1</i>	1 * 10 ⁵	<i>Nigrospora sp1</i>	1 * 10 ⁴	<i>Penicillium sp9</i>	1 * 10 ⁴
<i>Helminthosporium sp1</i>	1 * 10 ⁴	<i>Paecilomyces sp1</i>	1 * 10 ⁵		
<i>Monilia sp1</i>	1 * 10 ⁷	<i>Penicillium sp5</i>	1 * 10 ⁴		
<i>Mucor sp1</i>	1 * 10 ⁴	<i>Penicillium sp6</i>	1 * 10 ⁵		
<i>Nodulisporium sp1</i>	1 * 10 ⁷	<i>Penicillium sp7</i>	1 * 10 ⁴		
<i>Nodulisporium sp2</i>	1 * 10 ⁷	<i>Ramichloridium sp1</i>	1 * 10 ⁴		
<i>Papulaspora sp1</i>	1 * 10 ⁷	<i>Torula sp2</i>	1 * 10 ⁴		
<i>Penicillium sp1</i>	1 * 10 ⁶	<i>Trichoderma sp1</i>	1 * 10 ⁴		
<i>Penicillium sp2</i>	1 * 10 ⁵	<i>Morfoespecie 1</i>	1 * 10 ⁷		
<i>Penicillium sp3</i>	1 * 10 ⁴				
<i>Penicillium sp4</i>	1 * 10 ⁵				
<i>Rhizopus sp1</i>	1 * 10 ⁷				
<i>Torula sp1</i>	1 * 10 ⁷				
<i>Trichoderma sp1</i>	1 * 10 ⁴				

morfoespecies, distribuidas en 12 géneros, donde *Nodulisporium* es el género que presentó una mayor cantidad de unidades formadoras de colonias por gramo de suelo (Tabla 1).

Los índices de biodiversidad, indican que este humedal presenta un índice de diversidad de Simpson (Ds) de 0.867, ocho morfoespecies comunes y siete especies son muy abundantes (Tabla 2).

En el humedal Phragmites se encontraron 14 morfoespecies, distribuidas en 9 géneros y una morfoespecie no identificada. *Cladosporium* y la morfoespecie 1 son los géneros que presentaron una mayor cantidad de unidades formadoras de colonias por gramo de suelo (Tabla 1). Para este humedal se obtuvo un Ds de 0.515, dos morfoespecies comunes y dos morfoespecies muy abundantes (Tabla 2).

En el humedal control se observaron 6 morfoespecies, representadas en 4 géneros, donde los géneros con mayor cantidad de especies corresponden a *Cladosporium* y *Penicillium* debido a que ambos (Tabla 1). Los índices de diversidad para este humedal, presentaron un Ds de 0.519, dos morfoespecies comunes y dos morfoespecies muy abundantes (Tabla 2).

Tabla 2. Índices de diversidad para los tres humedales

Índices de diversidad	Humedal Heliconia	Humedal Control	Humedal Phragmites
Ds	0.867	0.519	0.515
S ² D	3,16461E-11	8,87707E-09	6,86495E-10
H	3.016	1.159	1.136
N1	8.09	2.23	2.20
N2	7.526	2.080	2.060

La comparación de los Ds de cada humedal, mostró diferencias significativas entre ellos (Tabla 3).

En este sentido, el humedal Phragmites presentó una diversidad significativamente menor, debido a la dominancia de *Cladosporium* sp4 y la morfoespecie 1, las cuales representaron el 98.5% de las UFC del conteo total realizado para este humedal (2×10^7 UFC). Este valor de UFC es significativamente diferente con relación a las otras morfoespecies del humedal, ya que las otras 12

morfoespecies representan solamente el 1.5% del conteo total de UFC (2.9×10^5 UFC), lo que influye negativamente en la heterogeneidad del humedal.

Este resultado sugiere que en el humedal Phragmites existe una menor probabilidad de seleccionar aleatoriamente dos individuos de especies diferentes (Figura 1a), en comparación con los humedales Control y Heliconia (Tabla 2).

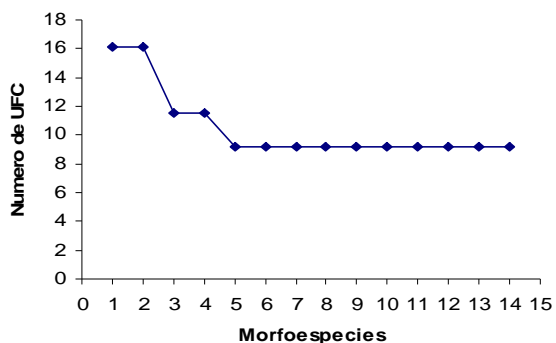
El humedal Heliconia presentó la mayor diversidad y riqueza de especies (19 morfoespecies), mayor número de individuos, de especies muy abundantes, de especies comunes y un mayor aporte proporcional de UFC de todas las morfoespecies con relación a la totalidad de UFC registradas en el humedal. (Figura 1b).

Para el humedal control se observó una diversidad intermedia en comparación con los otros humedales, con dos morfoespecies abundantes y una riqueza de seis morfoespecies (Tabla 2 y Figura 1), quizás debido a que presenta un aporte más uniforme de UFC por morfoespecies con respecto al total de UFC del humedal y en comparación con el humedal Phragmites. A su vez, este humedal al ser comparado con el humedal Heliconia, presenta un menor número de UFC y un menor número de morfoespecies, lo que hace que posea una menor riqueza (Figura 1c y Tabla 2).

Tabla 3. Estadístico de prueba (t de student) para realizar comparaciones entre los humedales.

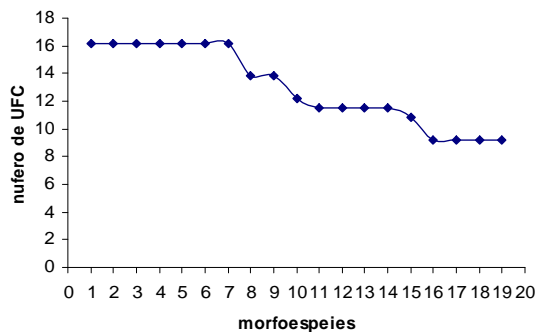
Comparación	t calculado	t (8)
Humedal Heliconia vs Humedal Control	519,144882	1.96
Humdal Heliconia vs humedal Humedal Pragmites	3088,90966	1.96
Humedal Control vs Humedal Pragmites	40,90252601	196

A



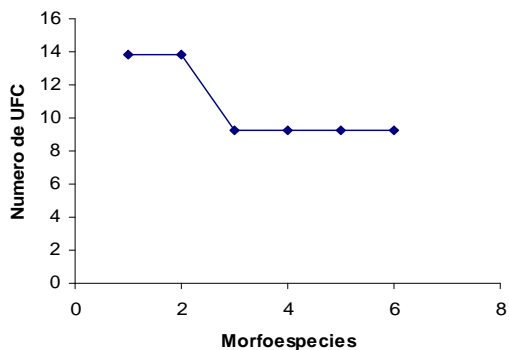
#	Morfoespecie	Ln de UFC	#	Morfoespecie	Ln de UFC
1	Morfoespecie 1	16.11	8	Mucor sp2	9.21
2	Cladosporium sp 4	16.11	9	Nigrospora sp1	9.21
3	Paecilomices sp1	11.51	10	Penicillium sp5	9.21
4	Penicillium 6	11.51	11	Penicillium sp7	9.21
5	Chaetomium sp1	9.21	12	Ramichloridium sp1	9.21
6	Cladosporium sp5	9.21	13	Torula sp2	9.21
7	Cladosporium sp6	9.21	14	Trichoderma sp1	9.21

B



#	Morfoespecies	Ln de UFC	#	Morfoespecies	Ln de UFC
1	Aspergillus sp2	16.11	11	Cladosporium sp1	11.51
2	Monilia sp1	16.11	12	Fusarium sp1	11.51
3	Nodulisporium sp1	16.11	13	Penicillium sp2	11.51
4	Nodulisporium sp2	16.11	14	Penicillium sp4	11.51
5	Papulaspora sp1	16.11	15	Aspergillus sp1	10.81
6	Rhizopus sp1	16.11	16	Helminthosporium sp1	9.21
7	Torula sp1	16.11	17	Mucor sp1	9.21
8	Cladosporium sp3	13.81	18	Penicillium sp3	9.21
9	Penicillium sp1	13.81	19	Trichoderma sp1	9.21
10	Cladosporium sp2	22.20			

C



#	M Orfoespecies	Ln de UFC
1	Cladosporium sp7	13.81
2	Penicillium sp8	13.81
3	Aspergillus sp3	9.21
4	Cladosporium sp8	9.21
5	Epicocum sp1	9.21
6	Penicillium sp9	9.21

Figura 1. Abundancia relativa de las morfoespecies de los humedales: A. Phragmites. B. Heliconia. C. Control.

El humedal control posee el menor número de morfoespecies y de unidades formadoras de colonias (Tabla 1), probablemente debido a la presencia de vegetación en los humedales Phragmites y Heliconia, la cual puede generar un ambiente propicio para el desarrollo de diferentes especies de hongos. El material vegetal en descomposición, es fuente de nutrientes, específicamente carbono, que facilita el desarrollo de hongos y otros microorganismos Sylvia et al., (2005). Además, las raíces de estas plantas proveen oxígeno, creando ambientes aerobios que favorecen el desarrollo de microorganismos (Rodríguez, 2002). Igualmente, las raíces pueden estar creando un filtro físico, reteniendo la materia suspendida donde se pueden encontrar los hongos (esporas, micelio o clamidosporas). Lo anterior permite que los hongos se diseminen fácilmente a través del agua residual, exponiéndolos más tiempo a condiciones propicias para que germinen las esporas y/o se desarrolle el micelio, imposibilitando que estos abandonen el humedal con el efluente. El humedal Control por carecer de vegetación, no tendría una fuente de nutrientes y de oxígeno diferente a la producida por el agua residual, lo que puede estar limitando e influyendo en la germinación de esporas de las diferentes morfoespecies de hongos que se encuentren en el humedal o en la longevidad de estos. Por esta causa, al no encontrarse las condiciones propicias como nutrientes adecuados, concentración de oxígeno, temperatura, y otros factores bióticos y abióticos, las esporas no germinan o el micelio simplemente no crece y los hongos mueren Sylvia et al. (2005); Herrera y Ulloa, (1998). Además, el sustrato al encontrarse libre de raíces, presenta movilidad y las esporas y el micelio que se encuentran en el agua, o en la rizósfera del humedal, se desplazan libremente, saliendo del humedal.

El humedal Control satisface las necesidades ecofisiológicas para el desarrollo de los hongos *Aspergillus*, *Cladosporium* y *Penicillium*, a pesar de que dichos

humedales se encuentran desprovistos de vegetación. Pero, aunque se identificaron morfoespecies fúngicas pertenecientes a diferentes géneros en los tres humedales, no se puede decir que estos son los únicos géneros que se encuentran en el humedal, debido a que hay especies de hongos que no son cultivables en medios artificiales debido a que son parásitos o simbioses obligados Herrera y Ulloa (1998); Sylvia et al. (2005).

Con respecto a la prueba de antagonismo, realizada entre los hongos y las bacterias (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Hafnia Alvei* y *Proteus penneri*), los resultados encontrados no mostraron evidencia de inhibición del crecimiento de las bacterias, es decir no se observaron halos de inhibición alrededor de los discos que tenían los metabolitos del hongo (Figura 2). Se puede atribuir a que las diferentes morfoespecies de hongos en caldo de malta, no producen metabolitos secundarios que inhiban el crecimiento de las bacterias utilizadas en esta prueba, o probablemente a que estos hongos, si producen metabolitos secundarios con poder antibiótico, pero las bacterias nativas del agua residual son resistentes a estos, la causa puede ser también a que la concentración de los metabolitos secundarios producidos por los hongos durante los 15 días, no es suficiente para generar inhibición del crecimiento.

Se observa la ausencia de inhibición en el crecimiento de las bacterias del agua residual por parte de los metabolitos secundarios de *Aspergillus sp1*:

- a) *Aspergillus sp1* vs *P aeruginosa*. b) *Aspergillus sp1* vs *H. alvei*. c). *Aspergillus sp1* vs *P. penneri*. d). *Aspergillus sp1* vs *E.coli*.

Con el fin de corroborar los resultados mostrados en la figura 2, se realizó una prueba adicional, utilizando como

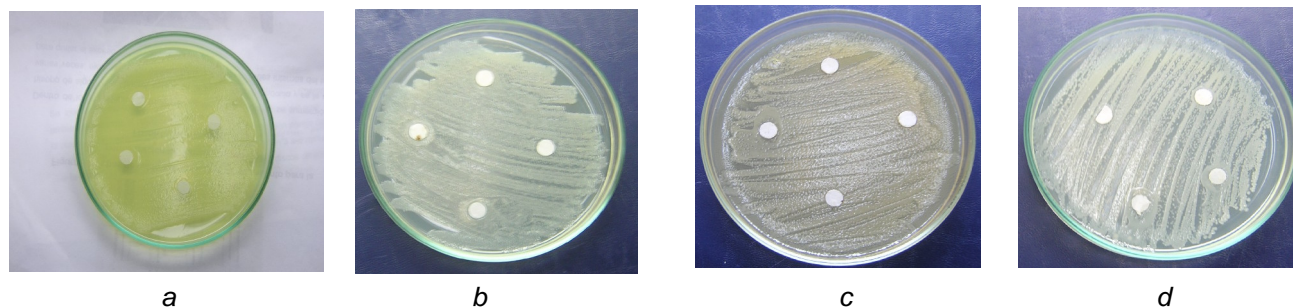


Figura 2. Resultados del bioensayo.

hongos antagonicos los géneros con mayor capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias.

Se empleó como sustrato agar nutritivo y se seleccionaron las morfoespecies pertenecientes a los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, que se sembraron en agar nutritivo en el extremo de una caja petri. Se incubaron durante siete días tres cajas petri por bacteria (Tabla 4), y posteriormente se inocularon las bacterias en el extremo opuesto a donde se sembró el hongo.

Este ensayo realizado con *Aspergillus* sp1 y *Penicillium* sp1 produjo inhibición sobre las bacterias *P. penneri*, *Hafnia alvei*. (Figura 3 y Tabla 4), lo que indica que el sustrato influye sobre la producción de los metabolitos secundarios producidos por los hongos, debido a que estas mismas morfoespecies fúngicas en el primer ensayo no produjeron inhibición. Es probable que la causa pueda atribuirse a que los medios de cultivos utilizados (agar nutritivo y malta) están compuestos por diferentes nutrientes, que actúan de manera diferente en las rutas metabólicas que utilizan los hongos, lo que implica variación en la producción de los metabolitos secundarios, ya que dependiendo del tipo de nutrientes

Tabla 4. Inhibición en agar nutritivo causada por los metabolitos secundarios de los hongos sobre las bacterias aisladas del agua residual que entra a los humedales.

Morfoespecies de hongo	Repetición	<i>Hafnia Alvei</i>	<i>Proteus penneri</i>	<i>E. coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Aspergillus</i> sp1	1	+	+	-	-
	2	+	+	-	-
	3	+	+	-	-
<i>Aspergillus</i> sp2	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
<i>Aspergillus</i> sp3	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp1	1	+	+	-	-
	2	+	+	-	-
	3	+	+	-	-
<i>Penicillium</i> sp2	1	-	+	-	-
	2	-	+	-	-
	3	-	+	-	-
<i>Penicillium</i> sp3	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	3	-	-	-	-
<i>Penicillium</i> sp4	1	-	-	-	-
	2	-	-	-	-

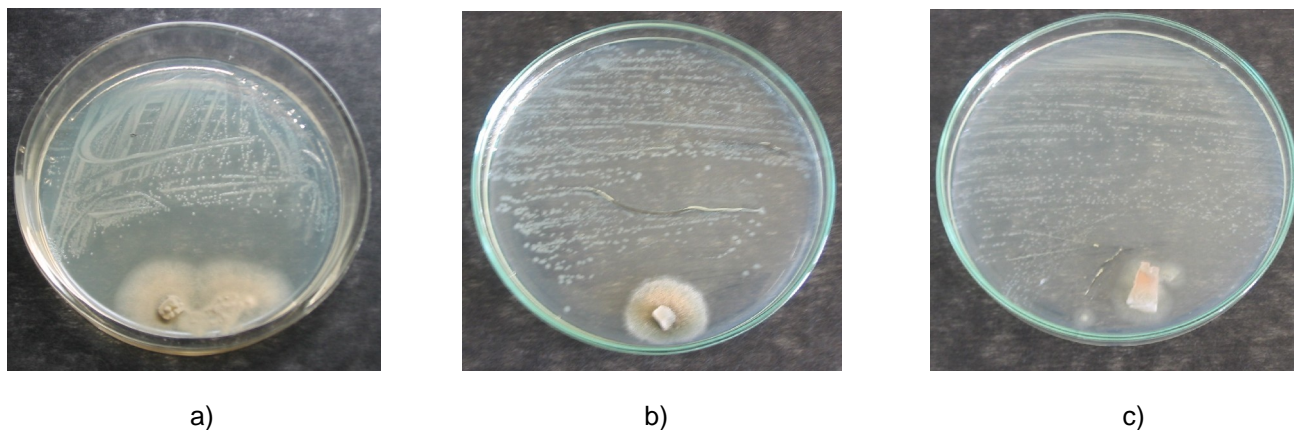


Figura 3. Antagonismo en agar nutritivo.

y el agotamiento de estos los hongos pueden generar diferentes metabolitos secundarios especificos (Moore, 1998), que en este caso serian metabolitos con capacidad antibiótica. Por ello los resultados obtenidos en los bioensayos realizados en esta investigación no representan lo que ocurre en la rizósfera de los humedales, debido a que las condiciones nutricionales y ecológicas de estos ecosistemas son diferentes a las condiciones ideales de los medios de cultivo.

En esta Figura 3 se observa la inhibición producida por los hongos sobre las bacterias. a. *Aspergillus* sp1 vs *P. penneri*. b *Penicillium* sp1 vs *P. penneri*. c *Penicillium* sp2 vs *P. penneri*.

4. CONCLUSIONES

Los humedales observados poseen un gran potencial biotecnológico; allí se encuentran géneros fúngicos de importancia económica, como son los géneros *Aspergillus* y *Penicillium* por su producción de antibióticos, el género *Trichoderma* y *Paecilomices* los cuales son usados en el control biológico de microorganismos e insectos.

Los humedales permiten realizar procesos de incremento de especies pertenecientes de los géneros *Trichoderma* y *Penicillium* para ser aplicarlos a otros humedales diferentes.

Se observó que la remoción biológica de los humedales

aumenta, debido a que las especies de estos géneros tienen la capacidad de producir metabolitos secundarios con propiedades antibióticas.

5. RECOMENDACIONES

Es conveniente realizar otros bioensayos utilizando medios de cultivo con extracto de suelo proveniente de los humedales, debido a que con este método se podría simular los nutrientes de la rizósfera de los humedales en una caja petri.

Pruebas de antagonismo realizadas a muestras de rizósfera directamente en los humedales empleando el respirómetro, permitirían observar si el crecimiento de los hongos produce metabolitos secundarios que inhiban el crecimiento de las bacterias aeróbicas y anaeróbicas.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- American Water Works Association.(1990). Water Quality and Treatment. United States, McGraw-Hill. 1194p.
- Castro, A. (2003). Selección de Alternativas Sostenibles para el Tratamiento de Aguas Residuales Municipales en Colombia: un Método

- con Énfasis en los Aspectos Tecnológicos. Tesis de maestría. Cali-Colombia. Universidad del Valle.
- Crites, R.; y Tchobanoglous, G. (2001). Sistema de Manejos de Aguas Residuales. Bogotá, Mc GrawHill. 1102p.
- Gerardi, M. H. y Zimmerman, M. C. (2005). Wastewater Pathogens. New Jersey, John Wiley & Sons, Inc. 179p.
- González, C. y Vélez, C. (2005). Evaluación del Funcionamiento de un Humedal Artificial de Flujo Sub-superficial Para el Tratamiento de los Lixiviados del Vertedero de Navarro de Santiago de Cali. Tesis de pregrado Universidad del Valle, Cali, Colombia.
- Herrera, T. y Ulloa, M. (1998). EL REINO DE LOS HONGOS. 2ª ed. México, Fondo de cultura económica, S.A. 550p.
- Lara, J. (1999). Depuración de Aguas Residuales Municipales con Humedales Artificiales. Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona, España.
- Moore, D. (1998). Fungal Morphogenesis. United States, Cambridge University Press. 463p
- Orozco, D. (1996). Fate of pathogens in Nakiwbo Swamp. Kampala-Uganda, IHE DECFT. 92p.
- Rodríguez, G. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli. Salud Pública de México. 44(5): 464-475
- Sylvia, D. Fuhrmann; J.J.; Hartel, P.G.; y Zuberer, D.A.; (2005). Principles and Applications of Soil Microbiology. 2ª ed. New Jersey, Pearson Prentice Hall. 640p.
- US EPA .(2000a). Humedales de flujo libre superficial. Washington DC, EPA. 10p
- US EPA . (2000b). Humedales de flujo subsuperficial. Washington DC. EPA. 13p.

This document was created with Win2PDF available at <http://www.win2pdf.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.
This page will not be added after purchasing Win2PDF.