

ESTUDIO DEL EFECTO DE ALGUNOS ANTIBIOTICOS SOBRE *NIGROSPORA ORYZAE* (B. Y BR.) PETCH Y NOTAS SOBRE SU MORFOLOGIA Y FISIOLOGIA

MARGARITA GUZMAN

Facultad de Ciencias
Universidad Nacional Autónoma de México

y

MARTHA ZENTENO Z.

Instituto de Biología
Universidad Nacional Autónoma de México

INTRODUCCION

Entre los hongos, existe uno muy interesante, rodeado de un cierto halo de misterio, pues no se le ha encontrado ningún carácter en qué basarse para clasificarlo en especies, pertenece al grupo de los Deuteromycetes y el cual ha sido escogido para desarrollar este trabajo, no obstante que se le ha estudiado ampliamente desde 1875 en que Berkeley y Broom lo clasificaron como *Monotospora oryzae*, Saccardo, en 1886, lo clasifica como *Trichosporium gallarum*.⁶ También, en 1912, en Bulgaria, Bubak y Kosaroff se interesaron por él y describieron una pudrición en las espigas de maíz, causada por *Conidiosporum gecevi*.⁷ Durell, en 1925, encontró que el hongo al que se referían Bubak y Kosaroff, él lo había determinado como *Basisporium gallarum* Moll., que invadía las mazorcas del maíz e infectaba al embrión.¹⁵ Un año antes, Petch encontró que el hongo estudiado por Berkeley y Broom correspondía al género *Nigrospora* y por prioridad a la especie *N. oryzae*.

El presente estudio, se ha realizado probando en el laboratorio diversos antibióticos, con distintas concentraciones, para observar los resultados que más adelante se exponen.

La parasitosis¹¹ producida por este hongo ocasiona daños de relativa importancia en los cultivos, causando pérdidas en el maíz, que alcanzan del 0.5% al 8.0%, proporciones

que varían de acuerdo con la estación en que se desarrolle el huésped.⁴³

Savulescu y Rayss^{63, 64} observaron que la enfermedad era más severa en las variedades tempranas de maíz que en las tardías, debido, tal vez, a que a la siembra de las primeras seguían las lluvias de agosto y septiembre. Dichos autores comprobaron también que, en el caso de Rumania, las variedades que poseían un alto valor en el contenido de agua en sus tejidos, eran más susceptibles al ataque de *N. oryzae*. Otro factor que influye en el ataque del hongo, es el tipo de suelo en que crece el huésped; si es pobre, el desarrollo es más enérgico que cuando el suelo es un medio rico en nutrientes.⁶⁸ La enfermedad se caracteriza por un desgarramiento de la mazorca que se inicia en la punta, observándose manchas negruzcas en este sitio, o en la yema terminal, siendo más común este lugar de infección; las espigas van tornándose fofas y blanquecinas, terminando por romperse.^{27, 28} El tejido interno¹⁷ adquiere una coloración gris debido a la invasión del micelio³³ que llega a ocasionar la desintegración total de dichos tejidos, quedando solamente los vasos conductores. Si la enfermedad se inicia en tejidos jóvenes, el resultado es un cese en el crecimiento.⁶¹

Durell,^{15, 64} como se dijo antes, encontró que el hongo lesionaba al embrión. Reedy⁴⁶ observó que después de un período de frío la infección de las semillas era mayor. La

putrición ocasionada en las mazorcas no es muy visible en las cosechas,^{2, 16, 60} por lo que *Nigrospora oryzae* no es considerado un patógeno agresivo.⁶⁸

Los huéspedes de este hongo son muy diversos y se les puede aislar de los siguientes: maíz,^{34, 43, 59, 61} caña de azúcar,^{16, 23} plátano^{4, 22, 33, 35, 55, 56, 57} sorgo,^{30, 51} arroz,^{12, 44} algodón,^{3, 20, 53} papa (patata),¹⁹ trigo,¹³ y otros muchos.

Su existencia en el mundo es muy amplia y casi no hay lugar en que no se le encuentre: Iowa,¹⁵ Virginia,⁴⁸ Illinois,¹⁰ Nuevo México,²⁹ Israel,²⁶ Rumania,^{63, 64} Java,²¹ Costa Rica,¹⁸ Nigeria,⁹ Australia,^{22, 45, 46, 58} muestras tomadas del aire sobre el Océano Atlántico,^{49, 41} Venezuela,⁶² Pakistán,³¹ Guatemala,³⁷ México,³⁸ y otros muchos lugares.^{14, 16, 25, 35}

El estado perfecto de *N. oryzae* ha sido descrito por Hudson en 1960,²⁴ clasificándolo en el género nuevo *Khusia*, y lo incluye en el orden Sphariales y la clase Ascomycetes.

El uso de antibióticos para el control en las enfermedades de las plantas, se inició en 1948 y existen actualmente varios de gran efectividad; en los vegetales actúan protegiéndolas externamente, o como fungicidas sistémicos.

La mayoría de los antibióticos se deriva de la flora del suelo; sin embargo, la investigación de organismos que produzcan dichas sustancias se ha extendido a todos los grupos biológicos, por ejemplo: el "Juglone", derivado del nogal.⁶⁸

Se ha tratado de establecer una unidad de actividad uniforme para todos los antibióticos, pero ello no es posible debido a la distinta sensibilidad o reacción que tienen los organismos a cada antibiótico.⁶⁷

De los ocho antibióticos usados en este trabajo, seis son derivados de las sustancias producidas por diversas especies del género *Streptomyces*; los otros dos son elaborados de sustancias extraídas de hongos del género *Penicillium*.

De los antibióticos conocidos, se ha observado que los más efectivos son los obtenidos de las diferentes especies del género *Streptomyces* y su acción es más positiva si se le agrega una pequeña cantidad de sulfato de cobre,⁶⁵ hecho que queda comprobado en el desarrollo de este trabajo.

MATERIAL Y METODOS

1. El hongo utilizado para el desarrollo de este trabajo fue aislado de la caña de azúcar, *Saccharum officinarum* L. var. h 37, 1933, sembrada en Córdoba, Ver.

2. Los antibióticos son de los que se encuentran comúnmente en el mercado; se han utilizado ocho distintos con diversas concentraciones.

Nistatina
Bequinil
Penicilina G procaína
Penicilina G potásica
Clorhidrato de oxitetraciclina
Sulfato de estreptomina
Sulfato de dihidroestreptomina
Sulfato de kanamicina

3. Para observar qué medio favorecía más al crecimiento del hongo, se utilizaron los siguientes:

Papa dextrosa agar
Jugo de caña agar
Malta agar
Papa sacarosa agar
Sabouraud dextrosa agar
Agar nutritivo con sacarosa
Littman
Czapeck más 15 g de agar por litro
Harina de maíz agar
Agua agar al 1.5%

Excepto los dos primeros, todos los demás fueron medios "Difco" y para su elaboración se siguieron las especificaciones de cada uno.

PAPA DEXTROSA AGAR. Se elaboró con la siguiente fórmula:

Papa	200 g
Dextrosa	20 g
Agar	15 g
Agua destilada	1 000 ml

JUGO DE CAÑA AGAR. La elaboración de éste se efectuó con las siguientes concentraciones:

Jugo de caña	500 ml
Agar	15 g
Agua destilada	1 000 ml

El agar se utilizó al 1.5%:

Agar	15 g
Agua destilada	1 000 ml

Todos los medios esterilizados en autoclave a 15 libras, durante 20 minutos.

AISLAMIENTO DEL HONGO. Para llevar a cabo dicho aislamiento, se tomaron muestras de cuatro zonas de la caña de azúcar.

- a) Cogollo de la hoja.
- b) Cogollo negro.
- c) Cogollo rojo.
- d) Raíz.

De cada una de estas partes se cortaron tres pedazos de cinco milímetros aproximadamente. Proceso efectuado con material estéril para evitar contaminaciones.⁴⁷ Cada porción fue desinfectada en una solución de hipoclorito de sodio y agua, una parte de "Clorox" (blanqueador comercial) por cada tres partes de agua destilada. Dicha solución es puesta en una caja de Petri estéril y cerca de la flama se ejecuta la operación, dejando en ella cada trocito durante cinco minutos aproximadamente; después, cada porción es pasada por tres cajas de Petri que contienen únicamente agua destilada estéril, con objeto de lavar el cloro.

Para el aislamiento del hongo, los trozos de caña de azúcar, previamente desinfectados, se colocaron de tres en tres en cajas de Petri que contenían jugo de caña agar y papa dextrosa agar, dejándose a la temperatura ambiente por quince días.

Al cabo de ese tiempo se tomaron fragmentos de la periferia de las colonias y fueron sembrados en tubos inclinados, con el mismo medio en el que crecieron. Una vez purificada la colonia, para su estudio, se utilizaron nuevamente cajas de Petri a las que se les añadieron cuatro o cinco gotas de ácido láctico al 25%, para evitar contaminaciones bacterianas.

Se procedió a la identificación del hongo de acuerdo con sus características, para lo cual, se emplearon preparaciones hechas directamente de los aislamientos y montadas en lactofenol.

Para la determinación de las especies, Mason,^{32-a} se basa en el tamaño de las esporas y así determina tres especies, a saber:

N. oryzae (B. y Br.) Petch, con esporas de 10-16 μ .

N. spahaerica (Sacc.) Mason, cuyas esporas miden de 14-20 μ .

N. sacchari (Speg.) Mason, valores que van de 15-25 μ .

Pero los trabajos de Standen⁵⁹ sobre maíz, muestran una gran variabilidad en el tamaño de dichas esporas, dándose el hecho observado por Reedy,⁴⁶ que esporas colectadas en el campo, que crecían de gran tamaño, al ser cultivadas producían conidios pequeños. Standen da una gran variedad de tamaños en los conidios, siendo sus promedios de 9 a 17.8 μ , medidas, algunas de ellas, que quedan fuera de las proporcionadas por Mason.

Dada la diversidad de tamaños, este autor propone incluir todas las especies de *Nigrospora* dentro de *N. oryzae*.

Siguiendo este criterio y de acuerdo con las proporciones dadas por Mason, el hongo observado se incluye en el género y especie antes mencionados, pues los valores obtenidos al examinar varias esporas de diversos cultivos fueron de 10 a 15.3 μ . Los conidios más pequeños de los aislamientos estudiados midieron 7.6 μ y los más grandes 19.1 μ .

El tamaño de los conidióforos también es considerado para la determinación. Para esta especie, Mason señala de 12.5 a 15.0 μ .

Los datos obtenidos al examinar las muestras utilizadas para este estudio, dan un valor promedio de 14.8 μ . Así, con las reservas debidas a la incertidumbre dada por la falta de bases para la clasificación, en este trabajo se mencionará al patógeno como perteneciente a la especie *N. oryzae*.

Nigrospora oryzae (B. y Br.) Petch, 1924. Jour. India Bot. Soc. 4:21-22.

Monotospora oryzae Berkeley y Broom, 1875. Enumeration of fungi of Ceylon. Jour. Linn. Soc. Bot. 14:99.

Trichosporium maydis Sacc., 1886. Sylloge Fungorum, 4:293.

Nigrospora javanica Zimm. 1902. Centralbl. Med. 2 van het Bakter, 8:220.

Basisporium gallarum Moll. 1902. Bull. Soc. Myc. Fr. 18:168-172.

Conisporium gecevi Bubak, 1912. Centralbl. Bakt II 31:500-501.

PREPARACION DE LOS ANTIBIOTICOS

Los antibióticos fueron probados a distintas concentraciones, semejantes en todos, para poder efectuar un estudio comparativo.

Cada concentración fue marcada con un número, el cual fue utilizado para igual concentración en los diversos antibióticos. Todas las substancias fueron agregadas a una cantidad fija de agua destilada estéril (10 cc).

Las proporciones utilizadas fueron:

1 — 0.015 g
2 — 0.03 g
3 — 0.06 g
4 — 0.12 g
5 — 0.25 g
6 — 0.5 g
7 — 1.0 g

Además, en la Nistatina, se utilizaron:

8 — 0.007 g
9 — 0.0035 g
10 — 0.0017 g
11 — 0.0008 g
12 — 0.0004 g

El método que se utilizó para probar los antibióticos en el presente trabajo fue una variación del método de difusión, en el que se emplearon discos de papel filtro estéril, de dos centímetros de diámetro aproximadamente. Estos discos se saturan de un volumen dado del antibiótico a la concentración deseada, y de una gota de suspensión de esporas, colocándolos en cajas de Petri que contenían Sabouraud dextrosa agar.

La suspensión de esporas⁵⁴ se obtuvo de la siguiente manera:

Se inoculó el patógeno en una caja de Petri utilizando Sabouraud como medio nutritivo, se dejó crecer a la temperatura ambiente hasta lograr una esporulación máxima, aproximadamente de diez a quince días. En condiciones estériles se introdujeron a dicha caja 30 ml de agua destilada estéril, y un asa micológica con la que se raspó la superficie del cultivo, para desprender las esporas del micelio. Repetida la operación varias veces, el agua se filtró por una gasa o papel filtro estériles, para quitar los trozos grandes de micelio. Esta suspensión se conservó en condiciones estériles.

En todas las pruebas se utilizaron testigos en los que el papel filtro era impregnado por agua destilada estéril, en una cantidad semejante al antibiótico.

Después se incubaron por espacio de cinco días a una temperatura entre 26 y 27°C por haberse visto, como se demostrará más adelante, que era la más propicia para su crecimiento.

RESULTADOS

DESCRIPCIÓN DEL HONGO ESTUDIADO

Las colonias de este hongo tienen un micelio algodonoso; son de color blanco-grisáceo en los primeros días de desarrollo; al completar éste, adquieren una coloración negruzca, cambio debido a la gran aparición

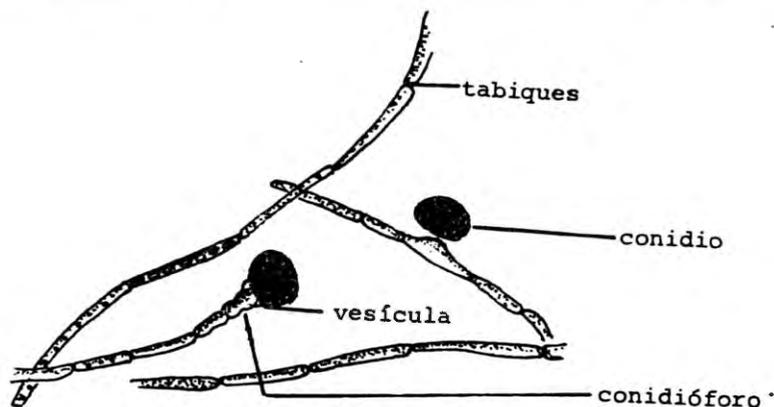


Fig. 1. Esquema de *Nigrospora orizae*, mostrando sus principales estructuras (10 × 40) con cámara clara.

de esporas. El micelio es tabicado y cuando joven es muy vacuolado y con gotas de grasa. Las esporas crecen en conidióforos cortos, globosos, hialinos o subhialinos, estas estructuras pueden ser laterales o terminales,⁵⁰ los conidios son esféricos o ligeramente ovalados, de color negro-oliva. En los primeros estadios de su formación son simples ensanchamientos de la hifa, hialinos; conforme llegan a la madurez adquieren el tono oscuro que les caracteriza. En la unión conidio-conidióforo existe una pequeña vesícula hialina, a la que se le ha dado un papel muy importante en la expulsión de las esporas,^{51, 43, 71} la que se efectúa por la descarga de un líquido localizado en su interior (Fig. 1). Se ha comprobado que esta expulsión la realizan a una distancia de 2 a 6 centímetros.⁷¹

Se ha comprobado también que las variaciones en *Nigrospora oryzae* no sólo se refieren al tamaño de sus esporas, sino, además, a la forma en que el micelio se desarrolla de acuerdo con el medio en que crezca.

Standen⁵⁹ cita dos tipos o razas para el micelio:

a) Micelio blanco, algodonoso, en algunas ocasiones en forma de borla con esporulación lenta, 21 días o más.

b) Micelio grisáceo, deprimido, en forma de red y con esporulación abundante en los primeros 8 días.

Desde luego, no son divisiones tajantes sino que existen estados intermedios.

Para comprobar a qué raza pertenecía el hongo o qué variaciones sufría de acuerdo con el medio, se emplearon los siguientes:

1. HARINA DE MAÍZ AGAR. Micelio rastrero, pocas hifas aéreas, color blanco-grisáceo. Escasa formación de esporas. Medio poco propicio para su desarrollo.

2. MALTA-AGAR. Micelio sin hifas aéreas, poco abundante, color blanco-grisáceo. Con formación abundante de esporas.

3. AGAR NUTRITIVO CON SACAROSA. El crecimiento de micelio en este medio se retrasa y, por consiguiente, la esporulación. Micelio blanco, muy algodonoso, hifas delgadas y muy ramificadas. Las primeras esporas aparecen a los 20 días.

4. LITTMAN. En este medio se observa crecimiento en borla, de aproximadamente un centímetro de diámetro, alrededor de la zona

inoculada. Micelio abundante de color negro-grisáceo. Esporas muy abundantes.

5. AGUA-AGAR. Micelio blanco, con hifas delgadas, ramificadas y muy hialinas. Formación de pocas hifas aéreas. Crecimiento muy lento y no se observa la formación de conidios.

6. CZAPECK-AGAR. Micelio blanco, crecimiento escaso, sin hifas aéreas. Formación lenta de esporas.

7. PAPA-DEXTROSA-AGAR. Micelio blanco-grisáceo en los tres primeros días de crecimiento; al cuarto día, con la aparición de los conidios, las colonias adquieren un tono negrozco. Micelio con aspecto algodonoso.

8. PAPA-SACAROSA-AGAR. Características semejantes al anterior.

9. JUGO DE CAÑA-AGAR. Micelio abundante con rápido crecimiento y rápida formación de conidios. Hifas aéreas escasas, de color blanco-grisáceo a negro.

10. SABOURAUD-DEXTROSA-AGAR. Micelio de color negro-grisáceo en su madurez, pocas hifas aéreas. Abundante formación de conidios. Estos empiezan a formarse al tercer día de inoculado el medio.

Los medios 7, 8 y 9 fueron empleados para el aislamiento de *Nigrospora oryzae*.

Por ser el último medio el más favorable para el crecimiento de *N. oryzae*, fue el empleado durante el desarrollo de este trabajo.

En el cuadro 1, se muestran las variaciones presentadas en el hongo.

TEMPERATURA

La temperatura a que este hongo puede crecer es muy amplia, ya que se puede desarrollar entre los 3°C y los 40°C;⁴² sin embargo, su temperatura óptima se encuentra entre los 24°C y los 33°C.^{20, 33, 53, 64}

En el laboratorio se obtuvieron los siguientes datos:

A 23°C, la esporulación total (la caja de Petri completamente negra) era obtenida a los 10 días.

A 24°C, dicha esporulación se lograba a los 8 días.

A 25°C, esporulación al quinto día.

A 26°C, esporulación al cuarto día.

A 27°C, esporulación al cuarto día.

A 28°C, esporulación al quinto día.

A 30°C, esporulación al décimo día.

CUADRO 1

VARIACIONES PRESENTADAS POR *NIGROSPORA ORYZAE*
EN LOS DIVERSOS MEDIOS UTILIZADOS

Medios	Micelio		Hijas		Conidios	
	Blanco	Negro	Aéreas (borlas)	Rastreras	2 a 8 días	21 días
Harina de maíz-agar	+			+		+
Malta agar	++			+	+	
Agar-nutritivo sacarosa	++		+			+
Littman		+	+++		+	
Agua-agar 1.5%	+			+		+
Czapeck-agar	+			+		+
Papa sacarosa-agar		++	+		+	
Papa-dextrosa		++	+		+	
Jugo de caña-agar		++	-		+	
Sabouraud dextrosa-agar		+++		++	++	

La temperatura óptima se localiza entre los 26°C y los 27°C, considerándosele la más favorable para el experimento a realizar.

La gráfica 1 nos muestra la curva de crecimiento de *Nigrospora oryzae*.

ANTIBIOTICOS

Los antibióticos actúan de diversos modos: algunos impiden el desarrollo y la reproducción, otros estorban la respiración y algunos más evitan el aprovechamiento de las sustancias nutritivas.

La composición del medio influye en la acción del antibiótico y aun en algunos casos puede evitar su obra⁵² y, de igual manera, el antibiótico puede provocar cambios morfológicos y fisiológicos en los organismos, tales como variación en la formación de pigmentos, retraso en su crecimiento o su total destrucción.³⁹

Los antibióticos utilizados en las diferentes pruebas, de este estudio, son productos de

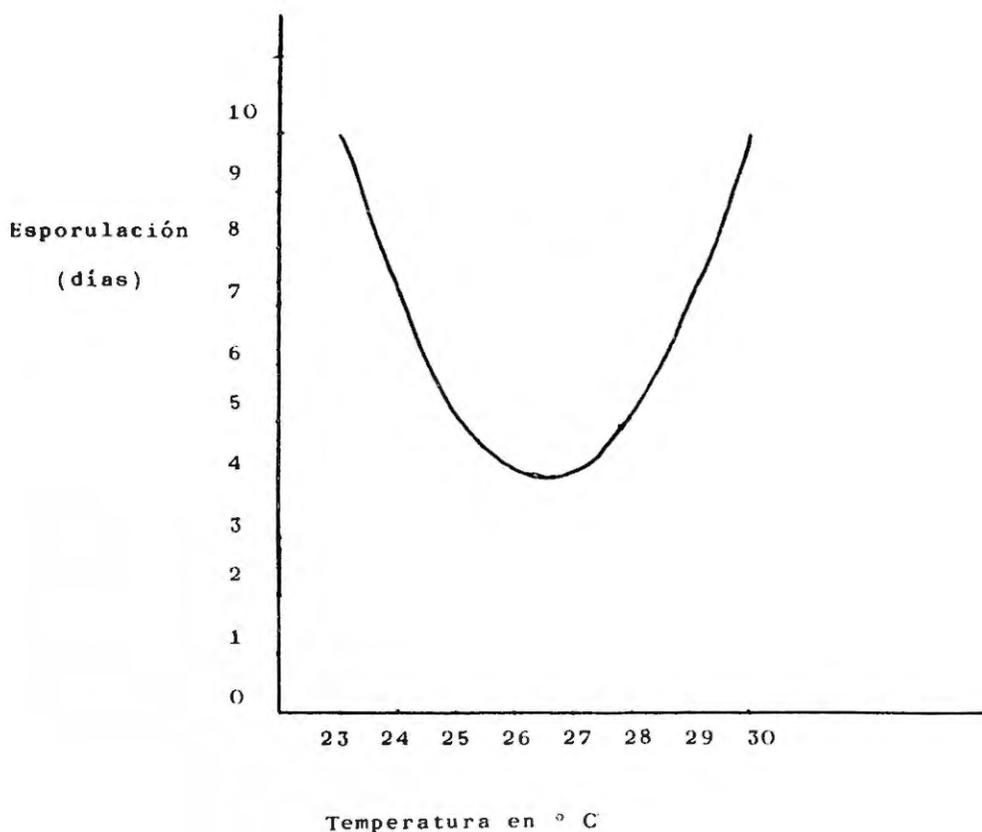
seres pertenecientes a las divisiones Bacteriophyta y Fungi; o al orden Actinomycetales y a la división Ascomycetes respectivamente.

REACCION A LOS DIFERENTES ANTIBIOTICOS

Debido a que el crecimiento máximo obtenido para *Nigrospora oryzae* se lograba entre el cuarto y quinto días, las observaciones de la acción de los antibióticos se hicieron a los cinco días en todos los casos, para poder realizar un estudio comparativo con los resultados.

En el caso de la Nistatina, a los cinco días, los resultados fueron totalmente negativos, por lo que se continuó el experimento varios días más con el objeto de comprobar por cuánto tiempo continuaba la acción de este antibiótico, observándose que se prolongaba hasta el décimo día.

NISTATINA. Sustancia antifungal producida por el crecimiento de *Streptomyces noursei*^{58, 70} o *S. aureus*.⁶⁶



Gráfica 1. Relación entre temperatura y esporulación.

DESCRIPCIÓN. Polvo amarillo o ligeramente moreno, olor característico que sugiere el de los cereales.⁶⁹ Substancia higroscópica afectada por la larga exposición a la luz, el calor o el aire.

SOLUBILIDAD

Soluble: Metanol, etanol.
Ligeramente soluble: Agua, alcohol.
Insoluble: Cloroformo y éter.^{8, 67, 70}

Las soluciones y suspensiones pierden sus propiedades a los pocos minutos de preparados.⁶⁶

A este antibiótico se le consideró el más efectivo de todos los probados, y se utilizaron, además de las empleadas para todas las pruebas, concentraciones cada vez menores para determinar qué cantidad era efectiva para

impedir el crecimiento del hongo en prueba, aun cuando esta inhibición fuera muy breve.

Como ya se dijo, el crecimiento no se realiza en los diez primeros días, y en los subsiguientes alcanza un crecimiento muy reducido.

En las concentraciones adicionales probadas para la nistatina, vemos que aún a la correspondiente al número 12 se logra una pequeña inhibición (Fig. 2).

BEQUINIL. Nombre comercial dado a una substancia elaborada por la mezcla de dos antibióticos: penicilina y sulfato de estreptomina.

Con este compuesto observamos que las mezclas correspondientes a los seis números no muestran ningún resultado positivo, siendo su crecimiento muy similar al del testigo. En la concentración correspondiente al número siete,

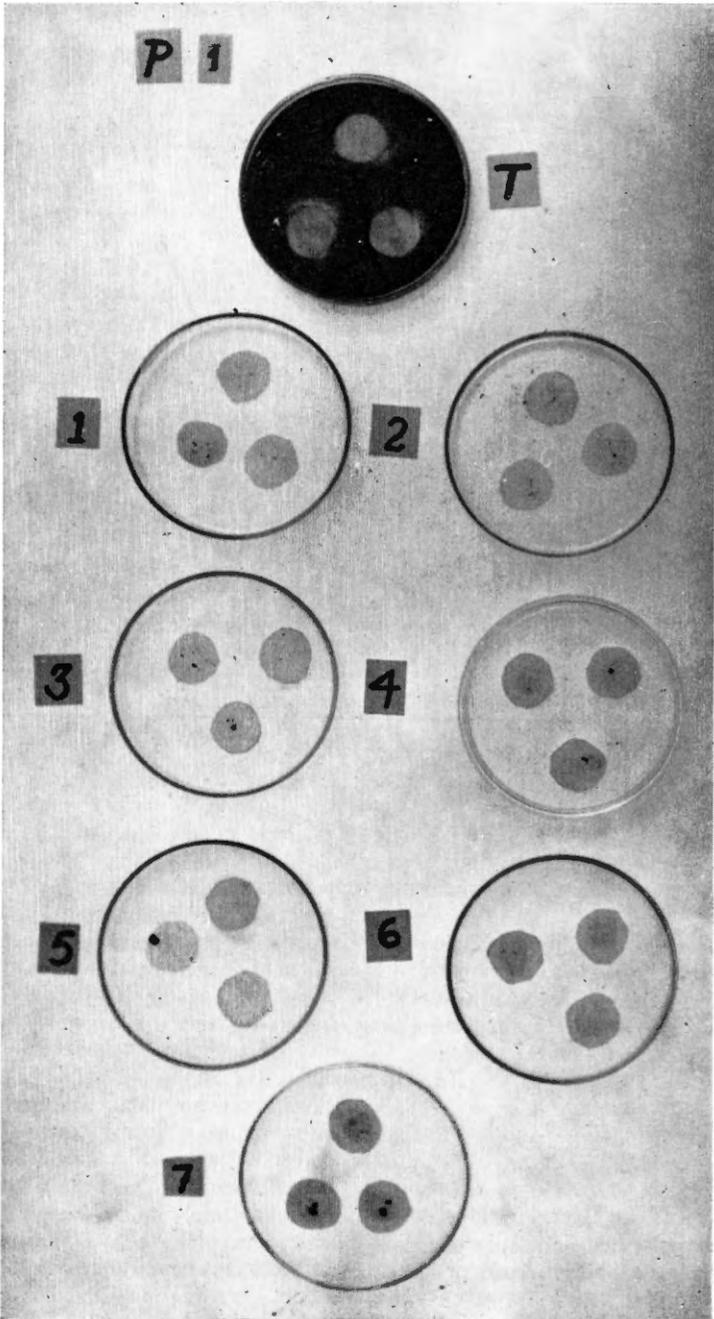


Fig. 2. Prueba con Nistalina. T, testigo; 1, 0.015 g; 2, 0.03 g; 3, 0.06 g; 4, 0.12 g; 5, 0.25 g; 6, 0.5 g; 7, 1 g. (Reacción al quinto día.)

o sea un gramo, hay un somero crecimiento del micelio y la esporulación se retarda.

La acción de dos antibióticos, por los resultados obtenidos, no aumenta su efecto sobre *Nigrospora oryzae*, sino que éste es muy semejante al que ejercen cada uno independientemente (Fig. 3).

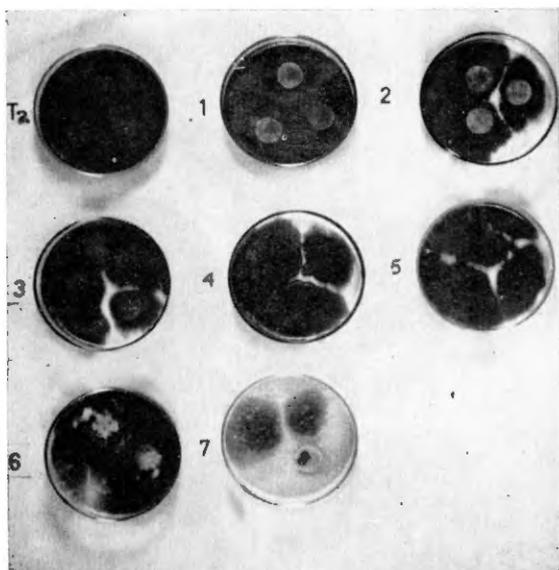


Fig. 3. Prueba con Bequinil. T, testigo; 1, 0.015 g; 2, 0.03 g; 3, 0.06 g; 4, 0.12 g; 5, 0.25 g; 6, 0.5 g; 7, 1 g. (Reacción al quinto día.)

SULFATO DE ESTREPTOMICINA. Es el sulfato de una base antimicrobial producida por *Streptomyces griseus*.⁷⁰

DESCRIPCIÓN. Polvo blanco o prácticamente blanco. Sin o con un ligerísimo olor. Con gusto ligeramente amargo. Substancia higroscópica.^{81, 70}

SOLUBILIDAD

Soluble:	Agua.
Ligeramente soluble:	Alcohol.
Insoluble:	Cloroformo.

Se ha observado que la estreptomicina en pequeñas cantidades puede favorecer el crecimiento de los organismos⁷² y a concentraciones muy grandes impide el desarrollo.⁷³

En el laboratorio se comprobó que las cantidades empleadas en los tres primeros casos

favorecen el crecimiento de *N. oryzae*, pues su esporulación se logra a partir del segundo día.

En las mezclas correspondientes a los números "4, 5 y 6" no tiene ningún efecto y

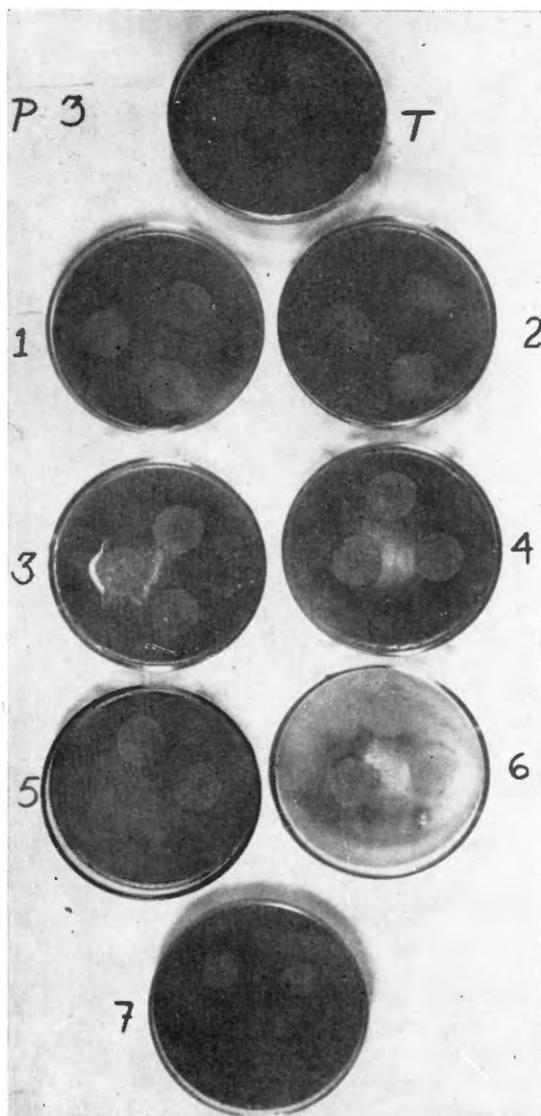


Fig. 4. Prueba con sulfato de Estreptomicina. T, testigo; 1, 0.015 g; 2, 0.03 g; 3, 0.06 g; 4, 0.12 g; 5, 0.25 g; 6, 0.5 g; 7, 1 g. (Reacción al quinto día.)

a la concentración mayor, número "7", la esporulación sufre un ligero retardo (Fig. 4).

SULFATO DE DIHIDROESTREPTOMICINA. La dihidroestreptomicina se obtiene por hidrogenación catalítica de la estreptomicina.⁷²

DESCRIPCIÓN. Polvo blanco o casi blanco, sin o con un ligero olor. Sustancia higroscópica que forma soluciones ácidas muy cercanas a la neutralidad.

SOLUBILIDAD

Soluble:	Agua.
Ligeramente soluble:	Alcohol.
Insoluble:	Cloroformo. ⁶⁹

Los resultados obtenidos en las pruebas fueron:

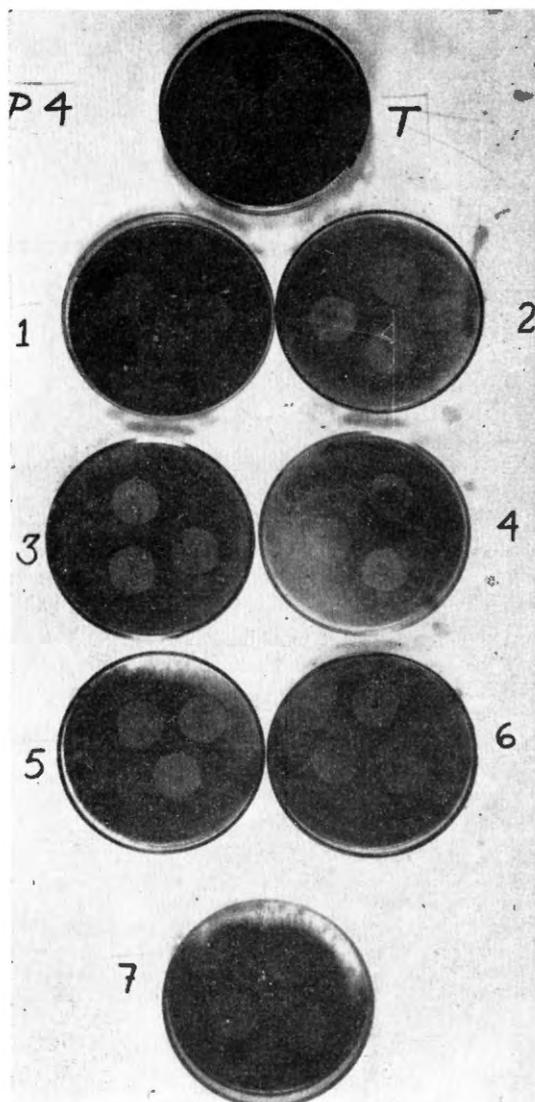


Fig. 5. Prueba con sulfato de Dihidroestreptomicina. T, testigo; 1, 0.015 g; 2, 0.03 g; 3, 0.06 g; 4, 0.12 g; 5, 0.25 g; 6, 0.5 g; 7, 1 g. (Reacción al quinto día.)

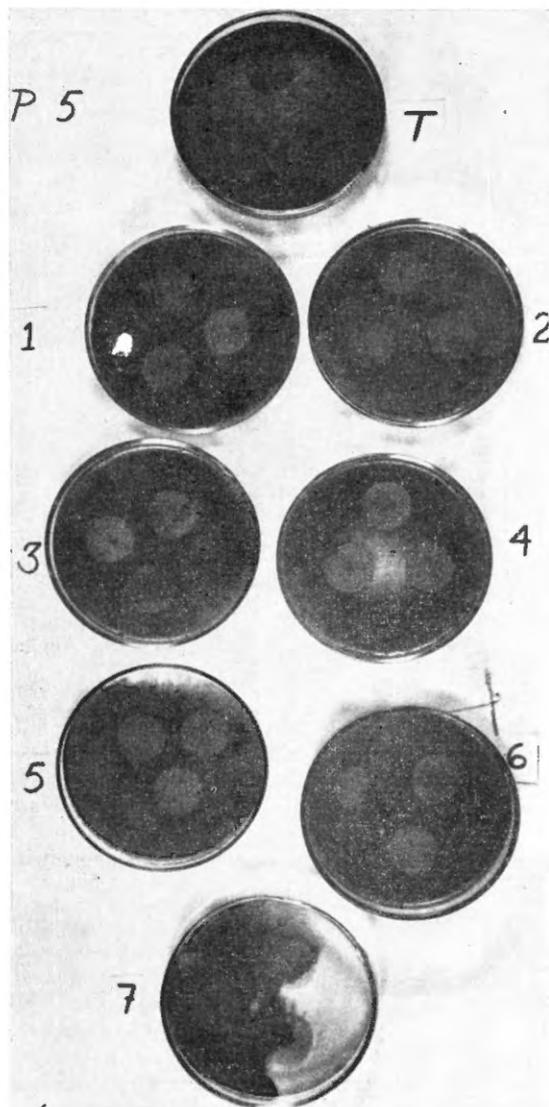


Fig. 6. Prueba con sulfato de Kanamicina. T, testigo; 1, 0.015 g; 2, 0.03 g; 3, 0.06 g; 4, 0.12 g; 5, 0.25 g; 6, 0.5 g; 7, 1 g. (Reacción al quinto día.)

En las concentraciones correspondientes a los números "1 y 2" la esporulación sufre una ligerísima detención; en las marcadas con los números "3, 4 y 5" no varían de acuerdo al testigo; en el "6", la esporulación es retardada y en el número "7", la formación de conidios es más abundante que en el testigo (Fig. 5).

SULFATO DE KANAMICINA. Antibiótico obtenido a partir de *Streptomyces Kanamyceticus*.^{8, 66}

DESCRIPCIÓN. Polvo blanco, o prismas lisos, amarillo pálido en metanol diluido.

SOLUBILIDAD

Soluble:	Agua.
Ligeramente soluble:	Eter y cloroformo.
Insoluble:	Alcohol.

Por los datos obtenidos se ve que en las tres primeras pruebas no hay ninguna diferencia con el testigo, y en las restantes va aumentando su efectividad; sin embargo, no se puede decir que sea efectivo (Fig. 6).

PENICILINA. Producida por *Penicillium notatum*⁸ y *P. chrysogenum*.⁷ Se utilizaron dos compuestos derivados de la penicilina.

Estas sustancias son:

a) Penicilina G potásica, también llamada benzil penicilina potásica.

b) Penicilina G procaína, llamada benzil penicilina G procaína.

DESCRIPCIÓN. Polvo blanco, finamente cristalizado o de un ligero tono amarillento;⁷⁰ sin olor, moderadamente higroscópico; relativamente estable en el aire.

SOLUBILIDAD

Soluble:	Agua.
Ligeramente soluble:	Alcohol.
Insoluble:	Parafina líquida. ⁶⁹

En el laboratorio se obtuvieron los siguientes datos:

A las concentraciones señaladas para los números "1 y 2" hay un crecimiento normal; a las correspondientes a los números "3, 4 y 5" hay una ligera inhibición en la esporulación y en las "6 y 7", el desarrollo se detiene y las colonias son muy pobres (Fig. 7).

b) Es el monohidrato obtenido de la procaína y la benzil penicilina; se produce adi-

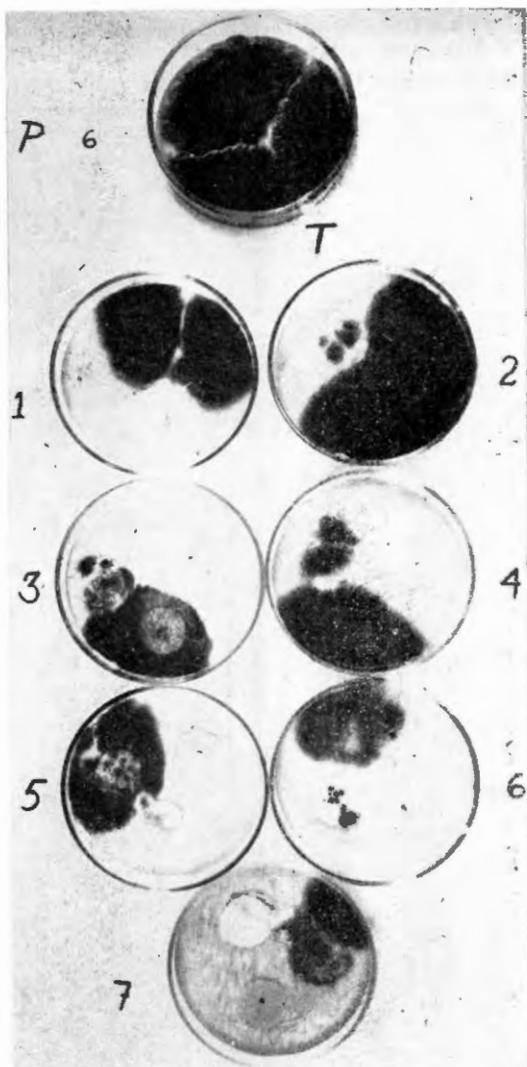


Fig. 7. Prueba con Penicilina G. potásica. T, testigo; 1, 0.015 g; 2, 0.03 g; 3, 0.06 g; 4, 0.12 g; 5, 0.25 g; 6, 0.5 g; 7, 1 g. (Reacción al quinto día.)

cionando a esta última el clorhidrato de procaína.⁸

DESCRIPCIÓN. Polvo blanco cristalino.

SOLUBILIDAD

Soluble:	Agua.
Insoluble:	Parafina líquida.

Los resultados obtenidos para las concentraciones señaladas con los números "1, 2 y 3"

fueron poco efectivos. A las cantidades utilizadas en los números "4, 5 y 6" hay un retardo en la expansión de las colonias, y a la concentración utilizada para el número "7" las colonias tienen un pobre desarrollo (Fig. 8).

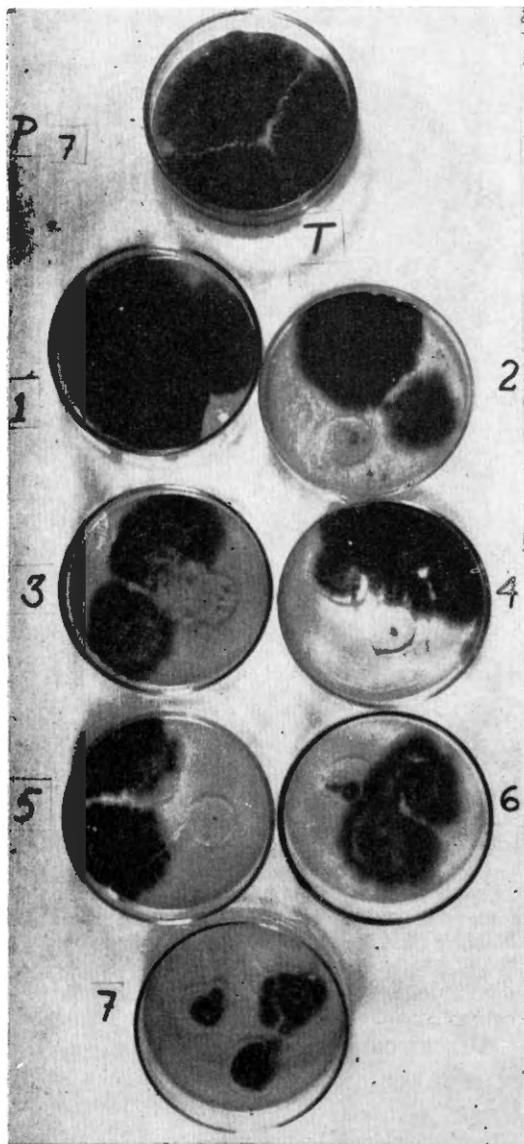


Fig. 8. Prueba con Penicilina G. Procaína. T, testigo; 1, 0.015 g; 2, 0.03 g; 3, 0.06 g; 4, 0.12 g; 5, 0.25 g; 6, 0.5 g; 7, 1 g. (Reacción al quinto día.)

CLORHIDRATO DE OXITETRACICLINA. Es la llamada terramicina. Substancia aislada del actinomicete *Streptomyces rimosus*,⁶⁶ creciendo en un medio adecuado.

DESCRIPCIÓN. Polvo higroscópico cristalino de color amarillo oro. Sin olor y con gusto ligeramente amargo.^{67, 70}

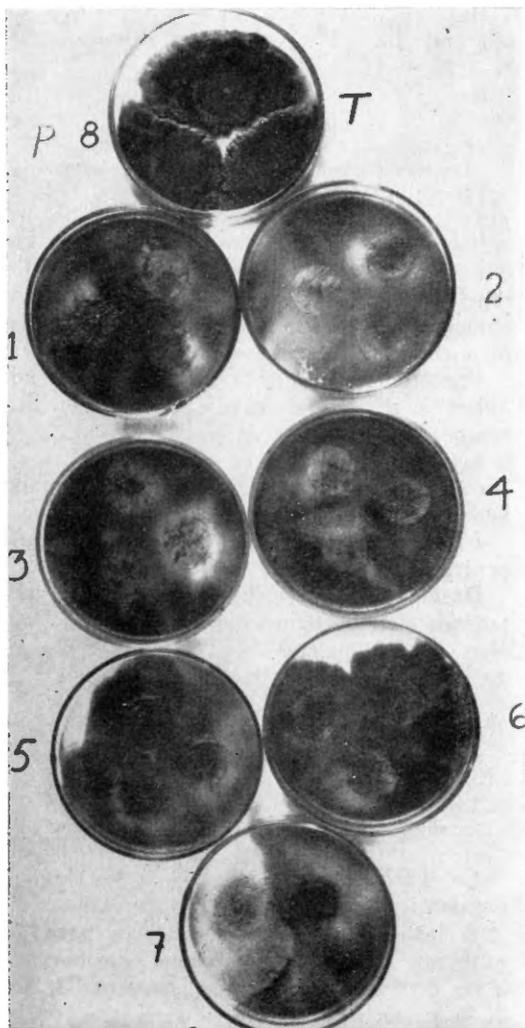


Fig. 9. Prueba con Clorhidrato de Oxitetraciclina. T, testigo; 1, 0.015 g; 2, 0.03 g; 3, 0.06 g; 4, 0.12 g; 5, 0.25 g; 6, 0.5 g; 7, 1 g. (Reacción al quinto día.)

SOLUBILIDAD

Soluble: Agua y alcohol.⁶⁶

En el laboratorio se observó que este antibiótico, en las seis primeras concentraciones no ejerció ningún efecto sobre *Nigrospora oryzae*, ya que éste empezó a esporular normalmente y el desarrollo de su micelio fue similar al testigo. En la mayor concentración hay menor desarrollo del micelio y menor esporulación (Fig. 9).

CONCLUSIONES

1. El medio más adecuado para el crecimiento de *Nigrospora oryzae*, es el Sabouraud, por ser muy propicio para el desarrollo del micelio y la rápida esporulación.

2. El método más demostrativo de la acción de los antibióticos corresponde al de la difusión, utilizando discos de papel filtro, en los que se coloca tanto el antibiótico como la suspensión de esporas.

3. La clasificación basada en el tamaño de los conidios es inexacta, dada la gran variedad que de él presentan.

4. De los antibióticos usados, la Nistatina dio los resultados más efectivos, ya que a pequeñas concentraciones da reacción positiva.

5. El uso de los otros antibióticos resultaba ineficaz, dada la gran concentración a que deberían usarse para impedir el desarrollo de *N. oryzae*.

RESUMEN

Estudio realizado en un hongo Deuteromycete cuyo género y especie corresponden a *N. oryzae*.

Según Mason, la especie es determinada por el tamaño de sus conidios, pero dichas estructuras son muy variables, razón por la cual todas las especies señaladas por este autor han quedado incluidas en la especie anteriormente mencionada.

Este hongo no es sólo variable en el tamaño de las esporas, sino también en el color y tipo del micelio, según el medio en que se desarrolle.

Se utilizaron diversos medios, para determinar en cuál de ellos la formación del micelio y de las estructuras reproductoras era más rápida.

Se probaron ocho antibióticos, de los encontrados comúnmente en el mercado, dichas pruebas se efectuaron con el método de difusión; resultando la especie estudiada altamente sensible a la nistatina.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alexopoulos, J. C. 1964. Introductory mycology. John Wiley & Sons, Inc., New York. p. 535.
- Andrews, E. A. & R. L. Janes. 1950. Stalk rot of corn in Michigan during 1949. *Plant. Dis. Rpt.* 34 (6):207-208.
- Anónimo. 1929. Diseases of cotton fibers. *Jour. Microbiol. Inst. Bact. Pasteur (Leningrae)* 9 (1):159-167.
- . 1940. Squirter and black-end disease of bananas. *Agric. Gaz. N. S. Wales* 60 (4):193-194. *In Biol. Abs.* 24:7398.
- Barnett, H. L. 1955-60. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Burgess Publishing Co.
- Berkeley, M. J. & C. E. Broom. 1875. Enumeration of fungi of Ceylan. *Jour. Lin. Soc. Bot.* 14:99.
- Bubak, F. & P. Kosaroff. 1912. Eine interessante pflanzenkrankheiten aus Bulgarien. *Centralbl. Bakt.* 31:500-501.
- Burr, M. A. et al. 1963. *British Pharmaceutical Codex* Published Pharmaceutical Soc. of Great Brit. pp. 413-786.
- Cammack, R. H. 1952. Seasonal changes in three constituents of air spores of southern Nigeria. *Nature* 176 (4496):1270-72.
- Carter, J. A. 1941. Preliminary investigations of oak disease in Illinois. *Illinois Nat. Hist. Surv. Bull.* 21 (6):150-250.
- Clements, E. F. & C. L. Shear. 1954. *The genera of fungi*. Hafner Publishing Co.
- Das, A. C. 1963. Ecology of soil fungi of rice. *Trans. Brit. Soc.* 46 (3):439.
- Dickson, J. G. 1947. *Diseases of field crops*. MacGraw Hill Book Co. Inc. pp. 84-85.
- Dungan, G. H., J. H. Bigger, A. L. Lang, B. Koehler, & P. W. Jegenheimer. 1945. Illinois hybrid corn test 1945. *Bull. Illinois Agric. Expt. Sta.* 517:225-256.
- Durrell, C. W. 1925. *Basisporium* dry rot of corn in Iowa. *Agric. Exp. Sta. Res. Bull.* 84:139-160.
- Edgerton, C. W. 1955. Sugarcane and its diseases. *Louisiana State University Press*, p. 116.
- Edwards, E. T. 1940. Internal grain infection and kernel rot in 1938. American maize crop. *Jour. Australian Inst. Agric. Sci.* 6 (1):25-31.
- Farrow, W. M. 1954. Tropical soil fungi. *Myc.* 46-640.
- Friedman, B. A. & D. Folsom. 1953. Potato tuber glassyend, jelly-end rot in the north east in 1949 and 1952. *Plant. Dis. Rpt.* 37 (9):455-459.
- Halisky, P. M., W. C. Schnothrst & M. A. Shagrum. 1961. Severity and distribution of cotton boll rots as related to temperature. *Phytoph.* 51:501-505.
- Hill, E. C. 1953. Microbiological examination of Jaffe oranges with stylar end spot. *Proc. Flo-*

- rida State Soc. 66:240-243. In *Biol. Abs.* 28: 27288.
22. Höete, S. 1935. Certain aspects of investigation on black-end disease of bananas in Australia. *Counc. Sci. Res.* Pamphlet 58:1-22.
 23. Hudson, H. J. 1962. Succession of microfungi on ageing leaves of *Saccharum officinarum*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 45 (3):395-423.
 24. ———. 1963. The perfect state of *Nigrospora oryzae*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 46 (3):355-360 (1960).
 25. Jeffers W. E., C. E. Cox, R. A. Jahle, L. C. Weaver, D. Morganand, J. E. Moore. 1951. Notes on occurrence of some plant disease in Maryland during 1950. *Plant. Dis. Rpt.* 35:386.
 26. Joffe, A. Z. 1963. The mycoflora of a continuously cropped soil in Israel, with special reference to effects of manuring and fertilizing. *Myc.* 55:275.
 27. Koehler, B. 1942. Natural mode of entrance of fungi in to corn ears and some symptoms that indicate infection. *Jour. Agric. Res.* 64 (8): 421-442.
 28. ———. 1942. Corn ear rot in Illinois. *Agric. Exp. Sta. (Urbana). Bull.* 639:16-18.
 29. Kuen, H. H. 1960. Fungi of New Mexico. *Myc.* 52:538.
 30. Kuelik, T. A. 1963. *Nigrospora* sorgho (*Nigrospora* of sorghum *Zashita* rats of ureditelei). *I Bolznei* 8 (9):16-18.
 31. Lodhi, S. A. & A. Naeen. 1955. Some seed borne fungi from Pakistan. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 38 (3):240-242.
 32. Leben, C. & G. W. Keitt. 1943. An antibiotic substance active against certain phytopathogens. *Phytopath.* 33:899-906.
 - 32a. Mason, E. W. 1927. On species of the genus *Nigrospora* Zimmerman recorded on Monocotyledons. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 12:152-165.
 33. McLennan, E. L. & S. Höete. 1933. *Nigrospora musae* n. sp. and its conexion with "Squirter" disease in bananas. *Commonwealth of Australia Counc. Sci. and Ind. Res. Bull.* 75:7-36.
 34. Melchers, L. E. 1956. Fungi associated with Kansas hybrid seed corn. *Plant. Dis. Rpt.* 40:500-506.
 35. Meredith, D. S. 1962. Some fungi on decaying banana leaves in Jamaica. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 45 (3):337.
 36. Molliard, M. 1902. *Basisporium gallarum* n. gen., n. sp. *Soc. Myc. France* 18:168-172.
 37. Muller, A. 1950. A preliminary survey of plant disease in Guatemala. *Plant. Dis. Rpt.* 34 (6): 163.
 38. Murillo, P. 1951. Primera asamblea latinoamericana de fitoparasitología. *Foll. Misc. Ofic. Est. Esp. Mex.* 4:52-57.
 39. Nickerson, W. 1947. Biology of pathogenic fungi. *Waltham Mass. U. S. A. Chronica Botanica Co.* pp. 105-114.
 40. Pady, S. M. & L. Kapica. 1955. Fungi in air over the Atlantic Ocean. *Myc.* 47 (1):34-50.
 41. Pelczar, M. & R. D. Reid. 1958. *Microbiology*. McGraw Hill Book Co. Inc. p. 133.
 42. Pencic, V. & H. Smiljakovic. 1961. *Nigrospora oryzae* (B. Br.) Petch. Nov. parazit kukuruza u Jugoslaviji pethodno saopstenge 63-64:45-50. In *Biol. Abs.* 43:3464.
 43. Podhradsky, J. 1956. Die kranheiten des mais es in Urgarn und ihre Bekämpfung. *Acta Agron. Acad. Sci. Hung.* 6 (1-2):144-147. In the review of *Applied Myc.* 36:693.
 44. Prasad, N., J. Agnihotri & J. P. Agarwal. 1960. A new Sp. of *Nigrospora* Zimm. on *Oryza sativa* L. *Current Sci.* 29 (9):352-353.
 45. Rees, R. G. 1964. The air spora of Brisbane. *Australian J. Bot.* 12 (2):185-204.
 46. Reedy, C. S. 1933. Resistance of dent corn to *Basisporium gallarum* Moll. *Ia. Agric. Exp. Sta. Res. Bull.* 1957.
 47. Riker, A. J. & R. S. Riker. 1936. Introduction to research on plant disease. *Cap.* 5.
 48. Roane, W. C. 1950. Observations on corn disease in Virginia from 1947 to 1950. *Plant. Dis. Rpt.* 34 (12):395.
 49. Saccardo, P. A. 1886. *Trichosporium maydis*. *Sylloge Fungorum* 4:293.
 50. ———. 1906. *Nigrospora* Zimm. *Sylloge Fungorum* 18:220.
 51. Saccas, A. M. 1954. Les champignons parasites des sorghos et des Pénicillaires en Afrique Ecuatoriales Française. *Agron. Trop. Nogent.* 9 (3): 263-301.
 52. Salle, A. J. 1957. *Bacteriología*. Gustavo Gill S. A., pp. 832.
 53. Schnathorst, W. C. & P. M. Halisky. 1960. Severity prevalence and ecology of cotton boll rots as related to temperature. *Phytopath.* 50:653.
 54. Sharvelle, E. G. 1960. The nature and uses of modern fungicides. *Burges Publishing Co.* pp. 202-204.
 55. Simmonds, J. H. 1933. Squirter disease of bananas. *Queensland Agric. Jour.* 40 (2):98-115.
 56. ———. 1949. Dipping of Winter bananas. *Queensland Agric. Jour.* 68 (5):274-275.
 57. ———, & R. S. Mitchell. 1940. Black-end and anthracnose of the banana, with special reference to *Gloeosporium musaeum* Cke. and *Mass.* *Australia Counc. Sci. and Ind. Res. Bull.* 131:1-62.
 58. Stakman, E. C. 1957. Principles of plant pathology. The Roland Press Co. New York.
 59. Standen, J. H. 1943. Variability of *Nigrospora* on maize. *Iowa State College. Jour. of Sci.* 17 (2):263-275.
 60. ———. 1944. Chemical and physical characteristics of maize cobs in relation to grow of *Nigrospora oryzae*. *Phytopath.* 34 (3): 315-323.
 61. ———. 1945. *Nigrospora oryzae* (B. and Br.) Petch. on maize. *Phytopath.* 35:552-564.
 62. ———. 1950. Occurrence of *Nigrospora oryzae* (B. and Br.) Petch. in Venezuela with a note on discharge of spores. *Plant. Dis. Rpt.* 34 (5): 157.
 63. Savulescu, T. & T. Rayss. 1930. Une nouvelle maladie du mais Roumaine provoquée par *Nigrospora oryzae* (B. et Br.) Petch. *Arch. Roumaines Path. Exp. et Microbiol.* 3 (1):41-53.
 64. ———. 1933. Des Einfluss des *Nigrospora oryzae* (B. and Br.) Petch. *Phytopath. Zeitschr.* 5 (2): 153-173. In *Biol. Abs.* 9:6611.
 65. Stainer, R., M. Doudoroff, E. A. Adelberg. 1963. The microbial world. *Prentice Hall Inc.* pp. 181-183.

66. Stecher, P. G. *et al.* 1960. The Merck Index. Merck and Co. Inc. pp. 741-981.
67. Thomas, B. J. *et al.* 1952. Antibiotics. A survey of their properties and uses. The Pharmaceutical Press. pp. 72-92.
68. Ullstrups, A. J. 1953. Several ear rots of corn. *Year Book of Agric.* pp. 391-392.
69. Vandam, D. L. *et al.* 1960. The Pharmacopeia of U. S. A. pp. 233-700.
70. Wand, S. *et al.* 1963. British Pharmacopeia. General Medical Council. Pharmaceutical Press London. pp. 94-772.
71. Webster, J. 1952. Spore projection in hyphomycete *Nigrospora sphaerica*. *New Phytol.* 51 (2): 229-235.
72. Welch, H. 1954. Principles and Practice of antibiotic therapy. *Medical Encyclopedia Inc.* pp. 47-112.
73. Zimmerman, A. 1902. Über einige antropischen kultur pflanzen beobachtele Alza 2. *Centralbl. Bakt.* 8:220.