

158
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EVALUACION DE TRES MEDIOS DE CULTIVO PARA
DERMATOFITOS, PREPARADOS CON HARINA DE
AMARANTO (Amaranthus sp.)

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
B I O L O G O
P R E S E N T A:
RAFAEL ROMERO MARTINEZ



México, D. F.

1993

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

Resumen	Página
	I
Introducción	1
Micosis	2
Dermatofitos	2
Ecología y Evolución	3
Distribución	5
Posición taxonómica	7
Reproducción	8
Asexual	8
Sexual	10
Nutrición	11
Cultivo	12
Cultivo de microorganismos	16
Amaranto	17
Distribución	19
Etnobotánica	19
Taxonomía	20
Planteamiento del Problema	23
Justificación	24
Hipótesis	25
Objetivo General	26
Objetivos Particulares	26
Materiales y Métodos	27
Cepas	27

Medios de Cultivo	27
Preparación del Sabouraud-liq.	28
Preparación del SDA	28
Preparación del HA pH 6.7 y HA pH 8	29
Preparación del HAD pH 6.7	30
Preparación del inóculo	31
Resultados	32
Dermatofitos Geofílicos	32
Dermatofitos Zoofílicos	35
Dermatofitos Antropofílicos	38
Discusión	43
Conclusiones	51
Referencias bibliográficas	53
Tablas y figuras	60

RESUMEN

53 cepas de dermatofitos (4 geofilicas, 15 zoofilicas, y 34 antropofilicas) fueron sembradas en tres nuevos medios de cultivo preparados con harina de amaranto: Harina de Amaranto pH 6.7 (HA pH 6.7); Harina de Amaranto-Dextrosa pH 6.7 (HAD pH 6.7) y Harina de Amaranto pH 8 (HA pH 8), comparando la morfologia macroscópica y microscópica formada, por estos hongos, en los medios de amaranto y el medio Sabouraud-Dextrosa-Agar (SDA). En los medios de harina de amaranto se observó que los dermatofitos formaron mayor número de estructuras microscópicas que las formadas en SDA.

En todos los medios de harina de amaranto, cuatro de siete cepas de *Trichophyton mentagrophytes*, formaron filamentos "peridiales", estructuras características que se obtienen por el entrecruzamiento de cepas compatibles. En la totalidad de cepas de *Trichophyton schoenleinii* y de *Trichophyton rubrum*, en los tres medios de amaranto formaron abundantes microconidios; cuando éstos hongos crecieron en SDA, ninguna de las cepas de *Trichophyton schoenleinii* las formó y solo 7 de las 19 cepas de *Trichophyton rubrum* las formaron. En *Epidermophyton floccosum* se observó la producción de abundantes racimos de macroconidios, conteniendo de nueva a diez de éstos propágulos, diferente a los racimos de dos a cuatro macroconidios que se forman en el medio de SDA.

INTRODUCCIÓN

El Reino Fungi está constituido por un gran número y una amplia diversidad de organismos, a los cuales se les encuentra colonizando ambientes distintos en la naturaleza, realizando la degradación de restos animales y vegetales, en asociación de otros organismos o como parásitos de las plantas, del hombre y de los animales, ya que disponen de las enzimas necesarias para descomponer en moléculas más sencillas una amplia variedad de sustratos¹⁷, así los hongos al ocupar un gran número de nichos ecológicos cumplen un papel importante en el casi imperceptible pero incesante cambio en los ecosistemas.

El conocimiento de las características metabólicas de los hongos tanto por las vías utilizadas en la síntesis y degradación de compuestos, como por la producción de metabolitos secundarios, ha hecho factible que estos organismos sean utilizados cada vez más en las diversas ramas de la biotecnología moderna como fuente de productos naturales que repercuten en el bienestar de la vida del ser humano. Por el contrario, debido a la dificultad para controlar el desarrollo de muchas especies nocivas de hongos, éstos ocasionan grandes desastres en la agricultura; así como también en los granos almacenados, los que al ser contaminados por los hongos micotóxicos, provocan la pérdida de innumerables recursos alimenticios para el consumo del hombre y de los animales, ya que causan el envenenamiento de los organismos que los ingieren¹. Otra de las formas en que los hongos causan daño se observa cuando éstos invaden al ser humano y le generan las infecciones conocidas como micosis.

MICOSIS

El término micosis se utiliza para designar a todas las infecciones en las cuales el agente etiológico pertenece al Reino Fungi. Durante mucho tiempo, a los daños causados por el establecimiento y la invasión de los hongos en el ser humano se les había dado poca importancia, sin embargo en la actualidad el uso de ciertos agentes terapéuticos y el surgimiento de nuevas enfermedades que dañan el sistema inmunitario del hombre propician que las micosis en el humano se incrementen cuando los hongos saprobios se establecen en individuos con deficiente defensa inmune.

De las aproximadamente 150000 especies de hongos que se han descrito, se calcula que 200 de ellas causan diversos tipos de micosis en el hombre, la gran mayoría en condiciones naturales se les encuentra como saprobias, sin embargo, cuentan con la capacidad para adaptarse a la temperatura y al bajo potencial de oxido-reducción de los tejidos del hospedero. No obstante, se sabe que nueve del total de los hongos que producen las micosis humanas, han evolucionado hacia un estricto parasitismo en el hombre, perteneciendo ocho especies a los dermatofitos⁴⁰.

DERMATOFITOS

La utilización de este término se inició entre los años 1882 y 1885, sin embargo se desconoce como y quien lo acuñó para designar al grupo de hongos causantes de las tiñas en el ser humano²⁸.

Actualmente el término de Dermatofitos (del gr. *dermato*, piel y *phyton*, planta; "planta de la piel") define al conjunto de hongos queratinofílicos que parasitan el estrato córneo de la piel, el pelo y las uñas causando las

dermatofitosis o "tiñas"; las especies involucradas pertenecen a los géneros anamorfos *Trichophyton*, *Microsporum* y *Epidermophyton*^{8,14,37,40}. Son las dermatofitosis, las infecciones fúngicas más frecuentes y de distribución geográfica más amplia.

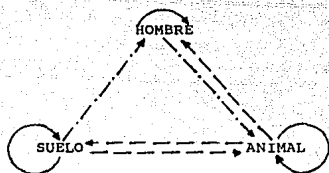
En la naturaleza existe un conjunto de hongos queratinofílicos saprobios que por su tipo de conidiogénesis, por la semejanza morfológica y fisiológica con los hongos causantes de las tiñas, han sido colocados dentro de alguno de los tres géneros mencionados anteriormente que agrupan a los dermatofitos¹³, debido a lo cual en la actualidad, el número de especies de estos hongos queratinofílicos es de 41⁴⁰.

ECOLOGÍA Y EVOLUCIÓN DE LOS DERMATOFITOS

Dependiendo del hábitat en el que principalmente llevan a cabo su ciclo de vida, los dermatofitos son denominados: a) geofílicos, si su ciclo biológico es realizado en el suelo; b) zoofílicos, si éste es en animales y c) antropofílicos, a los que son aislados casi exclusivamente del hombre, sin embargo, López-Martínez (1980) estableció que "..... estos hongos no siempre se restringen a los hábitats geofílicos, zoofílicos y antropofílicos, ya que pueden establecer un movimiento triangular entre estos tres sustratos"²³. Sin embargo al haberse demostrado que los dermatofitos geofílicos y zoofílicos pueden desarrollarse en el suelo, los animales y el hombre⁴⁶; en tanto que los antropofílicos solo se desarrollan en el ser humano y rara vez en animales, al movimiento triangular propuesto por este autor, se le puede representar por un triángulo en el que los vértices representarían los diferentes hábitats y las líneas que unen a los vértices del triángulo, estarían representando la

capacidad de los dermatofitos para desarrollarse en estos tres sustratos (Fig. 1).

FIGURA 1. DISPERSIÓN DE LOS DERMATOFITOS ANTROPOFÍLICOS, ZOOFÍLICOS Y GEOFÍLICOS EN LOS DIFERENTES HABITATS. (—) OBLIGADA, (---) FACULTATIVA, (-.-) FORTUITA.



Desde los puntos de vista ecológico y evolutivo, el hecho de que en este grupo de hongos se encuentren especies adaptadas a distintos ambientes, adecuándose a la simbiosis con los animales, incluyendo al hombre, pudo haber implicado una modificación en su material genético, por lo que se considera que aquellos hongos queratinofílicos que han sufrido menos cambios genéticos se les encuentre en el suelo como saprobios y son los denominados geofílicos, en una línea evolutiva ascendente, los dermatofitos que parasitan preferentemente a los animales son los considerados como zoofílicos y en un tercer grupo, en el nivel más alto, se encuentran los dermatofitos antropofílicos, los cuales constituyen un grupo ecológico que probablemente ha sufrido

el mayor número de modificaciones, perdiendo completamente toda relación con el ambiente terrestre y al igual que algunos zoofilicos han logrado un alto nivel de especialización en el parasitismo por lo que se les considera como los más evolucionados; en el caso de los hongos antropofilicos el grado de especificidad les ha permitido adecuarse como parásitos de algunas etnias en particular³⁴.

DISTRIBUCIÓN DE LOS DERMATOFITOS.

En general se considera que los dermatofitos, son organismos ubicuos en la naturaleza²³, sin embargo algunas especies se encuentran restringidas geográficamente en algunas zonas⁴⁰. En la actualidad se han observado variaciones en la frecuencia de las especies aisladas de distintas dermatofitosis en humanos, así en 1972 López-Martínez et al. describieron que el dermatofito que con mayor frecuencia se aislaba de diferentes tiñas en la República Mexicana, era *Trichophyton rubrum* Sabouraud, al que correspondía el 60%, seguido por *T. mentagrophytes* Blanchard, con el 17.5%, *Epidermophyton floccosum* (Harz) Langeron y Milochevitch, con el 9.2%, *T. tonsurans* Malmsten, con el 8.3% y *Microsporum canis* Bodin, con el 4.1%²³. En cuanto a la frecuencia de éstos dos últimos dermatofitos Manzano-Gayosso en 1991, señala que ésta frecuencia se ha invertido, demostrando que *M. canis* es aislado en la actualidad con mayor frecuencia que *T. tonsurans*²⁵.

En el Continente Americano los dermatofitos predominantes son *T. tonsurans* y *M. canis* agregándose en ciertas regiones como el Caribe a *M. audouinii* Gruby, y en Brasil a *T. violaceum* Bodin. En Europa, *M. canis* es aislado

frecuentemente en Francia, Inglaterra, Finlandia, Italia, Portugal y España. *M. audouinii* ha sido aislado en Rumania, y *T. violaceum* en Italia, Portugal, España y en la Comunidad de Estados Independientes, en tanto que a *T. schoenleinii* Lebert, se le consideró endémico en Europa Central⁴⁰.

En el Continente Africano la diversidad de especies aisladas es amplia, siendo los más frecuentes, *T. violaceum*, *T. schoenleinii*, *M. ferrugineum* Ota, *T. yaoundei* Cochet y Doby Dubois, *T. gourvilii* Catanei y *T. soudanense* Joyeux.

Algunos de los dermatofitos que han demostrado ser endémicos en algunas regiones del mundo son *M. ferrugineum* en Japón y *T. concentricum* Blanchard, en las islas de los mares del sur y algunas regiones de Centroamérica. En la República Mexicana, este dermatofito ha sido aislado de diferentes zonas de los estados de Puebla, Oaxaca, Guerrero y Chiapas^{7,39}. Actualmente esta distribución se ha modificado debido a los grandes y continuos flujos poblacionales de una a otra región o de un continente a otro^{14,40}.

POSICIÓN TAXONÓMICA DE LOS DERMATOFITOS.

De acuerdo con Alexopoulos y Mims (1979):

REINO FUNGI
DIVISIÓN AMASTIGOMYCOTA

FASE TELEOMORFA

SUBDIVISIÓN ASCOMYCOTINA
CLASE ASCOMYCETES
SUBCLASE PLECTOMYCETIDAE
ORDEN ONYGENALES
FAMILIA GYMNOASCACEAE
GÉNERO:
Arthroderma Currey.

FASE ANAMORFA

SUBDIVISIÓN DEUTEROMYCOTINA
CLASE DEUTEROMYCETES
SUBCLASE HYPHOMYCETIDAE
ORDEN MONILIALES
FAMILIA MONILIACEAE
GÉNEROS:
Trichophyton Malmsten.
Microsporum Gruby.
Epidermophyton Sabouraud.

REPRODUCCIÓN DE LOS DERMATOFITOS.

Algunos dermatofitos al igual que una gran cantidad de hongos presentan dos tipos de reproducción: sexual y asexual. *In vitro* la reproducción asexual fue la primera que se observó, por lo que fueron las estructuras morfológicas formadas durante esta fase de reproducción las que se consideraron para diferenciar una especie de otra¹³. En algunas especies la reproducción sexual se puede inducir fácilmente *in vitro*, pero de la mayoría de los dermatofitos antropofílicos se desconoce la fase perfecta.

REPRODUCCIÓN ASEXUAL.

Las estructuras características de este tipo de reproducción son los conidios, y dependiendo del tamaño relativo que tienen se les denomina macroconidios o microconidios. En general se ha observado que los tres géneros de dermatofitos contienen la información genética para la formación de macroconidios. De acuerdo a Cole (1981, 1983 y 1986), en estos hongos estas estructuras generalmente son multinucleadas, multiseptadas, y se originan por la diferenciación de un filamento fúngico en célula conidiógena o célula fértil que forma simultáneamente un septo que la limita del filamento al que se encuentra unido, posteriormente, esta célula conidiógena conforme madura sufre distintos cambios como son la formación de septos, el aumento en el diámetro del filamento y en algunos casos engrosamiento de la pared celular y de los septos; por la forma en que se

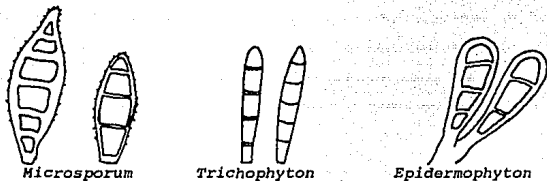
originan los macroconidios en los dermatofitos, se les denomina como conidios tálicos. Debido a que en la formación de la pared celular de los macroconidios participan todas las capas que componen la pared celular de la célula fértil, a estos conidios se les denomina también como holotaloconidios^{9,10,11}.

Los macroconidios muestran diferentes características morfológicas, las cuales han sido utilizadas para la separación de los dermatofitos en tres géneros dentro de los Deuteromycetes, (Fig 2). El género *Trichophyton* presenta macroconidios cilíndricos con el extremo distal redondeado, las paredes lisas y los septos delgados; *Microsporum* forma macroconidios fusiformes y sus paredes presentan ornamentaciones, los septos pueden ser delgados como en *M. gypseum* (Bodin) Guiart y Grigorakis, o gruesos como los de *M. canis*; en el género *Epidermophyton* los macroconidios son gruesos y redondeados en el extremo distal y son de menor grosor por el extremo donde se unen al filamento que los sostiene, se producen en racimos, las paredes pueden ser ornamentadas o lisas y los septos son delgados^{4,40}, el tamaño de los macroconidios en los dermatofitos es de 4-20 x 8-160 μm .

Los microconidios son estructuras que miden de 2-3.5 x 2-8 μm , son unicelulares y se desarrollan a partir de un filamento, pueden ser laterales o terminales y solo se forman en los géneros *Trichophyton* y *Microsporum*.

Dentro de las diferentes especies de dermatofitos existen además otras estructuras asociadas a la reproducción asexual como los artroconidios y clamidoconidios, estructuras consideradas como holotáticas¹¹.

FIGURA 2. TIPOS DE MACROCONIDIOS EN LOS TRES GÉNEROS DE DERMATOFITOS, FORMADOS DURANTE LA REPRODUCCIÓN ASEJUAL.



REPRODUCCIÓN SEXUAL

En general los dermatofitos son heterotálicos, por lo que es necesario el contacto entre dos cepas compatibles en donde una de ellas (Mayor +), forma un anteridio y la otra (Menor -), forma un ascogonio y que por contacto gametangial (plasmogamia) originan un filamento (tricógino) en donde los núcleos de las dos cepas + y - se fusionan (cariogamia), la célula donde se lleva a cabo este evento es la que se transforma primero en hifas ascógenas y posteriormente en asca que en su interior, después de que los núcleos sufren una meiosis, se da origen a las ascosporas, simultáneamente a estos eventos el micelio que rodea las ascas desarrolla una trama laxa de hifas que dan origen a los cleistotecios. A los filamentos de la periferia del cleistotecio que presentan formas y ornamentaciones diferentes, se les denomina como

hifas peridiales y se les ha tomado en consideración para la clasificación de los dermatofitos dentro de los Ascomycetes, creándose con ellos el único género válido para la fase sexual o teleomórfica de los dermatofitos, *Arthroderma*.

NUTRICIÓN.

In vitro el crecimiento de los dermatofitos en medios de cultivo que contienen distintos azúcares como fuentes de energía han exhibido un crecimiento óptimo cuando se les proporciona glucosa o dextrosa y una fuente nitrogenada como nitrógeno orgánico ya sea como proteínas o en moléculas más sencillas como los aminoácidos³⁰.

Trabajos realizados con *T. mentagrophytes*, *T. rubrum* y *T. tonsurans*, han mostrado que el crecimiento *in vitro* de estos hongos fue superior cuando se les sembraba en medios complejos que contenían extractos de levadura y peptonas, comparados con el crecimiento obtenido cuando el medio de cultivo solo contenía carbohidratos, lípidos o bien en los medios mínimos²⁰.

Los trabajos realizados para conocer los requerimientos nutricionales de los dermatofitos enfocados hacia las fuentes de nitrógeno orgánico, han logrado mostrar que los hongos queratinofílicos tienen preferencia por sustrato ricos en aminoácidos como la metionina, isoleucina, valina, glicina, alanina y cistina²¹. *T. verrucosum* y *T. concentricum* requieren de la tiamina para crecer en medios de cultivo³⁷.

Una característica encontrada en los dermatofitos es la vía utilizada para la degradación de los aminoácidos, la cual se realiza por desaminación oxidativa, dando como resultado

la producción de amoníaco, compuesto que al salir de la célula fúngica se une a los protones libres (iones H^+), modificando el pH del medio de cultivo, hacia niveles alcalinos (pH 8.5-9)¹².

Los dermatofitos como muchos otros hongos, contienen diversas proteasas endo y exocelulares como ha sido demostrado en *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, *E. floccosum*²⁹, *M. canis*^{33,48} y *M. gypseum*¹², con actividad óptima tanto en ambientes ácidos, como en ambientes alcalinos.

En *M. canis* se han encontrado evidencias de que la síntesis de proteasas es regulada por la presencia de proteínas y que esta síntesis es modulada por la ausencia o presencia de algunos aminoácidos³³. Otros estudios han revelado que en *T. rubrum* la síntesis de proteasas es regulada por la glucosa⁴⁴.

De la producción de proteasas, las queratinasas en particular, han ocupado la atención de muchos investigadores, por lo que se les ha tratado de aislar y caracterizar, encontrándose que estas enzimas varían de especie a especie, siendo menor la actividad queratinofílica en los hongos antropofílicos como *T. rubrum* y *E. floccosum* en tanto que *T. mentagrophytes*, zoofílico, y *M. gypseum*, geofílico, muestran una mayor actividad queratinofílica en cultivo, razón por la cual se considera que las dermatofitosis causadas por los dermatofitos zoofílicos y los geofílicos exhiben una mayor agresividad, aspecto que es poco observado con los dermatofitos antropofílicos²⁹.

CULTIVO DE DERMATOFITOS

El primer aislamiento de un dermatofito fue realizado el siglo pasado cuando se frotaron rebanadas de papa en las

lesiones de una tifa fávica lográndose aislar a *Trichophyton schoenleinii*⁴⁰. Sin embargo, debieron pasar más de 40 años antes de que se estableciera una metodología que asegurara el aislamiento de estos hongos queratinofílicos a partir de muestras parasitadas. Fue Raymond Sabouraud con los estudios que realizó de 1890 a 1910, resumidos en su libro "Les Tignes", quien estableció el primer medio de cultivo sólido para el crecimiento de dermatofitos, el cual consistía de maltosa cruda (Brute de Chanut) o glucosa (Massée de Chanut) al 4% (40 g/l) y peptona francesa granulada (Granulée de Chassaing) al 1% (10 g/l)^{19,47}. En la actualidad, a este medio de cultivo se le conoce como medio de Sabouraud o Sabouraud-Dextrosa-Agar (SDA). Aún cuando conserva el mismo nombre, este medio ha sido modificado; la peptona y la fuente de energía en el medio original de SDA han sido sustituidas y dependiendo de la casa comercial que lo fabrique se utilizan peptonas de origen diverso y como fuente de energía se le agrega dextrosa o glucosa³².

El SDA ha servido como el medio de referencia para la elaboración de otros medios de cultivo utilizados en los laboratorios clínicos y de investigación micológica. Para una mejor recuperación de dermatofitos de productos biológicos parasitados, se disminuyó al 2% (20 g/l) la fuente de energía y carbono y se ajustó el pH de 5.5 (en el original) a 6.7, la peptona en este medio es un digerido enzimático de soya y se agrega en una concentración del 1% (10 g/l); posteriormente se le agregó un antifúngico (cicloheximida 0.4 g/l) y un antibacteriano (cloranfenicol 0.05 g/l), estableciendo así un medio selectivo para dermatofitos, a éste medio se le conoce generalmente como Sabouraud-antibiótico (S-a)^{14,41,47}. Otros medios de cultivo formulados con el fin de lograr una mejor recuperación de dermatofitos,

a partir de muestras parasitadas y para lograr una mejor caracterización de los hongos queratinofílicos, son los medios selectivos: azul de Wiegand² y el medio de prueba para dermatofitos Dermatophyte Test Medium, (DTM)⁴².

En estos medios de cultivo se aprovecha ventajosamente que los dermatofitos presenten: a) resistencia a la cicloheximida, b) capacidad para modificar el pH del ambiente en el cual se desarrollan haciéndolo alcalino y c) la habilidad para crecer en ambientes alcalinos^{30,52}. Así conociendo estas características, se agregó, a los medios selectivos mencionados anteriormente, un indicador de pH, que en el caso del medio de Wiegand es el azul de metileno, y en el DTM es el rojo fenol, estos indicadores viran del azul a incoloro y de amarillo a rojo, respectivamente, cuando pasan de un estado ácido a uno alcalino², debido al amoníaco (NH_3) que resulta de la degradación de los aminoácidos por los dermatofitos³⁷.

Un enfoque distinto en la preparación de los medios de cultivo para el crecimiento de dermatofitos, es el aplicado al conocimiento básico, fisiología, bioquímica, biología celular y molecular de éstos organismos, por lo que el diseño de medios útiles para estos objetivos se centra en la preparación de medios químicamente definidos líquidos o sólidos, a través de los cuales se hace la medición de las variables nutricionales y fisicoquímicas que se manipulan, así como de los efectos que se manifiestan en las células fúngicas, logrando conocer factores de crecimiento, diferenciación celular, patogenicidad, regulación metabólica, genética, etc.^{30,47}.

Debido al desconocimiento de la fase perfecta o teleomórfica de un gran número de dermatofitos, entre ellos

los antropofílicos, se han probado diferentes medios de cultivo para inducir la reproducción sexual en estos organismos, algunas veces con interés taxonómico y otras enfocadas al aspecto clínico, en este último caso para tratar de conocer la posible relación entre patogenicidad y tipo de cepa (Mayor o Minor)²⁵.

En la elaboración de estos medios se ha utilizado una amplia gama de productos y compuestos naturales o procesados: crines de yegua, pelos de niño, tierra esterilizada, medios preparados con avena, puré de jitomate, cereales mixtos, entre otros^{18,35,36,51,52}.

El SDA utilizado en la actualidad es un medio complejo que contiene dextrosa como fuente energía y una peptona como fuente nitrogenada, la cual es un hidrolizado mixto de caseína y tejidos animales. Los medios S-a y DTM al igual que el SDA contienen dextrosa y como fuente nitrogenada un hidrolizado papaínico de harina de soya, peptona que fue seleccionada por su alto contenido proteico⁴⁰. Los medios S-a y DTM han mostrado rendimientos similares en el aislamiento de dermatofitos⁴⁰, sin embargo, al igual que en el SDA un elevado número de cepas no producen las características microscópicas esenciales para su identificación y muchas de ellas muestran una fuerte tendencia a la pérdida de todas las estructuras típicas de la reproducción asexual. Para tratar de eliminar estos obstáculos, en distintos laboratorios micológicos se evalúan medios de cultivo preparados con productos naturales obtenidos en sus localidades, por lo que han realizado estudios para conocer las ventajas de preparar medios con: aguacate, coco, papaya, etc.³¹. En San Luis Potosí, Méx., se utilizó la pulpa de tuna para la preparación de un medio de cultivo para el crecimiento de los dermatofitos³.

Boralli (1987) propuso un medio preparado con: harina de trigo, leche descremada y miel de abeja para estimular la producción de conidios, a este medio se le conoce como Lactrimel o medio de Borelli⁵. Otros medios utilizados para la diferenciación de cepas es el preparado con harina de maíz y los utilizados rutinariamente como lo son el agar-papa-dextrosa, el medio de Benett, el agar de malta³⁸, que son empleados para la conservación de estos organismos en las colecciones micológicas.

CULTIVO DE MICROORGANISMOS

Durante el desarrollo de la microbiología, uno de los aspectos más relevantes ha sido el poder contar en el laboratorio con poblaciones puras de microorganismos que permitan su estudio, por lo que fue necesario proporcionarles un conjunto de sustancias (medio de cultivo), que los microorganismos utilizaran como nutrientes, favoreciendo así su desarrollo fuera de su hábitat natural¹⁶. De esta manera, los medios de cultivo han sido una de las herramientas más ampliamente utilizadas en el avance de la microbiología, el cultivo de células o tejidos y el desarrollo de la biotecnología. Los medios de cultivo utilizados en estas áreas, presentan características diferentes dependiendo del tipo de estudio que se realiza con estos organismos o sistemas biológicos y de los productos que se desean obtener de ellos.

Por su consistencia, a los medios de cultivo, se les divide generalmente en medios líquidos, semisólidos y sólidos. Por el tipo de sustancias que son utilizadas como

nutrientes se les divide en: naturales o empíricos, semisintéticos y sintéticos o definidos.

Los medios naturales, se consideran por su preparación, como los más sencillos y por su composición como los más complejos ya que no hay un conocimiento cuantitativo de los nutrientes que se encuentran en éstos medios de cultivo, aún cuando estos medios presentan grandes desventajas para utilizarlos en estudios de ciencia básica, fueron los primeros medios que se utilizaron en la microbiología y actualmente en la biotecnología moderna, estos medios de cultivo son ampliamente utilizados para la obtención de biomasa, enzimas y metabolitos secundarios. En los laboratorios su utilidad ocupa un lugar importante para estudios de aislamiento y purificación de cepas a partir de sus hábitats naturales o de muestras parasitadas. Estos medios de cultivo se preparan básicamente a partir de leche, sangre diluida, jugos vegetales, infusiones de tejidos vegetales o animales, utilizándose también células y organismos multicelulares. Los medios sintéticos son aquellos que se preparan a base de compuestos químicamente puros, los cuales son agregados en concentraciones conocidas, con las proporciones adecuadas al microorganismo que se desea cultivar. Los medios de cultivo semisintéticos resultan de la utilización de extractos e hidrolizados de productos vegetales y animales, estos hidrolizados son las sustancias que se conocen como peptonas, a los cuales se les suele agregar compuestos químicamente puros en concentraciones conocidas.

AMARANTO

El amaranto (*Amaranthus* sp) es una planta productora de granos los cuales han sido utilizados dentro de la dieta de

algunos grupos humanos en la Republica Mexicana, además la planta es utilizada como ornamento o se obtienen de ella algunos colorantes²⁶.

El género *Amaranthus* comprende hierbas anuales de 1.5 a 2 m de altura, son procumbentes erectas, con hojas elípticas y lanceoladas, con ápice de agudo a acuminado, simples, alternas, enteras y largamente pecioladas.

Las plantas generalmente están matizadas con un pigmento rojizo llamado amarantina, algunas formas cultivadas son intensamente coloreadas. El color se manifiesta desde las primeras etapas de crecimiento de las plántulas, poco después de la germinación.

Las unidades básicas de la inflorescencia son los llamados glómérulos; cada uno consiste de una flor estaminada inicial y un número indefinido de flores femeninas. Los glómérulos están agrupados en un eje sin hojas para formar complejas inflorescencias. El eje principal de la inflorescencia usualmente es ramificada. La longitud y número de esas ramas, con su ángulo y el eje principal determinan la forma de la inflorescencia.

Las flores unisexuales, en plantas monoicas o dioicas forman densos racimos, situados en las axilas de las hojas y en algunas especies en inflorescencias terminales densas, sin hojas. Cada dicasio lleva una bráctea persistente de punta espinosa, de 3 a 5 sépalos libres y de 3 a 5 estambres, en flores estaminadas; 0-5 en flores pistiladas, con 3 ramificaciones en el estilo, de aspecto plumoso. La femenina forma un utrículo circuncesil simple e indehiscente. La semilla es lenticular, blanca o parda oscura, con el embrión enrollado alrededor de un endospermo amiláceo.

DISTRIBUCIÓN

En la naturaleza, a estas herbáceas, se les encuentra en regiones tropicales, subtropicales y templadas. Los agricultores las cultivan desde los trópicos hasta las tierras semiáridas.

Las plantas de amaranto son tolerantes a suelos arenosos, alcalinos, y también en arcillas ácidas de las laderas de los trópicos. Sin embargo, tradicionalmente se cultiva dentro de la latitud 30⁰ del ecuador, observándose que su crecimiento es satisfactorio cuando se le cultiva en regiones que se encuentran al nivel del mar y en regiones que se localizan en 2800 m sobre el nivel del mar.

ETNOBOTÁNICA

La asociación de los granos de amaranto con el ser humano es anterior al desarrollo de la agricultura⁴⁵. Investigaciones arqueológicas han encontrado en el Valle de Tehuacán amaranto cultivado, correspondiente a los años 6700 a 5000 a.c.²⁴.

Durante la época prehispánica el empleo del amaranto alcanzó su punto más alto durante el dominio del imperio de los Aztecas quienes lo contaban entre sus cultivos principales para su alimentación, además de utilizarlo en las ceremonias religiosas en honor a sus dioses. Las semillas se limpiaban y se molían hasta obtener una harina que se mezclaba con miel obteniendo una masa a la que se le conocía como "zoalli" o "zoale", con esta masa se modelaba el cuerpo de la deidad a quien se dedicaba la festividad: "...la figura de Huitzilopochtli se hacía para las fiestas de Panquetzaliztli y Tlacaxipehualiztli la del dios del fuego, durante Xocotl, Huetzim Tlaloc y los "tepitoc-ton", dioses

acústicos de las montañas, por lo que se les modelaba en forma de cerros con cabeza y se les figuraban los dientes con pepitas de calabaza y los ojos con frijoles llamados ayocotli⁵⁰.

Los purépechas al igual que los mexicas practicaban rituales parecidos, con la masa hacían pequeñas figuras de animales a las que nombraban "tuysen" y las ofrendaban a una diosa que era considerada la madre de todos los dioses y dadora de todos los granos y semillas. Asimismo, los pueblos sometidos por los mexicas lo entregaban como tributo a los aztecas.

A partir de la conquista de los pueblos mesoamericanos por los españoles, el cultivo del amaranto disminuyó drásticamente ya que su consumo y utilización fue perseguido por los religiosos llegados durante la conquista.

Actualmente el amaranto se cultiva en lugares de climas templados como Tulyehualco y Xochimilco, D.F; en los estados de Morelos, Puebla y en pequeñas superficies de Michoacán, Jalisco, Sonora, Chihuahua, Sinaloa, Durango, Guerrero, Tlaxcala, Puebla y Oaxaca⁴³.

Las semillas de amaranto en la actualidad son utilizadas principalmente en la fabricación de dulces y en la repostería. Distintas instituciones nacionales realizan estudios para incrementar las posibilidades de uso, como complemento nutricional para el hombre, y los animales.

TAXONOMÍA.

La familia Amaranthaceae (Dicotiledoneas, orden Caryophyllales) se compone de 60 géneros y aproximadamente 800 especies de plantas herbáceas anuales.

El género *Amaranthus* que pertenece a ésta familia, se subdivide en dos secciones *Amaranthus* y *Blitopsis*.

Dentro de la sección *Amaranthus* se incluyen a: *Amaranthus cruentus*, *A. caudatus*, *A. hypochondriacus* y *A. edulis*, todas productoras de granos¹⁵.

Recientemente la planta de amaranto ha despertado el interés de los científicos y biotecnólogos, debido a que el contenido proteico en esta planta y principalmente en sus semillas ha mostrado ser superior a los cereales ampliamente utilizados, por lo que en diferentes estudios se trata de conocer su fisiología, bioquímica, requerimientos nutricionales y condiciones fisicoquímicas adecuadas para obtener un mayor rendimiento de esta planta. Por otra parte, la biotecnología en alimentos realiza las investigaciones enfocadas hacia su posible utilización como un complemento nutricional de los distintos alimentos utilizados por el ser humano.

Otros aspectos que han ayudado a despertar el interés de diversas ramas científicas en estas plantas se deben a su amplia adaptabilidad climática y a su gran variabilidad genética, que la revela como un recurso de germoplasma muy valioso y superior a la de los cereales de interés comercial, tanto por la alta calidad proteínica de sus granos, como por el buen potencial de rendimiento del mismo.

Estudios realizados para conocer la calidad del grano de amaranto han mostrado que el contenido de proteína va de 14.8 a 17.8 g/100 g de base seca, con elevada cantidad de almidón y 65g/100 g de hidratos de carbono. El análisis del contenido de aminoácidos (aa) indican que la semilla de amaranto es rica en lisina, aa aromáticos y azufrados: cistina y

cisteína^{27,49}. También se ha señalado que la eficiencia de conversión proteica de la semilla de amaranto aumenta notablemente cuando la semilla es tostada aproximándose a la del patrón de caseína. Con respecto a su contenido vitamínico, se debe destacar a la tiamina y como precursor de la vitamina A se encuentran los carotenos. El contenido de elementos inorgánicos es relativamente alto en calcio, fósforo, zinc, hierro y sobre todo magnesio⁶.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En los laboratorios micológicos muchas de las cepas recuperadas de muestras parasitadas por dermatofitos, no desarrollan las características microscópicas necesarias para su determinación a nivel de especie o bien, éstas pierden toda la morfología microscópica típica cuando son resemebradas en los medios de cultivo utilizados comunmente, como lo son el SDA y S-a, dificultando los estudios genéticos, fisiológicos y bioquímicos de las cepas, repercutiendo en los procedimientos epidemiológicos en torno a los dermatofitos.

Aunado a estos problemas, se ha observado que muchos dermatofitos, sobre todo los antropofílicos, muestran una tendencia al crecimiento lento y a la producción escasa o nula de los conidios⁴⁰, perdiendo toda la relación con las formas de reproducción primitivas al invadir y adaptarse a sus hospederos³³. También se ha observado que en los medios de cultivo con que se cuenta en la actualidad, hay una mayor formación de micelio vegetativo en detrimento de las estructuras de reproducción asexual. Otro aspecto importante se refiere a los costos, los cuales son elevados cuando se utilizan las formulaciones comerciales.

JUSTIFICACIÓN.

La escasa o nula producción de las estructuras microscópicas útiles para la identificación de los dermatofitos en los diversos medios de cultivo utilizados en los laboratorios de micología médica, exige la búsqueda constante de compuestos que estimulen la formación de éstas estructuras; por lo anterior se establece la necesidad de desarrollar un medio de cultivo que favorezca el crecimiento y el desarrollo de las estructuras que ayuden en la identificación de los dermatofitos.

Por otra parte, estudios realizados con las semillas de amaranto (*Amaranthus* sp), han mostrado que éstas contienen elevadas concentraciones de nutrientes: proteínas, vitaminas y compuestos inorgánicos, los cuales se ajustan en general a los requerimientos de los dermatofitos, por lo que se cree que los medios preparados con la harina de estas semillas serían una alternativa para el cultivo de los dermatofitos. Además el costo es bajo ya que se trata de una planta regional de gran disponibilidad.

HIPÓTESIS

En los medios preparados con harina de amaranto, por su alto contenido proteico, compuestos inorgánicos, vitaminas y su escasa concentración de azúcares se podrá inducir a los dermatofitos geofílicos, zoofílicos y antropofílicos a la formación de abundantes conidios.

OBJETIVO GENERAL.

Disponer de un nuevo medio de cultivo que favorezca el desarrollo de las estructuras morfológicas de los dermatofitos para facilitar su identificación.

OBJETIVOS PARTICULARES.

I Determinar la utilidad de la harina de amaranto en la preparación de tres diferentes medios de cultivo: a) Harina de amaranto a pH 6.7, b) Harina de amaranto con Dextrosa, pH 6.7, y 3) Harina de amaranto con pH 8.

II Precisar las características macro y microscópicas de los dermatofitos desarrollados en los tres medios de amaranto mencionados.

III Comparar las características macroscópicas y microscópicas que se observan en SDA con las que se observan en los tres medios de amaranto.

MATERIALES Y MÉTODOS

CEPAS

Se utilizaron 53 cepas de dermatofitos (TABLA. 1), de las cuales, 4 cepas corresponden a especies geofílicas (*Trichophyton terrestre*, 2; *T. ajelloi*, 1; y *Microsporum gypseum*, 1); 15 a las especies zoofílicas (*M. distortum*, 1; *M. canis*, 7 y *T. mentagrophytes*, 7); y 34 a las especies antropofílicas (*T. schoenleinii*, 3; *T. tonsurans*, 6; *T. rubrum*, 19 y *E. floccosum*, 6). Del total de cepas, 32 fueron aislamientos recientes de casos de dermatofitosis en humanos, y 21 cepas se obtuvieron de colecciones micológicas; 13 obtenidas de la colección micológica del Laboratorio de Micología Médica de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México y 8 de la colección de la Unidad de Micología, Instituto Pasteur de Paris, Francia.

MEDIOS DE CULTIVO

Se utilizaron cinco diferentes medios de cultivo.

- 1) Sabouraud líquido (dextrosa 2%, peptona 1%), Bioxon de México, S. A. (S-liq).
- 2) Sabouraud-Dextrosa-Agar (dextrosa 4%, peptona 1%, agar 1.5%) Bioxon de México, S. A. (SDA).
- 3) Harina de Amaranto (*Amaranthus* sp) pH 6.7 (HA pH 6.7).
- 4) Harina de Amaranto (*Amaranthus* sp) con Dextrosa pH 6.7 (HAD pH 6.7).

5) Harina de Amaranto (*Amaranthus* sp) pH 8 (HA pH 8).

En el medio S-liq se sembraron las 53 cepas de dermatofitos, para obtener colonias de estos hongos en condiciones morfológicas y fisiológicas similares, a partir de las cuales se tomaron los inóculos, y que posteriormente se sembraron en los tres medios de amaranto y el SDA. Este último se utilizó como el medio de referencia para comparar las estructuras morfológicas desarrolladas con las obtenidas en los tres diferentes medios de amaranto.

PREPARACIÓN DEL MEDIO SABOURAUD LIQUIDO.

- 1.- Pesar 30 gramos del medio de cultivo.
- 2.- Agregar 1000 ml de agua destilada.
- 3.- Distribuir 75 ml del medio de cultivo en matraces de 125 ml.
- 4.- Esterilizar 15 min a 120°C y 15 lib de presión.
- 5.- Almacenar a 4°C.

PREPARACIÓN DEL MEDIO SABOURAUD-DEXTROSA-AGAR

- 1.- Pesar 65 gramos del medio de cultivo.
- 2.- Agregar 1000 ml de agua destilada.
- 3.- Esterilizar 15 min a 120°C y 15 lib de presión.
- 4.- Vaciar en cajas de petri estériles de 10 cm de diámetro.

- 5.- Dejar solidificar.
- 6.- Almacenar a 4⁰C.

PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO DE HARINA
DE AMARANTO pH 6.7, Y pH 8.

- 1.- Pesar 25 g de la harina de amaranto y colocarla en un matraz.
- 2.- Agregar 800 ml de agua destilada.
- 3.- Calentar a ebullición durante 30 minutos.
- 4.- Dejar sedimentar por tres horas.
- 5.- Desechar el sedimento.
- 6.- Aforar el sobrenadante a 1000 ml.
- 7.- Ajustar el pH (según el caso, a pH 6.7 ó a pH 8).
- 8.- Agregar 16 g de agar.
- 9.- Esterilizar 15 minutos a 120⁰C y 15 lib de presión.
- 10.- Vaciar en cajas de petri estériles de 10 cm de diámetro.
- 11.- Dejar solidificar.
- 12.- Almacenar a 4⁰C.

PREPARACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO DE HARINA DE AMARANTO
CON DEXTROSA pH 6.7

Se procede a la preparación de la misma forma que en los medios de amaranto descrita anteriormente. Después del paso seis se agrega 10 g de dextrosa, se ajusta el pH a 6.7, y se continúa con el procedimiento descrito para los medios HA pH 6.7 y pH 8.

La concentración de harina de amaranto utilizada en cada uno de los tres medios de cultivo, se eligió debido a que al no existir antecedentes de su utilización en la preparación de medios de cultivo para microorganismos, se optó por una cantidad de harina que no involucrara problemas en su manejo, así como que contuviera una cantidad suficiente de nutrientes para el desarrollo de los dermatofitos. El tiempo de ebullición de la harina de amaranto, fue considerado el necesario para lograr la hidrólisis de glucopéptidos, y la desnaturalización de las proteínas contenidas en la harina de amaranto, el tiempo de sedimentación utilizado fue el adecuado para obtener una infusión lo suficientemente clara, además de permitir la eliminación de restos de las semillas de amaranto que interfirieran con la observación de algunas características de los dermatofitos. El pH 6.7 (HA Y HAD pH 6.7), fue seleccionado debido a que es el pH del epitelio estratificado córneo del hombre, el cual es parasitado por estos hongos queratinofílicos; el medio de cultivo alcalino (HA pH 8), se seleccionó debido a que se ha observado que *in vitro*, los dermatofitos modifican el pH del sustrato haciéndolo alcalino sin alterar su crecimiento.

PREPARACIÓN DEL INÓCULO

Todas las cepas se sembraron en 75 ml de Sabouraud líquido y se incubaron 30 días a 27°C. Las colonias formadas en el medio líquido se lavaron con agua destilada estéril e inmediatamente después, de cada una de estas colonias se obtenían inóculos de 5 mm de diámetro. Los inóculos se sembraron en el centro de las cajas de petri que contenían los medios de cultivo: SDA, HA pH 6.7, HAD pH 6.7 y HA pH 8, éste procedimiento se hizo por triplicado para cada cepa y en cada uno de los medios de cultivo. Las cajas inoculadas se incubaron a 27°C durante 15 días. Al término del periodo de incubación se observaron y se anotaron las características macrosocópicas y microscópicas de cada una de las colonias formadas, bajo los siguientes parámetros: Macrosocópicamente se consideró; a) el color del anverso, b) el aspecto (algodonoso, aterciopelado, etc.), c) el relieve (plegado, liso, plano, etc.), d) el diámetro y e) el color del reverso; el diámetro de las colonias se midió sobre dos ejes perpendiculares trazados en el reverso de las cajas, promediando los resultados.

Las características microscópicas observadas fueron: a) la formación o no de los macroconidios y microconidios y b) la formación de filamentos modificados, para lo cual, se realizaron preparaciones de cada una de las colonias obtenidas en los diferentes medios de cultivo, las cuales fueron teñidas con azul de algodón y posteriormente observadas al microscopio en campo claro, utilizando los objetivos de 10X, 40X y 100X, y con el ocular de 10X.

RESULTADOS**DERMATOFITOS GEOFÍLICOS.*****Trichophyton terrestre***

(2 cepas).

(Tabla 2)

Las dos cepas mostraron morfología macroscópica distinta entre sí al desarrollarse en SDA. La cepa CLMM-154 desarrolló colonias de aspecto algodonoso de color blanco, su relieve fue plano y el reverso fue de color blanco. La cepa CLMM-156 formó micelio con aspecto aterciopelado de color crema, con relieve plegado y el reverso amarillento. El diámetro promedio de las dos cepas fue de 60.5 mm. No se encontraron diferencias microscópicas entre las dos cepas, los microconidios y los macroconidios fueron abundantes, dispuestos lateralmente sobre las hifas, los microconidios fueron unicelulares, los macroconidios se observaron cilíndricos con el extremo distal romo y redondeado, regularmente con más de tres septos.

En los tres medios de amaranto las dos cepas desarrollaron poco micelio aéreo, dando un aspecto veloso y polvoso, el color del micelio fue blanco, el relieve de las colonias fue plano, la única diferencia que se observó fueron los diámetros promedio de las colonias siendo de 53.92 mm

para las que crecieron en HA con pH 6.7, de 54.16 mm para las colonias crecidas en HAD a pH 6.7 y de 57.08 mm para las crecidas en HA con pH 8. Las dos cepas de *T. terrestre* sembradas en los medios de amaranto mostraron desarrollo microscópico semejante al encontrado en SDA.

Trichophyton ajelloi.

(1 cepa)

(Tabla 3)

Esta cepa sembrada en SDA formó una colonia de color anaranjado con aspecto polvoso-grumoso, de relieve plegado. En el reverso de la colonia se observó un pigmento pardo-oscuro a negro, el diámetro de esta colonia fue de 54 mm. En el examen microscópico se encontraron macroconidios abundantes, cilíndricos con el ápice redondeado.

En los tres medios de amaranto las colonias mostraron un aspecto vellosa-polvosa de color beige, su relieve fue plano. Únicamente las colonias que se desarrollaron en el medio de cultivo HAD pH 6.7 mostraron en el reverso un pigmento pardo-oscuro. El diámetro promedio de las colonias fue de 51.7 mm en HA pH 6.7, 54.16 mm en HAD pH 6.7 y 57.08 mm en HA pH 8. En los tres medios de amaranto los macroconidios fueron abundantes semejantes a los encontrados en SDA.

Microsporium gypseum.

(1 cepa)

(Tabla 4)

Esta cepa en SDA formó colonias de color beige, de aspecto polvoso, relieve plano, reverso de color blanco, el diámetro promedio de crecimiento en SDA fue de 90.3 mm. Los macroconidios, de forma elipsoidal con espículas sobre la cara externa de la pared, fueron abundantes.

En los tres medios de amaranto ésta cepa formó colonias con poco micelio aéreo por lo que su aspecto era vellosopolvoso, con algunas zonas algodonosas, de relieve plano. En los medios de amaranto sin dextrosa el reverso de las colonias fue amarillento y en el medio HAD pH 6.7 las colonias sintetizaban pigmento rojo en algunas zonas del reverso de la colonia. Los diámetros de crecimiento observados fueron de 79.7 mm en HA pH 6.7, 80.8 mm en HAD pH 6.7 y 83.3 mm en HA pH 8. En las preparaciones microscópicas se observaron microconidios abundantes en forma de clava y unicelulares, los macroconidios fueron semejantes a los encontrados en SDA.

DERMATOFITOS ZOOFÍLICOS*Microsporium distortum.*

(1 cepa)

(Tabla 5)

En el SDA la colonia mostró una colonia de aspecto veloso, grueso, áspero, de color pardo, su relieve fue plano, en la parte posterior de la colonia se observó un pigmento amarillento, el diámetro promedio fue de 54.7 mm. Los macroconidios fueron escasos, de forma irregular, con espículas, de septos y paredes gruesas.

En los medios de amaranto el micelio fue algodonoso de color blanco y de relieve plano, en el reverso de las colonias crecidas en HAD pH 6.7 se formó un pigmento amarillento, el diámetro de las colonias en cada uno de los medios de amaranto probados fue: de 52 mm en HA pH 6.7, de 47.5 mm en HAD pH 6.7, y de 50.3 mm en HA pH 8. Los macroconidios fueron semejantes a los encontrados en SDA.

Microsporium canis.

(7 cepas)

(Tabla 6; Figuras 3, 4 y 5)

Las cepas que crecieron en SDA formaron micelio aéreo algodonoso, cuatro cepas mostraron color blanco, dos fueron de color crema, una cepa (LB-100389) solo formó micelio

dentro del sustrato; el relieve fue plano en todas las cepas. Todos los cultivos de esta especie en SDA sintetizaron un pigmento amarillo a anaranjado, visible por el reverso de la colonia; el diámetro promedio de las colonias a los 15 días de crecimiento fue de 78.3 mm (Fig.3). En la revisión microscópica, a excepción de la cepa LB-100389 que no formó ninguna estructura de reproducción asexual, se observaron numerosos macroconidios fusiformes asimétricos, con una protuberancia en el ápice además de numerosas espículas superficiales; los microconidios se observaron escasos y en forma de clava.

En los tres medios de amaranto 6 cepas formaron escaso micelio aéreo por lo que tenían aspecto veloso-polvoso, el color fue blanco, la cepa LB-100389 solo desarrolló micelio dentro del sustrato, todas las cepas formaron relieve plano, las colonias crecidas en HAD pH 6.7 sintetizaron un pigmento amarillo visible en el reverso de las colonias. El diámetro de las colonias formadas en los tres medios de amaranto fueron 80.16 mm en HA pH 6.7, 80.68 mm en HAD pH 6.7 y 80.50 mm en HA pH 8. Al microscopio se observó que a excepción de la cepa LB-100389, en todas las cepas crecidas en los medios HA pH 6.7 y pH 8 se formaron gran cantidad de microconidios laterales en forma de clava, formando también numerosos macroconidios fusiformes asimétricos, iguales a los encontrados en SDA.

En HAD pH 6.7 cinco cepas formaron macroconidios como los observados en las cepas crecidas en los medios de amaranto sin dextrosa y el SDA (Fig. 4), sin embargo en una cepa (CLMM-94), el micelio era globoso no conservando la forma de tubo o de filamento; las células dentro de los macroconidios no quedaban limitadas por los septos, sino que estas salían por el extremo donde se encontraba la

protuberancia, quedando varios macroconidios vacíos totalmente, otros solo retenían a las células en el extremo distal más estrecho del macroconidio, ya fuera del macroconidio estas células tomaban el aspecto de protoplastos (Fig. 5). La cepa LB-100389 no formó ninguna estructura de reproducción asexual, al igual que lo observado en SDA.

Trichophyton mentagrophytes.

(7 cepas)

(Tabla 7; Figuras 6, 7 y 8)

En SDA cuatro cepas formaron colonias de aspecto algodonoso y tres las formaron de aspecto aterciopelado, el color fue blanco y blanco-amarillentas, las colonias aterciopeladas mostraron relieve plano y las colonias algodonosas mostraron relieve ligeramente elevado; el reverso en la colonias aterciopeladas fue de color amarillo a tenuemente anaranjadas y el de las colonias algodonosas fue blanco; el diámetro fue de 57.75 mm (Fig. 6). En la revisión microscópica se observaron abundantes microconidios piriformes y esféricos formando racimos, Los macroconidios fueron escasos, observándose hifas en espiral en todas las cepas.

En los medios de amaranto el aspecto de todas las colonias fue polvoso-velloso, el color del micelio en las colonias fue blanco, las zonas polvosas eran amarillentas, el relieve fue plano. En HAD pH 6.7 las colonias de *T. mentagrophytes* mostraron un pigmento amarillento en el reverso, en HA pH 6.7 y pH 8 solo se observó una tenue pigmentación rojiza distribuida irregularmente. Los diámetros

de crecimiento de ésta especie en los medios de amaranto fueron: de 52.98 mm en HA pH 6.7, 55.62 mm en HAD pH 6.7 y de 51.65 mm en HA pH 8.

Los microconidios, macroconidios e hifas en espiral, en los medios a base de amaranto, morfológicamente fueron semejantes a los observados en SDA. En 4 cepas se observaron hifas "peridiales", tres de las cepas las tenían en forma de astas de venado, en una cepa (CLMM-118) estas hifas "peridiales" fueron de 3 a 4 veces más gruesas que los filamentos vegetativos, con espiculas y constricciones entre septo y septo, las hifas se bifurcaban y daban origen a dos nuevos filamentos que se curvaban hacia el exterior del filamento que los había originado y formando en el ápice una hifa en espiral (Fig. 7, 8).

DERMATOFITOS ANTROPOFÍLICOS

Trichophyton schoenleinii.

(3 cepas)

(Tabla 8; Figuras 9 y 10)

En SDA dos cepas formaron colonias blancas aterciopeladas y en una fueron cerosas, el color de las

colonias de las tres cepas fué blanco, mostrando un relieve con numerosos pliegues irregulares; el reverso de las colonias fue de color amarillo y el diámetro de crecimiento en las tres cepas fué de 30.16 mm (Fig. 9). Al microscopio se observaron hifas hialinas y en sus extremos, ramificaciones cortas, desarrollándose a escasa distancia una de la otra.

En los medios de amaranto éstas cepas formaron colonias vellosas y polvosas, de color blanco y relieve plano, el reverso de la colonia fue de color blanco. El diámetro promedio de las colonias de las tres cepas para cada medio de amaranto fueron: 24.23 mm en HA pH 6.7, 25.96 mm en HAD pH 6.7 y 24.20 mm en HA pH 8. En la preparaciones hechas con muestras de cada una de las colonias formadas en los tres medios de amaranto, a diferencia de lo encontrado en SDA, se observaron microconidios piriformes (Fig. 10).

Trichophyton tonsurans.

(6 cepas)

(Tabla 9; Figura 11)

Las colonias que se desarrollaron en SDA tenían aspecto de gamuza y polvosas, el color de todas las colonias fue blanco-grisáceo, su relieve mostró gran número de pliegues, el reverso fue amarillento, su diámetro promedio fue de 37.45 mm (Fig. 11). Al microscopio se observaron abundantes microconidios piriformes, globosos, alargados, también se

observaron filamentos engrosados distorsionados y clamidoconidios terminales e intercalares.

En los medios preparados con harina de amaranto las colonias fueron polvosas, de color blanco, en HAD pH 6.7 el reverso fue ligeramente anaranjado, los diámetros promedio de crecimiento en cada uno de los medios de amaranto fueron: de 35.96 mm en HA pH 6.7, de 34.7 mm en HAD pH 6.7 y de 34.33 mm en HA pH 8.

Al microscopio se observó que en los tres medios de amaranto las estructuras microscópicas de esta especie fueron similares a las encontradas en SDA, aún cuando los filamentos engrosados y distorsionados eran más abundantes en las cepas crecidas en HAD pH 6.7.

Trichophyton rubrum.

(19 cepas)

(Tabla 10; Figuras 12, 13, 14 y 15)

En esta especie se observó una amplia diversidad de características macroscópicas cuando se sembró en SDA. De las 19 cepas de esta especie sembradas en SDA, 11 cepas fueron algodonosas y 8 aterciopeladas; el color fue blanco en 12 cepas, cremosa en 2 y amarillenta en 5; el relieve fue elevado y liso en 4 cepas, elevado y plegado en 11 y plana en solo 4 cepas. En el reverso se observó que 12 cepas tenían una pigmentación amarilla y en 7 cepas el color fue pardo-rojo, el diámetro en las 19 cepas y sus tres repeticiones fue de 37.8 mm (Fig. 12). La revisión microscópica mostró macroconidios en solo una cepa, los microconidios piriformes

y claviformes solo se formaron en 7 cepas; las otras 12 solo formaron micelio hialino y ramificado (Fig. 13).

En HA pH 6.7, 14 colonias de *T. rubrum* mostraron un aspecto vellosa-polvosa y 5 fueron de aspecto algodonoso, en los otros dos medios de amaranto todas las colonias fueron vellosas-polvosas y de color blanco, el relieve en las 19 cepas fue plano; en HA pH 6.7 el reverso presentó un pigmento blanco en 15 cepas, amarillenta en 2 cepas y rojiza en 2 cepas, en HAD pH 6.7 en el reverso de las colonias se observó que 16 cepas sintetizaron un pigmento rojo y tres sintetizaron un pigmento pardo-rojo (Fig. 14). El diámetro de crecimiento promedio de las 19 cepas para cada uno de los tres medios de amaranto fue de: 33.68 mm en HA pH 6.7, 29.88 mm en HAD pH 6.7 y 33.56 mm en HA pH 8.

En la revisión microscópica se observó que en HA pH 6.7 cuatro cepas formaron macroconidios cilíndricos, alargados y con el ápice distal redondeado, este tipo de estructuras se encontró en solo una cepa crecida en HAD pH 6.7, y 3 cepas en HA pH 8; los microconidios se formaron abundantemente en la totalidad de las cepas crecidas en los medios de amaranto sin dextrosa pH 6.7 y pH 8, en HAD pH 6.7 aún cuando todas las cepas formaron microconidios, éstos se observaron en menor cantidad que los encontrados en los medios de amaranto sin dextrosa, en el medio de amaranto con dextrosa se observó la formación de filamentos pectinados y en raqueta, en todas las cepas de *T. rubrum* (Fig. 15).

Epidermophyton floccosum.

(6 cepas)

(Tabla 11; Figuras 16 y 17)

Las seis cepas de esta especie crecidas en SDA mostraron aspecto aterciopelado de color olivo-amarillento, formando numerosos pliegues, el reverso de las cepas fue amarillo, el diámetro promedio fue de 41.51 mm (Fig. 16). En la revisión microscópica se observaron macroconidios aislados y laterales a la hifa así como racimos terminales de 5 a 6 macroconidios, éstos fueron delgados por el extremo que los unía al conidióforo que los sostenía y eran de un grosor mucho mayor en el ápice distal, con dos o tres septos, con paredes gruesas, encontrándose también abundantes clamidoconidios.

En los medios de cultivo preparados con harina de amaranto las colonias que se formaron fueron de color blanco de aspecto veloso y polvoso, su crecimiento fue plano, en el reverso se observó un pigmento amarillento, los diámetros en las 6 cepas fueron: 26.56 mm en HA pH 6.7, 27.86 mm en HAD pH 6.7, y 25.75 mm en HA pH 8. En las preparaciones hechas con muestras de las colonias formadas en los medios de harina de amaranto se observaron más abundantes que en SDA, con ornamentaciones en su superficie, y acomodados en racimos de 8, 10 o más conidios; se observaron además escasos clamidoconidios (Fig. 17).

DISCUSIÓN

En los hongos las vías metabólicas así como sus características morfológicas pueden ser inducidas específicamente ya sea por los sustratos, por los primeros productos de su metabolismo o cuando se agotan los nutrientes; en los dermatofitos antropofílicos se ha observado que éstos forman conidios cuando se les siembra en sustratos con escasos nutrientes, a este tipo de sustratos se les denomina como medios pobres, sugiriendo entonces que la escasez de nutrientes es lo que favorece la formación de los conidios.

Así también al intentar explicar la incapacidad de los dermatofitos antropofílicos para formar las estructuras de reproducción sexual y en otros, además, las estructuras típicas de la reproducción asexual, se sugiere que se debe a la serie de modificaciones evolutivas que han sufrido en las vías metabólicas que inducen el desarrollo de tales estructuras y concomitantemente se han favorecido aquellas vías que los hacen más eficientes como parásitos. El estudio en dermatofitos ha mostrado la influencia que tienen algunos azúcares y aminoácidos en la regulación de vías metabólicas específicas, postulándose que el cultivo de éstos hongos en medios de cultivo ricos en dextrosa, induce a la pérdida de la capacidad de formación de conidios¹⁴, llamándosele a este fenómeno, pleomorfismo.

Así, ante los conceptos manejados en diferentes estudios, en este trabajo se consideró que la utilización por el hongo de las vías metabólicas responsables de la formación de los conidios, se podría inducir por un medio de cultivo que presentara una composición nutricional con un mayor porcentaje de nitrógeno orgánico que el encontrado en las peptonas con las que se preparan los medios de Sabouraud. De esta manera, fué seleccionada la harina de amaranto como la base para la preparación de tres diferentes medios de cultivo ya que nutricionalmente es superior a las peptonas en su contenido de nitrógeno orgánico, de manera particular en algunos aminoácidos (Tabla 12), además del contenido vitamínico y de algunos compuestos inorgánicos (Tabla 13).

Morfología Macroscópica.

Las 53 cepas de dermatofitos sembradas en los tres medios de cultivo preparados con harina de amaranto, modificaron su morfología colonial, mostrando diferencias notables en relación a las colonias formadas en SDA. La casi totalidad de las especies geofílicas, zoofílicas y antropofílicas mostraron una expresión más homogénea de sus características coloniales en los tres medios de amaranto, entre las diferentes especies, así como dentro de las cepas pertenecientes a una misma especie, a diferencia de lo que se observó cuando estas cepas crecieron en SDA, donde la diversidad de sus características macroscópicas fue amplia. Las diferencias encontradas entre las cepas pertenecientes a una misma especie de dermatofito, en los medios de harina de amaranto, probablemente se deban a que una misma especie está conformada por complejos de variedades, como es el caso de *Trichophyton mentagrophytes* y *T. rubrum*.

Esta expresión homogénea de las características macroscópicas de los dermatofitos utilizados para evaluar los medios de amaranto, se explica por su cercanía filogenética, lo que los hace contener la información genética que codifica para muchas enzimas comunes, respondiendo de una manera similar a los cambios nutricionales en el sustrato donde crecen, sin considerar su grado evolutivo. Es así que la mayoría de los dermatofitos sembrados en HA pH 6.7 y HA pH 8 el color del micelio fue blanco, el relieve plano y sin pliegues.

Una característica de utilidad en la identificación de las especies en los dermatofitos es el pigmento producido por el micelio sumergido en el sustrato, el cual puede difundir al medio o solo darle coloración al reverso de la colonia; esta coloración únicamente se observó en el HAD pH 6.7, no obstante, fué diferente a la observada en SDA. En los medios de harina de amaranto sin dextrosa solo se observaban ligeros matices de color, sin llegar a presentar una pigmentación similar a la encontrada en SDA o en el medio de amaranto con dextrosa.

La pigmentación en los dermatofitos es con toda seguridad dependiente de la presencia de azúcares simples, los cuales solo se agregaron al medio de HAD, pH 6.7 y que en el medio de SDA siempre se encuentran presentes. La escasa pigmentación que se encuentra en los medios de amaranto sin dextrosa tal vez se deba a que en la harina de amaranto hay muy pequeñas cantidades de monosacáridos, los cuales se separan de las grandes cadenas de carbohidratos durante el proceso a que son sometidos los granos de amaranto, previos a la obtención de la harina, quedando disponibles para que los dermatofitos los degraden produciendo de esta manera una muy ligera pigmentación, sin embargo polisacáridos de mayor

complejidad, por su tamaño y tipo de enlaces, resultan ser inaccesibles al hongo por no disponer éste de las enzimas capaces de digerirlos, impidiendo la síntesis de mayor cantidad de pigmento.

En general los diámetros de crecimiento de las cepas que crecieron en SDA fueron ligeramente superiores a los diámetros observados cuando estas mismas cepas crecieron en los tres diferentes medios de amaranto, siendo más evidente esta diferencia en las cepas de *Epidermophyton floccosum*.

Morfología Microscópica.

En los dermatofitos geofílicos el cambio de medio de cultivo no modificó la producción de macro y microconidios, formándose de manera semejante a lo que se observó cuando esta especie creció en SDA. Este comportamiento se puede explicar si se considera que los dermatofitos saprobios han sufrido menos cambios en su contenido genético, comparado al que sufrieron los dermatofitos zoofílicos y antropofílicos en su tránsito al parasitismo, por lo que aún mantienen con pocas variaciones sus vías de absorción de nutrientes, de degradación de amplia variedad de sustratos y de las vías de síntesis involucradas en la formación de macro y microconidios.

En los dermatofitos zoofílicos solo fue la morfología de *Microsporum canis* y de *Trichophyton mentagrophytes* la que mostró cambios cuando estos hongos crecieron en los medios que contenían harina de amaranto. *M. canis*, a diferencia de lo observado cuando esta especie creció en SDA, formó abundantes microconidios. En esta especie, la cepa CLMM-94 al desarrollarse en SDA y los medios de amaranto sin dextrosa

formó macroconidios típicos; cuando creció en HAD pH 6.7, estas estructuras fueron atípicas, en su interior los septos no mantenían los compartimentos del conidio, sin embargo, las células no perdían su individualidad ya que quedaban limitadas por la membrana celular, tampoco se observó que tuviesen pérdida de su contenido citoplásmico, así las células sin una forma definida se desplazaban hacia el extremo apical del macroconidio. La casi totalidad de los macroconidios se abrieron por su protuberancia apical, probablemente por ser la zona más frágil y además por ser el sitio que sufriera la mayor presión por las células libres dentro de los macroconidios, ocasionando la salida de las células, ya en el exterior estas semejabán protoplastos; la gran mayoría de los filamentos en esta cepa no conservaban su forma de tubos sino que al igual que las células que salieron de los macroconidios también mostraban una tendencia a tomar formas isodiamétricas. Es probable que esta cepa sea una mutante y que solo cuando el contenido nutricional de la harina de amaranto y la dextrosa están juntas obligan al hongo para que utilice una vía metabólica distinta a la utilizada cuando crecen en harina de amaranto o en dextrosa y peptona como únicas fuentes nutritivas; esta mutación podría manifestarse provocando la síntesis de septos y de paredes celulares anormales, ya sea a nivel de la síntesis de quitina o de las glucanas. El comportamiento de esta cepa apoya la suposición de que antes que una "pobreza nutricional" inductora de cambios en la producción de estructuras, lo que debe existir es una regulación del metabolismo de los dermatofitos por algunos compuestos moleculares, como la cistina o la alanina los cuales, en este caso, están contenidos en la harina de amaranto y que al no haber dextrosa, o al haber cantidades escasas, se manifiesta una

elevada síntesis de proteasas que favorecen las vías involucradas en la formación de conidios.

En *T. mentagrophytes* la producción de macroconidios fue escasa al sembrarlos en SDA o en los medios de amaranto, ya que solo dos cepas los formaron. Los microconidios y los filamentos en espiral fueron formados por todas las cepas sembradas en los cuatro medios de cultivo utilizados en este trabajo. Es evidente que en esta característica no influyó la composición nutricional de la harina de amaranto.

Otras estructuras que han sido descritas en *T. mentagrophytes* son los filamentos peridiales los cuales solo son formados cuando se entrecruzan las cepas Mayor (+) y Minor (-) de *Arthroderma benhamiae*³⁷; estas hifas peridiales se encuentran en el exterior del estroma de los cleistotecios que contienen las ascas. Algunos autores han señalado la formación de filamentos en forma de "astas de venado", nombrándolas como filamentos tipo peridial. De las siete cepas utilizadas en la evaluación de los medios de harina de amaranto, cuatro de ellas formaron hifas tipo peridial, en HAD pH 6.7 y HA pH 8 y solo tres cepas las formaron en HA pH 6.7.

En una cepa de *T. mentagrophytes* (CLMM-118) los filamentos tipo peridiales mostraban una mayor semejanza con los filamentos descritos para la fase sexual de los dermatofitos y observables en los cleistotecios. La formación, en los medios de harina de amaranto, de estas estructuras anexas a las ascas de los dermatofitos sin que se haya presentado un entrecruzamiento entre dos cepas de la misma especie y de signo contrario, se podría deber a que la misma cepa haya sufrido modificaciones en su contenido nuclear obligándola a comportarse como una cepa de signo

contrario e induciendo la formación de estructuras características de la reproducción sexual en éste cultivo, sin embargo al examen microscópico no se encontraron ascosporas ni ascas vacías que sugirieran un evento abortivo en su formación. Otra explicación sería el considerar que la composición molecular de la harina de amaranto (aminoácidos, vitaminas, compuestos inorgánicos) estimulan alguna vía metabólica utilizada en la formación exclusiva de los filamentos peridiales.

En las especies antropofílicas se encontraron modificaciones interesantes, cuando éstas crecieron en cualquiera de los medios preparados con la harina de amaranto: En *Epidermophyton floccosum*, el número de macroconidios que acompañan cada racimo se incrementaba siendo de 9 a 10 o más macroconidios por racimo y rara vez se encontraron en posición lateral, este desarrollo se puede atribuir a la riqueza de los factores nutricionales de la harina de amaranto, que en este caso están disparando la información genética para producir mayor cantidad de macroconidios.

Las 19 cepas pertenecientes a *Trichophyton rubrum* en los medios preparados con harina de amaranto, formaron microconidios; en cambio solo seis de éstas las formaron en SDA, estas estructuras formadas por los dermatofitos en los medios de harina de amaranto sugiere que existe una fuerte influencia del contenido nutricional de estos medios de cultivo y la producción de microconidios por los dermatofitos, también se observó que *T. rubrum* produjo menos microconidios en HAD pH 6.7 que en HA pH 6.7 y 8; este hecho nos hace suponer en la existencia de algunos nutrientes en la harina de amaranto que inciden sobre alguna vía metabólica requerida para el desarrollo de los conidios o bien que en la

harina de amaranto existe algún compuesto molecular que actúa directamente sobre los genes que controlan la expresión de los conidios y que ésta es inhibida cuando en el medio se encuentra la dextrosa, provocando una escasa formación de conidios, pero sin impediría totalmente cuando se está en presencia de los nutrientes, vitaminas y sales aportadas por la harina de amaranto.

En el medio HAD pH 6.7 también se observó que las cepas de *Trichophyton rubrum* presentaron filamentos modificados tipo pectinados y en raqueta; estructuras que no se observaron en los medios de amaranto sin dextrosa y SDA, los filamentos pectinados se observan como filamentos distorsionados en los cuales hay una formación desorganizada de ramificaciones a partir de una hifa principal, con este mismo medio (HAD pH 6.7) se observó en *M. canis* el desarrollo de estructuras modificadas tanto en las hifas, como en los macroconidios. Esta desorganización se podría deber a que la vía utilizada en la degradación de la dextrosa, es la ruta metabólica parcialmente dominante y que en ausencia de los nutrientes aportados por la harina de amaranto solo se da origen a micelio, sin embargo cuando se encuentran presentes los nutrientes de la harina de amaranto, la formación de filamentos disminuye y se estimula la formación de los microconidios, fenómeno que es apoyado cuando se considera el menor diámetro que alcanzan las colonias formadas en los tres diferentes medios de cultivo a base de harina de amaranto.

CONCLUSIONES

1.- Los dermatofitos geofílicos sembrados en los medios de cultivo preparados con la harina de amaranto, forman los macroconidios y los microconidios de manera semejante a los obtenidos en SDA, por lo que se observan con las mismas características que señalan Rebell y Taplin (1969).

2.- Los dermatofitos zoofílicos y antropofílicos sembrados en harina de amaranto muestran una mayor diversidad de estructuras microscópicas, que las formadas cuando se les siembra en SDA, observándose además, que son los microconidios los más favorecidos en su formación.

3.- La síntesis de pigmento por los dermatofitos únicamente se observó en el medio de amaranto con dextrosa, por lo que es muy probable que este sacárido sea necesario para que, el pigmento característico de cada especie, sea sintetizado.

4.- Las características macroscópicas se modifican en todos los dermatofitos cuando crecen en los medios de amaranto.

5.- La composición nutricional de la harina de amaranto induce la vía metabólica que regula la diferenciación de las células conidiógenas y conidios.

6.- La harina de amaranto contiene alguna o algunas moléculas que estimulan la diferenciación celular para la formación de hifas peridiales.

7.- De los tres diferentes medios preparados con harina de amaranto probados para el cultivo de dermatofitos, fué el

HAD pH 6.7 el que mostró ser de una mayor utilidad en el desarrollo de estos hongos queratinofílicos; al inducir un mayor número de estructuras fúngicas microscópicas y del pigmento característico de cada una de estas especies, las cuales son elementos importantes en la identificación de los dermatofitos.

8.- La utilización de la harina de amaranto en la preparación de medios de cultivo debe extenderse para el crecimiento de otros hongos patógenos de difícil conidiación o de difícil desarrollo *in vitro*, ya sea como medios líquidos o sólidos, así como en la búsqueda de la fase sexual de los Deuteromycetes.

9.- Es recomendable probar la utilidad de la harina de amaranto como medio de cultivo en alguna de las distintas fases del cultivo de hongos comestibles o en el cultivo de microorganismos utilizados en la biotecnología moderna para obtener proteína celular, enzimas o compuestos químicos requeridos en la industria farmacéutica.

10.- El bajo costo de la harina de amaranto, comparado con el valor comercial de las diferentes peptonas, puede disminuir los gastos dedicados a la compra de medios de cultivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1.-Alexopoulos, C. J. and Ch. W. Mims. 1979. Introductory Mycology. John Wiley and Sons. New York.
- 2.-Allen, M. A., R. A. Drewry and R. E. Weaver. 1970. Evaluation of two new color indicator media for diagnosis of dermatophytosis. Arch. Derm., 102:68-70.
- 3.-Alvarez, O.G.. 1990. Determinación de la etiología en 25 casos de dermatofitosis y ensayo de un medio de cultivo a base de tuna para aislamiento de dermatofitos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. San Luis Potosí.
- 4.-Badillet, G. 1989. Dermatophyties et Dermatophytes. En: Cours de Mycologie Medicale. Institut Pasteur. Paris.
- 5.-Borelli, D. 1987. Experiencia con terrenos caseros para micología. Med. Cut. I. L. A., 15:331-336.
- 6.-Bourges, A. 1984. Perfil bromatológico del amaranto. En: Antonio Santos, L. F. Gómez y R. G. Suárez. (Eds.). Seminario Nacional del amaranto. CONACYT. México.

- 7.-Caire, P. 1984. 14 cas de tinea imbricata decouverts dans la region Tojolobal de l'etat de Chiapas (Sudouest du Mexique) caracteristiques mycologiques et remarques sur le traitement par la griseofulvine et le Ketoconazole. Bull. Soc. Fr. Mycol. Med., 12(1):73-78.
- 8.-Clayton, Y. M. and G. Midgley. 1989. Identification of agents of superficial mycoses. En: Evans, E. G. V. and M. D. Richardson. (Eds.) Medical Mycology a practical approach. Irl Press. Oxford.
- 9.-Cole. G. T. 1981. Conidiogenesis and conidiomatal ontogeny En: Cole G. T. and B. Kendrick (Eds.). Biology of conidial fungi, Vol 2. Academic Press, Inc. New York.
- 10.-Cole, G. T., and R. A. Samson. 1983. Conidium and sporangiospore formation in pathogenic microfungi. En: Howard D. H. (Ed.). Fungi pathogenic for humans and animals, Part A. Biology. Marcel Dekker, New York.
- 11.-Cole G. T. 1986. Models of cell differentiation in conidial Fungi. Microbiological Reviews, 50(2):95-132.
- 12.-Deshmukh, S. K. and S. C. Agrawal. 1982. *In vitro* degradation of human hair by some keratinophylic fungi. Mykosen, 25(8):454-458.
- 13.-Emmons, Ch. W. 1934. Dermatophytes. Natural grouping based on the form of the spores and accessory organs. Arch. Derm. and Syph., 30:337-362.
- 14.-Emmons, Ch. W., Ch. H. Binford, J. Pautz and K. J. Kwon-Chung. 1977. Medical Mycology. Lea and Febiger. Philadelphia.

- 15.-Feine, B. J., R. R. Harwood, C. S. Kauffman and J. P. Senft. 1979. Amaranth: Gentle giant the past and future. New Agricultural Crops. AAAS Selected Symposium 38. Westview Press, Boulder Colorado.
- 16.-Frabisher, M., R. D. Hinsdill, K. T. Crabtree and C. R. Gooheart. 1974. Fundamentals of Microbiology. W. B. Saunders Company. Philadelphia.
- 17.-Herrera, T. y M. Ulloa. 1990. El reino de los hongos. Micología básica y aplicada. Universidad Nacional Autónoma de México-Fondo de Cultura Económica. México.
- 18.-Hironaga, M., S. Tanaka and S. Watanabe. 1982. Distribution of mating types among clinical isolates of the *Microsporium gypseum* complex. Mycopathologia, 77: 31-35.
- 19.-Howard H. D.. 1985. Nutrition, Physiology, and Metabolism of Zoopathogenic Fungi. En: Howard, H. D. (Ed.) Fungi Pathogenic for Humans and Animals. Part B. Pathogenicity and Detection: II. Marcel Dekker, Inc. New York. pp: 3-56.
- 20.-Kamalam, A. and A. S. Thambiah. 1980. Growth pattern and constituents of dermatophytes in varied substrates. Mykosen, 23(3):141-150.
- 21.-Kamalam, A. and A. S. Thambiah. 1981. Amino acids in dermatophytes under varied substrates. Mykosen, 24 (7):444-449.
- 22.-López-Martínez, R., R. E. Macotela, F. Mariat y C. Motta. 1972. Dermatofitos. Algunos de sus aspectos epidemiológicos. Rev. Med. del IMSS (Mex), 11(4):242-247.

- 23.-López-Martínez, R.. 1980. Isolation of dermatophytes from different natural sources. En: Pan American Health Organization, Proceedings of the Fifth International Conference on the mycoses. Washington, D. C.. Scientific Publication No. 396: 205-210.
- 24.-Mac Neish, R. S.. 1971. Speculation about how and why food production and village life developed in the Tehuacan Valley, Mexico. Archaeology, 24: 307-315.
- 25.-Manzano-Gayosso, P. 1991. Estudio clínico-epidemiológico de las dermatofitosis. Correlación entre la producción de enzimas y evolución clínica. Tesis de Posgrado. Facultad de Medicina. UNAM.
- 26.-Mapes, C. 1984. Una revisión sobre la utilización del género *Amaranthus* en México. En: Antonio Santos, L. F. Gómez y R. G. Suárez. (Eds.). Seminario Nacional del Amaranto. Conacyt. México.
- 27.-Martínez-Franco, S., B. Cueva-Torres, A. Verver y Vargas-Cortina y M. Segura-Nieto. 1991. Identificación de albúminas con alto contenido de aminoácidos azufrados de semillas de *Amaranthus hypochondriacus* L.. Primer Congreso Internacional del Amaranto. México: 100.
- 28.-Matsumoto, T. and L. Ajello. 1987. Current taxonomic concepts pertaining to the dermatophytes and related fungi. Int. J. Dermatol., 26(8):491-499.
- 29.-Miocha, Y., J. S. Pasricha, L.N. Mohapatra and K.C. Kandhari. 1972. Proteolytic activity of dermatophytes and its role in the pathogenesis of skin lesions. Sabouraudia, 10:79-85.

- 30.-Nickerson, W. J. and J. W. Williams. 1947. Nutrition and Metabolism of pathogenic fungi. En: Nickerson, W. J. (Ed.). Biology of pathogenic fungi. Waltham, Mass. U.S.A.
- 31.-Nzelibe, F. K. and H. C. Gugnani. 1984. Use of local available plant materials for mycological media. Mykosen, 27(10):519-526.
- 32.-Odds, F. C., C. A. Hall and A. B. Abbot. 1978. Peptones and mycological reproductibility. Sabouraudia, 16: 237-246.
- 33.-O'sullivan, J. and G. E. Mathinson. 1971. The localization and secretion of a proteolytic enzyme complex by the dermatophytic fungus *Microsporum canis*. J. Gen Microbiol, 68:319-326.
- 34.-Otcenášek, M. 1978. Ecology of the Dermatophytes. Mycopathologia, 65:67-72.
- 35.-Padhye, A. A. and J. W. Carmichael. 1969. Mating behaviour of *Trichophyton mentagrophytes* varieties paired with *Arthroderma benhamiae* mating types. Sabouraudia, 7:179-181.
- 36.-Padhye, A. A. and J. W. Carmichael. 1970. Mating reactions of pigmented and non-pigmented isolates of *Arthroderma uncinatum*. Sabouraudia, 8 112-115.
- 37.-Rebell, G. and D. Taplin, 1970. Dermatophytes. Their recognition and identification. University Miami Press. Florida.

- 38.-Richardson, M. D. and E. G. V. Evans. 1989. Culture and isolation of fungi. En: E. G. V. Evans and M. D. Richardson (Eds.). Medical Mycology: a Practical approach. Irl Press. Oxford.
- 39.-Rippon, J..1981. Clinical aspects of medically important conidial fungi. En: Cole G. T. and B. Kendrick (Eds.). Biology of conidial fungi. Vol 2. Academic Press. New York.
- 40.-Rippon, J.. 1988. Medical Mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic Ascomycetes. W. B. Saunders Co. Philadelphia.
- 41.-Rohde, P. A.. 1971. Manual de procedimientos de laboratorios y de productos. Becton, Dickinson de México. México.
- 42.-Rosenthal, S. A. and D. Furnari. 1971. Efficacy of "Dermatophyte Test Medium". Arch. Derm., 104:486-489.
- 43.-Sánchez, M. A.. 1980. Potencial agroindustrial del amaranto. Centro de Estudios Económicos y Sociales del Tercer Mundo. México.
- 44.-Sanyal, A. K., S. K. Das and A. B. Banerjee. 1985. Purification and partial characterization of an exocellular proteinase from *Trichophyton rubrum*. Sabouraudia. (J. Med. Vet. Mycology.), 23:165-178.
- 45.-Sauer, J. D.1967. The grain Amaranths and their relatives. A revised taxonomic and geographic survey. Ann. Missouri Bot. Gard., 54(2):103-137

- 46.-Stepanisheva, Z. G. and A. Y. Malkina. 1971. Concerning the epidemiological importance of soil as a source of mycosis infection. Mykosen, 14(8): 399-401.
- 47.-Stockdale, P. M. 1971. Fungi pathogenic for man and animals: I diseases of the keratinized tissues. En: Booth C. (Ed.). Methods in Microbiology. Academic Press. London.
- 48.-Takiuchi, I., D. Higuchi, Y. Sei and M. Koga. 1982. Isolation of an extracellular proteinase (keratinase) from Microsporium canis. Sabouraudia, 20: 281-288.
- 49.-Tena-Flores, J. A.. 1991. Fraccionamiento de las proteínas del grano de amaranto sometido a diferentes tratamientos. Primer Congreso Internacional del Amaranto. México: 96.
- 50.-Velazco-Lozano, L. y D. Heyden. 1984. El uso y la representación del amaranto en la época prehistórica según las fuentes históricas y pictóricas. En: Antonio Santos, L. F. Gómez y R. G. Suárez. (Eds.). Seminario Nacional del amaranto. CONACYT. México.
- 51.-Weitzman, I., I. Kozma and M. Silva-Hutner. 1969. Some observations on Arthroderma uncinatum. Sabouraudia, 7:216-218.
- 52.-Weitzman, I. A. and A. Padhye. 1978. Mating behavior of Nanizzia otas (=Microsporium canis). Micopathologia, 64(1):17-22.

TABLE 1. CEPAS DE DERMATOFITOS GEOFÍLICOS, ZOOFÍLICOS Y ANTROPOFÍLICOS UTILIZADOS EN LA EVALUACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO PREPARADOS CON HARINA DE AMARANTO.

Origen y especies	Clave de las cepas
Geofílicos (4 cepas)	
<i>Trichophyton terrestre</i>	CLMM-154, CLMM-156.
<i>T. ajelloi</i>	LBMM-453.
<i>Microsporium gypseum</i>	CLMM-96.
Zoofílicos (15 cepas)	
<i>M. distortum</i>	IP-119.
<i>M. canis</i>	LB-030289, LB-100389, CLMM-8, CLMM-13, CLMM-93, CLMM-94, CLMM-95.
<i>T. mentagrophytes</i>	LB-240289, LB-090390, IP-165, LBMM-000390, LBMM-140889, CLMM-117, CLMM-118.
Antropofílicos (34 cepas)	
<i>T. schoenleinii</i>	IP-177, IP-1255, IP-HSL.
<i>T. tonsurans</i>	LBMM-13389, LBMM-130489, LBMM-150789, LBMM-150889, LBMM-15989, LB-300889.
<i>T. rubrum</i>	LB-110989, LB-120989, LB-070989, LB-050789, LB-270689, LB-040889, LB-060889, LB-140989, LB-160889, LB-200589, LB-120889, LB-020290, LB-120190, LB-310190, LB-060190, LBMM-3089, LBMM-3089, CLMM-6, CLMM-119.
<i>Epidermophyton floccosum</i>	IP-1454, IP-114, IP-1560-84, LBMM-4190, LBMM-0890, LB-130390.

LB y LBMM= Aislamientos clínicos; CLMM= Cepas de la colección del laboratorio de Micología Médica, Fac. de Medicina, UNAM; IP= Cepas proporcionadas por el Instituto Pasteur, Paris, Francia.

TABLA 2. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE *Trichophyton terrestre* (2 CEPAS) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.

MEDIO DE CULTIVO	COLOR	ASPECTO	RELIEVE	REVERSO	DIÁMETRO* (mm)
SDA	blanco crema	algodonoso aterciopelado	plano plegado	blanco amarillento	60.5
HA pH 6.7	blanco	velloso polvoso	plano	blanco	53.92
HAD pH 6.7	blanco	velloso polvoso	plano	blanco	54.16
HA pH 8	blanco	velloso polvoso	plano	blanco	57.08

SDA= Sabouraud-Dextrosa-Agar; HA= Harina de Amaranto; HAD= Harina de Amaranto-Dextrosa.

* Promedio.

TABLA 3. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE *Trichophyton ajelloi* (1 CEPA) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.

MEDIO DE CULTIVO	COLOR	ASPECTO	RELIEVE	REVERSO	DIÁMETRO* (mm)
SDA	anaranjado	polvoso grumoso	plegado	pardo oscuro- negro	54.0
HA pH 6.7	beige	polvoso	plano	blanco	51.7
HAD pH 6.7	beige	polvoso	plano	pardo oscuro	54.16
HA pH 8	beige	polvoso	plano	blanco	57.08

SDA= Sabouraud-Dextrosa-Agar; HA= Harina de Amaranto; HAD= Harina de Amaranto-Dextrosa.

* Promedio.

TABLA 4. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE *Microsporium gypseum* (1 CEPA) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.

MEDIO DE CULTIVO	COLOR	ASPECTO	RELIEVE	REVERSO	DIÁMETRO* (mm)
SDA	beige	polvoso	plano	blanco	90.3
HA pH 6.7	blanco	veloso polvoso	plano	amari- lento	79.7
HAD pH 6.7	blanco	veloso, polvoso	plano	manchones rojos	80.8
HA pH 8	blanco	veloso, polvoso	plano	amari- lento	83.3

SDA= Sabouraud-Dextrosa-Agar; HA= Harina de Amaranto; HAD= Harina de Amaranto-Dextrosa.

* Promedio.

TABLA 5. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE *Microsporium distortum* (1 CEPA) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.

MEDIO DE CULTIVO	COLOR	ASPECTO	RELIEVE	REVERSO	DIÁMETRO* (mm)
SDA	pardo	veloso, áspero, grueso	plano	amarillento	54.7
HA pH 6.7	blanco	algodonoso	plano	blanco	52.0
HAD pH 6.7	blanco	algodonoso	plano	amari- lento	47.5
HA pH 8	blanco	algodonoso	plano	blanco	50.3

SDA= Sabouraud-Dextrosa-Agar; HA= Harina de Amaranto; HAD= Harina de Amaranto-Dextrosa.

* Promedio.

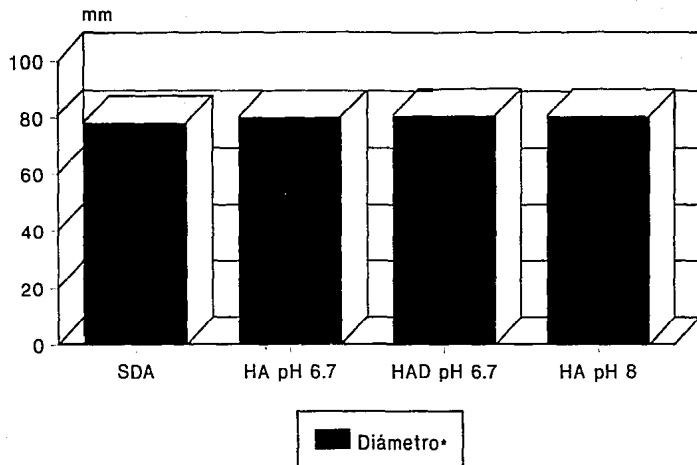
TABLA 6. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE *Microsporium canis* (7 cepas) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.

MEDIO DE CULTIVO	COLOR	ASPECTO	RELIEVE	REVERSO	DIÁMETRO* (mm)
SDA	blanco crema	algodonoso	plano	amarillo anaranjado	78.30
HA pH 6.7	blanco	vellosopolvoso	plano	blanco	80.16
HAD pH 6.7	blanco	vellosopolvoso	plano	amarillo	80.68
HA pH 8	blanco	vellosopolvoso	plano	blanco	80.50

SDA= Sabouraud-Dextrosa-Agar; HA= Harina de Amaranto; HAD= Harina de Amaranto-Dextrosa.

* Promedio.

FIGURA 3. DIÁMETRO* DE LAS COLONIAS DE *Alicyclobaculum sensu* (7 CEPAS) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.



*Promedio.

FIGURA 4. MACROCONIDIOS Y MICROCONIDIOS DE *Microsporium canis*.
A: EN HA pH 6.7, 100X . B: HA pH 8, 40X .



FIGURA 5. MACROCONIDIOS Y FILAMENTOS MODIFICADOS DE *Microsporium canis* (CLMM-94) HAD pH 6.7. A: 100X, B: 40X.

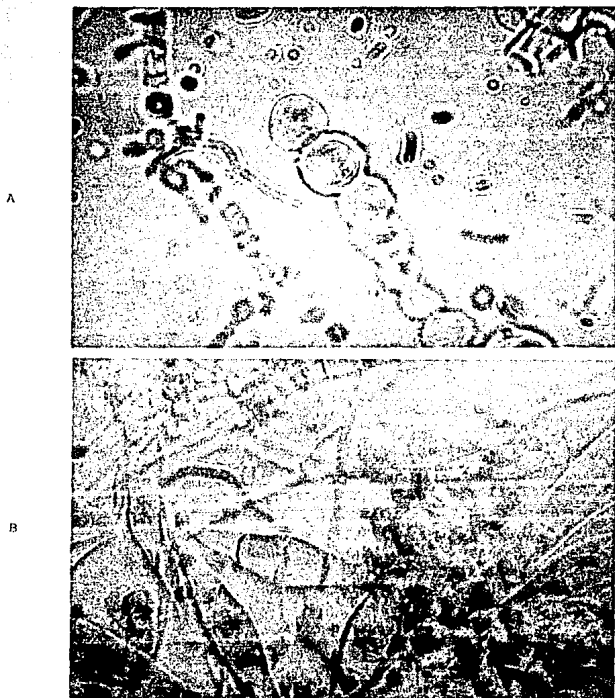


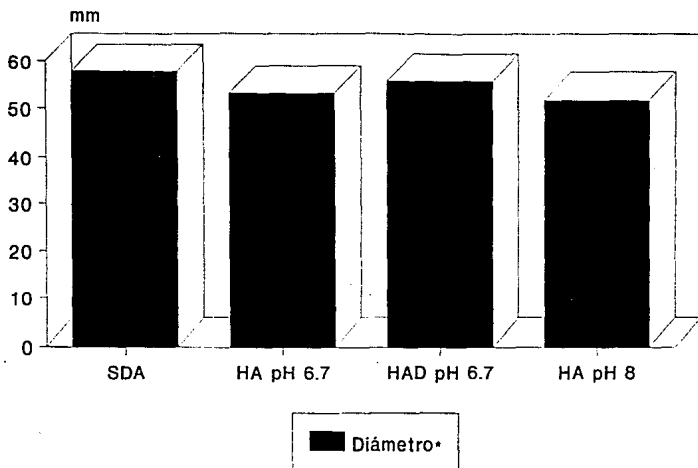
TABLA 7. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE *Trichophyton mentagrophytes* (7 CEPAS) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.

MEDIO DE CULTIVO	COLOR	ASPECTO	RELIEVE	REVERSO	DIÁMETRO* (mm)
SDA pH 6.7	blanco crema	algodonoso	plano	amarillo anaran-	57.75
HA pH 6.7	blanco	veloso polvoso	plano	blanco	52.98
HAD pH 6.7	blanco	veloso polvoso	plano	amarillo	55.62
HA pH 8	blanco	veloso polvoso	plano	blanco	51.65

SDA= Sabouraud-Dextrosa-Agar; HA= Harina de Amaranto; HAD= Harina de Amaranto-Dextrosa.

* Promedio.

FIGURA 6. DIÁMETRO* DE LAS COLONIAS DE *Trichophyton mentagrophytes* (7 CEPAS) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.



*Promedio.

FIGURA 7. VARIACION DE CONIDIOS Y FILAMENTOS DE *Trichophyton mentagrophytes* (7 CEPAS) EN SDA Y LOS MEDIOS DE AMARANTO.

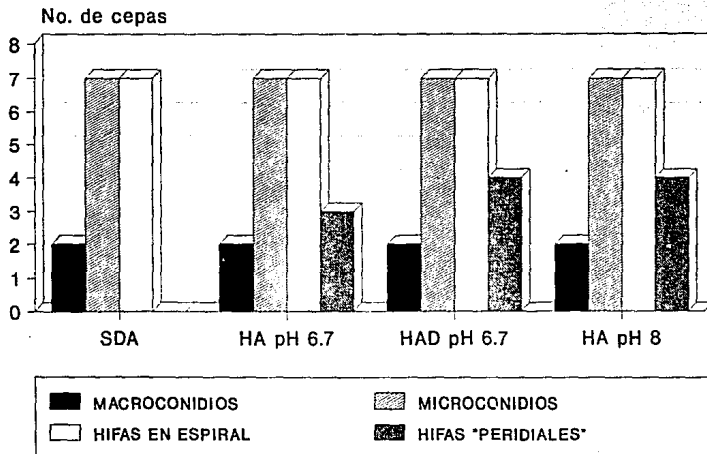


FIGURA 8. HIFAS PERIDIALES DE *Trichophyton mentagrophytes*
EN HA pH 6.7. A: 40X, B: 100X.

A



B



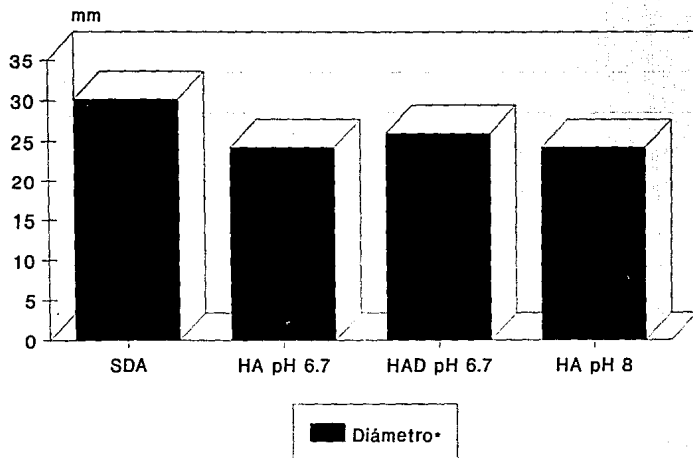
TABLA 8. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE *Trichophyton schoenleinii* (3 CEPAS) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.

MEDIO DE CULTIVO	COLOR	ASPECTO	RELIEVE	REVERSO	DIÁMETRO * (mm)
SDA	blanco	atercio- pelado ceroso	plegado	blanco	30.16
HA pH 6.7	blanco	veloso polvoso	plano	blanco	24.23
HAD pH 6.7	blanco	veloso polvoso	plano	blanco	25.96
HA pH 8	blanco	veloso polvoso	plano	blanco	24.20

SDA= Sabouraud-Dextrosa-Agar; HA= Harina de Amaranto; HAD= Harina de Amaranto-Dextrosa.

* Promedio.

FIGURA 9. DIAMETRO* DE LAS COLONIAS DE *Trichophyton schoenleinii* (3 CEPAS) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.



*Promedio.

FIGURA 10. MICROCONIDIOS DE *Trichophyton schoenleinii*
EN HAD pH 6.7, 10X.

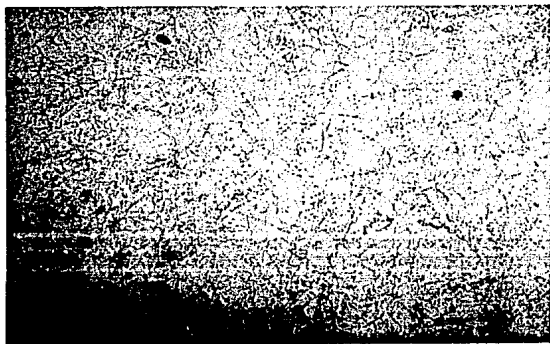


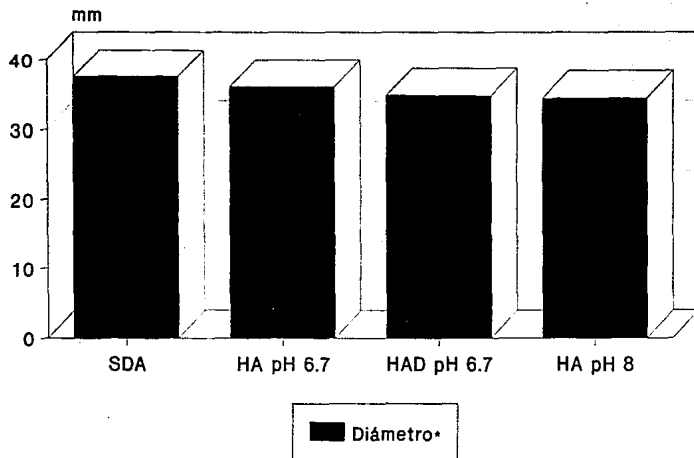
TABLA 9. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE *Trichophyton consurans* (6 CEPAS) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.

MEDIO DE CULTIVO	COLOR	ASPECTO	RELIEVE	REVERSO	DIÁMETRO* (mm)
SDA	blanco grisáceo	polvoso, gamuza	plegado	amari-llento	37.45
HA pH 6.7	blanco	polvoso	plano	blanco	35.96
HAD pH 6.7	blanco	polvoso	plano	blanco anaranjado	34.7
HA pH 8	blanco	polvoso	plano	blanco	34.33

SDA= Sabouraud-Dextrosa-Agar; HA= Harina de Amaranto; HAD= Harina de Amaranto-Dextrosa.

* Promedio.

FIGURA 11. DIAMETRO* DE LAS COLONIAS DE *Trichophyton tonsurans* (6 CEPAS) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.



*Promedio.

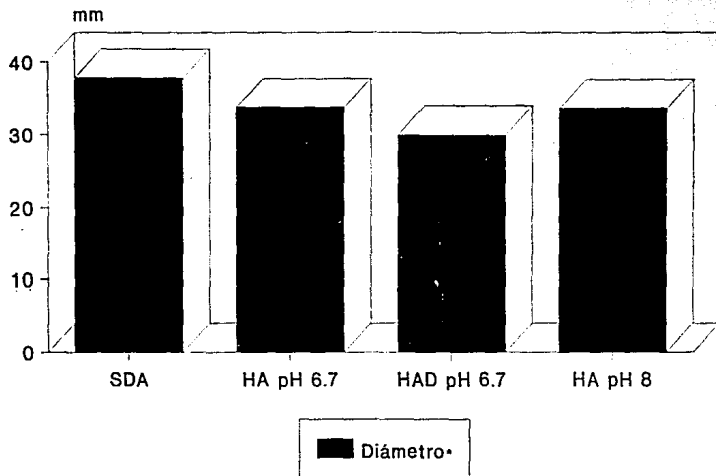
TABLA 10. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE *Trichophyton rubrum* (19 CEPAS) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.

MEDIO DE CULTIVO	COLOR	ASPECTO	RELIEVE	REVERSO	DIÁMETRO* (mm)
SDA	blanco, amarillento	algodonoso aterciopelado	elevado-liso, plano, plegado	amarillo pardo rojo	37.8
HA pH 6.7	blanco	veloso polvoso, algodonoso	plano	blanco, amarillento rojizo	33.68
HAD pH 6.7	blanco grisáceo	veloso polvoso	plano	rojo pardo-rojo	29.88
HA pH 8	blanco	veloso polvoso	plano	blanco amarillento	33.56

SDA= Sabouraud-Dextrosa-Agar; HA= Harina de Amaranto; HAD= Harina de Amaranto-Agar.

* Promedio.

FIGURA 12. DIAMETRO* DE LAS COLONIAS DE *Trichophyton rubrum* (19 CEPAS) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.



*Promedio.

FIGURA 13. VARIACION DE CONIDIOS DE *Tricophyton rubrum* (19 CEPAS) EN SDA Y Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.

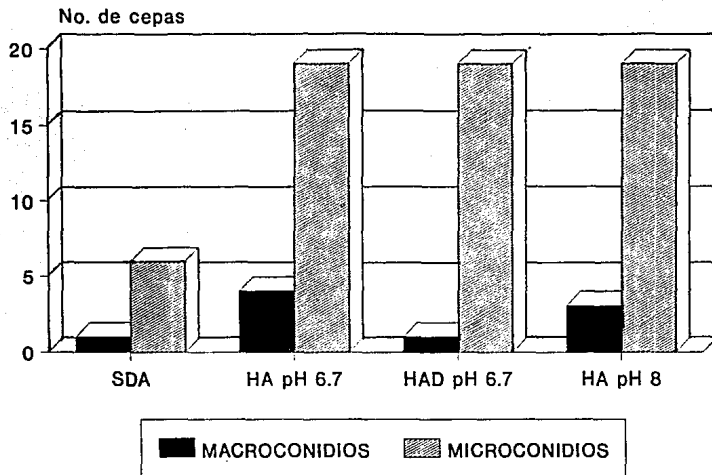


FIGURA 14. COLONIAS DE *Trichophyton rubrum* EN LOS MEDIOS SDA, HA pH 6.7, HAD Ph6.7 Y HA pH 8.
A: ANVERSO, B: REVERSO.

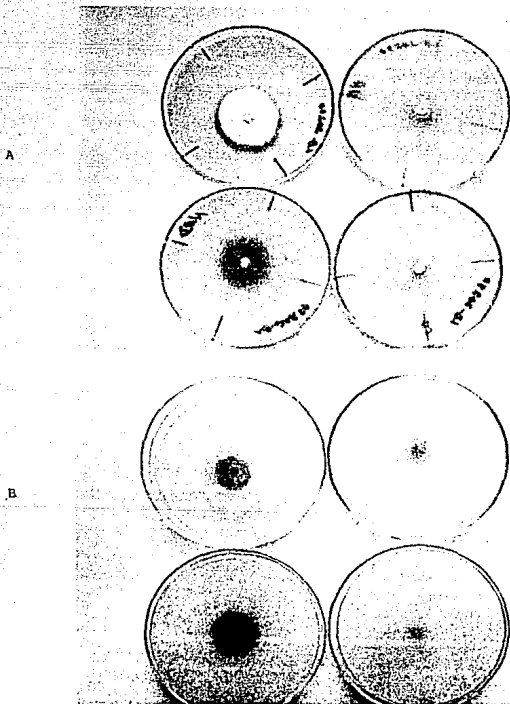


FIGURA 15. FILAMENTOS PECTINADOS Y MICROCONIDIOS DE
Trichophyton rubrum A: EN HAD pH 6.7, 100X,
B: HA pH 6.7, 10X.

A



B



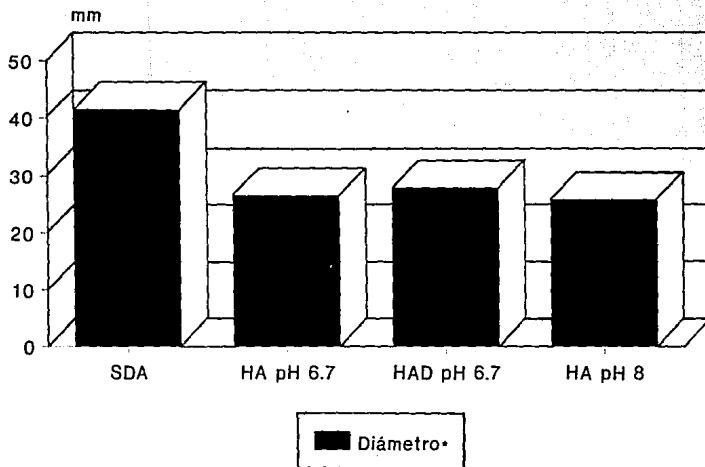
TABLA 11. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS DE *Epidermophyton floccosum* (6 CEPAS) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.

MEDIO DE CULTIVO	COLOR	ASPECTO	RELIEVE	REVERSO	DIÁMETRO* (mm)
SDA	olivo amarillento	aterciopelado	plegado	amarillo	41.51
HA pH 6.7	blanco	veloso polvoso	plano	amarillento	26.56
HAD pH 6.7	blanco	veloso polvoso	plano	amarillento	27.86
HA pH 8	blanco	veloso polvoso	plano	amarillento	25.75

SDA= Sabouraud-Dextrosa-Agar; HA= Harina de Amaranto; HAD= Harina de Amaranto-Agar.

* Promedio.

FIGURA 16. DIÁMETRO* DE LAS COLONIAS DE *Epidermophyton floccosum* (6 CEPAS) EN SDA Y EN LOS TRES MEDIOS DE AMARANTO.



*Promedio.

FIGURA 17. MACROCONIDIOS DE *Epidermophyton floccosum*
EN HA pH 6.7, 10X.



TABLA. 12. CONTENIDO DE AMINOÁCIDOS EN LA HARINA DE SEMILLA DE AMARANTO (*Amaranthus sp*) Y EN LAS PEPTONAS UTILIZADAS EN LA ELABORACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO PARA HONGOS.

	Harina de amaranto	Peptona de soya (S-a)	Peptona de tejidos animales (SDA)	Peptona de caseína (SDA)
Lisina	4.52	3.6	5.5	5.3
Histidina	2.37	1.6	1.8	2.4
Arginina	7.16	4.6	5.0	2.6
Acido aspártico	8.4	5.8	5.9	5.1
Treonina	3.23	1.8	3.5	3.5
Serina	4.5	-	-	-
Acido glutámico	12.3	9.3	10.0	17.0
Prolina	3.95	3.4	7.3	11.5
Glicina	5.94	2.8	9.3	1.8
Alanina	2.98	-	-	-
Cistina	1.06	0.5	0.6	0.3
Valina	2.98	2.0	4.6	5.6
Metionina	0.95	0.6	1.6	2.4
Isoleucina	2.22	2.5	3.3	5.0
Leucina	5.22	3.2	6.0	7.1
Tirosina	2.84	1.9	2.1	2.3
Fenilalanina	3.5	3.6	3.3	3.8
Triptofano	-	0.7	0.7	0.9

S-a= Sabouraud con antibióticos.
SDA= Sabouraud-Dextrosa-Agar.

TABLA. 13. CONTENIDO DE VITAMINAS EN LA HARINA DE SEMILLA DE AMARANTO (*Amaranthus sp*) Y EN LAS PEPTONAS UTILIZADAS EN LA ELABORACION DE LOS MEDIOS DE CULTIVO PARA HONGOS.

	Harina de amaranto	Peptona de soya (S-a)	Peptona de tejidos animales (SDA)	Peptona de caseina (SDA)
	ug	ug	ug	ug
Tiamina	2.6	1.9	-	-
Rivoflavina	1.5	4.3	19.0	5.75
Niacina	11.5	7.6	212.0	8.0
Ac. ascórbico	615.0	-	-	-
Caroteno	46	-	-	-

S-a= Sabouraud-antibiótico.

SDA= Sabouraud-Dextrosa-Agar.