



IMAGEN MICROBIOLÓGICA

Observación de interacciones entre hifas de *Fusarium verticillioides*, *Aspergillus flavus* y *Talaromyces funiculosus* en microcultivos desarrollados en ambientes herméticos



Observation of interactions between hyphae of *Fusarium verticillioides*, *Aspergillus flavus* and *Talaromyces funiculosus* in microcultures developed in hermetic environments

Claudia C. Castellari^{a,*}, Facundo J. Marcos Valle^a y Ana M. Pacin^b

^a Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

^b Fundación de Investigaciones Científicas Teresa Benedicta de La Cruz, Luján, Buenos Aires, Argentina

Recibido el 4 de junio de 2018; aceptado el 3 de julio de 2018
Disponible en Internet el 20 de septiembre de 2018

Las interacciones entre especies fúngicas micotoxigénicas y no micotoxigénicas que se pueden aislar de granos de maíz almacenados en silos bolsa (como *Fusarium verticillioides* o *Aspergillus flavus*, entre las primeras, y *Talaromyces funiculosus*, entre las últimas) no han sido estudiadas. Conocer las estrategias de colonización de estos microorganismos es relevante, ya que ello contribuiría a explicar las variaciones de las poblaciones fúngicas en los silos bolsa a lo largo del tiempo. En la bibliografía, las metodologías de análisis que permiten evaluar las interacciones entre hifas son escasas y solo describen eventos de acción inhibitoria en ambientes sin restricción de O₂^{3–6,8,9}. Sin embargo, en los silos bolsa se genera una atmósfera dominada por CO₂, producto de la respiración de los componentes bióticos del sistema, que influye en el crecimiento y las interacciones entre las especies fúngicas.

De cada una de las 3 especies, *F. verticillioides*, *A. flavus* y *T. funiculosus*, se evaluaron cepas que fueron confrontadas de a pares, en placas de Petri sin restricción de O₂ y en microcultivos, utilizando la técnica de Paul⁷ modificada por Castellari¹. Los microcultivos obtenidos fueron incubados en frascos herméticos con 2 niveles iniciales de O₂ (21 y 5%) y de CO₂ (0,03 y 15%) durante 7–10 días a 28 °C, y posteriormente observados en un microscopio óptico con contraste de fases (Olympus BH2). Las fotografías se tomaron con una cámara Olympus CAMEDIA (850 000 píxeles, ×3 zoom). La observación microscópica de las interacciones hifales entre las especies fúngicas permitió determinar las estrategias de colonización de cada una de ellas. La interacción de hifas entre las especies micotoxigénicas correspondió a reacciones de contacto tipo A² (fig. 1). La estrategia de supervivencia de *T. funiculosus* fue de parasitismo, con lisis celular de las hifas colonizadas de *A. flavus* (fig. 2) y de *F. verticillioides* (fig. 3). Este trabajo corresponde a la primera descripción de interacciones entre hifas fúngicas en ambientes herméticos, observadas con una metodología sencilla y de bajo costo.

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: castellari.claudia@inta.gob.ar,
claudia.castellari@yahoo.com.ar (C.C. Castellari).

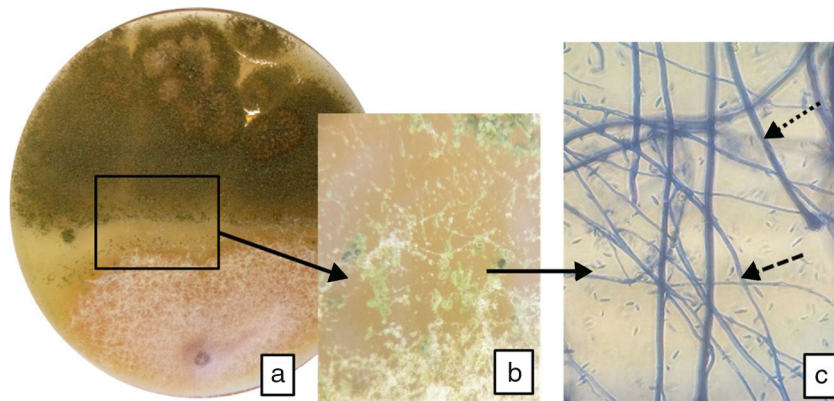


Figura 1 Interacción de hifas entre *A. flavus* y *F. verticillioides*. a) Se observa la interacción por contacto de ambos micelios en placa de Petri de 90 mm; b) mayor detalle en microscopio estereoscópico ($\times 80$): se advierte la interacción por contacto de las hifas y la presencia de estructuras de reproducción asexual entre ambos micelios; c) interacción de las hifas y estructuras reproductivas asexuales teñidas con azul de metileno (microscopio óptico, $\times 400$): flecha discontinua de puntos: *A. flavus*; flecha discontinua de guiones: *F. verticillioides*.

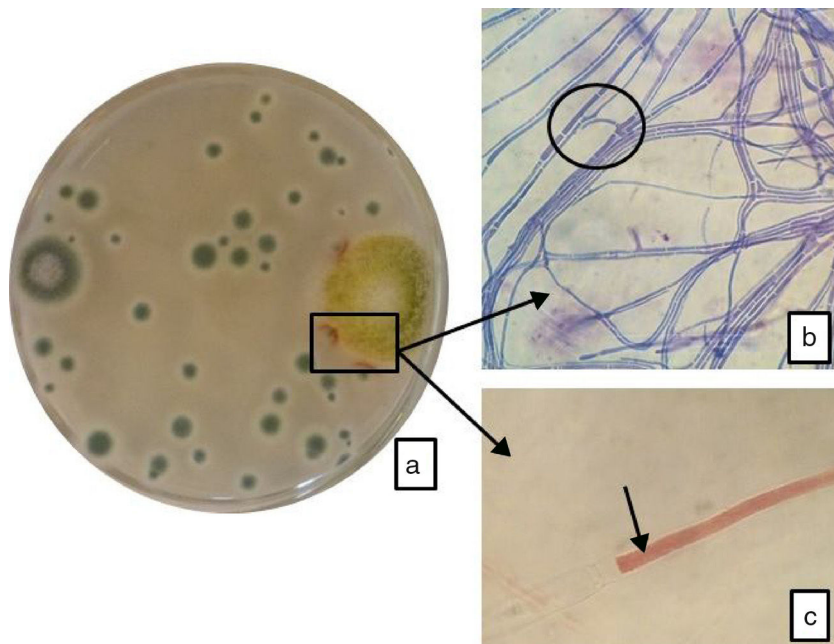


Figura 2 Interacción entre *A. flavus* y *T. funiculosus*. a) Contacto entre colonias en placa de Petri de 90 mm: se observa en la zona de contacto una coloración intensa (en cuadro negro) producida por un extrolito de *T. funiculosus*; b) contacto de hifas (teñidas con azul de metileno) entre ambos micelios ($\times 1000$); c) hifa de *T. funiculosus* (indicada por la flecha) parasitando una hifa de *A. flavus* ($\times 1000$).

Financiación

El presente trabajo fue financiado por la Universidad Nacional de Mar del Plata: Proyecto AGR449/16, «Factores

ambientales que afectan los patrones de uso de nutrientes y las relaciones entre *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg, *Aspergillus flavus* Link y *Talaromyces funiculosus* (syn. *P. funiculosum* Thom), aislados de maíz almacenado en silos bolsas en Argentina».

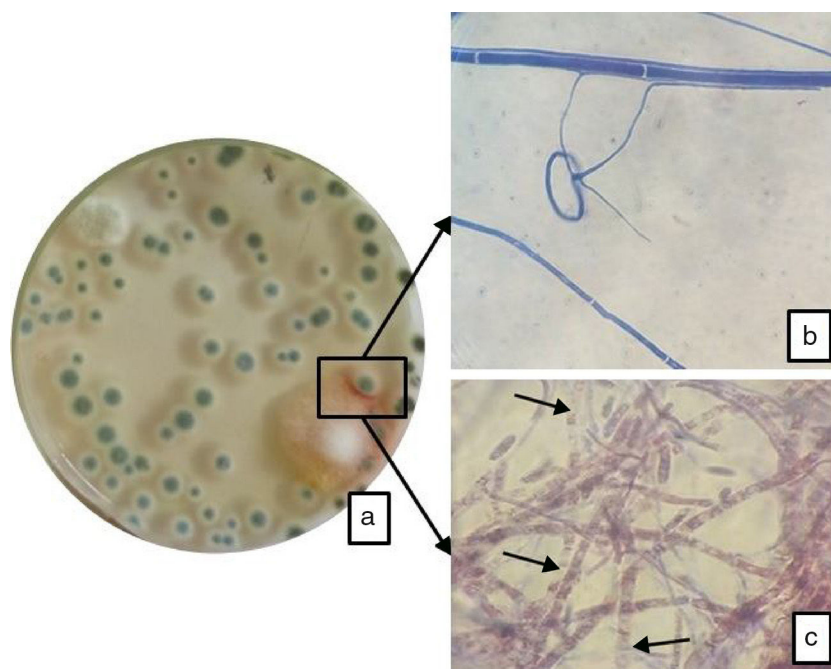


Figura 3 Interacción entre *F. verticillioides* y *T. funiculosus*. a) Contacto entre colonias en placa de Petri de 90 mm: en cuadro negro se observa en la zona de contacto una banda producida por un extrolito de *T. funiculosus*; b) contacto entre hifas de ambas especies (teñidas con azul de metileno), hifa de mayor grosor con detalle de tabiques: *F. verticillioides* ($\times 1000$); c) hifas y conidios de *F. verticillioides*: las flechas indican zonas de lisis celular, confirmando evento de parasitismo de *T. funiculosus* ($\times 400$).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Castellari C. Factores determinantes en el desarrollo de poblaciones fúngicas micotoxigénicas en granos de maíz (*Zea mays* L.) almacenados en bolsas plásticas herméticas. Tesis Doctoral en Ciencias Agrarias. 2017. Universidad Nacional de Mar del Plata.
2. Magan N, Lacey J. Effect of water activity, temperature and substrate on interactions between field and storage fungi. *Trans Br Mycol Soc.* 1984;82:83–93.
3. Marín S, Sanchis V, Ramos A, Vinas I, Magan N. Environmental factors, in vitro interactions, and niche overlap between *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum* and *F. graminearum*, *Aspergillus* and *Penicillium* species from maize grain. *Mycol Res.* 1998;102:831–7.
4. Marín S, Companys E, Sanchis V, Ramos AJ, Magan N. Effect of aw and temperature on competing abilities of common maize fungi. *Mycol Res.* 1998;120:950–64.
5. Marín S, Sanchis V, Rull F, Ramos A, Magan N. Colonization of maize grain by *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum* in the presence of competing fungi and their impact on fumonisin production. *J Food Prot.* 1998;61:1489–96.
6. Marín S, Sanchis V, Arnau F, Ramos A, Magan N. Colonization and competitiveness of *Aspergillus* and *Penicillium* species on maize grain in the presence of *Fusarium moniliforme* and *Fusarium proliferatum*. *Int J Food Microbiol.* 1998;45:107–17.
7. Paul B. Suppression of *Botrytis cinerea* causing the grey mould disease of grape-vine by an aggressive mycoparasite *Pythium radiosum*. *FEMS Microbiol Lett.* 1999;176:25–30.
8. Quiroz Sarmiento VF, Ferrera Cerrato R, Alarcón A, Lara Hernández ME. Antagonismo *in vitro* de cepas de *Aspergillus* y *Trichoderma* hacia hongos filamentosos que afectan al cultivo de ajo. *Rev Mex Micol.* 2008;26:27–34.
9. Sempere F, Santamarina M. Suppression of *Nigrospora oryzae* (Berck & Broowe) Petch. by an aggressive mycoparasite and competitor *Penicillium oxalicum* Curv & Thom. *Int J Food Microbiol.* 2008;122:35–43.