



## 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<sup>a,\*</sup>, Facundo J. Marcos Valle<sup>a</sup> y Ana M. Pacin<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

<sup>b</sup> Fundación de Investigaciones Científicas Teresa Benedicta de La Cruz, Luján, Buenos Aires, Argentina

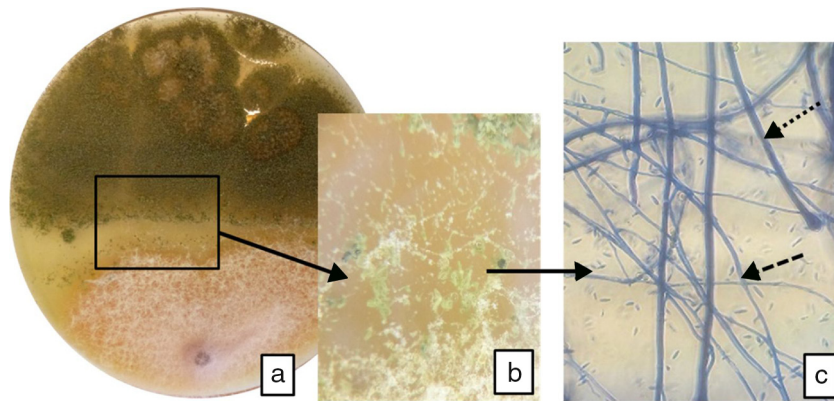
Recibido el 4 de junio de 2018; aceptado el 3 de julio de 2018  
Disponible en Internet el 20 de septiembre de 2018

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 O<sub>2</sub><sup>3-6,8,9</sup>. Sin embargo, en los silos bolsa se genera una atmósfera dominada por CO<sub>2</sub>, producto de la respiración de los componentes bióticos del sistema, que influye en el crecimiento y las interacciones entre las especies fúngicas.

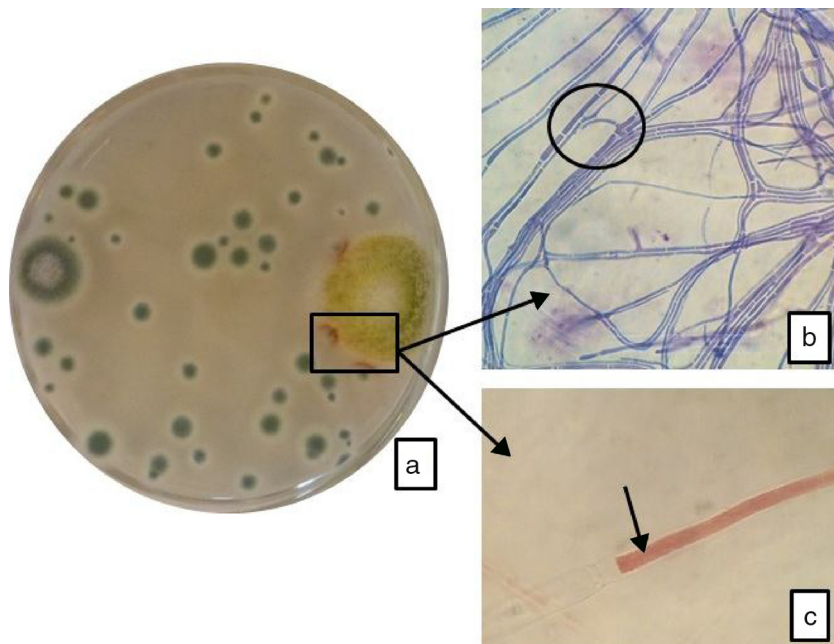
De cada una de las 3 especies, *F. verticillioides*, *A. flavus* y *T. funiculosus*, se evaluaron cepas que fueron confrontadas de a pares, en placas de Petri sin restricción de O<sub>2</sub> y en microcultivos, utilizando la técnica de Paul<sup>7</sup> modificada por Castellari<sup>1</sup>. Los microcultivos obtenidos fueron incubados en frascos herméticos con 2 niveles iniciales de O<sub>2</sub> (21 y 5%) y de CO<sub>2</sub> (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 A<sup>2</sup> (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.gov.ar](mailto:castellari.claudia@inta.gov.ar), [claudia.castellari@yahoo.com.ar](mailto: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*.

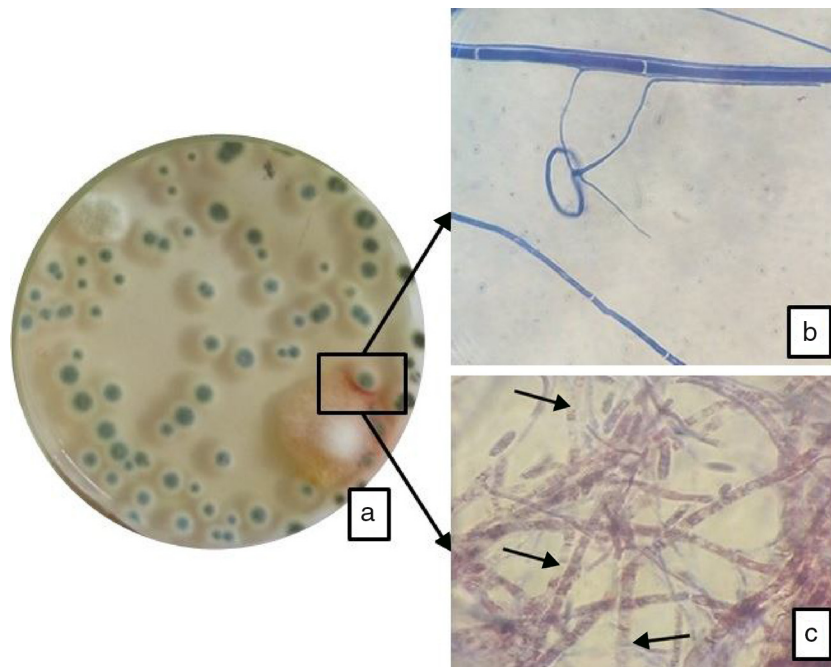


**Figura 2** Interacción entre *A. flavus* y *T. funiculosus*. a) Contacto entre colonias en placa de Petri de 90 mm: se observa en la zona de contacto una coloración intensa (en cuadro negro) producida por un extrolito de *T. funiculosus*; b) contacto de hifas (teñidas con azul de metileno) entre ambos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

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.