

NOTAS MICOLOGICAS II: *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. aggr. forma hialina Y *Spicellum roseum* Nicot & Roquebert

(Mycological notes. II. *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. aggr. hyaline form and
Spicellum roseum Nicot & Roquebert)

*Eduardo Piontelli L. & **Valia Vivar M.

*Universidad de Valparaíso, Escuela de Medicina,
Cátedra de Micología, Casilla 92 V. Valparaíso Chile

** Universidad Católica de Valparaíso, Escuela de Ciencias del Mar

Palabras clave: *Alternaria alternata*, mutante hialino, *Spicellum roseum*
Key words: *Alternaria alternata*, hyaline mutant, *Spicellum roseum*

RESUMEN

Se informa el hallazgo de 2 raros aislamientos fúngicos. El primero consiste en una cepa de *Alternaria alternata* aggr. f. hialina aislada desde ramas y hojas del espino (*Acacia caven* Mol.), un arbusto endémico de la zona central de Chile y el segundo, una cepa de *Spicellum roseum* desde granos de maíz.

Se comentan y comparan algunos datos morfológicos y de crecimiento de ambas cepas, incluyendo al mismo tiempo un anterior aislamiento de *Spicellum roseum* desde otro ambiente, aportando nuevos datos sobre la distribución de la especie.

INTRODUCCION

El objetivo de esta nota, es dar a conocer 2 interesantes aislamientos fúngicos: El primero consiste en una cepa de *Alternaria alternata* aggr. f. hialina, que consideramos una rareza genética, debido a que nunca la habíamos detectado en nuestra labor micológica. Se obtuvo en el curso de una investigación sobre la composición de la comunidad del filo plano, ramas y espinas de un arbusto autóctono de nuestra zona central, el espino (*Acacia caven* Mol.), en la búsqueda de patógenos oportunistas fúngicos, debido a que este arbusto es capaz de inferir profundas lesiones punzantes por sus agresivas espinas.

El segundo, corresponde a un hongo aparentemente de rara distribución geográfica, *Spicellum roseum*, pro-

SUMMARY

Two rare fungal isolations are herein reported. The first one is a strain of *Alternaria alternata* aggr. hyaline form isolated from the branches and leaves of the hawthorn (*Acacia caven* Mol.), an endemic bush from the central zone of Chile and the second one, a strain of *Spicellum roseum* isolated from corn grains.

Besides, some morphological and growth data about both strains are discussed and compared, an earlier isolation of *S. roseum* from another environment being included at the same time, what provides further information about the distribution of the species.

veniente de un recuento fúngico de maíz, de la zona central de Chile. Su aislamiento nos hizo recordar un informe micológico de un hongo que habíamos efectuado hace 3 años y que sospechábamos podía corresponder a una cepa de *Spicellum roseum*, sin embargo, en ese tiempo no teníamos literatura sobre el taxa, ni la seguridad que nuestro diagnóstico fuera correcto. Por su patrón conidial, pensamos más en una rara cepa «rosada» de *Sporothrix* ? o algún Hyphomycete semejante. La cepa, provenía de residuos de fangos de cal (carbonato de calcio), empleados en una industria azucarera nacional en un procedimiento industrial de refinamiento para la obtención del azúcar de remolacha. El excedente de estos fangos se acumulaba en depósitos para su secado y luego se ensacaban. El hongo, que seguramente colonizó este sustrato aún rico en hidratos de carbono y otros compuestos, manchaba los contenedores con sus conidios de

color rosado. Recientemente pudimos obtener nuevamente un subcultivo de la cepa por el laboratorio químico - microbiológico de la industria.

OBSERVACIONES Y COMENTARIOS

a) *Alternaria alternata* aggr. f. *hialina*

Colonias de crecimiento rápido en Agar Malta, Papa dextrosa y Papa zanahoria, en los 2 últimos medios sus colonias son planas delgadas, aterciopeladas, con poco micelio aéreo, levemente flocosas en la periferia (Fig. 1), con profusa esporulación desde la base del agar, con algunos anillos concéntricos de crecimiento debido a la producción más abundante de conidióforos y conidios, color blanco grisáceo, reverso incoloro. En Agar Malta, de aspecto más lanoso y sollevantado con menor esporulación que en los medios anteriores, color blanco rosáceo pálido.

Conidióforos incoloros, poco ramificados, generalmente derechos, cortos 10-60 µm de largo por 3-4 µm de ancho, a veces más largos (>200 µm), con uno o varios poros apicales, flexuosos y delgados, que se ensanchan solo en la formación de la(s) célula conidiógena. Dan origen a cadenas largas y ramificadas de dictioconidios hialinos, lisos a finamente rugosos, obclavados a obpiriformes, con un inconspicuo poro basal (que se aprecia mejor con contraste de fase u óptica Nomarski) y un corto o bien definido rostrum apical (< 15 µm), levemente constreñidos en el inicio de los 3 a 7 septos horizontales (mayoritariamente 3), con 1 o 2 septos longitudinales, 25-45 x 8-13 µm (generalmente 30 x 11 µm).

No se observó la producción de clamidoconidios a las temperaturas empleadas, ni aún a 4°C durante 45 días. Sin embargo, Lagopodi & Thanassouloupoulos (1995), observaron en una cepa patógena de *A. alternata* su producción solo después de 4 meses a 4°C.

Tabla 1.
Comparación del crecimiento en PDA (diam. mm) de *A. alternata* aggr. f. *hialina* a diferentes rangos de t°. con una cepa dematiácea

	<i>Alternaria hialina</i> *	<i>Alternaria demat.</i> *
4°C -30 días	68-72 mm	43-48 mm
27°C -7 días	70-72	50-53
34°C -7 días	19-20	17-18
36-37°C -7 días	18-20	18-20
40°C -7 días	negativo	negativo
*Pruebas en triplicado		

Las características de crecimiento y los rangos de temperatura, así como la morfología, difieren levemente (salvo en el color) de las descripciones clásicas del grupo

A. alternata creciendo en medios pobres (Simmons, 1967; Ellis, 1971). Sólo se aprecia una mejor adaptación de la cepa hialina a bajas y medias temperaturas (4-27°C, Tabla 1), a su vez, los conidios al igual que en el taxon dematiácea, presentan irregularidad en su tamaño y forma.

La cepa se encuentra depositada en el International Mycological Institute (número IMI 379268).

Dentro del género anamórfico de *Alternaria* (Pleosporaceae, Ascomycota), perteneciente a la familia Dematiaceae, Orden Hyphomycetes, *Alternaria alternata* es la especie tipo (originalmente denominada como *A. tenuis*, Joly, 1964; Ellis, 1971). Bajo el nombre de *A. alternata*, se considera en la literatura moderna un conjunto de individuos (complex - grupo), o especies agregadas (Simmons, 1990, 1993; Rotem, 1994), de amplia distribución, comunes en el suelo y en una amplia gama de sustratos vegetales u de otro tipo, pueden actuar en el ecosistema bajo varias categorías econutricionales: desde un estado saprotrofo generalmente mayoritario y con roles específicos en la descomposición del mantillo vegetal o como un biotrofo fitopatógeno oportunista, sobre un amplio número de hospedadores (Domsh *et al.*, 1980). Los granos de diferentes cereales son frecuentemente infectados por varias especies del género, particularmente *A. alternata*, la cual puede causar una enfermedad llamada punto negro («black point») (Christensen & Kaufman, 1965). Dentro del género *Alternaria*, Scheffer (1989), reconoce 3 grupos ecológicos de especies: saprotrofas, patógenos débiles u oportunistas (algunos especializados) y formas virulentas. Estas últimas con la habilidad de formar potentes toxinas selectivas para ciertos hospedadores, una temática que ha sido estudiada con interés por diferentes investigadores (Nishimura & Kohmoto, 1983; McKenzie *et al.*, 1988; Scheffer, 1992), especialmente en el caso de patotipos que producen una enfermedad en el peral asiático («black spot disease») pertenecientes a un grupo morfológicamente similar a *A. alternata*, pero que en la actualidad pueden diferenciarse morfo y toxicológicamente como una especie distinta (*A. gaisen* Nagano) según Simmons (1993).

La existencia de un mutante albino de *A. alternata* en la naturaleza debe ser rara y no hemos podido encontrar datos de este hecho en la literatura, situación que nos confirma también en un comentario el Dr J.C. David (IMI), pero puede suceder de tiempo en tiempo. Se ha podido establecer la biosíntesis de la melanina en *Wangiella dermatitidis* y otros hongos dematiáceos patógenos, por la vía de los pentaquetidos (Geis *et al.*, 1984; Wheeler & Stipanovic, 1985; Tailor *et al.*, 1987) y al mismo tiempo establecer que este pigmento está íntimamente asociado con la virulencia en los hongos dematiáceos oportunistas (Dixon *et al.*, 1991-1992).

La pérdida de melanina para esta cepa mutante, cons-

tituye una situación ecológicamente desfavorable frente a la radiación UV y sobre su condición de patógeno oportunista, sin embargo, esta cepa mutante, podría tener ciertas ventajas en la competencia en épocas frías, por su rapidez de crecimiento a temperaturas bajas y medias y por ende mantener una buena sobrevivencia y dispersión, por su alta producción de conidios demostrada in vitro a estas temperaturas.

b) *Spicellum roseum* Nicot & Roquebert (Cepa a).

Colonias en MEA a 27°C, 35-39 mm de diámetro en 6 días (Tabla. 1), planas de aspecto lanoso a floccoso al principio, tornandose granulosa a pulverulentas, presentando anillos concéntricos de crecimiento en el tiempo, de color rosado pálido, exudado incoloro, reverso pálido inicialmente, tornandose del mismo color que en anverso o levemente más anaranjado. Pigmento soluble ausente. Conidióforos derechos a sinuosos muy ramificados en distintos niveles, en ángulo recto u obtuso, algunos muy cortos o inconspicuos, prácticamente sésiles sobre la hifa portadora o la célula conidiógena. Células conidiógenas hialinas, a veces ramificadas en forma de Y, que dan origen a un raquis bien visible de hasta 14 µm de largo por 1-1.5 µm de ancho en la base, que nacen en posición apical, lateral o intercalar desde el eje del conidióforo, dando origen a 10-15 racimos de conidios que proliferan en forma simpodial. Conidios aseptados, hialinos, lisos, elípticos, clavados, oblongos, derechos o levemente falcados, de paredes delgadas y con una pequeña base trunca, 5-10 x 1.5-3 µm (generalmente 5.7 x 1.85 µm).

La cepa se encuentra depositada en el International Mycological Institute (número IMI 379704).

La cepa (b) de *Spicellum roseum* (MCM-H22) aislada de fangos de cal (Tabla. 2), no difiere morfológicamente de la cepa aislada de maíz, las únicas leves diferencias parecen ser a nivel de crecimiento a rangos bajos de T°.

Tabla 2.

Diámetros de crecimiento (mm) en MEA a diferentes rangos de T°, de las 2 cepas de *Spicellum roseum* aisladas en maíz(a) y fangos de cal(b)

	Cepa (a)*	Cepa (b)*
4°C -30 días	23-28 mm	17-20 mm
18-22°C -6 días	36-41	37-41
27°C -6 días	33-35	37-39
37°C -7 días	(-) o muy leve	negativo

*Pruebas en triplicado

y una mejor respuesta a temperaturas medias, situación que puede relacionarse a un posible ecotipo adaptado al clima propio de la zona de aislamiento (muy cálido en verano y primavera). Ambas cepas no crecen a 37°C, sin embargo, la cepa (a) aislada del maíz, parece tener mejores rangos frente a las temperaturas bajas y altas, por su mayor crecimiento a 4°C y algunos muy leves indicios de crecimiento a 37°C (Tabla. 2).

El primer aislamiento del holotipo de *S. roseum* fue efectuado por Nicot & Roquebert (1976), desde ensilado (cerca de Toulouse, Francia) y desde ese año, ha sido reportado solo 3 veces: en Pennsylvania (compost para el crecimiento de Basidiomycetes), desde sacos de papel en la India y desde cueros en Inglaterra (en Seifert *et al.*, 1997).

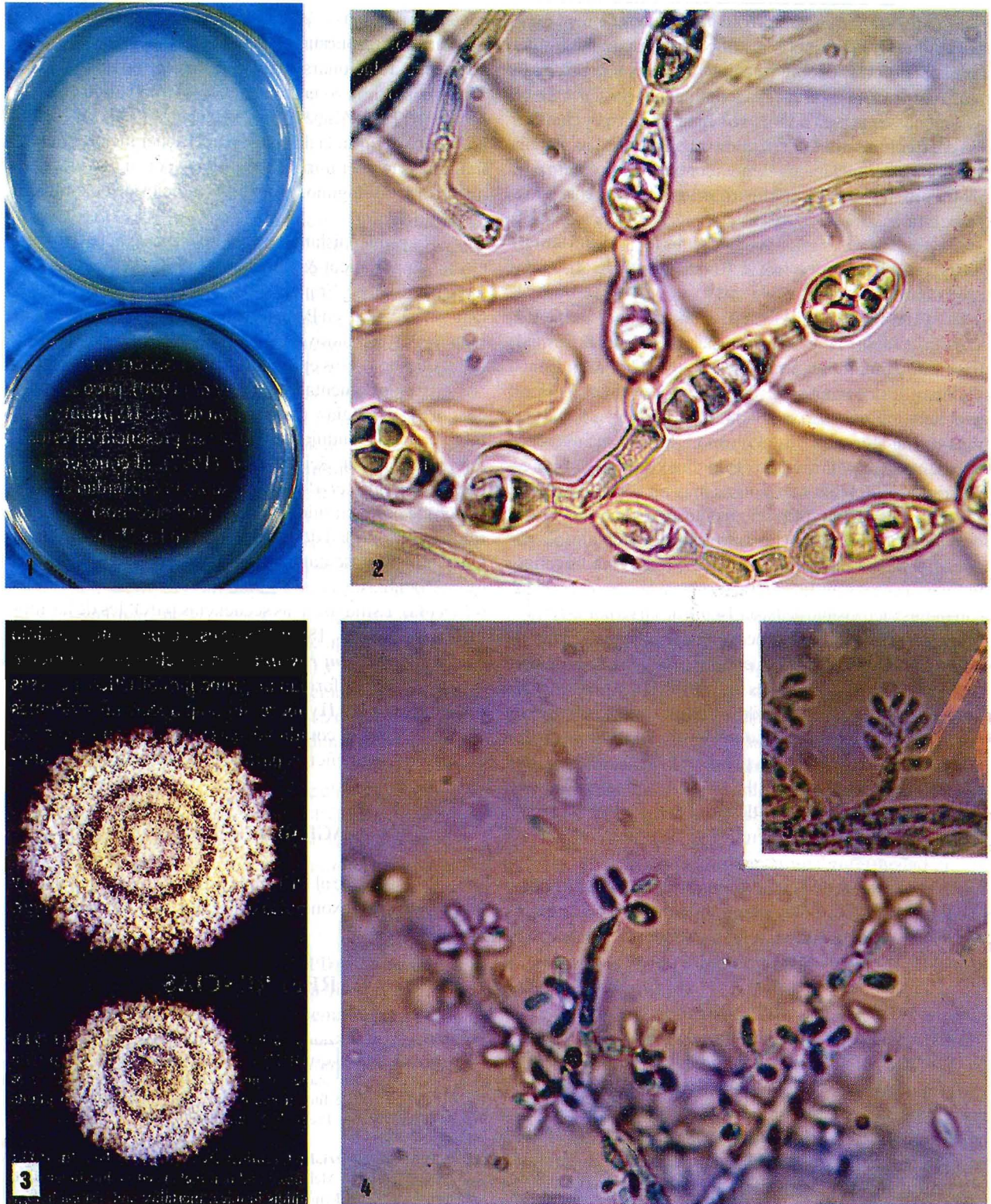
Como comenta Langley *et al.* (1990), poco se conoce sobre la ecología y distribución de este *Hyphomycete*, motivo que nos indujo a divulgar su presencia en estos 2 diferentes habitat. Seifert *et al.* (1997), al conocer el reporte de Langley *et al.* (1990), sobre la capacidad de este hongo de producir micotoxinas (Trichotecenos), consideraron la posibilidad de su afinidad con los *Hypocreales* y que podría representar un estado microconidial de alguna especie poliblastica de *Fusarium* (Sección *Sporotrichiella* o *Liseola*). Estudiaron las secuencias parciales de las unidades ribosomales 18S y 28S de esta cepa, comparandola con *Trichothecium roseum*. Sus conclusiones sugieren que las 2 especies forman un grupo monofilético, pero sus relaciones con los *Hypocreales* no parecen tan evidentes y por ende por su conidiogénesis y tipos de conidióforos, consideraron retener separados a ambos géneros anamórficos.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece al Dr. J.C. David (IMI) los comentarios y la confirmación taxonómica de la cepa de *A. alternata* aggr. f. *hialina*.

REFERENCIAS

- Dixon, D.M.; Szanislo, P.J. & Polak, A. (1991). Dihydroxynaphthalene (DHN) melanin and its relationship with virulence in the early stages of phaeohyphomycosis. In: C.T. Cole & H.C. Hoeh (Eds.) The fungal spore and disease initiation in plants and animals. Plenum Press, N.Y. pp.297-318.
- Dixon, D.M.; Migliozi, J.; Cooper, C.R.; Solis, O.; Breslin, B.G.; Szanislo, P.J. (1992). Melanized and non melanized multicellular form mutants of *wangiella dermatitidis* in mice: mortality and histopathology studies. *Mycoses* 35:17-21.
- Domsch, K.H.; Gams, W. & Anderson, T.H. (1980). Compendium of soil fungi Vol.I. Academic Press, London.
- Christensen, C.M. & Kaufmann, H.H. (1965). Deterioration of stored grains by fungi. *Ann. Rev. Phytopathol.* 3: 69



Figuras. 1-2.- *Alternaria alternata* mutante hialino. 1.- Colonia en PDA (parte superior) y una cepa tipo silvestre (parte inferior) . **2.-** Células conidiógenas, patrón de ramificación y conidios en cadena, 1000X. **3-4-5.- *Spicellum roseum***
3.- Colonias en Agar Malta. **4-5.-** Conidióforos, célula conidiógena y conidios, 1000X.

- Ellis, M.B. (1971). Dematiaceous Hyphomycetes. CMI, Kew.
- Geis, P.A.; Wheeler, M.H. & Szaniszló, P.J. (1984). Pentaketide metabolites of melanin synthesis in the dematiaceous fungus *Wangiella dermatitidis*. Arch. Microbiol. 137:324-328
- Lagopodi, L.A. & Thanassouloupoulos, C.C. (1995). Development of Chlamydospores in *Alternaria alternata*. Mycologia 87:588-591
- McKenzie, J.K.; Robb, J. & Lennard, J.H. (1988). Toxin production by *Alternaria* pathogens of oilseed rape (*Brassica napus*). Crop. Research (Hort. Res.) 28:67-81
- Nicot, J. & Roquebert, F.M. (1976). A new mould isolated from ensilage. *Spicellum roseum* new genus. Revue de Mycologie 39:269-272
- Nishimura, S. & Kohmoto, K. (1983). Roles of toxin in pathogenesis. In: Daly, J.M. & Deverall, B.J. (Eds.) Toxin and plant pathogenesis. Academic Press, Sydney. pp.137-157
- Rotem, J. (1994). The genus *Alternaria*, Biology, Epidemiology and pathogenicity. APS Press St. Paul, Minnesota.
- Scheffer, R.P. (1989). Ecological consequences of toxin production by *Cochliobolus* and related fungi. In: Graniti, A., Durbin, R.D. & Ballio, A. (Eds) Phytotoxin and plant pathogenesis. Berlin/Heidelberg Springer Verlag. pp. 285-300
- Scheffer, R.P. (1989). Ecological and evolutionary roles of toxin from *Alternaria* species pathogenic to plant. In: Chelkowski, J. and Visconti, A. (Eds.) *Alternaria* biology Plant disease and metabolites. Elsevier, Amsterdam. pp. 101-122
- Seifert, K.A.; Louis-Seize, G. & Savard, M.E. (1997). The phylogenetic relationships of two trichothecene-producing Hyphomycetes, *Spicellum roseum* and *Trichothecium roseum*. Mycologia:250-257
- Simmons, E.G. (1967). Typification of *Alternaria*, *Stemphylium* and *Ulocladium*. Mycologia 59:67-92
- Simmons, E.G. (1990). *Alternaria* themes and variations (27-53) Mycotaxon 37:79-119
- Simmons, E.G. (1993). *Alternaria* themes and variations (73) Mycotaxon 48:109-140
- Taylor, B.E.; Wheeler, M.H. & Szaniszló, P.J. (1987). Evidence for pentaketide melanin biosynthesis in dematiaceous human pathogenic fungi. Mycologia 79:320-322
- Wheeler, M.H. & Stipanovic, R.D. (1985). Melanin biosynthesis and the metabolism of flaviolin and 2-hydroxyjuglone in *Wangiella dermatitidis*. Arch. Microbiol. 142:234-241