



# Nuevos contaminantes fúngicos de productos alimenticios en Argentina

Ricardo M. Comerio<sup>1</sup>, M. Belén Pildain<sup>2</sup> y Andrea I. Romero<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Química Orgánica y <sup>2</sup>Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

**Resumen** Se aislaron e identificaron cinco especies fúngicas: *Ascotricha chartarum*, *Leptosphaerulina argentinensis*, *Veronaea coprophila*, *Scolecobasidium constrictum* y *Coremiella cubispora*. La primera de ellas fue aislada de envases de papel madera que contenían azúcar y las restantes de puré de tomate en conserva. A excepción de *L. argentinensis*, las otras cuatro especies restantes son primeros registros y todas han sido aisladas por primera vez en nuestro país.

**Palabras clave** Alimentos, *Ascotricha*, *Coremiella*, *Leptosphaerulina*, *Scolecobasidium*, *Veronaea*

## New fungal contaminants of food products in Argentina

**Summary** Five fungal species were isolated and identified in food products: *Ascotricha chartarum*, *Leptosphaerulina argentinensis*, *Veronaea coprophila*, *Scolecobasidium constrictum* and *Coremiella cubispora*. *A. chartarum* was isolated from paper bag containing sugar and the other four from tomato sauce. Except for *L. argentinensis*, the other four were new reports and the five species were isolated for the first time in Argentina.

**Key words** Food, *Ascotricha*, *Coremiella*, *Leptosphaerulina*, *Scolecobasidium*, *Veronaea*

Las especies aisladas usualmente como contaminantes de alimentos pertenecen a los géneros *Fusarium* Link, *Aspergillus* Link y *Penicillium* Link, entre otros [28,30]. En Argentina los trabajos más frecuentes se refieren, aunque con distintos enfoques, principalmente a contaminantes de materias primas [6,7,17,32]; en cambio, los que tratan sobre contaminantes de productos elaborados son escasos [15,27]. En algunas ocasiones, se aíslan otras especies poco conocidas en este aspecto, no citadas en los manuales clásicos de micología de alimentos, como en los de Pitt y Hocking [28] y Samson et al. [30]. La identificación de micromicetes contaminantes de alimentos pone en evidencia, como en esta oportunidad, especies fúngicas poco comunes cuya incidencia y significado biológico no han sido aún suficientemente estudiados.

Este trabajo se originó a partir de los análisis de productos alimenticios recibidos en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos del Departamento de Química Orgánica de esta facultad. El objetivo es presentar los ais-

lamientos obtenidos y describir las especies identificadas no citadas previamente como contaminantes de alimentos y contribuir, así al conocimiento de la biodiversidad de especies fúngicas presentes en productos para consumo humano.

### Materiales y métodos

Realizamos análisis microbiológicos de productos alimenticios. Partimos, por un lado, de bolsas de papel que contenían azúcar y, por otro, de conservas de tomate.

**Bolsa de papel con azúcar.** Un trozo de papel, correspondiente a una bolsa de tres capas de papel madera con aroma a tierra húmeda, similar al producido por insecticidas organoclorados como el hexaclorociclohexano, se separó en sus tres láminas componentes y se cortaron en fragmentos cuadrados de aproximadamente 2 cm de lado con una tijera estéril, bajo campana de flujo laminar. En primer término, se recortó la lámina interna y en último lugar, la capa externa. Se sembraron 60 pedacitos de papel, 20 correspondientes a cada capa de la bolsa de azúcar, sobre cinco cajas de Petri con Agar Dicloran Cloranfenicol Peptona (DCPA) [2].

**Puré de tomates** (del tipo "Tetra-Pack"). Se abrieron cuatro conservas bajo campana de flujo laminar, de cada una de ellas se sembró 1 ml de puré de tomates (0,2 ml en cinco cajas de Petri con DCPA). Las alícuotas de muestra se distribuyeron sobre la superficie del medio de cultivo con una espátula de Drigalsky.

Todos los cultivos se incubaron a 25 °C durante una semana. Las diferentes cepas fúngicas aisladas se repicaron para su identificación en los siguientes medios de cultivo: agar avena (OA), agar extracto de malta (ME), agar

#### Dirección para correspondencia:

Dra. Andrea I. Romero  
Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental  
4º Piso, Lab. de Micología  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Universidad de Buenos Aires  
Pab. II, Ciudad Universitaria  
EHA 1428 Buenos Aires, Argentina  
Correo electrónico: romero@bg.fcen.uba.ar

Aceptado para publicación el 15 de febrero de 2005

zanahoria patata (PCA), agar patata dextrosa (APD), agar V8 (V8) [25]. También se utilizó agar nutrientes especiales (SNA), ya que este medio es usado para hongos que esporulan poco [26]. Las cepas fúngicas aisladas se depositaron en la colección de cultivos BAFC [21]. Para el estudio de microcaracteres e identificación de las especies aisladas se utilizó una lupa Zeiss Stemi SV6, un microscopio Zeiss Axioscop y los medios de montaje convencionales para el estudio de los hongos: floxina y azul de algodón al lactofenol [25]. En cuanto al sistema de clasificación adoptamos el de Barr [3,4] para los hongos meiospóricos. En cambio, las especies en estado anamórfico se trataron bajo el título hongos mitospóricos, ya que en la actualidad la clase Deuteromycetes y todos los términos relacionados no tienen valor taxonómico debido a que sus integrantes son formas asexuales de Ascomycetes o de Basidiomycetes [25].

## Resultados y discusión

### Hongos Meiospóricos

Clase Hymenoascomycetes  
Orden Xylariales  
Fam. Xylariaceae

*Ascotricha chartarum* Berk., Ann. Mag. nat. Hist. 1: 257, 1838. Lista de sinónimos: ver Hawksworth [20].

Colonia en OA, ME; APG y PCA a 25 °C: flocosa, gris olivácea al principio; volviéndose afieltrado y concéntricamente zonado, centro castaño oscuro rodeado de una región blanquecina oscurecida por la concentración de peritecios, exteriormente margen cremoso de color naranja pálido, reverso castaño (Figura 1.1, 1.2, 1.3, 1.4). Micelio castaño, formando anillos (Figura 2.13). *Teleomorfo*: Peritecio emergiendo solitario del micelio frecuentemente entre conidióforos, ostiolado, castaño oscuro a negro, globoso, 80-100 µm diam., ápice con cuello distintivo, corto, cilíndrico, de 15-23 x 30-40 µm (Figura 2.9). Pelos terminales en zona ostiolar, más o menos erectos, geniculados, rígidos, generalmente de 1-3 ramificaciones simpodiales, septados, castaños oscuros o negros, 3-5 µm diam. en la base, afinándose hacia el ápice, 175-230 µm long., ramificaciones cortas estériles hialinas y claviformes, de 7 x 4.5 µm (Figura 2.9, 2.14). Pelos laterales similares, esparcidos, 2.5-4 µm diam., en la zona basal del peritecio (Figura 2.9, 2.14). Ascocilíndricos, pared delgada, deliquescentes, 8-esporados, 50-60 x 6-7 µm (Figura 2.11, 2.12). Ascoporas uniseriadas, castaño claro a oscuro, discoides, con surco germinativo ecuatorial, 7-8.5 x 6-7 µm (3.5-5 µm ancho de vista lateral) (Figura 2.10). *Anamorfo*: *Dicyma ampullifera* Boul. Conidióforos directamente sobre hifas o asociados a los anillos (Figura 2.13, 2.15), erectos, ramificados espaciadamente o simples, regularmente septados, castaños claros a castaños oscuros pero incoloros o castaños pálidos en el ápice, 2-5 µm diam. Conidios rugosos con pequeñas verrugas, incoloros, principalmente piriformes, 4.5-7 x 3.5 µm (Figura 2.15).

*Material estudiado*: Cepa BAFC cult. 0065 aislada de bolsas de papel madera conteniendo azúcar.

*Sustrato*: Papel, textiles, semillas y algodón, también aislados de suelo [11, 20].

*Observaciones*: Esta cepa se aisló de los trocitos de papel de la capa interna en contacto con el azúcar. Si bien el papel forma el envase, su cercanía con el alimento produjo una alteración en el aroma del azúcar; aroma a insecticida reproducido únicamente en SNA (14 días, 25°C). Esta es la primera vez que se cita este género en Argentina. *Ascotricha* Berk. si bien fue descripto originalmente en Inglaterra sobre papel blanco e impreso de un envase de velas, Hawksworth [20] también menciona que una variedad de *Ascotricha chartarum* es causante de enfermedades de piel en el hombre. Al mismo tiempo hace referencia a otros investigadores que han enfatizado la importancia de las especies de este género como degradadores de celulosa en variados sustratos, por ejemplo: papel, estiércol, hojas, cartón. Horie et al. [22] propusieron dos especies nuevas en el género y las comparan con esta especie, con *Ascotricha guamanensis* L. Ames y con *Ascotricha xylina* L. Ames, señalando que *A. guamanensis* fue aislada originalmente de cajas de cartón con suministros fotográficos.

Clase Loculoascomycetes

Orden Pleosporales

Familia Pleosporaceae

*Leptosphaerulina argentinensis* (Speg.) Graham y Luttrell, Phytopathol. 51: 687, 1961.

*Pleosphaerulina argentinensis* Speg., An. Mus. Nac. Hist. Nat. Bs. As. Ser. 3, 19: 387, 1909.

Colonias en ME, APG y SNA, con micelio oscuro denso cubierto por ascomas dispersos (Figura 1.5, 1.6, 1.7). *Teleomorfo*: Ascoma peritecioide, 90-185 µm diam. (Figura 2.16). Ascocilíndricos, saciformes, 72-91 x 38-47 µm (Figura 2.17, 2.18). Ascoporas muriformes, elipsoidales, incoloras, rodeadas de vaina cuando jóvenes (Figura 2.18), 30-33 x 12-14 µm (Figura 2.19). Anamorfo desconocido.

*Material estudiado*: Cepa BAFC cult. 0046 aislada de puré de tomate.

*Sustrato*: Hojas varias, especialmente de Solanaceas (ej: tomate) [5].

*Observaciones*: Esta especie fue citada por primera vez para nuestro país por Spegazzini sobre hojas de zanahoria procedente de Buenos Aires, bajo *Pleosphaerulina argentinensis* [31]. En esta segunda oportunidad se obtuvo el cultivo de la misma a partir de puré de tomate. Graham y Luttrell [18] y Booth y Pirozynski [5] realizaron estudios sobre la taxonomía y patogenicidad de varias especies de este género, incluida la presente, como agentes causantes de enfermedades conocidas como manchas foliares en solanáceas y leguminosas [14]. Por lo tanto podemos inferir que las plantas de las cuales fueron cosechados los tomates estaban infectadas con este hongo. Cabe destacar que este hongo parece ser muy resistente ya que sobrevivió a todo el proceso de fabricación de este producto.

Aunque Booth y Pirozynski [5] consideran esta especie sinónimo de *Leptosphaerulina trifolii* (Rostr.) Petr., otros investigadores han demostrado que son dos especies [14].

Wu y Hanlin [33] realizaron un estudio sobre el desarrollo del ascoma para *Leptosphaerulina crassiasca* (Sechet) C. R. Jackson & D. K. Bell y encontraron similitudes con el desarrollo del ascoma de *L. argentinensis*.

Con respecto al anamorfo, para la mayoría de las especies de este género no se lo conoce, excepto para *Leptosphaerulina chartarum* Roux cuyo anamorfo es *Pithomyces chartarum* (Berk. & Curt.) Ellis [29].

### Hongos Mitospóricos

*Coremiella cubispora* (Berk. & Curt) Ellis M.B., Dematiaceae  
Hyphomycetes: 33, 1971.

Colonia castaña. Conidióforos (= hifa fértil) castaños, 5-7 µm diam. Conidios enteroártricos, separación esquizolítica y por autólisis celular, unicelulares, cúbicos, castaños, 5-7 x 5-6 µm (Figura 3.20).

*Material estudiado*: Preparado permanente BAFC 51.146 aislada de puré de tomate.

*Sustrato*: Tallos y hojas de arbustos, plantas herbáceas y árboles [12].

*Observaciones*: Esta es la primera vez que se cita el género en Argentina.

El desarrollo ontogenético de los conidios fue muy bien estudiado por Cole y Samson [8].

Lamentablemente el cultivo de esta especie se perdió y por eso hemos depositado una preparación fija en el BAFC.

*Scolecobasidium constrictum* Abbott, Mycologia, 19: 29-31, 1927.

Colonias en OA y APG oscuras, afieltradas, de crecimiento lento, de color castaño oscuro con tinte oliváceo (Figura 1.8). Micelio castaño. Conidióforos formados por pocas células, 9-20 x 2-3 µm. Células conidiógenas poliblasticas, simpodiales, terminales, cilíndricas a claviformes, denticuladas (Figura 3.21, 3.22, 3.24). Conidios solitarios, oblongos o elipsoidales, redondeados en los extremos, generalmente uniseptados, rara vez biseptados, generalmente constrictos en el septo, color castaño pálido, verrugosos o finamente equinulados, 6-12 X 2-4 µm (Figura 3.23 a, b, c).

*Material estudiado*: Cepa BAFC cult. 0798, aislada de conserva de tomate

*Sustrato*: Aislado generalmente de suelos cultivados y de invernaderos, hojas secas, rizosfera de trigo, plantas de uva y pepino y raíces de caucho [11].

*Observaciones*: Esta es la primera cita del género en Argentina. El complejo taxonómico *Ochroconis* de Hoog & von Arx [9] / *Scolecobasidium* Abbott [1], a pesar de los trabajos realizados sobre el tema [10], continúa siendo confuso aunque, hay una tendencia a considerarlo sinónimo, siendo *Scolecobasidium* el género a utilizar [23]. Desde el punto de vista clínico es necesario resolver el problema taxonómico ya que hay especies patógenas en animales de sangre caliente, incluido el hombre, que se alojan en el cerebro. Entre ellas *Ochroconis gallopava* (W. B. Cooke) de Hoog, algunas a veces ha sido mal identificada como *Scolecobasidium constrictum* y viceversa [23].

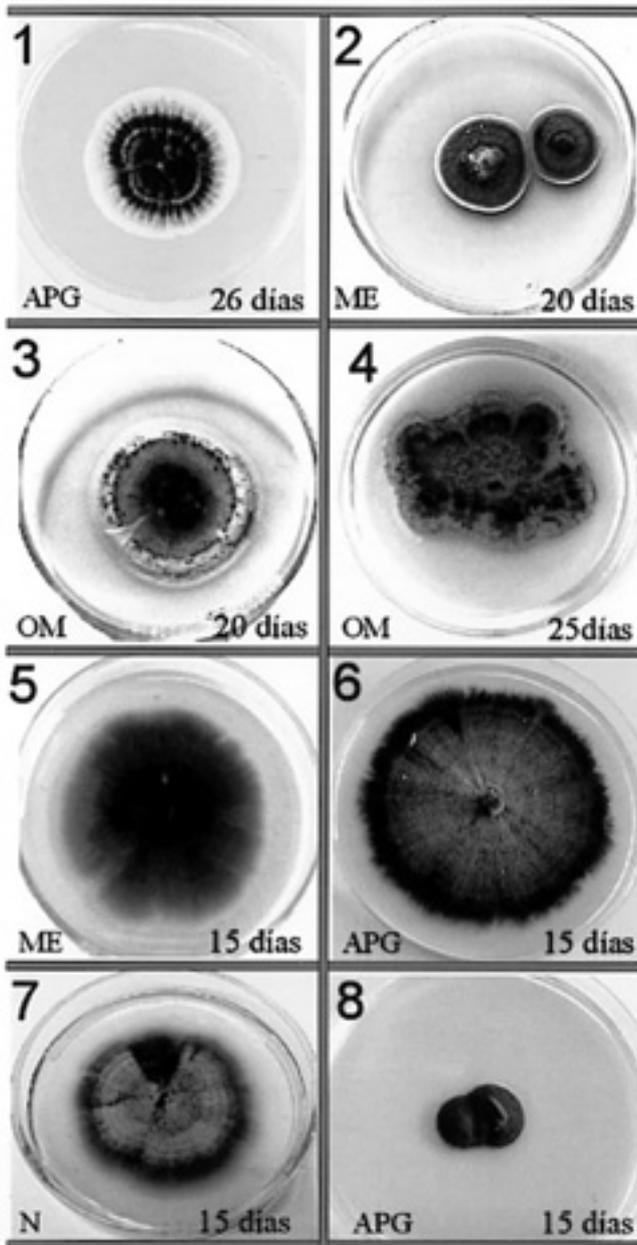


Figura 1. Aspectos de las colonias en distintos medios de cultivo y tiempos de incubación. 1-4) *Ascotricha chartarum*; 5-7) *Leptosphaerulina argentensis*; 8) *Scolecobasidium constrictum*.

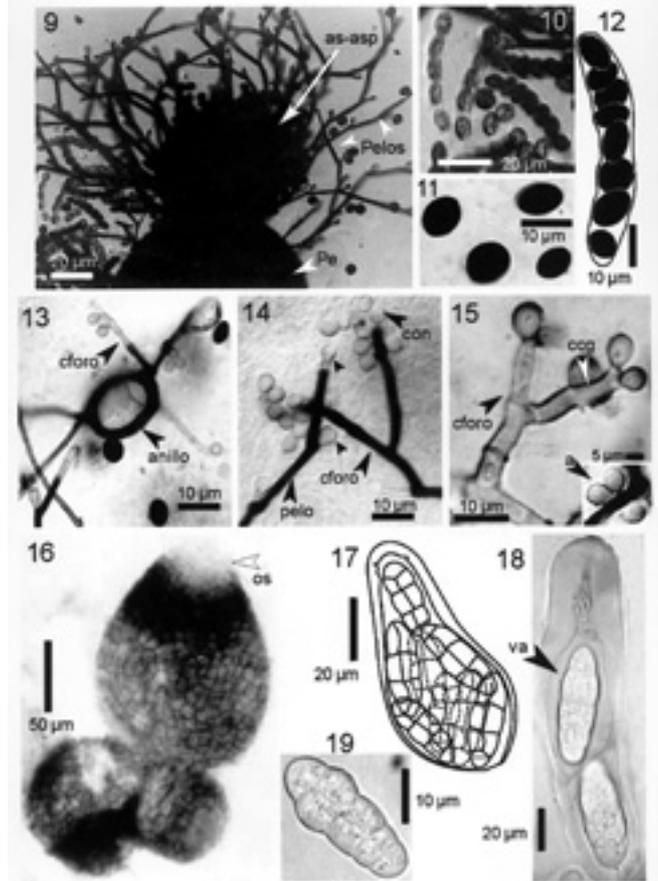


Figura 2. Estructuras de reproducción. 9-15) *Ascotricha chartarum*; 9) Perithecio (Pe) con ascos (as) y Ascosporas en masa (asp) en el ápice, pelos terminales y laterales; 10) detalle de ascos conteniendo esporas; 11) ascosporas elipsoidales; 12) esquema de ascos octosporado; 13) micelio con anillo formado en cultivo y conidióforo (cforo) asociado al anillo; 14) conidióforo (cforo), conidios (con) y pelos geniculados, con ramificaciones simpodiales y célula claviforme pálida terminal (flechas); 15) detalle de un conidióforo (cforo), célula conidiógena (cog); a) conidios verrucosos; 16-19) *Leptosphaerulina argentensis*; 16) Ascoma peritecioides ostiolado (os); 17) ascos conteniendo ascosporas muriformes; 18) detalle de ápice de ascos y ascosporas con vaina (va); 19) ascospora muriforme.

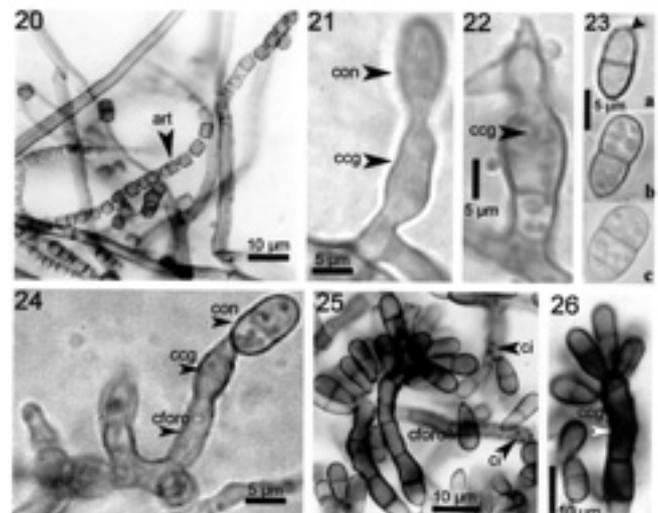


Figura 3. Estructuras de reproducción. 20) *Coremiella cubispora*: Micelio, hifas fértiles y artroconidios (art); 21-24) *Scolecobasidium constrictum*; 21, 24 detalle de conidióforo (cforo) y célula conidiógena con conidio joven (con) en el ápice; 22) célula conidiógena tridenticulada; 23) a) conidio 1-septado, obsérvese la ornamentación (flecha); b) conidio 1-septado; c) conidio 2-septado; 25-26) *Veronaea coprophila*; 25) detalle de conidióforo (cforo); 26) célula conidiógena poliblastica (cog) con cicatrices (ci).

*Veronaea coprophila* (Subram. & Lodha) M. B. Ellis, More Dematiaceous Hyphomycetes: 210, 1976.

Conidióforos derechos o flexuosos, septados, hasta 350 µm long., 3-4.5 µm diam., color castaño claro a oscuro volviéndose más claro hacia el ápice donde se observan cicatrices pequeñas sobre la célula conidiógena. Conidios cilíndricos, redondeados en el ápice, cónico-truncados en la base o elipsoidales, 1-2 septados, castaño claro, lisos, 8-12 x 3-4.5 µm (Figura 3.25, 3.26).

**Material estudiado:** Cepa aislada de puré de tomate, la cual no pudo ser ingresada a la colección de cultivos pero hemos depositado una preparación fijo BAFC 51261.

**Sustrato:** Generalmente sobre estiércol, aunque también ha sido encontrada en madera sumergida en Sudáfrica [24].

**Observaciones:** Esta es la primera cita del género en Argentina. La identificación de esta cepa fue confirmada por el Dr. W. Gams.

Por otro lado, hay especies de este género que han sido aisladas de hojarasca de *Euterpes edulis* Mart. (palmito) en Brasil, *Veronaea apiculata* (Miller et al.) M.B. Ellis [19]; *Veronaea musae* M.B. Ellis, causante de la enfermedad llamada "hoja moteada" en bananas [13] y también productora de micosis cutáneas y *Veronaea botryosa* Cif. & Montemertini [16].

*Expresamos nuestra gratitud al Dr. W. Gams del CBS, Holanda quién confirmó la identificación de V. coprophila. Agradecemos a la Dra. Graciela Vaamonde, a la Dra. Virginia Fernández Pinto y a la Dra. Andrea Patriarca por su colaboración y a las siguientes empresas: Gillette S.A. y Becette De Camillis Sistemas S.A por el apoyo prestado para esta investigación. Esta es la publicación N° 157 del PRHIDEB-CONICET.*

## Bibliografía

1. Abbot EV. *Scolecobasidium*, a new genus of soil fungi. *Mycologia* 1927; 19: 29-31.
2. Andrews S, Pitt JI. Selective medium for the isolation of *Fusarium* species and dematiaceous Hyphomycetes from cereals. *Appl Environ Microbiol* 1986; 51: 1235-1238.
3. Barr ME. *Prodromus to class Loculoascomycetes*. Amherst, Massachusetts, Publicado por el autor, 1987.
4. Barr ME. *Prodromus to nonlichenized, pyrenomycetous members of Class Hymenoascomycetes*. *Mycotaxon* 1990; 39: 43-184.
5. Booth C, Pirozinski KA. *Leptosphaerulina trifolii*. Kew, CMI Descr Pathol Fungi Bact, No. 146. Commonwealth Mycol Inst, 1967.
6. Bresler C, Brizzio SB, Vaamonde G. Mycotoxin-producing potential of fungi isolated from amaranth seeds in Argentina. *Int J Food Microbiol* 1995; 25: 101-108.
7. Carrillo L. *Penicillium ulaiense* Hsieh, Su & Tzean, Un patógeno post-cosecha de cítricos del noroeste argentino. *Rev Arg Microbiol* 1995; 27: 107-113.
8. Cole GT, Samson RA. *Patterns of Development in Conidial Fungi*. London, Ed. Pitman, 1979.
9. De Hoog GS, von Arx JA. Revision of *Scolecobasidium* and *Pleurophragmium*. *Kavaka* 1973; 1: 55-60.
10. De Hoog GS. Taxonomy of the *Dactylaria* complex, IV-VI. *Stud Mycol* 1985; 26: 1-60.
11. Domsch KH, Gams W, Anderson TH. *Compendium of soil fungi*. New York, Academic Press, vol. 1, 1980.
12. Ellis MB. *Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew, Reino Unido, CMI, 1971.
13. Ellis MB. *More Dematiaceous Hyphomycetes*. Kew, Reino Unido, CMI, 1976.
14. Farr DF, Bills GF, Chamuris GP, Rossman AY. *Fungi on plants and plant products in the United States*. St. Paul, Minnesota, USA, APS Press, 1989.
15. Fernández Pinto V, Vaamonde G, Comerio RM, Bagnato E. Hongos xerófilos en alimentos: aislamiento, identificación e influencia de la actividad acuosa sobre su crecimiento. X Seminario Latinoamericano y del Caribe de Ciencia y Tecnología de Alimentos, VII Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Buenos Aires, Argentina 1997; Resumen 4-26.
16. Foulet F, Duvoux C, de Bievre C, Hezode C, Bretagne S. Cutaneous phaeohyphomycosis caused by *Veronaea botryose* in a liver transplant recipient successfully treated with itraconazole. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 689-690.
17. González HHL, Resnik SL, Boca RT, Marasas WFO. Mycoflora of Argentinian corn harvested in the main production area in 1990. *Mycopathologia* 1995; 130: 29-36.
18. Graham JH, Luttrell ES. Species of *Leptosphaerulina* on forage plants. *Phytopathology* 1961; 51: 680-693.
19. Grandi RAP. Leaf-degrading Hyphomycetes on *Euterpes edulis* Mart. *Hoehnea* 1999; 26: 87-101.
20. Hawksworth DL. A revision of genus *Ascotricha* Berk. *Mycol Pap* 1971; 126: 1-28.
21. Holmgren PK, Holmgren N, Barnett LC. *Index Herbariorum. Part I: The Herbaria of the World*. New York, New York Botanical Garden, 1990.
22. Horie Y, Nishimura K, Miyaji M, Udagawa S, Meng ZH, Liu XJ. Three noteworthy soil-borne Ascomycetes from Shandong in China. *Trans Mycol Soc Japan* 1993; 34: 123-132.
23. Horré R, de Hoog GS, Kluczny C, Marklein G, Schaal KP. rDNA diversity and physiology of *Ochroconis* and *Scolecobasidium* species reported from humans and other vertebrates. *Stud Mycol* 1999; 43: 194-205.
24. Hyde KD, Goh TK. Fungi on submerged wood in the Riviere St Marie-Louis, The Seychelles. *S Afr J Bot* 1998; 64: 330-336.
25. Kirk PM, Cannon PF, David JC, Stalpers JA. *Dictionary of the Fungi*. Surrey, CAB International, 2001.
26. Nirenburg HI. Untersuchungen über die morphologische und biologische differenzierung in der *Fusarium*-Sektion *Liseola*. Mitteilung aus der Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem 1976; 169: 1-117.
27. Patriarca A, Vaamonde G, Fernandez Pinto V, Comerio R. Influence of water activity and temperature on the growth of *Wallemia sebi*: application of predictive model. *Int J Food Microbiol* 2001; 68: 61-67.
28. Pitt JI, Hocking AD. *Fungi and Food Spoilage*. London, Blackie Academic & Professional, 1997.
29. Roux C. *Leptosphaerulina chartarum* sp. nov., the teleomorph of *Pithomyces chartarum*. *Trans Br mycol Soc* 1986; 86: 319-323.
30. Samson RA, Hockstra E, Frisvad J, Filteborg O. *Introduction to Food and Airborne Fungi*. Utrecht, Centraalbureau Voor Schimmelcultures, 2002.
31. Spegazini C. *Mycetes Argentineses IV*. *Anales del Museo Nacional de Buenos Aires* 1909; 19(ser3; V12): 257-458.
32. Vaamonde G, Degrossi C, Comerio R, Fernandez Pinto V. *Aspergillus flavus* y *A. parasiticus* en mani cultivado en la provincia de Córdoba (Argentina): Características diferenciales y capacidad aflatoxicogénica. *Bol Soc Argent Bot* 1995; 30: 191-198.
33. Wu ML, Hanlin RT. Ascomal development in *Leptosphaerulina crassiasca*. *Mycologia* 1992; 84: 241-252.