

Tesis Doctoral

Ascomycetes termorresistentes de suelos semiáridos de la Provincia de Catamarca, República Argentina. Exploración de su potencial como productores de moléculas bioactivas

Romero, Stella Maris

2016

Este documento forma parte de las colecciones digitales de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en bibliotecadigital.exactas.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the digital collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in bibliotecadigital.exactas.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Romero, Stella Maris. (2016). Ascomycetes termorresistentes de suelos semiáridos de la Provincia de Catamarca, República Argentina. Exploración de su potencial como productores de moléculas bioactivas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. https://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n6042_Romero

Cita tipo Chicago:

Romero, Stella Maris. "Ascomycetes termorresistentes de suelos semiáridos de la Provincia de Catamarca, República Argentina. Exploración de su potencial como productores de moléculas bioactivas". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2016. https://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n6042_Romero

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

Tesis Doctoral

Ascomycetes termorresistentes de suelos semiáridos de la Provincia de Catamarca, República Argentina. Exploración de su potencial como productores de moléculas bioactivas

Romero, Stella Maris

2016

Este documento forma parte de las colecciones digitales de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en bibliotecadigital.exactas.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the digital collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in bibliotecadigital.exactas.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Romero, Stella Maris. (2016). Ascomycetes termorresistentes de suelos semiáridos de la Provincia de Catamarca, República Argentina. Exploración de su potencial como productores de moléculas bioactivas. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. https://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n6042_Romero

Cita tipo Chicago:

Romero, Stella Maris. "Ascomycetes termorresistentes de suelos semiáridos de la Provincia de Catamarca, República Argentina. Exploración de su potencial como productores de moléculas bioactivas". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2016. https://hdl.handle.net/20.500.12110/tesis_n6042_Romero

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Departamento de Biodiversidad y Biología Experimental

**Ascomicetes termorresistentes de suelos semiáridos de la
Provincia de Catamarca, República Argentina. Exploración de su
potencial como productores de moléculas bioactivas**

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires
en el área: **CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Stella Maris Romero

Director de tesis: Dra. Romero, Andrea Irene

Director Asistente: Dr. Comerio, Ricardo

Consejero de estudios: Dra. Forchiassin, Flavia

Lugar de trabajo: Instituto PROPLAME-PRHIDEB, UBA-CONICET.

IMyZA-INTA

Ciudad Autónoma de Buenos Aires

Fecha de defensa: 14/07/16

**Ascomicetes termorresistentes de suelos semiáridos de la Provincia de Catamarca,
República Argentina. Exploración de su potencial como productores de moléculas
bioactivas**

Resumen

Se estudió la diversidad de especies de ascomicetes termorresistentes de suelos semiáridos de Catamarca. El estudio incluyó aspectos relacionados con la biodiversidad, morfología, filogenia y actividad biológica de los extractos fúngicos. Los resultados se organizaron en tres capítulos. El capítulo I trata sobre la identificación, mediante tratamientos polifásicos, de los aislamientos termorresistentes obtenidos de suelo. Se recolectaron 52 muestras de suelo durante dos viajes de muestreo, uno de invierno y otro de verano. A partir de dichas muestras se obtuvieron 240 aislamientos. Se identificaron 34 taxones mediante estudios morfológicos, fisiológicos y moleculares. Entre las especies identificadas, se describen taxones nuevos para la ciencia y se citan aquellos que constituyen primeros registros para la Argentina. En este trabajo se presenta por primera vez un estudio polifásico de ascomicetes termorresistentes de suelos semiáridos de nuestro país. En el capítulo II se estudió la actividad biológica potencial de extractos crudos de algunos aislamientos obtenidos. Se presentan dos taxones cuyos extractos manifestaron actividad antibacteriana y cuatro que exhibieron actividad antifúngica. Para estos últimos se calculó la concentración mínima inhibitoria (CIM) frente a hongos de origen clínico. El capítulo III considera la aplicación de una técnica de análisis de imágenes (*RIMAPS*) para el estudio de la topografía de las ascosporas. Se analizaron micrografías electrónicas de barrido originales. A través de *RIMAPS* quedaron expuestos patrones de ornamentación no detectables a ojo desnudo.

Palabras claves: Ascomicetes termorresistentes, biodiversidad, suelos semiáridos, *Aspergillus*, actividad biológica, *RIMAPS*, MEB.

Heat-resistant ascomycetes of semi-arid soils from Province of Catamarca, Argentina.
Exploring their potential as producers of bioactive molecules

Abstract

The diversity of heat-resistant ascomycetes species of semi-arid soil from Catamarca was studied. The present work included aspects related to biodiversity, morphology, phylogeny and biological activity of fungal extracts. Results were organized in three chapters. The Chapter I deals with polyphasic identification of heat-resistant isolates obtained from soil. Fifty two soil samples were collected during two trips, one was conducted in winter and the other in summer. The analysis of soil samples yielded 240 isolates. Thirty four taxa were identified through morphological, physiological and molecular studies. New taxa for the science and new records for Argentine mycobiota are described. This thesis presents a polyphasic study of heat-resistant ascomycetes of semi-arid soils of our country for the first time. In Chapter II the potential biological activity of crude extracts of some isolates obtained was studied. Two taxa showed antibacterial activity, and four exhibited antifungal activity. For the latter, the minimum inhibitory concentration (MIC) was calculated against fungi of clinical origin. Chapter III considers the application of a technique for image analysis (RIMAPS) for studying the topography of ascospores. Original scanning electron micrographs were analyzed. Through RIMAPS, ornamentation patterns undetectable to the naked eye were exposed.

Palabras claves: Heat-resistant, biodiversity, semi-arid soil, *Aspergillus*, biological activity, RIMAPS, SEM.

Agradecimientos

Este trabajo fue realizado gracias a la ayuda de numerosas personas e instituciones, quienes de manera directa o indirecta, colaboraron en mi formación profesional. Mi mayor agradecimiento a todas ellas y mis disculpas a aquellas que inadvertidamente pude haber omitido.

Mi agradecimiento:

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, en la cual se llevó a cabo la mayor parte de este trabajo.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

Al Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola (IMyZA) perteneciente al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) y al Hospital General de Agudos J. M. Ramos Mejía, en los cuales se realizaron tareas de investigación para la presente Tesis.

A la colección de cultivos NRRL, Northern Regional Research Laboratory y en particular a su curador James Sweney, por la donación de cepas fúngicas.

A mi directora, la Dra. Andrea I. Romero, por transmitirme el entusiasmo por la micología y por estar siempre dispuesta a ayudarme.

A mi director, Dr. Ricardo Comerio, por seguir presente en mi formación científica a lo largo de tantos años.

A mis directores les agradezco su gran dedicación a mi formación y su generosidad para brindarme todos sus conocimientos. Sin ellos, la realización de esta tesis no hubiera sido posible.

A la Dra. Viviana Barrera por su enorme paciencia y amabilidad para enseñarme el trabajo en biología molecular. A Nanci y a Maxi por su ayuda en los ensayos.

A la Dra. Roxana Vitale por abrirme las puertas del Servicio de Micología del Hospital Ramos Mejía y enseñarme sobre micología médica. Al Dr. Javier Afeltra y al Sr. Walter por la ayuda desinteresada ante mis consultas en el laboratorio del hospital.

Al Dr. Eduardo Favret y a la Dra. Lorena Setten, por guiarme con tanta paciencia en mis primeros pasos en RIMAPS.

A la Dra. Liliana Giusiani, por su invaluable ayuda en la interpretación de la filogenia.

A la Dra. Graciela Vaamonde, por el apoyo y el estímulo recibidos a lo largo de todos estos años.

A Nilda por su valiosa e indispensable ayuda en la tarea diaria por tantos años.

A la Lic. Gabriela Larumbe por su colaboración y siempre buena predisposición.

Al Dr. Esteban Español por su valiosa ayuda en mis innumerables pedidos de auxilio.

A la Dra. Cecilia Carmarán por tener siempre las palabras correctas.

Al Lic. Esteban Ceriani por facilitarme el dispositivo fotográfico auxiliar y por su amable ayuda ante cualquier consulta.

A la Lic. Laura Deschamps y el Lic. Diego Higer, por todo el indispensable apoyo bibliográfico.

A la Dra. Silvia López por sus excelentes clases de Micología y Fitopatología, me resultaron inspiradoras para mi labor docente.

A Memo, por contagiarme la pasión por la fotografía y por los numerosos consejos prácticos.

A la Lic. Silvia Castellani por ayuda permanente y su eficiente labor en los trámites administrativos.

A Coti, Cora, Pipi, Nilda, Cinthia, Pupe, Alicia, Gaby M., Luli, Gaby L., Gaby N., Marian, Nancy, Marcela, Laura, Ceci, por escucharme siempre y brindarme palabras de aliento.

A Román, mi compañero de vida, por su ayuda diaria, su confianza incondicional en todo lo que emprendo y las permanentes palabras de aliento.

A Miguel, por tu paciencia obligada frente a todas mis tareas, y a Irene que recién comienza.

A toda mi familia por acompañarme con permanentes palabras de aliento.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Estado del conocimiento sobre <i>Ascomycota</i> en Argentina	1
Estudios previos y estado actual del conocimiento de ascomicetes de suelo	3
Ascomicetes termorresistentes	4
Metodologías de aislamiento de hongos termorresistentes	7
Taxonomía polifásica	8
Cambios recientes en nomenclatura	8
Características de la zona de estudio, Provincia de Catamarca	8
Hipótesis	10
Objetivo General	10
Objetivos específicos	10

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de muestreo	11
Obtención de las muestras	11
Tratamiento de las muestras y aislamiento	13
Identificación de los aislamientos	13
Características culturales	13
Micromorfología	15
Estudios moleculares	15
Materiales adicionales estudiados	17
Análisis filogenético	17
Ordenamiento y modalidad de las descripciones	18
Análisis cualitativo de datos	19

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Lista de especies según el criterio de clasificación adoptado	20
Descripción de las especies	23
<i>Trichoderma</i>	23
<i>Trichoderma saturnisporum</i>	23
<i>Aspergillus</i>	24
<i>Aspergillus</i> subg. <i>Aspergillus</i> (sect. <i>Aspergillus</i>)	25
<i>Aspergillus montevidensis</i>	25
<i>Aspergillus</i> subg. <i>Circumdati</i> (sect. <i>Flavi</i>)	28
<i>Aspergillus flavus</i>	28
<i>Aspergillus</i> subg. <i>Fumigati</i> (sect. <i>Fumigati</i>)	30
<i>Aspergillus australensis</i>	31
<i>Aspergillus biparmatus</i> sp. nov.	34
<i>Aspergillus cacuminosus</i> sp. nov.	36
<i>Aspergillus fischeri</i>	38
<i>Aspergillus fumigatiaffinis</i>	40
<i>Aspergillus affinis fumigatus</i>	41
<i>Aspergillus geometricus</i> sp. nov.	43
<i>Aspergillus huiyanae</i>	45
<i>Aspergillus laciniosus</i>	47

<i>Aspergillus lentulus</i>	47
<i>Aspergillus sculptus</i> sp. nov.	50
<i>Aspergillus shendawei</i>	52
<i>Aspergillus tatenoi</i>	54
<i>Aspergillus tubercularis</i> sp. nov.	57
Clave para las especies de <i>Aspergillus</i> sect. <i>Fumigati</i>	60
<i>Aspergillus</i> subg. <i>Nidulantes</i> (sect. <i>Nidulantes</i>)	61
<i>Aspergillus sydowii</i>	61
<i>Aspergillus</i> subg. <i>Nidulantes</i> (sect. <i>Usti</i>)	62
<i>Aspergillus fuscicans</i> sp. nov.	62
<i>Hamigera</i>	65
<i>Hamigera avellanea</i>	65
<i>Hamigera ingelheimensis</i>	66
<i>Hamigera paravellanea</i>	67
<i>Leiothecium</i>	68
<i>Leiothecium ellipsoideum</i>	69
<i>Penicillium</i>	71
<i>Penicillium</i> subg. <i>Aspergilloides</i> (sect. <i>Ramigera</i>)	71
<i>Penicillium capsulatum</i>	71
<i>Penicillium</i> subg. <i>Aspergilloides</i> (sect. <i>Citrina</i>)	73
<i>Penicillium citrinum</i>	73
<i>Talaromyces</i>	74
<i>Talaromyces</i> sect. <i>Talaromyces</i>	74
<i>Talaromyces macrosporus</i>	74
<i>Talaromyces pinophilus</i>	75
<i>Talaromyces</i> sect. <i>Trachyspermi</i>	76
<i>Talaromyces systylus</i>	76
<i>Talaromyces trachyspermus</i> var. <i>trachyspermus</i>	82
<i>Talaromyces trachyspermus</i> var. <i>macrocarpus</i>	83
<i>Epicoccum</i>	84
<i>Epicoccum nigrum</i>	84
<i>Trichocladium</i>	85
<i>Trichocladium pyriforme</i>	85
<i>Arthrinium</i>	86
<i>Arthrinium phaeospermum</i>	86
<i>Gilmaniella</i>	87
<i>Gilmaniella humicola</i>	87
Análisis cualitativo de datos	88
 DISCUSIÓN GENERAL	 92
 CONCLUSIONES	 96
 BIBLIOGRAFÍA	 97
 TABLAS	
1. Ubicación de los sitios de toma de las muestras de suelo	12
2. Secuencias de referencia utilizadas de especies de la sect. <i>Fumigati</i> y del <i>outgroup</i> <i>A. clavatus</i> de la sect. <i>Clavati</i>	32

3. Características morfológicas y fisiológicas de <i>A. fuscicans</i> y otras especies relacionadas de la sect. <i>Usti</i>	64
4. Características morfológicas de especies de <i>Talaromyces</i> que producen sinemas	80
5. Características morfológicas de especies de <i>Talaromyces</i> , cercanas a <i>T. systylus</i> , que no producen sinemas	82
6. Presencia estacional (verano e invierno) de las especies por muestra	89
7. Presencia/ausencia de especies por sitio geográfico	90

FIGURAS

1. Mapa político de la Provincia de Catamarca con la ubicación aproximada de los sitios de muestreo
2. Vistas de algunos sitios de muestreo
3. Esquema de la metodología del aislamiento e identificación de cepas termorresistentes
4. Topología general del árbol de MP del marcador BenA de la sect. <i>Fumigati</i>
5. Ampliación 1 de la Fig. 4
6. Ampliación 2 de la Fig. 4
7. Topología general del árbol de MP del marcador CaM de la sect. <i>Fumigati</i>
8. Ampliación 1 de la Fig. 7
9. Ampliación 2 de la Fig. 7
10. Árboles de MP de los marcadores BenA y CaM de la sect. <i>Usti</i>
11. Árbol de MP de secuencias de <i>ITS</i> de <i>T. systylus</i> y especies relacionadas
12. Árbol de MP de secuencias de BenA de <i>T. systylus</i> y especies relacionadas
13. Árbol de MP de secuencias de CaM de <i>T. systylus</i> y especies relacionadas
14. Árbol de MP de secuencias de <i>ITS</i> , BenA y CaM combinadas de <i>T. systylus</i> y especies relacionadas

LÁMINAS

1. <i>Aspergillus montevidensis</i>
2. <i>A. australensis</i>
3. <i>A. biparmatus</i>
4. <i>A. cacuminosus</i>
5. <i>A. fischeri</i>
6. <i>A. fumigatiaffinis</i> . <i>A. lentulus</i>
7. <i>A. geometricus</i>
8. <i>A. huiyanae</i>
9. <i>A. laciniosus</i>
10. <i>A. sculptus</i>
11. <i>A. shendawei</i>
12. <i>A. tatenoi</i>
13. <i>A. tubercularis</i>
14. <i>A. fuscicans</i> . <i>Hamigera ingelheimensis</i>
15. <i>Hamigera avellanea</i>
16. <i>H. paravellanea</i>
17. <i>Leiothecium ellipsoideum</i>
18. <i>Penicillium capsulatum</i> . <i>Gilmaniella humicola</i> . <i>Trichocladium pyriforme</i>
19. <i>Talaromyces systylus</i>
20. <i>Talaromyces systylus</i>

CAPÍTULO II

INTRODUCCIÓN

Antimicrobianos y estudios de sensibilidad	3
Métodos de referencia	4
Hipótesis	6
Objetivo General	6
Objetivos específicos	6

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas fúngicas utilizadas	7
Aislamiento e identificación de especies obtenidas por pasteurización del suelo con etanol	7
Aislamiento e identificación de la especie obtenida por siembra directa del suelo en medio de cultivo de actividad acuosa baja	7
Obtención de extractos crudos	8
Análisis de actividad antibacteriana	8
Análisis de actividad antifúngica	9
Ensayos preliminares	10
Análisis de la sensibilidad <i>in vitro</i> de levaduras y hongos filamentosos frente a los extractos	10

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Especies obtenidas por pasteurización del suelo con etanol	14
<i>Achaetomium luteum</i>	14
<i>Sordaria fimicola</i>	15
Especie obtenida por siembra directa del suelo en medio de cultivo de actividad acuosa baja	15
<i>Subplenodomus violicola</i>	15
Actividad antibacteriana	17
Actividad antifúngica	18
Ensayos preliminares de actividad antifúngica	
Análisis de la sensibilidad <i>in vitro</i> de levaduras y hongos filamentosos frente a los extractos	20

CONCLUSIONES	25
--------------	----

BIBLIOGRAFÍA	26
--------------	----

TABLAS

1. Aislamientos seleccionados para los ensayos de actividad biológica	8
2. Nombre de las especies, número y origen de las cepas estudiadas	12
3. Fuentes de extractos crudos y su acción inhibitoria sobre las especies bacterianas analizadas	17
4. Fuentes de extractos crudos y diámetros de los halos de inhibición producidos por extractos de diferente concentración	18
5. CIM para 50 y 100% de inhibición (µg/ml) de diferentes extractos crudos en relación con levaduras de origen clínico	21
6. CIM para 50 y 100% de inhibición (µg/ml) de diferentes extractos crudos en relación con a hongos filamentosos de origen clínico	23

LÁMINAS

1. *Subplenodomus violicola*

CAPÍTULO III

INTRODUCCIÓN

Aplicaciones	2
Hipótesis	4
Objetivo General	4
Objetivos específicos	4

MATERIALES Y MÉTODOS

Micrografías	5
Análisis de imágenes	5
Estudio de imágenes reales y conceptualizadas de la superficie de una ascospora	5
Caracterización del patrón de disposición de tubérculos en una ascospora	6
Diferenciación entre ascosporas con distintos tipos de ornamentación	6

RESULTADOS

Estudio de imágenes reales y conceptualizadas de la superficie de una ascospora	6
Caracterización del patrón de disposición de tubérculos en una ascospora	7
Diferenciación entre ascosporas con distintos tipos de ornamentación	8

CONCLUSIONES	10
--------------	----

BIBLIOGRAFÍA	11
--------------	----

TABLAS

1. Características de los espectros <i>RIMAPS</i> de las ascosporas de las especies analizadas	8
--	---

FIGURAS

1. Esquema de un espectro <i>RIMAPS</i> de una línea rotada en sentido antihorario	2
2. Estudio de imágenes reales y conceptualizadas de la superficie de una ascospora de <i>A. montevidensis</i>	
3. Caracterización del patrón de disposición de tubérculos en una ascospora	
4. Imágenes de las ascosporas analizadas	
5. Espectros <i>RIMAPS</i> de ascosporas reticuladas y microtuberculadas	
6. Comparación entre espectros <i>RIMAPS</i> de ascosporas reticuladas y microtuberculadas	

APÉNDICES

APÉNDICE 1. Abreviaturas

APÉNDICE 2. Composición de los medios de cultivo empleados

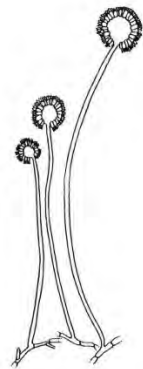
APÉNDICE 3. Secuencias de los cebadores utilizados

APÉNDICE 4. Árbol obtenido por *Neighbour Joining*, a partir de secuencias del gen BenA

APÉNDICE 5: Árbol obtenido por *Neighbour Joining*, a partir de secuencias del gen CaM.

CAPÍTULO I

Ascomicetes termorresistentes de suelos semiáridos de la Provincia de Catamarca, República Argentina



INTRODUCCIÓN

La biodiversidad fúngica es un componente vital para el mantenimiento de los ecosistemas naturales. Los hongos están ligados con el funcionamiento de los ecosistemas porque contribuyen a mantener el equilibrio poblacional de los elementos de la flora, reciclan nutrientes, juegan un rol vital como descomponedores, simbioses y parásitos de plantas y animales (Catania, 2009).

El Reino Fungi incluye estimativamente 1,5 millones de especies y en la actualidad se reconocen seis phyla (Kirk *et al.*, 2008). Hibbet *et al.*, (2007) proponen una clasificación filogenética para todo el reino.

Ascomycota es el phylum más grande del Reino Fungi, con alrededor de 65000 especies representa aproximadamente el 65% de los hongos descritos hasta el momento (Hawksworth *et al.*, 1995; Kirk *et al.*, 2008).

Lumbsch & Huhndorf (2009) exponen una clasificación para el phylum *Ascomycota*, que incluye todos los géneros aceptados y los taxones superiores por encima del nivel genérico.

Estado del conocimiento sobre *Ascomycota* en Argentina

El estudio de los ascomicetes en nuestro país comenzó con el botánico y micólogo Carlos Spegazzini, quien fue el primero en llevar a cabo estudios sobre ascomicetes, entre los años 1879-1926, y nombró numerosas especies nuevas para la ciencia. Posteriormente, a partir de la década del cincuenta continuaron en esta línea Gamundí y colaboradores.

Varsavsky (1965) contribuyó al conocimiento de las especies argentinas de la familia *Gymnoascaceae*. Godeas (1977) realizó un estudio ecológico de hongos de suelo en los bosques de coihue del sur de Argentina.

Durante la última década del siglo pasado comenzaron a desarrollarse Tesis doctorales centradas en el estudio de ascomicetes. Lorenzo (1992) estudió especies coprófilas de la Patagonia y Tierra del Fuego. Romero (1994) centró su investigación sobre ascomicetes en *Eucalyptus viminalis* Labill., en la provincia de Buenos Aires y Bianchinotti (1994) sobre *Geoffroea decorticans* (Hook. & Am.) Burkart. Carmarán (2003)

estudió la diversidad y taxonomía del orden *Diatrypales* y Hladki (2007) la familia *Xylariaceae* en Tucumán. Catania (2009) estudio ascomicetes sobre *Podocarpus parlatorei* Pilg. en el noroeste argentino. Sánchez (2011) enfocó su estudio sobre plantas nativas de la región andino-patagónica y Capdet (2012) sobre palmeras nativas. Barrera (2012) realizó un estudio polifásico integral del género *Hypocrea/Trichoderma* (*Hypocreales*). Pereira (2013) estudió *Aspergillus* spp. en plantas de maní nativo y cultivado.

Los trabajos de Gamundí (1956, 1957, 1958, 1962, 1964, 1971, 1975, 1986) y colaboradores (Gamundí & Giaioti, 1998; Gamundí & Romero, 1998; Gamundí *et al.*, 2004) estudiaron los ascomicetes con ascomas apoteciales del sur de nuestro país. Lorenzo & Messuti (1998) y Messuti & Lorenzo (1997, 2003, 2007) realizaron diversos trabajos sobre las *Hysteriales*. Ascomicetes en estados anamórficos se estudiaron sobre la hojarasca de diferentes especies del género *Nothofagus* del sur de nuestro país (Gamundí, 1977; Godeas, 1977; Gamundí *et al.*, 1979, 1983; Arambarri *et al.*, 1981; Arambarri & Gamundí, 1984, 1985; Arambarri & Spinedi, 1984). También se realizaron una serie de estudios sobre ascomicetes acuáticos en el río Santiago y Tierra del Fuego (Arambarri *et al.*, 1987a, b, c, d; Cabello *et al.* 1990, 1993; Cazau *et al.* 1990, 1993; Godeas, 1985; Godeas & Arambarri, 1993) y marinos (Peña & Arambarri, 1996, 1997, 1998; Peña *et al.*, 1996). Godeas *et al.* (1977a, 1977b) y Cabello (1983) estudiaron micromicetes de suelo del sur del país y de Buenos Aires.

En las líneas de investigación dedicadas a la micología de alimentos (Bonera *et al.*, 1982; Bresler *et al.*, 1995; González *et al.*, 1995; Dalcero *et al.*, 1998; Magnoli, 1998; Pildaín *et al.*, 2005, 2008; Romero *et al.*, 2005; Reynoso *et al.*, 2006; Canafoglia *et al.*, 2007; Sacchi *et al.*, 2009; Palacios *et al.*, 2011; Chiotta *et al.*, 2013; Munitz *et al.*, 2013; Barberis *et al.*, 2014; entre otros), micología médica (Negroni, 1957; Esquivel *et al.*, 2004; Davel & Canteros, 2007; entre otros), y al estudio de endofitos (Cabral *et al.*, 1999; Menéndez *et al.*, 1997; Gentile *et al.*, 2005; De Errasti *et al.*, 2010; Iannone *et al.*, 2011; entre otros) se mencionan/describen algunas especies de *Ascomycota* pero no son estudios encarados desde el punto de vista de la biodiversidad de este grupo. Entre los estudios de endofitos, recientemente Arrieta (2014) investigó la micobiota de la rizósfera de *Bromus auleticus* Trin.

Estudios previos y estado actual del conocimiento de ascomicetes de suelo

El suelo es un medio complejo, un ecosistema con múltiples componentes abióticos y bióticos. No es un único hábitat, sino que consiste en numerosos hábitats y microambientes microscópicos. Entre los microorganismos habitantes del suelo, los hongos son los más abundantes en términos de biomasa y actividad fisiológica (Bills *et al.*, 2004). Gams (2007) estimó una cantidad de 3300 especies conocidas de hongos de suelo y mencionó que se conoce un 30% de la diversidad fúngica del mismo.

El suelo además de ser el hábitat primario de hongos metabólicamente activos, también es un reservorio de propágulos fúngicos latentes. En la mayoría de los hongos la condición de latencia o dormancia, así como la dispersión, se realiza por la producción de esporas (Carlile & Watkinson, 1994).

Las comunidades fúngicas de suelos semiáridos se caracterizan principalmente por presentar una combinación de baja densidad de propágulos y alta biodiversidad (Mouchacca, 1993).

Desde el siglo XIX se publicaron numerosos estudios dedicados a los hongos de suelo. Sin embargo, el primer manual fue el de Gilman (1945) e incluyó alrededor de 600 especies de ascomicetes y zigomicetes. Barron (1968) publicó un trabajo de referencia para hongos en estado anamófico. En 1980, Domsch & Gams, publicaron el “*Compendium of Soil Fungi*”. En la segunda edición (Domsch *et al.*, 2007) describieron detalladamente unas 400 especies, y presentaron información taxonómica, ecológica y fisiológica a partir de una extensa bibliografía (7500 publicaciones). Guarro *et al.* (2012) publicaron el “*Atlas of Soil Ascomycetes*” dedicado a ascomicetes de suelo que pueden desarrollarse en medios de cultivo. Otros buenos trabajos monográficos resultan de utilidad relativa porque son de lugares geográficos particulares, por ejemplo, de Qatar y otros países árabes (Moubasher, 1993), Japón (Watanabe, 2002, 2010) y ex Unión Soviética (Litvinov, 1967).

Los primeros trabajos que se dedicaron al estudio específico de ascomicetes de suelo en Argentina, además de algunos registros de Spegazzini, pertenecen a Winitzky (1948, 1952, 1957). Algunos trabajos aislados fueron publicados por Negroni & Daglio (1954), Varsavsky (1965) entre otros. Posteriormente se publicó una serie de trabajos llamados “Micoflora del suelo de Argentina” I- VII (Godeas, 1972; Wright *et al.*, 1971; Wright & Marchand, 1972; Bertoni *et al.*, 1973; Godeas, 1975; Godeas *et al.*, 1977a), en los cuales se adicionaron numerosas citas nuevas para Argentina y se propusieron algunas

especies nuevas, a partir de distintas provincias fitogeográficas. Cabello (1986) aisló distintos grupos de hongos, entre ellos ascomicetes, a partir de suelo de la región interserrana (Partido Coronel Rosales, Provincia de Buenos Aires) utilizando diversas metodologías. Cabello & Arambarri (2002) estudiaron el suelo de bosques perturbados y no perturbados de la Provincia de Buenos Aires. En el delta del río Paraná (Bettucci *et al.*, 2002) condujeron estudios acerca de la composición fúngica del suelo y evaluaron si el movimiento del agua influye sobre la comunidad de hongos. Giusiano *et al.* (2002) estudiaron la distribución altitudinal de hongos queratinofílicos, epífitos y endófitos en suelos semiáridos de Jujuy, y Mangiaterra *et al.* (2006), los hongos de las planicies semiáridas de San Luis. Eliades *et al.* (2006a) se refirieron a los hongos en estado anamórfico de bosques nativos; consideraron tres suelos (y profundidades) diferentes. La diversidad de microhongos saprótrofos (ascomicetes en estado anamórfico) presente en hojarasca y suelo en bosques nativos de tala de la Provincia de Buenos Aires fue estudiada por Allegrucci *et al.* (2007). Allegrucci *et al.* (2009) revisaron la información disponible en relación con la diversidad de anamorfos de *Ascomycota* de bosques nativos de Argentina. Estos autores informaron que no existían datos de especies, en estado anamórfico, identificadas a partir de la provincia fitogeográfica del Monte, una de las más áridas de nuestro país.

Ascomicetes termorresistentes

La temperatura es una de las variables ambientales más importantes, ya que juegan un papel clave en la supervivencia, crecimiento, distribución y diversidad de microorganismos sobre la superficie de la tierra (Mouchacca, 1993). Los hongos que pueden crecer a temperaturas elevadas generalmente son clasificados en dos subgrupos, termofílicos y termotolerantes. Mouchacca (2007) destaca que según Cooney & Emerson un hongo termofílico se define como aquel que puede crecer a una temperatura máxima de 50 °C o superior y a una temperatura mínima por encima de 20 °C y, por otra parte, un hongo termotolerante es aquel cuya temperatura máxima de crecimiento se encuentra cercana a 50 °C y la mínima muy por debajo de 20 °C. En cambio, los hongos termorresistentes pueden ser definidos como aquellos capaces de sobrevivir a temperaturas de 75 °C, o mayores, por 30 minutos o más. Las estructuras fúngicas que pueden sobrevivir estas temperaturas son las ascosporas, algunas veces clamidosporas,

hifas de paredes gruesas o esclerocios (Scholte *et al.*, 2004). Dijksterhuis & Samson (2006) dan una definición más amplia, incluyendo ascosporas, esclerocios y conidios que pueden sobrevivir de 55 a 95 °C. La termorresistencia, como su nombre indica, se asocia con la capacidad de superar tratamientos a temperaturas elevadas en relación con la viabilidad con las estructuras fúngicas. En definitiva, los hongos termorresistentes pueden ser organismos mesófilos (crecimiento entre 10-40 °C, Kirk *et al.*, 2008), termotolerantes o termofílicos.

Los hongos más termorresistentes generalmente son ascomicetes. La primera descripción de la naturaleza termorresistente de hongos no fue a partir de suelos sino de alimentos, y fue el aislamiento de *Byssochlamys nivea* Westling (actualmente *Byssochlamys lagunculariae* (C. Ram) Samson, Houbraken & Frisvad) a partir de frutas enlatadas en la década de 1930 por Oliver y Rendle (Dijksterhuis, 2007). Kavanagh *et al.* (1963) aislaron *Neosartorya fischeri* (Wehmer) Malloch & Cain (= *A. fischeri* Wehmer) a partir de frutillas en conserva. A partir del cultivo selectivo de hongos termorresistentes de 200 muestras de suelo, Put (1964) encontró que de 27 cepas aisladas de *Byssochlamys*, 25 fueron de *B. nivea* y dos de *B. fulva* Olliver & G. Sm.

Bollen (1969), en un estudio sobre el efecto selectivo del tratamiento térmico en la microflora de suelos de viveros, examinó la resistencia térmica de algunos grupos de hongos. Dentro de ascomicetes observó que un tratamiento de 50-55 °C, 30 min, elimina a *Chaetomium* spp., que a 55-60 °C *Preussia fleischhakei* (Auersw.) Cain y algunas *Sordaria* spp. no sobreviven, y que a 60-65 °C *Sporormia aemulans* (Rehm) Arx (= *Preussia aemulans* (Rehm) Arx) y *Sordaria carbonaria* (W. Phillips & Plowr.) Sacc. (= *Strattonia carbonaria* (W. Phillips & Plowr.) N. Lundq.) tampoco. Por otro lado, expuso que las esporas de *Eurotiales* son más resistentes porque toleran tratamientos mayores a 65 °C durante el mismo tiempo. *Talaromyces helicus* C.R. Benj., *T. wortmanni* C.R. Benj. y *T. vermiculatus* (P.A. Dang.) C.R. Benj. (= *T. flavus* (Klöcker) Stolk & Samson) sobrevivieron a 65°C, *Carpenteles brefeldianum* (B.O. Dodge) Shear (= *Penicillium dodgei* Pitt), *Eupenicillium baarnense* (J.F.H. Beyma) Stolk & D.B. Scott (= *Penicillium vanbeymae* (J.F.H. Beyma) Stolk & D.B. Scott) y *Byssochlamys nivea* a 70 °C y *Sartorya fumigata* Vuill. (= *A. fischeri*) a 80 °C. *Trichocladium pyriforme* M. Dixon sobrevivió incluso al tratamiento de 80 °C y *Gilmaniella humicola* G.L. Barron al de 90 °C. Algunas especies del género *Humicola* sobreviven tratamientos de 30 min a 70 °C, pero no a 80 °C (Bollen, 1974). Similares resultados para estas especies fueron informados por Jesenská (1993), quien además encontró que *Talaromyces avellaneus* (Thom & Turesson) C.R. Benj. (= *Hamigera avellanea*

Stolk & Samson) fue el más resistente, ya que fue capaz de sobrevivir 90 °C durante 60 min; *Eupenicillium baarnense* sobrevivió a 80 °C, 60 min, y dos aislamientos fueron recuperados después de tratar suelo a 90 °C. Beuchat (1986) encontró que ascosporas de *B. nivea* y *B. fulva* exhibieron considerablemente menos termorresistencia que las de *T. flavus* y *N. fischeri* que, de todas maneras, toleran 70 a 75 °C durante 30 min.

Los hongos termorresistentes adquieren importancia, desde el punto de vista económico, debido a la contaminación de alimentos sometidos a procesos térmicos de conservación (Tournas, 1994), y además constituyen un riesgo para la salud debido a la potencial producción de micotoxinas (Frac *et al.*, 2015). En este sentido numerosos trabajos se realizaron en alimentos, y los hongos termorresistentes más comúnmente encontrados fueron *Aspergillus* tipo neosartoria (Splittstoesser *et al.*, 1971; Beuchat, 1986; Kotzekidou, 1997), *Byssosclamyces nivea*, *B. fulva* y *B. spectabilis* (King *et al.*, 1969; van der Spuy *et al.*, 1975; Beuchat, 1986; Kotzekidou, 1997), *Paecilomyces variotii* (King *et al.*, 1969), *Talaromyces flavus*, *T. helicus*, *T. macrosporus* (Stolk & Samson) Frisvad, Samson & Stolk (Beuchat, 1986), *T. stipitatus* C.R. Benj., *T. trachyspermus* (Shear) Stolk & Samson, *Hamigera avellanea* y *Thermoascus crustaceus* (Apinis & Chesters) Stolk (King *et al.*, 1969; Scaramuzza & Berni, 2014).

En nuestro país, Wright *et al.* (1971) en el estudio de “Micoflora del suelo de Argentina II” utilizaron el método de Warcup & Baker (1963), con modificaciones de Scott (1968), para aislar ascomicetes termorresistentes de suelo de la Prov. de Buenos Aires. En dicho trabajo, encontraron *Talaromyces stipitatus*, *T. vermiculatus*, *Eupenicillium anatolicum* Stolk, *Sartorya fumigata* var. *spinosa* (Raper & Fennell) Udagawa & H. Kwas. (= *Aspergillus fischeri*), *Emericellopsis microspora* Backus & Orpurt (= *E. minima* Stolk), *Chaetomium cochliodes* Palliser, *C. dolichotrichum* L.M. Ames (= *C. funicola* Cooke), *C. globosum* Kunze, *C. ochraceum* Tschudy y *Anixiella reticulata* (C. Booth & Ebben) Cain (= *Gelasinospora reticulata* (C. Booth & Ebben) Cailleux). En los otros trabajos de esta serie (“Micoflora del suelo de Argentina” I, III-VII, Godeas, 1972; Wright & Marchand, 1972; Bertoni *et al.*, 1973; Godeas, 1975; Godeas *et al.*, 1977a), se aíslan numerosas especies, primeras citas para nuestro país, por distintos métodos de aislamiento.

En cuanto al aislamiento de hongos termorresistentes a partir de alimentos, Vincenzini *et al.*, (1998) aislaron *Neosartorya fischeri* (= *A. fischeri*) a partir de frutillas tratadas térmicamente a 80 °C y Sobrero *et al.* (2002) *Neosartorya glabra* (Fennell & Raper) Kozak. (= *A. neoglaber* Kozak.) a partir de jugos cítricos concentrados pasteurizados. Frisón

et al. (2012) aislaron de frutillas recién cosechadas, tratadas a 80 °C por 15 min, *Neosartorya fischeri* (= *A. fischeri*) y *N. spinosa* (Raper & Fennell) Kozak. (= *A. spinosus* Kozak.), *Arthrinium phaeospermum* (Corda) M.B. Ellis, *Byssochlamys nivea* y *Talaromyces macrosporus*; en las frutillas tratadas térmicamente de manera comercial no se aislaron hongos termorresistentes luego de aplicado el tratamiento térmico.

Metodologías de aislamiento de hongos termorresistentes

Los métodos ampliamente usados para aislar organismos de suelo son el de dilución en placa, el de siembra en superficie (ambos con suspensiones de suelo, por eso Bills *et al.*, 2004, prefiere llamarlos de suspensión en placa) y el método de Warcup en el cual siembran directamente porciones de suelo en el medio de cultivo fundido (Carlile & Watkinson, 1994). Distintos métodos de aislamiento a partir de este sustrato, como filtración de partículas, uso de cebos o anzuelos, etc. están detalladamente descritos en Bills *et al.* (2004).

Warcup & Baker (1963) al tratar una suspensión de suelo a 60 °C durante 30 min., y al sembrar luego distintas diluciones en medio de cultivo fundido, obtuvieron mayor número de aislamientos que con el suelo sin calentar. Este hecho, les sugirió que el tratamiento estimula la esporulación de esporas de suelo que están en estado de dormancia. La dormancia o latencia puede ser considerada una forma de hipometabolismo, que incluye cualquier período de descanso o interrupción reversible del desarrollo fenotípico. La dormancia exógena o quiescencia, incluye retraso en el desarrollo debido a las condiciones físicas o químicas del medio ambiente. Mientras que la dormancia constitutiva es una condición en la que el desarrollo se retrasa a causa de propiedades tales como una barrera para la penetración de nutrientes o de agua, un bloqueo metabólico, o como resultado de la acción de un compuesto autoinhibitorio (Dijksterhuis, 2007). Las ascosporas de los hongos termorresistentes presentan una dormancia constitutiva y necesitan una señal física importante para romper la latencia. Esta señal puede ser choque térmico u otras tales como alta presión o métodos químicos como la activación con acetona o 2-furfuraldehído (Stchigel, 2000; Houbraeken & Samson, 2006; Dijksterhuis, 2007; entre otros).

Desde la descripción del método por Warcup & Baker (1963), se publicaron numerosas metodologías para hongos termorresistentes, pero para el estudio a partir de

alimentos (Beuchat & Pitt, 1992; Pitt & Hocking, 1997; Houbroken & Samson, 2006; Samson *et al.*, 2000).

Taxonomía polifásica

En los últimos años, además de las características morfológicas, también han sido estudiados para algunos grupos de hongos las capacidades fisiológicas y nutricionales, los datos biogeográficos y ecológicos y los perfiles de producción de metabolitos secundarios, los cuales son utilizados en combinación con datos moleculares para construir un sistema taxonómico llamado taxonomía polifásica.

Estudios polifásicos han sido recientemente desarrollados para *Aspergillus* y *Penicillium* por Frisvad & Samson (2004), Samson & Varga (2009), Samson *et al.* (2009), Berni *et al.* (2011), Samson *et al.* (2011), Baquião *et al.* (2013), entre otros.

Cambios recientes en nomenclatura

De acuerdo con el Código de Nomenclatura vigente (McNeill *et al.*, 2012) para la elección del nombre correcto en el caso de los hongos pleomórficos compiten tanto los nombres de los anamorfos como los de los teleomorfos. El principio de prioridad regula la elección de uno u otro con algunas excepciones regidas por el artículo 57.2. Las nuevas normas produjeron numerosos cambios nomenclaturales como consecuencia de las numerosas decisiones taxonómicas previas. El código también gobierna la formación de comisiones formadas por expertos para cada grupo fúngico que analizan estos cambios y elevan las propuestas al comité de nomenclatura fúngica (Artículos 14.13 y 56.3). Como ejemplo de estas comisiones de expertos está la *ICPA (International Commission of Penicillium and Aspergillus)*.

Características de la zona de estudio, Provincia de Catamarca

La Provincia de Catamarca está dividida en seis provincias fitogeográficas, Prepuneña, Puneña, Altoandina, del Monte, Chaqueña y de las Yungas (Morlans, 1995).

La provincia fitogeográfica del Monte pertenece al Dominio Chaqueño (Región Neotropical). En Catamarca, se extiende por valles, bolsones y faldeos montañosos de la región Centro-Oeste. El Monte en Catamarca abarca el sur y este del Departamento de Tinogasta, la mitad austral de Belén y la mayor parte de los Departamentos de Santa María, Andalgalá y Pomán (Morlans, 1995). Comprende una superficie de 1.457.579 hectáreas (Manghi *et al.*, 2005).

El clima de esta región es subtropical, árido, con niveles de precipitación que oscilan entre los 150 a 200 mm anuales (aunque en algunas localidades, como Andalgalá y Belén, se han registrado hasta 300 mm/año) y fuerte concentración estival (del orden del 60 al 70%). Las lluvias son torrenciales y localizadas, con alta variabilidad y erraticidad tanto durante un mismo año, así como también entre un año y otro, y con desviaciones hasta del 100% en torno a la media histórica. Asimismo, los valores térmicos presentan variación diaria y estacional relativamente amplia, con ocurrencia de heladas durante el otoño e invierno y vientos todo el año, las temperaturas alcanzadas resultan particularmente desecantes en primavera (Morlans, 1995).

Altitudinalmente, el Monte se ubica aproximadamente entre los 600 msnm en las partes más bajas del Bolsón de Pipanaco, y los 2700-3000 msnm, en los bordes del Campo del Arenal, del Valle de Santa María, del Valle de Tinogasta y de Fiambalá (Morlans, 1995).

El tipo de vegetación predominante es el matorral o la estepa arbustiva xerófila, sammófila o halófila. Desde el punto de vista florístico, la provincia del Monte se caracteriza por la presencia, casi constante, de especies del género *Larrea* y *Prosopis* arbustivos. La comunidad clímax del Monte es el “jarillal” que se desarrolla en los bolsones y llanuras de suelo arenoso o pedregoso-arenoso (Cabrera, 1971).

Hipótesis

Existe una diversidad de especies de ascomicetes termorresistentes no conocida para los suelos semiáridos de la región fitogeográfica del Monte de la Provincia de Catamarca. Como se trata de una zona poco explorada, es probable que se encuentren entidades biológicas no descriptas hasta el presente.

Objetivo General

- Estudiar la biodiversidad de los ascomicetes termorresistentes de suelos semiáridos, con especial referencia a la región fitogeográfica del Monte de la Provincia de Catamarca.

Objetivos específicos

- Contribuir al conocimiento de la diversidad de ascomicetes termorresistentes de la Argentina.
- Identificar a nivel de especie los aislamientos termorresistentes obtenidos mediante estudios de cultivo, morfológicos y moleculares.
- Analizar cualitativamente la presencia estacional de las especies identificadas y su distribución por sitio.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de muestreo

Se realizaron dos viajes a la provincia fitogeográfica del Monte (Cabrera, 1971) de la Provincia de Catamarca, el primero en el verano de 2009 y el segundo en el invierno de 2011. Durante el primer muestreo se visitaron 20 sitios. En el muestreo de invierno se visitaron 30 sitios (incluidos 18 del muestreo anterior). Adicionalmente en el verano de 2010 se realizó un viaje parcial en el cual se visitaron 2 sitios de muestreo. En cada sitio se tomó una única muestra, es decir 20 de verano de 2009, 2 en el verano del 2010 y 30 en el invierno de 2011. Las muestras numeradas del 02 al 21 corresponden al verano de 2009, 22 y 23 al verano de 2010 y del número 32 al 63 corresponden al invierno de 2011 (Tabla 1).

Como se ve en la Tabla 1, tres muestras de suelo, una de 2009 y dos de 2011, correspondieron a la Provincia de La Rioja (19, 49 y 63). Aunque el estudio de muestras de La Rioja no forma parte de los objetivos del presente estudio, de todos modos, su examen se consideró interesante. Se trató de sitios de muestreos muy cercanos al límite con Catamarca y pertenecientes a la misma provincia fitogeográfica. Por otro lado, dentro de las 52 muestras hay ocho que pertenecen a la provincia fitogeográfica Chaqueña, perteneciente al Dominio Chaqueño al igual que la del Monte.

Dentro de la provincia del Monte los muestreos se realizaron en los departamentos de Andalgá, Belén, Pomán, Santa María y Tinogasta; las muestras de la provincia fitogeográfica chaqueña pertenecen a los departamentos de La Paz y Capayán (Fig. 1). Las coordenadas geográficas de los sitios de muestreo se pueden observar en la Tabla 1. En la Figura 2 se presentan distintos paisajes de los sitios en los cuales fueron tomadas las muestras.

Obtención de muestras

Se tomaron alrededor de 200 g de suelo en recipientes estériles (Bills *et al.*, 2004). Dichas muestras fueron mantenidas a temperatura ambiente en lugar seco hasta su análisis.

Tabla 1: Ubicación de los sitios de toma de las muestras de suelo

Toma de muestras			Sitios de muestreo	Coordenadas		Altura (m.s.n.m.)
2009	2010	2011		Latitud (S)	Longitud (O)	
02	22	32	Cat. Ruta Nac. 60 km 934. Salinas.	29° 33,581'	64° 52,937'	186
03	23	33	Cat. Ruta Nac. 60 km 1016.	29° 30,068'	65° 37,951'	237
04		34	Cat. Ruta Nac. 60 km 1102. Entre San Martín y Chumbicha	28° 55,246'	66° 08,768'	338
05		35	Cat. Ruta Nac. 60 km 1146. Quebrada de la Cébila	28° 13,086'	66° 22,675'	1051
06		36	Cat. Ruta Prov. 46. Entrada a Rincón.	28° 46,365'	66° 09,940'	1317
07		37	Cat. Ruta Prov. 25. Camino a Michango.	28° 14,602'	66° 08,849'	1507
08		38	Cat. Ruta Prov. 25.	28° 15,510'	66° 08,788'	1424
09		39	Cat. Ruta Prov. 25 a 6 km de Pomán hacia Rosario de Colana.	28° 22,677'	66° 11,836'	1304
10			Cat. Rincón.	s.d.	s.d.	
11		41	Cat. Ruta Prov. 46 Km 70. Camino a Andalgalá, entre Joyango y Colpes	28° 05,578'	66° 12,913'	859
12		42	Cat. Ruta Prov. 46. Saliendo de Andalgalá	27° 35,217'	66° 22,183'	996
13		43	Cat. Ruta Prov. 46 km 185. De Andalgalá a Belén	27° 45,202'	66° 47,989'	1069
14		44	Cat. Ruta Nac. 40. Desde Belén pasando San Fernando	27° 18,858'	66° 53,584'	1707
15		45	Cat. Ruta Prov. 36. De Puerta de Corral Quemado a Corral Quemado	27° 12,551'	66° 56,475'	1995
16		46	Cat. Desde Corral Quemado a Papachacra	27° 07,545'	66° 56,598'	2152
17			Cat. Saliendo de Papachacra	s.d.	s.d.	2564
18		48	Cat. Ruta Prov. 43. Puerta de Corral Quemado hacia Villa Vil.	27° 12,985'	66° 54,600'	1871
19		49	La Rioja. Ruta 60 Km 1172. Entre Mazán y Villa Mazán.	28° 40,507'	66° 30,038'	653
20		50	Cat. Ruta Nac. 38 km 563. Entre Miraflores y San Fernando del Valle	28° 35,088'	65° 52,451'	522
21		51	Cat. Ruta Prov. 33. A 30 km de San Fernando del Valle hacia San Martín	28° 42,057'	65° 46,128'	418
		52	Cat. Ruta Prov. 47. A 16 km de Andalgalá, camino a Minas Capillitas	27° 30,012'	66° 22,835'	1555
		53	Cat. Ruta Prov. 47 km 35,5	27° 26,840'	66° 24,427'	2700
		54	Cat. Ruta Prov. 47 km 43,5	27° 24,147'	66° 24,149'	3056
		55	Cat. Ruta Prov. 47 km	27° 14,282'	66° 17,518'	2640
		56	Cat. Ruta Nac. 40 km 4243,5 a 2 km de San José	26° 51,378'	66° 05,859'	2031
		57	Cat. Ruta Nac. 40 km 4206,3	27° 00,294'	66° 21,584'	2243
		58	Cat. Ruta Nac. 40. Hualfin	27° 13,291'	66° 48,752'	1877
		59	Cat. Ruta Nac. 40 km 4019. De Belén a Tinogasta	28° 11,546'	67° 08,201'	1065
		60	Cat. Ruta Nac. 60 km 1275. De Salado a Copacabana	28° 18,319'	67° 16,565'	1023
		61	Cat. Ruta Nac. 60 km 1347. De Tinogasta a Fiambalá	27° 55,035'	67° 39,729'	1400
		62	Cat. Ruta Nac. 60. Medanitos	27° 32,030'	67° 36,101'	1627
		63	La Rioja. Ruta 60 Km 1226. De Tinogasta a Aimogasta	28° 25,352'	66° 53,113'	911

s.d.: sin datos

La recolección de las muestras de suelo fue realizada por Convenio entre el CONICET y la Secretaría de Ambiente de la Provincia de Catamarca.

Tratamiento de las muestras y aislamiento

Se agregaron asépticamente 5 g de muestra de suelo a 100 ml de Agar Extracto de Malta (MEA) fundido, mantenido a 75 °C y adicionado con 50 ppm de cloranfenicol (modificado de Samson *et al.*, 2000). La mezcla se mantuvo a esa temperatura durante 30 minutos y luego se distribuyó en dos cajas de Petri de 150 mm de diámetro. Los cultivos se incubaron a 30 °C durante un período de 30 días. Este procedimiento se repitió para aquellas muestras en las cuales no se observó desarrollo fúngico. Con el objeto de obtener cultivos puros las colonias presentes se repicaron en MEA y se incubaron a 25 °C (Fig. 3).

Identificación de los aislamientos

Los aislamientos se identificaron a nivel de especie según sus características culturales, micromorfológicas y moleculares (Fig. 3).

Características culturales

Las características culturales consideradas fueron el color, textura, márgenes y velocidad de crecimiento (diámetro/días) de la colonia, como así también el color del reverso, producción de pigmentos solubles y exudados de las colonias. La descripción de los colores se efectuó en forma cualitativa; no obstante, en algunos casos particulares se recurrió al trabajo de Ridgway (1912).

La metodología empleada para la identificación a nivel de especie fue diferente en función de los aislamientos pertenecientes a los distintos géneros recuperados en cultivo.

Las especies del género *Aspergillus* se identificaron según Samson *et al.* (2007) y Samson *et al.* (2014). A partir de cultivos de 7 días en MEA se prepararon suspensiones de esporas (solución acuosa estéril con 0,05% de Tween 80 y 0,2% de agar) y se inocularon tres puntos en placas de los siguientes medios de cultivo: MEA, MEA con

20% de sacarosa (M20), OA, Agar Czapek Extracto de Levadura (CYA), de acuerdo con las formulaciones de Samson *et al.* (2000 y 2014) detalladas en el Apéndice 2. En algunos casos también se utilizó el Agar Afrecho de Trigo (ATA, Dora Barreto comunicación personal) para estimular la producción del anamorfo al igual que el M20. En todos los casos se utilizaron cajas de Petri plásticas de 9 cm de diámetro. La siembra se realizó con pipeta automática. Se depositó 1 µl de la suspensión de esporas en tres puntos equidistantes entre sí y del centro de la placa. Los cultivos se incubaron en oscuridad a 25 °C durante 14 días (Samson *et al.*, 2007), excepto aquellos en CYA y M20 que también se incubaron a 37 °C. Por otra parte, se realizaron cultivos adicionales en MEA y se incubaron a 10, 45 y 48 °C. Las colonias se examinaron luego de 7 y 14 días; sus diámetros se midieron utilizando una regla.

Para determinar las especies de *Penicillium* spp. y *Talaromyces* spp. en estado anamórfico, se prepararon suspensiones de esporas de idéntico modo al que se indicó anteriormente respecto de *Aspergillus* spp. y se inocularon en los siguientes medios de cultivo: Agar Extracto de Malta según Blakeslee (BMEA), MEA, OA, CYA, Agar Czapek (CZ), Agar Nitrato 25% de Glicerol (G25N), Agar Extracto de Levadura Sacarosa (YES), Agar Creatina Sacarosa (CREA) y Agar Papa Dextrosa (PDA) de acuerdo con las formulaciones de Samson *et al.* (2000) detalladas en el Apéndice 2. La siembra se realizó con un ansa calibrada. Se depositaron 5 µl de una suspensión densa de esporas en tres puntos, equidistantes entre sí y del centro de la placa. Los cultivos se incubaron en oscuridad a 25 °C durante 14 días (Frisvad & Samson, 2004). Por otra parte, se realizaron cultivos adicionales en CYA y se incubaron a 5 y 37 °C. Se estudió, además, la influencia de la temperatura sobre el desarrollo de algunos aislamientos. En este sentido, se realizaron cultivos en BMEA y se incubaron en oscuridad a 5, 10, 20, 37, and 45 °C. Las colonias se examinaron luego de 7 y 14 días; sus diámetros se midieron utilizando una regla.

Las cepas pertenecientes a especies de *Talaromyces* spp. en estado teleomórfico se identificaron sembrando 1 µl de suspensiones de esporas en MEA e incubando a 25 °C durante 14 días.

Los aislamientos pertenecientes a especies de otros géneros fueron identificados a partir de cultivos de 7 y 14 días en MEA y OA.

Micromorfología

La observación precisa de colonias, conidiomas y ascomas se realizó con microscopio estereoscópico (Stemi SV 6 Zeiss). Las estructuras teleomórficas: ascomas, peridios, ascos, ascosporas y las anamórficas: conidióforos, células conidiógenas, conidios, clamidosporas, etc., como así también estructuras vegetativas se observaron con un microscopio de luz transmitida (Zeiss Axioskop) provisto con tubo de dibujo, cámara fotográfica Olympus e iluminación de Nomarsky. Los preparados se montaron con ácido láctico 85% p/p o lactofucsina a partir de colonias desarrolladas en MEA, a menos que se aclare lo contrario. Cuando fue necesario, se lavó el exceso de esporas de los especímenes montados sobre portaobjetos con una gota de etanol 70% v/v previo a la colocación de los cubreobjetos correspondientes.

Se realizaron observaciones de ascosporas con microscopía electrónica de barrido (MEB). Se utilizó un microscopio electrónico de barrido Zeiss NTS Supra 40 (Centro de Microscopías Avanzadas, FCEN, UBA). Se montaron ascomas fragmentados mediante agujas histológicas sobre cinta de carbono para su posterior metalizado con oro a cargo del servicio de microscopia nombrado anteriormente. Por otra parte, se observaron conidios mediante un MEB Quanta 250, FEI modo ambiental (Laboratorio de Microscopía y Capacidades Afines, INTA).

En cuanto a la terminología para la descripción se siguió a Raper & Fennell (1965) y a Samson *et al.* (2000).

Estudios moleculares

Se realizaron estudios moleculares en aquellos casos en los cuales la identificación requirió la utilización de caracteres adicionales a la morfología y a su comportamiento en cultivo. En algunos casos también se efectuaron estudios de algunos marcadores moleculares completando la información de especies identificadas.

Extracción de ADN: a partir de cultivos en MEA a 25 °C se obtuvieron ápices hifales, se sembraron en Caldo Papa Dextrosa (PDB), y se incubaron a 25 °C durante 5 días. El micelio desarrollado se cosechó, se secó con papel absorbente y se transfirió a un tubo estéril de 1,5 ml. La extracción de ADN se realizó utilizando el kit DNEasy Qiagen, siguiendo las instrucciones de los fabricantes.

Cuantificación del ADN extraído: se sembraron en geles de agarosa al 1% (adicionado con bromuro de etidio) 5 µl de cada muestra con 3 µl de buffer de carga. La corrida electroforética se realizó entre 80-90 mV durante 15-20 min. La cuantificación se realizó

por dos metodologías en paralelo, por comparación de las bandas amplificadas con el marcador de masa molecular (BIORAD) y con espectrofotómetro (Nanodrop, Thermoscientific) aplicando 2 µl de producto.

Amplificación de ADN: las regiones de ADN estudiadas según las especies fueron espaciadores internos transcritos (*ITS*) y los genes para actina (*ACT*), calmodulina (*CaM*) y β -tubulina (*BenA*). Las reacciones de amplificación se realizaron con los cebadores *ITS1* y *ITS4* (White *et al.* 1990), *CMD5* y *CMD6*, *Bt2a* y *Bt2b* (Glass & Donaldson, 1995) y *ACT-512F* y *ACT-783R* (Hong *et al.*, 2005). Las secuencias de los cebadores se listan en el Apéndice 3. Todas las reacciones de *PCR* se condujeron con un termociclador de gradiente Mastercycler (Eppendorff, USA).

Las reacciones de *PCR* para los distintos marcadores se realizaron de la siguiente manera:

- *ITS*: en un volumen de reacción de 50 µl se incluyeron 20 mM de Tris-HCl (pH 8,4), 50 mM de KCl, 0,2 mM de *dNTPs*, 0,2 µM de cebadores *ITS1* e *ITS4*, 3 mM de MgCl₂, 1 unidad de TAQ polimerasa (Invitrogen life technologies, Brasil) y 10 a 100 ng de ADN. El programa de amplificación utilizado fue el siguiente: 1 ciclo de 1 min a 94 °C seguido de 30 ciclos de 15 s a 94 °C, 15 s a 58 °C y 15 s a 72 °C.
- *ACT* y *CaM*: en un volumen de reacción de 20 µl se incluyeron buffer 1x Master Mix (New England Biolabs), 1,25 mM de MgCl₂ y 50 a 100 ng/µl de ADN genómico. El programa de amplificación fue el siguiente: 1 ciclo de 1 min a 94 °C durante 1 min, 30 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 55 °C, 1 min a 72 °C con un paso final de elongación de 3 min a 72 °C.
- *BenA*: en un volumen de reacción de 50 µl se incluyeron 20 mM de Tris-HCl (pH 8,4), 50 mM de KCl, 0,2 mM de *dNTPs*, 0,2 µM de cebadores, 3 mM de MgCl₂, 1 unidad de TAQ polimerasa (Invitrogen life technologies, Brasil) y 50 a 100 ng/µl de ADN. El programa de amplificación tuvo un primer paso con 5 ciclos: desnaturalización a 94 °C durante 1 min, 68 °C por 90 s, 72 °C por 2 min; seguido de 25 ciclos a 94 °C por 1 min, 64 °C por 90 s, 72 °C por 2 min con un paso final de elongación a 72 °C por 10 min.

Purificación y secuenciación: los productos resultantes se purificaron con el kit ADN PuriPrep-GP (INBIO Highway). La reacción de secuenciación se realizó con el kit BigDye™ Terminator v 3.1 (Applied Biosystems) basado en el método de Sanger. Los productos de reacción fueron purificados por precipitación con etanol y se corrieron con el “Genetic Analyzer” 3130xl en SIGYSA (Argentina).

Materiales adicionales estudiados

A fin de comparar las características culturales y morfológicas, se cultivaron diversas cepas donadas, en muchos casos cultivos *ex typo*, de *Aspergillus* spp. (ex *Neosartorya*) provenientes de la Colección de Cultivos del Departamento de Agricultura (USDA) de los Estados Unidos (NRRL, ARS Culture Collection).

Análisis filogenético

Se realizaron alineamientos con las secuencias obtenidas para los genes *ITS*, *CaM*, *BenA* y *ACT* junto con las secuencias de referencia, de las bases GenBank, usando el algoritmo Clustal W con el programa Bioedit v. 7.0.5.3 (Hall, 1999). En algunos casos, se realizaron alineamientos concatenados de algunos marcadores. Para los alineamientos se asignó una penalidad de 15 a la apertura de gaps y 6 para la elongación de los mismos.

Las secuencias alineadas se analizaron por Máxima Parsimonia (MP) en TNT ver. 1.1 (Goloboff *et al.*, 2008) y *Neighbour Joining* (NJ) usando MEGA 6.1 (Tamura *et al.* 2013).

Para el análisis por parsimonia de las secuencias se empleó la estrategia de búsqueda heurística mediante Multiple TBR + TBR con 1000 secuencias de adición al azar. Todos los caracteres fueron considerados con el mismo peso, los no informativos fueron desactivados y los gaps fueron tratados como datos perdidos; 10000 árboles fueron guardados en memoria para su bisección y reconexión utilizando el programa NONA (Goloboff, 1999) en Winclada (Nixon, 2002). El soporte de los nodos se calculó mediante 1000 réplicas de *bootstrap* (*bs*).

Para el análisis de *Neighbour Joining* se realizaron test de *bs* de 1000 réplicas. Las distancias evolutivas se computaron usando el método de *Maximum Composite Likelihood* (Tamura & Nei, 1993) en unidades del número de sustituciones de base por sitio.

Ordenamiento y modalidad de las descripciones

Se describieron las especies nuevas para la ciencia, las que son nuevas citas para la Argentina y aquellas cuyas descripciones necesitan una ampliación. La descripción y diagnóstico en latín fue realizada siguiendo a Stern (2004) para las especies nuevas. Para las especies muy conocidas o que han sido descriptas para nuestro país en varias ocasiones se brinda información bibliográfica para descripciones e ilustraciones.

Cada descripción de las especies consta de su nombre científico con su cita completa. Luego se indica el basónimo y los sinónimos y/o la cita bibliográfica donde se puede encontrar la lista completa de sinónimos. A continuación, se indican las láminas, en el caso de que las hubiera. Se dan las características de las colonias en los distintos medios de cultivo y temperatura. Se comienza con la descripción del teleomorfo: forma y dimensiones de ascomas, ascos y ascosporas; o se indica con la palabra “desconocido”, cuando no se conoce dicho estado. Del anamorfo se describen la forma y dimensiones de los conidióforos, células conidiógenas y conidios. Las descripciones van seguidas por los materiales examinados que incluyen sólo las coleccionadas para este estudio, materiales adicionales en algunos casos, citas geográficas, hábitat, patogenicidad por referencias bibliográficas y observaciones. En las observaciones se incluye el resultado de nuestras investigaciones en comparación con los resultados de otros investigadores, completando así una discusión para cada especie.

Se citan referencias que indican países o continentes donde las especies han sido halladas previamente, pero sin asignarles valor de distribución geográfica precisa teniendo en cuenta el concepto actual de que es poco frecuente que existan especies fúngicas cosmopolitas o de distribuciones tan amplias (Mueller & Halling, 1995). Se incluyen también en las citas geográficas las cepas depositadas en colecciones de cultivos reconocidas internacionalmente (como *CBS*, *NRRL*, etc.) aunque no estén citadas en publicaciones.

Se confeccionaron claves dicotómicas artificiales en algunos casos particulares por incluir especies nuevas para la ciencia y relacionadas, utilizando caracteres morfológicos y fisiológicos.

Análisis cualitativo de datos

Sin bien no se practicó un muestreo siguiendo un diseño experimental para tratamientos numéricos, se analizará cualitativamente el conjunto de especies identificadas, de manera estacional y por sitio geográfico mediante el cálculo del índice de riqueza (R), que consiste en el número de especies por estación y por sitio de muestreo, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se coleccionó un total de 52 muestras de suelo de las que se obtuvieron 240 aislamientos. El 81% de los aislamientos obtenidos se trataron taxonómicamente. El 19% restante estuvo representado por micelios estériles en todos los medios de cultivo ensayados.

Entre los 195 aislamientos (81%), 143 cepas se identificaron como miembros de la Fam. *Aspergillaceae*, 35 de *Trichocomaceae*, 9 de *Hypocreaceae*, 2 de *Chaetomiaceae*, 3 de *Lasiosphaeriaceae*, 1 de *Pleosporaceae* y 2 de posición incierta. En total se identificaron mediante estudios morfológicos, fisiológicos y moleculares 34 taxones, que se presentan de la siguiente manera:

- Lista de especies según el criterio de clasificación adoptado.
- Descripción de las especies y discusión según cada caso.
- Análisis cualitativo de datos.

Lista de especies según el criterio de clasificación adoptado

Las especies identificadas se ordenaron según la clasificación propuesta por Hibbet *et al.* (2007). Para familias se seguirá a Houbraken & Samson 2011, para los subgéneros y secciones se seguirá a Houbraken & Samson (2011) y a Houbraken *et al.* (2014).

*: Nuevas citas para Argentina.

**: Segunda cita mundial.

***: Especies nuevas para la ciencia.

ASCOMYCOTA

EUROTIOMYCETES

Eurotiomycetidae

HYPOCREALES

● *Hypocreaceae*

Trichoderma

Trichoderma saturnisporum

EUROTIALES

● *Aspergillaceae*

Aspergillus

Aspergillus subg. *Aspergillus* sect. *Aspergillus*

Aspergillus montevidensis

Aspergillus subg. *Circumdati* sect. *Flavi*

Aspergillus flavus

Aspergillus subg. *Fumigati* sect. *Fumigati*

Aspergillus australensis* *

Aspergillus biparmatus* **

Aspergillus cacuminosus* **

Aspergillus fischeri

***Aspergillus fumigatiaffinis* ***

Aspergillus affinis fumigatus

Aspergillus geometricus* **

Aspergillus huiyanae* *

***Aspergillus laciniosus* ***

Aspergillus lentulus

Aspergillus shendawei* *

Aspergillus sculptus* **

***Aspergillus tatenoi* ***

Aspergillus tubercularis* **

Aspergillus subg. *Nidulantes* sect. *Nidulantes*

Aspergillus sydowii

Aspergillus subg. *Nidulantes* sect. *Usti*

Aspergillus fuscicans* **

Hamigera

Hamigera avellanea

***Hamigera ingelheimensis* ***

***Hamigera paravellanea* ***

Leiothecium

***Leiothecium ellipsoideum* ***

Penicillium

Penicillium subg. *Aspergilloides* sect. *Ramigera*

***Penicillium capsulatum* ***

Penicillium subg. *Aspergilloides* sect. *Citrina*

Penicillium citrinum

● *Trichocomaceae*

Talaromyces

Talaromyces sect. *Talaromyces*

Talaromyces macrosporus

Talaromyces pinophilus

Talaromyces sect. *Trachyspermi*

Talaromyces systylus* **

Talaromyces trachyspermus* var. *trachyspermus

Talaromyces trachyspermus* var. *macrocarpus

PLEOSPORALES

● *Pleosporaceae*

Epicoccum nigrum

SORDARIALES

● *Chaetomiaceae*

***Trichocladium pyriforme* ***

 *Lasiosphaeriaceae*

Arthrinium phaeospermum

POSICION INCIERTA

Gilmaniella humicola

Descripción de las especies

Debido a la cantidad de cepas obtenidas y los recientes cambios nomenclaturales de acuerdo al Código vigente (McNeill *et al.*, 2012), previamente a la descripción de las especies se presentará una breve descripción de los géneros de las Fam. *Aspergillaceae* y *Trichocomaceae*.

EUROTIOMYCETES

Eurotiomycetidae

HYPOCREALES

Hypocreaceae

Trichoderma Pers., Neues Mag. Bot. 1: 92, 1794

Trichoderma saturnisporum Hammill, Mycologia 62 (1): 112, 1970

Descripciones e ilustraciones: Samuels *et al.*, 1998; Barrera, 2012.

Materiales examinados: Catamarca, **0312**, **0324**, **0331bis**, **0341** y **0352**, 05/01/09, RN 60 km 1016, 29°30,068'S, 65°37,951'W, 237 msnm; **0722**, 06/01/09, RP 25, 28°14,602'S 66°08,849'W, 1507 msnm; **1017**, **1019** y **1025**, 08/01/09, Rincón, 28°22,05'S, 66°13,644'W.

Citas geográficas: Argentina (Godeas *et al.*, 1977, Cabello, 1986, Cabello & Arambarri, 2002, Eliades *et al.*, 2006a, Allegrucci *et al.*, 2007, Allegrucci *et al.*, 2009), Australia, Italia, Sudáfrica, Turquía, Estados Unidos (Samuels *et al.*, 1998).

Hábitat: suelo (referencias *idem* punto anterior).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

La descripción de estos aislamientos coincide con Samuels *et al.* (1998).

T. saturnisporum se caracteriza por poseer conidios con un tipo de ornamentación única en el género, que facilita su determinación. El estudio morfológico y la identificación de las cepas procedentes de Catamarca se realizó durante el curso de la presente Tesis, mientras que el análisis molecular y posición filogenética de las mismas fue llevado a cabo por Barrera (2012). En nuestro país esta especie fue aislada de suelos de la Provincia de Buenos Aires (Godeas *et al.*, 1977; Cabello 1986, Cabello & Arambarri, 2002, Eliades *et al.*, 2006a, Allegrucci *et al.*, 2007) y de talares de la Región Pampeana (Allegrucci *et al.*, 2009).

EUROTIALES

Aspergillaceae

Aspergillus P. Micheli ex Haller, Hist. stirp. Helv. 3: 113, 1768 emend. Samson *et al.*,
Stud. Mycol. 78: 154, 2014

Especie tipo del género: *Aspergillus glaucus* (L.) Link

En el año 2014, Samson *et al.* describieron detalladamente la historia del género desde el punto de vista nomenclatural y taxonómico. Su trabajo contempló la descripción original realizada por Micheli en 1729, los aportes de Haller, Fries, Thom & Raper, Raper and Fennell, incluyendo autores contemporáneos como Pitt y Samson (1993), Pitt & Samson (2000) y recientes trabajos sistemáticos (Houbraken & Samson, 2011, Houbraken *et al.*, 2014; Hubka *et al.*, 2013; Pitt & Taylor, 2014; entre otros).

En el presente trabajo de Tesis se sigue el concepto del género *Aspergillus* que describen Samson *et al.* (2014). Estos autores enmendaron los límites del género incluyendo los caracteres teleomórficos y ampliando las características de los conidióforos.

A continuación, se describen en orden alfabético las especies del género *Aspergillus* por subgénero y sección (Houbraken & Samson, 2011; Houbraken *et al.*, 2014).

Aspergillus subg. *Aspergillus* (sect. *Aspergillus*)

El subgénero *Aspergillus* está formado por las secciones *Aspergillus* y *Restricti* (Houbraken *et al.*, 2014).

En el presente trabajo se obtuvieron 3 cepas de dos especies de la sect. *Aspergillus*.

La sección *Aspergillus* abarca el denominado “*Aspergillus glaucus* group” de Thom & Raper (1941) y Raper & Fennell (1965). Esta sección ha sido monografiada y revisada por varios autores (Raper & Fennell, 1965; Blaser, 1975; Samson, 1979; Kozakiewicz, 1989). Se realizaron estudios filogenéticos determinándose que es un grupo monofilético (Peterson, 2000 y 2008). Hubka *et al.* (2013) revisaron este grupo teniendo en cuenta los recientes cambios en el Código de Nomenclatura (ICN, Melbourne 2012), y transfirieron las especies del género *Eurotium* a *Aspergillus*, seleccionando un nombre para cada especie, quedando un total de 17 taxones para esta sección.

Las especies de esta sección generalmente se caracterizan por presentar ascomas cleistoteciales, amarillos, ascosporas lenticulares y cabezuelas uniseriadas. Los miembros de esta sección están ampliamente distribuidos en la naturaleza y crecen en sustratos con baja actividad de agua, por lo cual comúnmente son denominados como xerófilos o halófilos.

Aspergillus montevidensis Talice & J.A. Mackinnon, C. r. Seanc. Soc. Biol. 108: 1007, 1931

= *Eurotium amstelodami* Thom & Raper 1941 non *Eurotium amstelodami* Mangin 1909.

= *Aspergillus heterocaryoticus* C.M. Chr., L.C. López & C.R. Benj. 1965.

= *Eurotium heterocaryoticum* C.M. Chr., L.C. López & C.R. Benj. 1965.

- = *Aspergillus vitis* Novobr. 1972.
- = *Eurotium montevidense* (Talice & J.A. Mackinnon) Malloch & Cain 1972.
- = *Eurotium vitis* Novobran. 1972.
- = *Aspergillus hollandicus* Samson & W. Gams 1985.
- = *Aspergillus vitis* var. *montevidensis* Kozak. 1989.
- = *Eurotium amstelodami* var. *montevidense* (Talice & J.A. Mackinnon) Kozak. 1989.

Lámina 1

Colonias en **MEA**, 25 °C, 7 días, 14 mm diam, amarillentas, planas y densas; 14 días de incubación 26-28 mm diam., amarillentas con o sin centro de tonos castaños. Esporulación asexual ausente. En **CY20S**, 25 °C, 7 días, 35-47 mm diam, amarillas con centro verdoso por la presencia del anamorfo, velutinosas; 14 días de incubación cubriendo la placa, amarillas con centro verdoso, textura velutinoso a granulosa debido a la abundante producción de cleistotecios; reverso incoloro, aunque amarillento debajo de los cleistotecios y verdoso en relación con el anamorfo. Esporulación asexual muy abundante. A 37°C, 7 días, 18-26 mm, colonia amarilla.

Ascomas cleistoteciales, superficiales, mayormente globosos a subglobosos, amarillos, 90-150 µm diam., cubiertos por una red de hifas hialinas. *Ascos* globosos evanescentes, 10-12 × 8-11 µm, con 8 esporas. *Ascosporas* lenticulares, 5-4 × 3-4 µm, con superficies convexas rugosas, surco en forma de “V” y con dos crestas ecuatoriales gruesas. Presencia de poros en toda la ascospora especialmente en las crestas. *Cabezuelas conidiales* radiadas. *Conidióforos* 150-210 × 6-8 µm. *Vesículas* globosas, 15-27 µm diam., uniseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* 5-8 × 4 µm. *Conidios* rugosos, globosos a subglobosos, 5-4 × 4-3 µm.

Secuencias: BenA, CaM y ACT para las dos cepas aisladas.

Materiales examinados: Catamarca, **131**, 09/01/09, RN 46 km 185, 27°45,202'S, 66°47,989'W, 1069 msnm; **171**, 10/01/09, Papachacra, 2564 msnm.

Citas geográficas: Argentina (Winitzky, 1952), Archipiélago Tuamotu, Australia, Brasil, Estados Unidos, India, Israel, Italia, Japón, Kuwait, Pakistán, Perú, Reino Unido, Siria, Sudáfrica, Turquía, ex Unión Soviética (Domsch *et al.*, 2007).

Hábitat: suelo, aire y numerosos alimentos como cereales y granos, pasas de uva y productos cárnicos (Pitt & Hocking, 1997; Domsch *et al.*, 2007).

Patogenicidad: se registra un caso en aves; en humanos fue aislado de un absceso cerebral, de un micetoma y de infecciones óticas (Raper & Fennell, 1965).

Observaciones:

La presente descripción coincide con la descripción de Thom & Raper (1941) y con la Hubka *et al.* (2013).

Esta especie fue por mucho tiempo conocida como *E. amstelodami* debido a que en 1941 Thom & Raper cambiaron el concepto original de *E. amstelodami* Mangin 1909, una especie con ascosporas lisas aplicando dicho nombre a una especie con ascosporas ornamentadas. Thom & Raper (1941) publicaron de esta forma un homónimo posterior, por lo tanto, ilegítimo. Pitt (1985) advierte esta confusión, y especula que ya Thom & Chuch en 1926 y Thom & Raper (1941) no basaron sus descripciones en el cultivo original. Finalmente, Hubka *et al.*, (2013) concluye que el primer nombre disponible y válidamente publicado para el concepto de Thom & Raper (1941) es *A. montevidensis*, siguiendo las reglas nomenclaturales actuales involucrando tanto anamorfo como teleomorfo. Cabe destacar que Hubka *et al.*, (2013) señalan erróneamente como neotipo justamente al holotipo de Talice & Mackinnon.

El primer registro para esta especie en Argentina fue realizado por Winitzky (1952) a partir de muestras de aire y de tierra de la estepa pampeana de la Provincia de Buenos Aires. También fue aislada de muestras de suelo de la región chaqueña en las Provincia de Catamarca, Córdoba, Formosa, San Luis y Santiago del Estero (Winitzky, 1957). Posteriormente en nuestro país ha sido aislada de alimentos como embutidos secos fermentados (Castellari *et al.*, 2010), granos de maíz y soja (Sepúlveda *et al.*, 2005; Castellari *et al.*, 2015), pasas de uva (Romero *et al.*, 2005), de muestras de aire en ambientes de industrias alimentarias (Frisón *et al.*, 2012); así como también de hierbas medicinales (Sánchez *et al.*, 2006) y alimentos balanceados (Greco *et al.*, 2012; Greco *et al.*, 2015).

Aspergillus subg. *Circumdati* (sect. *Flavi*)

El subgénero *Circumdati* fue formado originalmente por siete secciones: *Wentii*, *Flavi*, *Nigri*, *Circumdati*, *Candidi*, *Cremeri* y *Sparsi* (Gams *et al.*, 1986). Houbraken *et al.* (2014) consideraron 6 secciones diferentes y recientemente, Jurjević *et al.* (2015) agregó otras 3 secciones al subgénero: *Petersonii*, *Robusti* y *Tanneri*.

En el presente trabajo se obtuvo solamente una cepa perteneciente a una especie de la sect. *Flavi*.

Esta sección incluyó a las especies de “*A. flavus-oryzae* group” de Thom & Chuch (1926) y del “*Aspergillus flavus* group” de Raper & Fennell (1965). Gams *et al.* (1986) siguiendo las normas nomenclaturales, realizaron la diagnosis y designación del tipo. Numerosas especies nuevas han sido descritas desde entonces (Ito *et al.*, 2001; Peterson *et al.*, 2001; Frisvad *et al.*, 2005; Pildain *et al.*, 2008; Varga *et al.*, 2011; Soares *et al.*, 2012; Taniwaki *et al.*, 2012; Gonçalves *et al.*, 2012; Jurjević *et al.*, 2015; entre otros).

Las especies de esta sección generalmente se caracterizan por presentar conidióforos con estípites hialinos, usualmente verrucosos y cabezas conidiales radiadas con vesículas fértiles en la mayor parte de su superficie. El color en masa de los conidios es verde amarillento a marrón oliva oscuro (Raper & Fennell, 1965). Los miembros de esta sección están ampliamente distribuidos en la naturaleza y suelen ser contaminantes habituales de numerosos alimentos; además son importantes productores de micotoxinas (Pitt & Hocking, 2009).

Aspergillus flavus Link, Mag. Ges. Naturf. Freunde Berlin 3: 16. 1809: Fr.

Descripciones e ilustraciones: Raper & Fennell, 1948; Klich, 2002; Pitt & Hocking, 2009.

Materiales examinados: La Rioja, **1922**, 12/01/09, RN 60 Km 1172, 28°40,507'S, 66°30,038'W, 653 msnm.

Citas geográficas: Argentina (Winitzky, 1948); Alaska, Chile, India, Kuwait, Sri Lanka, (Domsch *et al.*, 2007); e innumerables citas relacionadas a alimentos (Pitt & Hocking, 2009).

Hábitat: suelo, ha sido aislado a partir de numerosos suelos cultivados (Domsch *et al.*, 2007) y es la especie más ampliamente citada como contaminante de alimentos (Klich, 2002).

Patogenicidad: Patógeno de insectos y animales; es uno de los principales agentes de aspergillosis bronquiales alérgicas e infecciones pulmonares en humanos, también ha sido informado como productor de infecciones de oídos (De Hoog, 2000). Productor de micotoxinas (Pitt & Hocking, 2009).

Observaciones:

Nuestro material coincide con las descripciones citadas.

Horn *et al.* (2009), observaron y describieron el estado sexual para esta especie heterotálica llamándola *Petromyces flavus* B. W. Horn, I. Carbone & G.G. Moore, sin embargo, con los últimos cambios nomenclaturales, el nombre correcto de la especie hoy es *Aspergillus flavus* Link (Samson *et al.*, 2014).

Ramírez Camejo *et al.* (2012) estudiaron más de 200 aislamientos de *A. flavus* de distintos hábitats acuáticos y terrestres, y distintos sustratos. Asimismo, examinaron ambientes clínicos y no clínicos y diferentes ubicaciones geográficas, y concluyeron que la distribución de esta especie proviene de una única población.

En nuestro país *A. flavus* ha sido aislado previamente de suelo y aire de la Ciudad de Buenos Aires (Winitzky, 1948), de suelos de la Provincia de Buenos Aires (Godeas *et al.*, 1977; Cabello 1986), de suelos semiáridos de San Luis (Mangiaterra *et al.*, 2006), de bosques andino-patagónicos y de talaes de la Región pampeana (Allegrucci *et al.*, 2009). Fue citada como parte de la micobiota de alimentos (Bresler *et al.*, 1991; Etcheverry *et al.*, 1999; Romero *et al.*, 2005; Sepúlveda *et al.*, 2005; Castellari *et al.*, 2015) y de alimentos balanceados (Dalcero *et al.*, 1998), así como también de hierbas medicinales (Sánchez *et al.*, 2006).

Aspergillus subg. *Fumigati* (sect. *Fumigati*)

Gams *et al.* (1986), creó el subgénero *Fumigati* con dos secciones dentro del mismo: *Fumigati* y *Cervini*. Houbraken *et al.* (2014) añadieron una tercera, *Clavati*.

En este trabajo no se aislaron cepas pertenecientes a la sect. *Cervini* ni a la sect. *Clavati*. Por otro lado, se obtuvieron 112 cepas de la sect. *Fumigati*. Se identificaron 14 especies a partir del estudio de 94 cepas.

La sección *Fumigati* abarca el denominado “*Aspergillus fumigatus* group” de Raper & Fennell (1965). Las especies incluidas dentro de *Aspergillus* sect. *Fumigati* se caracterizan por poseer cabezuelas en tonos de verdeazulado, uniseriadas y con vesículas con forma de matraz (Raper & Fennell 1965). Anteriormente, las especies con teleomorfos de este grupo eran ubicadas en el género *Neosartorya* (Malloch & Cain, 1972; Pitt *et al.* 2000; Samson, 2000; Horie *et al.* 2003; Hong *et al.* 2005, 2006; entre otros). Las especies de esta sección con reproducción sexual (tipo neosartoria) producen ascosporas termorresistentes (Samson *et al.*, 2007).

La identificación de las presentes especies se condujo a través de métodos de análisis polifásicos basados en características fenotípicas y moleculares según Samson *et al.* (2007, 2014). Aunque, Samson *et al.* (2014) utilizan *ITS*, *CaM*, *BenA* y *RPB2* para resolver esta sección, mencionan que el *ITS* no es un buen marcador para diferenciar especies y recomiendan a *CaM* como marcador secundario. Samson *et al.* (2007) afirmaron que las secuencias de *CaM* y *BenA* resultan adecuadas en relación con la delimitación y reconocimiento de las especies. Siguiendo esta propuesta, en este trabajo se secuenciaron los genes de *CaM* y *BenA*. En cuanto a las características fenotípicas, la ornamentación de las ascosporas es un carácter importante (Samson *et al.*, 2007) que incide en la resolución de las especies de la sección.

En el presente trabajo se consideró la comparación de 58 secuencias correspondientes a aislamientos propios con 48 secuencias de todas las especies tipo de la sect. *Fumigati* aceptadas en Samson *et al.* (2014). El conjunto de datos de *BenA* incluyó 103 taxones y 529 caracteres y para *CaM* incluyó 105 taxones y 577 caracteres. En el análisis de Máxima Parsimonia (MP) de *BenA* 174 caracteres resultaron informativos, se obtuvieron 81 árboles, con un largo de 759 pasos con *CI* (índice de consistencia) = 36, y *RI* (índice de retención) = 66. En el análisis de MP de *CaM* 197 caracteres resultaron

informativos, se obtuvieron 762 árboles, con un largo de 859 pasos con $CI = 36$ y $RI = 74$. Secuencias de *A. clavatus* se utilizaron como *outgroup* para los análisis (Samson *et al.*, 2007).

Los árboles de consenso estricto se presentan en las figuras 4 a 9. La Fig. 4 muestra la topología general del árbol de MP para BenA, las Figs. 5 y 6 son ampliación de dicho árbol. La Fig. 7 expone la topología general del árbol de MP para el marcador CaM, mostrando ampliaciones del mismo en la Figs. 8 y 9. En los árboles se muestran los valores de *bootstrap* (*bs*) para *Neighbour Joining* (*NJ*). Los números de acceso de GenBank de las secuencias de referencia y sus números de colección se presentan en la Tabla 2.

Los resultados de estos análisis serán discutidos en las observaciones de cada especie en particular.

Se confeccionó una clave dicotómica con las especies identificadas dentro de esta sección, la cual se presenta al final de la descripción de las especies.

Aspergillus australensis (Samson, S.B. Hong & Varga) Houbraken, Visagie & Samson, Stud. Mycol. 78: 154, 2014

≡ *Neosartorya australensis* Samson, S.B. Hong & Varga, Stud. Mycol. 59: 174, 2007.

Lámina 2

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 16-18 mm diam., de color blanco, surcadas, velutinosas, exudado muy escaso y claro; 14 días de incubación 36-37 mm diam., color blanquecino, exudado escaso y claro; reverso claro color crema. Esporulación asexual escasa. A 37°C, 7 días, 59-61 mm diam. En **MEA**, 25 °C, 7 días, 25-33 mm diam., de color blanquecino con sectorizaciones de color verde grisáceo pálido, surcadas; 14 días de incubación 53-58 mm diam., blancas, granulosas debido a la presencia abundante de ascomas, exudado de color claro a amarillo muy pálido; reverso claro. Esporulación asexual escasa, principalmente presente en áreas con menor número de ascomas cleistoteciales. Desarrollo ausente a 10 °C y a 45 °C. En **OA**, 25°C, 7 días, 45-52 mm diam., claras a verdosas en sectores donde está presente en mayor cantidad el anamorfo, exudado abundante, hialino; 14 días de incubación claras a verdosas, cubriendo completamente la placa de cultivo, sectorizaciones con esporulación asexual sin la presencia de ascomas, exudado ausente; reverso claro.

Tabla 2: Secuencias de referencia utilizadas de especies de la sect. *Fumigati* y del “outgroup” *A. clavatus* de la sect. *Clavati*

Especie	Número de colección	Número de acceso de GenBank	
		BenA	CaM
<i>A. assulatus</i>	KACC 41691T	DQ114123	DQ114131
<i>A. auratus</i>	CBS 466.65T = NRRL 4378T	EF669835	AY870685
<i>A. aureolus</i>	NRRL 2244T	EF669808	EF669877
<i>A. australensis</i>	CBS 112.55T = NRRL 2392	AY870739	AY870698
<i>A. brevipes</i>	NRRL 2439	EF669812	EF669881
<i>A. caatingaensis</i>	IFM 61335	AB743854	AB743860
<i>A. clavatus</i>	CBS 513.65	EU076340	EU078665
<i>A. denticulatus</i>	CBS 652.73T	DQ114125	DQ114133
<i>A. duricaulis</i>	NRRL 4021T	EF669827	EF669897
<i>A. felis</i>	CBS 130245T	JX021700	JX021715
<i>A. fennelliae</i>	CBS 598.74T	DQ114127	DQ114135
<i>A. ferenczii</i>	NRRL 4179T	EF669833	EF669903
<i>A. fischeri</i>	CBS 544.65T = NRRL 181	EF669796	EF669865
<i>A. fumigatiaffinis</i>	IBT 12703T	DQ094885	DQ094891
<i>A. fumigatus</i>	NRRL 163T	EF669791	EF669860
<i>A. fumisynnematus</i>	IFM 42277	AB248076	AB259968
<i>A. galapagensis</i>	IBT 16756T	DQ534145	DQ534151
<i>A. hiratsukae</i>	KACC 41689	DQ534096	AY870699
<i>A. huiyanae</i>	IFM 57847T	AB787219	AB787564
<i>A. laciniosus</i>	KACC 41657T	AY870756	AY870716
<i>A. lentulus</i>	NRRL 35552T	EF669825	EF669895
<i>A. marvanovae</i>	CCM 8003T	HE974387	HE974389
<i>A. multiplicatus</i>	CBS 646.95T	DQ114129	DQ114137
<i>A. neoglaber</i>	CBS 111.55T	AY870734	AY870693
<i>A. nishimurae</i>	IFM 54133	AB201360	HE974392
<i>A. novofumigatus</i>	IBT 16806T	DQ094886	DQ094893
<i>A. otanii</i>	NRRL 32571T	EF669818	EF669888
<i>A. papuensis</i>	CBS 841.96T	AY870738	AY870697
<i>A. pernambucoensis</i>	IFM 61342	AB743856	AB743862
<i>A. quadricinctus</i>	CBS 135.52T	KJ175525	DQ114138
<i>A. shendawei</i>	IFM 57611T	AB488754	AB488762
<i>A. siamensis</i>	KUFC 6349 = IFM 59793T	AB646989	AB776704
<i>A. spathulatus</i>	NRRL 20549T	AF057327	EF669872
<i>A. spinosus</i>	CBS 483.65T	AF057329	EF669914
<i>A. solicola</i>	NRRL 35723T	EU220283	EU220284
<i>A. stramenius</i>	CBS 498.65T	AY870766	AY870726
<i>A. sublevisporus</i>	IFM 53598	AB488759	AB488767
<i>A. takakii</i>	CBM FA-884T	AB787221	AB787566
<i>A. tatenoi</i>	CBS 407.93T	DQ114130	DQ114139
<i>A. thermomutatus</i>	CBS 208.92	AY870742	AY870702
<i>A. tsunodae</i>	IFM 57609T	AB488755	AB488763
<i>A. tsurutae</i>	CBM FA-0933T	AB488760	AB488768
<i>A. turcosus</i>	KACC 42091T	DQ534143	DQ534148
<i>A. udagawae</i>	CBM FA-0702T	AB248302	AB748566
<i>A. unilateralis</i>	NRRL 577T	EF669852	EF669923
<i>A. viridinutans</i>	IMI 062875T	AF134779	DQ534162
<i>A. waksmanii</i>	NRRL 179	EF669794	EF669863
<i>A. wyomingensis</i>	CCF 4417T	HF933359	HF933397

Ascomas cleistoteciales superficiales, mayormente globosos a subglobosos, blancos amarillentos, $240-340 \times 230-320 \mu\text{m}$ diam., rodeados de una red laxa de hifas, que en algunas zonas presenta una pigmentación amarillo clara, peridio con *textura angularis*. *Ascos* globosos a subglobosos evanescentes, $11-14 \times 10-11 \mu\text{m}$, con 8 esporas. *Ascosporas* hialinas, lenticulares, $6-7,5 \times 4-5 \mu\text{m}$, con dos crestas ecuatoriales, superficie convexa de apariencia lisa en el MO, microtuberculada a mayores aumentos (MEB). *Cabezuelas conidiales* columnares cortas. *Conidióforos* curvados, $99-148 \times 3-4 \mu\text{m}$, raramente se observan de menor longitud ($45 \mu\text{m}$ long.) provenientes del micelio aéreo. *Vesículas* globosas a piriformes, fértiles en la mitad superior, $11,5-16 \times 11,5-13 \mu\text{m}$ diam., uniseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* $6-8 \times 2-3 \mu\text{m}$. *Conidios* lisos, globosos, $2-2,5 \mu\text{m}$ diam.

Materiales examinados: Catamarca, **0411a**, 05/01/09, RN 60 km 1102, $28^{\circ}55,246'S$, $66^{\circ}08,768'W$, 338 msnm.

Materiales adicionales: Australia, *NRRL* 2392, cultivo *ex typ*o, aislado de suelo.

Citas geográficas: Australia (Samson *et al.* 2007).

Hábitat: suelo (Samson *et al.* 2007).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

La presente descripción coincide en términos generales con la provista por Samson *et al.* (2007); sin embargo, en CYA y en MEA a $25^{\circ}C$, 7 días, los diámetros de las colonias resultaron menores que los informados por estos autores en su descripción original. El análisis del cultivo *ex typ*o presentó diámetros coincidentes con los de las colonias del aislamiento propio.

Por otra parte, los análisis filogenéticos (MP y *NJ*, Figs. 4 y 7), resultaron coincidentes con la secuencia del tipo de *A. australensis*, agrupándose con un valor de 100 y 100 para BenA y CaM, respectivamente en el árbol de MP, y de 91 para BenA y 98 para CaM, en el de *NJ* (Figs. 5 y 8).

La presente constituye la segunda cita a nivel mundial.

***Aspergillus biparmatus* S. M. Romero, Comerio & A. I. Romero sp. nov.**

Holotypus: Argentina, Catamarca, 0526, 05/01/09, RN 60 km 1146, 28°13,086'S, 66°22,675'W., 1051 msnm. Cultivo seco.

Lámina 3

Species diversa corpore ascosporarum, ab aliis speciebus homothallicis generis Aspergilli sectionis Fumigatorum microtuberculis discretis et conjunctis dispositisque in circumferentiis arcibus gaudentibus propter corpora subglobosa vel late elliptica a latere visa atque dorsum auranticum concomitatum coloniarum (CYA, 25 °C, 7 d) distincta.

Etimología: *bi-*, compuesto por dos + *parmatus* -a -um, adj. armado de broquel o rodela. *Parma* -ae, n., broquel, escudo pequeño, rodela.

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 32-40 mm diam, de color blanco, velutinosa, exudado muy escaso, pigmento soluble naranja claro a color salmón; 14 días de incubación, color crema, 57-70 mm diam., exudado marrón muy claro, pigmento soluble castaño (pardo) anaranjado; reverso marrón anaranjado. Esporulación asexual escasa a nula. A 37°C, 7 días, hasta 55-60 mm diam. En **MEA**, 25 °C, 37-57 mm diam, de color blanco a verde grisáceo a causa de la presencia del anamorfo, textura velutinosa a flocosa especialmente en el centro de la colonia, exudado escaso y amarillento; 14 días de incubación, blancas a verde grisáceo por la presencia del anamorfo, cubriendo toda la placa y con exudado amarillento, textura granulosa por la presencia de los ascomas cleistoteciales; reverso anaranjado. Esporulación asexual muy abundante. Desarrollo presente a 10 °C y ausente a 45 °C. En **OA**, 25°C, 7 días, 55-62 mm diam., blancas, granulosa, exudado ausente; 14 días de incubación, blancas, exudado ausente; reverso claro. En **M20**, 25°C, 7 días, 62-64 mm diam., verde grisáceo, esporulación asexual muy abundante, funiculosas; a 37 °C extendidos por toda la placa de cultivo, verde grisáceo, aunque más claras que a 25 °C, esporulación asexual muy abundante.

Ascomas cleistoteciales globosos, blancos, 200-320 µm diam. rodeados de una red laxa de hifas hialinas, peridio compuesto por células angulares. *Ascosporas* globosas a subglobosas evanescentes, 15-18 × 12-15 µm, 8-esporados. *Ascosporas* hialinas, ampliamente lenticulares, 7-8 × 5-6 µm, con superficies convexas y lisas, y dos crestas delgadas y curvadas al MO; en MEB la superficie es microtuberculada, crestas lisas o con

pocas verrugas, con dos anillos ecuatoriales con proyecciones (Lám. 3.I.) Cabe destacar que en las crestas suele observarse, en la mayoría de las ascosporas, cierta rugosidad en sentido perpendicular al borde de la cresta. Estudios adicionales son necesarios con el fin de discernir si es un carácter estructural o un artefacto relacionado con la técnica empleada. *Cabezuelas conidiales* columnares. *Conidióforos* curvados $43-125 \times 3-5 \mu\text{m}$. *Vesículas* subglobosas a claviformes, fértiles en la mitad superior, $7-17 \mu\text{m}$ diam., uniseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* $4-7 \times 2-3 \mu\text{m}$. *Conidios* lisos, subglobosos a elipsoidales $2-2,5 \times 2 \mu\text{m}$.

Material examinado: Catamarca, **0526**, 05/01/09, RN 60 km 1146, $28^{\circ}13,086'S$, $66^{\circ}22,675'W$, 1051 msnm (holotipo).

Citas geográficas: -.

Hábitat: suelo.

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

Este aislamiento reúne características que no coinciden con ninguna de las especies conocidas hasta el momento. *A. biparmatus* se integra en el grupo de especies que poseen esporas sexuales microtuberculadas (Samson *et al.*, 2007); no sólo se vincula con *A. australensis*, *A. papuensis* (Samson, S.B. Hong & Varga) Samson, S.B. Hong & Varga y *A. solicola* Samson, Visagie & Houbraken sino también con *A. galapagensis* (Frisvad, S.B. Hong & Samson) Samson, Frisvad & Houbraken, *A. shendawei* (Yaguchi, Abliz & Y. Horie) Samson, Visagie & Houbraken y *A. tubercularis* S. M. Romero, Comerio & A. I. Romero. Entre las mencionadas especies solamente *A. tubercularis* presenta reverso anaranjado (CYA, 25°C , 14 d) como *A. biparmatus*. No obstante, el cuerpo subgloboso o ampliamente elipsoidal de las ascosporas de *A. biparmatus* distingue a esta especie como autónoma (Lám. 3.I). Para poder diferenciar las especies dentro de este grupo es necesario recurrir al análisis de caracteres moleculares.

En los árboles filogenéticos (Figs. 4 y 7) se puede observar que con BenA *A. biparmatus* integra un peine con varias especies, entre ellas *A. papuensis*, en ambos análisis; con CaM se agrupa con *A. papuensis*, con *bs* de 99 para *NJ* y sin soporte para

MP, formando un clado con *A. australensis* y *A. solicola* sin soporte para ambos análisis (Figs. 6 y 8). Debido a estos resultados, se comparó con más detalle con *A. papuensis* y *A. solicola*. Como se mencionó anteriormente, *A. australensis* con BenA formó un clado separado de estas especies con buen soporte y por sus características descritas anteriormente no se compara con la presente cepa argentina.

Las colonias de *A. papuensis* desarrollan 35 a 40 mm de diámetro en MEA y las colonias son blancas; nuestro aislamiento mostró mayor velocidad de crecimiento en ese medio y las colonias son blancas a verde grisáceas debido a la abundante esporulación que se observa a partir del séptimo día de incubación. El protologo de *A. papuensis* destaca la escasa presencia de conidióforos tanto en CYA como en MEA y la sectorización en CYA; esta última característica no fue observada en *A. biparmatus*. Por otra parte, los conidióforos y fiálides en la cepa argentina presentaron menor longitud que los de *A. papuensis*.

A. solicola tiene como características diagnósticas la secreción al medio de un pigmento azul y escaso desarrollo en CYA a 25 °C (hasta 22 mm diam.), características que lo diferencian claramente de nuestro aislamiento.

Por todo lo anteriormente dicho se propone esta nueva especie.

***Aspergillus cacuminosus* S. M. Romero, A. I. Romero & Comerio sp. nov.**

Holotypus: Argentina, Catamarca, 0912, 06/01/09, RP 25, 28°22,677'S, 66°11,836'W, 1304 msnm. Cultivo seco.

Lámina 4

A speciebus homothallicis microtuberculatis generis Aspergilli sectionis Fumigatorum differt vero microtuberculis praecipue aggregatis fasciculatisve.

Etimología: *cacumen-minis*, picos + *-osus*, indica abundancia, totalidad o un marcado desarrollo; con muchas cumbres.

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 22-24 mm diam, de color blanco, velutinosas, exudado ausente; 14 días de incubación, 31-35 mm diam., blanca, muy arrugada, exudado escaso, claro; reverso claro. Esporulación asexual ausente. A 37 °C, 7 días, 61-65 mm

diam. En **MEA**, 25 °C, 7 días, 42-44 mm diam., blancas, centro azulado a causa del anamorfo, velutinosas, surcadas, exudado escaso incoloro; 14 días de incubación 52-54 mm diam., crêmeas a grisáceas debido a la presencia del anamorfo especialmente en el centro de la colonia, bordes festoneados, exudado amarillento, abundante principalmente en los bordes; reverso de color marrón oscuro. Esporulación asexual abundante. Desarrollo presente a 10 °C y a 48 °C. En **OA**, 25°C, 7 días, 42-46 mm diam., blancas, granulosas, con exudado hialino; 14 días de incubación, 69-70 mm diam., blancas, granulosas con centro grisáceo debido al anamorfo, exudado hialino a ligeramente amarillento; reverso claro.

Ascomas cleistoteciales, globosos, blancos, 110-560 µm diam. rodeados de una red laxa de hifas hialinas, peridio con *textura angularis*. *Ascosporas* globosos a claviformes evanescentes, 13-17 × 13-14 µm, 8-esporados. *Ascosporas* hialinas, lenticulares, 7-8 × 4,5-5 µm, con superficies convexas y con microtubérculos que se anastomosan en pequeños grupos. *Cabezuelas conidiales* columnares, cortas. *Conidióforos* 22-77 × 2,5-3 µm. *Vesículas* globosas a subglobosas, fértiles en la mitad superior, 5-10 µm diam., uniseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* 5-6 × 2-2,5 µm. *Conidios* lisos, globosos, 2-2,5 µm diam.

Materiales examinados: Catamarca, **0912**, 06/01/09, RP 25, 28°22,677'S, 66°11,836'W, 1304 msnm (holotipo).

Citas geográficas: -.

Patogenicidad: -.

Hábitat: suelo.

Observaciones:

Este aislamiento combina características morfológicas que no coinciden con ninguna de las especies conocidas hasta el momento. Las ascosporas son microtuberculadas y los tubérculos se anastomosan en pequeños grupos. Por otra parte, las ascosporas no poseen tubérculos sobre las crestas como *A. shendawei*. Respecto a esta última especie, si bien el aspecto general de las colonias es similar *A. cacuminosus* los conidióforos son más grandes (largo del conidióforo, ancho del estípote y tamaño de

la vesícula) que los de nuestra cepa. A diferencia de otras especies con ascosporas microtuberculadas tales como *A. australensis*, *A. galapagensis* y *A. papuensis*, las colonias de nuestros aislamientos son mucho menores en CYA, 25 °C, 7 días. *A. galapagensis* posee abundante producción de funículos, los cuales no fueron observados en nuestro aislamiento. El aspecto general de las colonias, a 25 °C, 14 días, de *A. papuensis* en MEA y de *A. australensis* en MEA y CYA, es muy diferente del de la cepa argentina.

En cuanto a los análisis moleculares esta cepa no se asocia con ninguna de las especies conocidas, al menos con estos dos marcadores utilizados (Figs. 6 y 8). Con el marcador CaM se agrupa con *A. tubercularis* sin soporte en el análisis de MP y con un *bs* de 71 con *NJ* (Fig. 8). Sin embargo, la ornamentación de las ascosporas, microtuberculadas mayoritariamente asociadas en cúmulos o haces y las velocidades de crecimiento en CYA a 37 °C diferencian a *A. cacuminosus* de *A. tubercularis*. Asimismo, estas últimas especies poseen conidióforos de menor tamaño.

Por lo anteriormente mencionado se propone este aislamiento como una especie nueva.

Aspergillus fischeri Wehmer, Zentbl. Bakt. Parasitenk, Abt. II 18: 390, 1907

≡ *Neosartorya fischeri* (Wehmer) Malloch & Cain, Can. J. Bot. 50: 2620, 1973.

= *Aspergillus fischerianus* Samson & W. Gams, Adv. *Penicillium Aspergillus* Syst.: 39, 1985.

Lámina 5

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 68-72 mm diam, de color blanco a crémeo, velutinosas, surcadas, sectores verdeazulado debido a la presencia del anamorfo, exudado ausente; 14 días de incubación 67-73 mm diam., de color crema a azulado a causa de la abundante esporulación asexual, centro umbonado, bordes granulosos por la presencia de cleistotecios; reverso castaño (pardo) claro. Esporulación asexual muy abundante. A 37°C, 7 días, 65-75 mm diam. En **MEA**, 25 °C, 64-72 mm diam., de color blanco a amarillento con sectores verde azulado debido al anamorfo, textura velutinosa a ligeramente granular por la producción de cleistotecios, exudado escaso; 14 días de incubación color crema a pálido amarillento, cubriendo toda la placa y con abundante exudado hialino; reverso marrón anaranjado. Esporulación asexual abundante. Desarrollo presente a 10 °C y a 48 °C. En **OA**, 25°C, 7 días, 55-73 mm diam., blanco verdoso,

granulosas, con exudado hialino; 14 días de incubación con color crema a verdoso en el centro, exudado hialino; reverso claro.

Ascomas cleistoteciales, globosos, blancos, 180-250 μm diam. rodeados de una red laxa de hifas hialinas de color amarillo pálido, peridio compuesto por células angulares. *Ascosporas* globosos a subglobosos, evanescentes, 12-13 $\times$ 9-11 μm , 8-esporados. *Ascosporas* hialinas, lenticulares, 6-7 $\times$ 4 μm , con superficies convexas y que se observan reticuladas en MO y en MEB. *Cabezuelas conidiales* columnares. *Conidióforos* 200-525 $\times$ 3,5-6 μm . *Vesículas* piriformes a espatuladas, fértiles en la mitad superior, 11-19 μm diam., uniseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* 6-7 μm long. *Conidios* lisos, subglobosos a elipsoidales, 2-2,5 $\times$ 2,5-3 μm diam.

Materiales examinados: Catamarca, **0511**, **0522** y **0527** (BAFCcult 1799), 05/01/09, **3511** y **3521**, 23/08/11, RN 60 km 1146, 28°13,086'S, 66°22,675'W, 1051 msnm; BAFCcult1664 (**0811**) y **0823**, 06/01/09, RP 25, 28°15,510'S, 66° 08,788'W, 1424 msnm; **211** y **212**, 14/01/09, RP 33, 28°42,057'S, 65°46,128'W, 418 msnm; **5014**, 23/08/11, RN 38 km 563, 28°35,088'S, 65°52,451'W, 522 msnm.

Materiales adicionales: *NRRL* 181 (= QM1983 = *CBS* 544.65T), *ex typo*, aislado de manzanas en conserva.

Citas geográficas: Argentina, Australia, Brasil, Estados Unidos, India, Islas Salomón, Israel, Jamaica, Japón, Las Bahamas, Paquistán, Reino Unido, República Popular de Bangladés, Rusia, Sudáfrica, Turquía, Uganda y Zaire (Domsch *et al.*, 2007).

Patogenicidad: patógeno de animales y humanos (Coriglione *et al.*, 1990; Lonial *et al.*, 1997; Mellado *et al.*, 2006).

Hábitat: suelo, arroz molido, algodón, papas, maní, cuero, papel, conservas (Pitt & Hocking, 1997).

Observaciones:

La presente descripción coincide con la provista por Samson *et al.* (2007), sin embargo, nuestros aislamientos alcanzaron diámetros ligeramente mayores en CYA y MEA a 25 °C. El diámetro de las ascosporas, aunque presentó valores dentro del rango

destacado por estos autores, no alcanzó nunca los de 8 µm de diam. Se analizó la cepa *NRRL 181*, *ex typo* de *A. fischeri*, a fin de comparar la identidad de los presentes aislamientos.

Con respecto a los análisis moleculares, los aislamientos argentinos se agruparon satisfactoriamente con *A. fischeri* para los marcadores, BenA y CaM, coincidiendo para ambos análisis (Fig. 5: BenA, MP = 100 bs, NJ = 88; Fig. 9: CaM, MP = 100, NJ = 97).

Los siete aislamientos se obtuvieron en sitios relativamente cercanos e incluso en diferentes estaciones (invierno y verano).

En Argentina fue aislada por primera vez por Winitzky (1953).

Aspergillus fumigatiaffinis S.B. Hong, Frisvad & Samson, en Hong, Go, Shin, Frisvad & Samson, *Mycologia* 97 (6): 1326, 2005

Lámina 6

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 21-23 mm diam, blancas, surcadas, exudado claro; reverso castaño (pardo) claro a naranja pálido. Esporulación asexual ausente. A 37°C, 7 días, 65-69 mm diam. En **MEA**, 25 °C, 38-41 mm diam., blancas con sectores verde azulados debido al anamorfo, flocosas, pero no elevadas, exudado ligeramente amarillento. Esporulación asexual abundante. Desarrollo presente a 10 °C, ausente a 50 °C.

Teleomorfo ausente. *Cabezuelas conidiales* columnares cortas. *Conidióforos* 140-230 × 4,5-7 µm. *Vesículas* globosas a subglobosas (también se observaron subclaviformes), fértiles en la mitad superior, 12-20 µm diam., uniseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* 6-8 × 2-3 µm. *Conidios* lisos, globosos a subglobosos, 2-3 µm diam.

Materiales examinados: Catamarca, **0713 y 0714**, 06/01/09, RP 25, 28°14,602'S 66°08,849'W, 1507 msnm.

Citas geográficas: Estados Unidos (Hong *et al.*, 2005), Irán (Samadi *et al.*, 2015).

Patogenicidad: patógeno humano, exhibe elevadas CIM respecto de anfotericina B y varios triazoles (Alcazar-Fuoli *et al.*, 2008).

Hábitat: suelo (Hong *et al.*, 2005).

Observaciones:

En este aislamiento además de vesículas globosas a subglobosas se observaron vesículas subclaviformes, no descritas para *A. fumigatiaffinis*. Además, las colonias en CYA y MEA (25 °C, 7 d) presentaron diámetro menor que el referido en el protocolo de *A. fumigatiaffinis*; el desarrollo a 37 °C (CYA, 7 d), en cambio, fue coincidente con el destacado por Hong *et al.* (2005). La identificación del presente material como *A. fumigatiaffinis* se sustenta sobre las características diagnósticas de esta especie: vesículas globosas a subglobosas de 18-24 µm, conidios lisos y capacidad para crecer a 10 °C y no a 50 °C (Hong *et al.*, 2005). Por otro lado, en el análisis de MP se une a la secuencia de la especie tipo con valores de *bs* de 100 tanto para BenA como para CaM, y en los de *NJ* con *bs* de 96 y 97 para BenA y CaM, respectivamente (Figs. 5 y 9).

Esta sería la primera cita para Argentina.

Aspergillus affinis *fumigatus* Fresen., Beitr. Mykol. 3: 81 (1863)

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 35-53 mm diam., blancas a grisáceas, velutinosas, exudado ausente, reverso anaranjado muy pálido. Esporulación asexual escasa a muy abundante dependiendo de las cepas. A 37 °C, 7 días, 40-70 mm diam. En **MEA**, 25 °C, 38-68 mm diam., de color blanco a grisáceo, velutinosas a flocosas, a veces sectorizadas, exudado claro a amarillento; reverso pardo anaranjado. Esporulación asexual abundante. Desarrollo presente a 10 °C, ausente a 50 °C. En **OA**, 25 °C, 7 días, 35-65 mm diam., verde grisáceo, velutinosas a flocosas, exudado claro; reverso claro. En **MEAB**, 25 °C, 38-64 mm diam., de color blanco a grisáceo, velutinosas. En **YES**, 25 °C, 7 días, 40-75 mm diam. En **CZ**, 25 °C, 7 días, 35-52 mm diam., blancas a grisáceas, flocosas, exudado claro; reverso anaranjado a castaño. En **CREA**, 25 °C, 7 días, 33-50 mm diam., buen crecimiento, producción o ausencia de ácido variable según las cepas estudiadas.

Teleomorfo ausente. *Cabezuelas conidiales* columnares. *Conidióforos* pigmentados con estípites lisos y sinuosos, 38-200 × 3-7 µm. *Vesículas* globosas a

subglobosas, fértiles en la mitad superior, 12-20 μm diam., uniseriadas. *Conidios* rugosos, subglobosos a elipsoidales, 2-4 μm diam.

Materiales examinados: Catamarca, **0321**, 05/01/09, **2312**, **2323** y **2324**, 02/01/10, RN 60 km 1016, 29°30,068'S, 65°37,951'W, 237 msnm; **0420**, 05/01/09, **3414**, 23/08/11, RN 60 km 1102, 28°55,246'S, 66°08,768'W, 338 msnm; **0714**, **0715**, **0716** y **0724**, 06/01/09, **3723**, 23/08/11, RP 25, 28°14,602'S, 66°08,849'W, 1507 msnm; **1613**, 10/01/09, Camino Corral Quemado a Papachacra, 27°07,545'S, 66°56,598'W, 2152 msnm; **5024**, 23/08/11, RN 38 km 563, 28°35,088'S, 65°52,451'W, 522 msnm; **5111**, 22/08/11, RP 33, 28°42,057'S, 65°46,128'W, 418 msnm; **5212**, **5221**, **5222**, **5213a**, **5214a**, **5222a**, **5223a** y **5224a**, 24/08/11, RP 47, 27°30,012'S, 66°22,835'W, 1555 msnm.

Observaciones:

Las cepas citadas en los materiales examinados reúnen un conjunto de características morfológicas que las relacionan en sentido amplio con *A. fumigatus* Fresen. y especies cercanas como *A. lentulus* Balajee & K.A. Marr, *A. fumigatiaffinis*, *A. fumisynnematus* Y. Horie, Miyaji, Nishim., Taguchi & Udagawa, *A. novofumigatus* S.B. Hong, Frisvad & Samson y los anamorfos de especies heterotálicas. Los caracteres morfológicos no bastan para distinguir a estas especies entre sí. Por el momento, presentamos este grupo de cepas bajo *A. aff. fumigatus* hasta poder proseguir con los estudios moleculares pertinentes.

Sí se puede afirmar que no se trata de *A. fumigatus* s.s. debido a que éste no crece a 10 °C y sí a 50 °C. Por otra parte, con respecto al crecimiento en CREA, *A. fumigatus* presenta crecimiento pobre y producción de ácido débil o ausente, en cambio en nuestros aislamientos se observó buen crecimiento. En cuanto a la morfología, el ancho de los estípites de los conidióforos y la forma de sus vesículas constituyen características variables entre cepas y no son suficientes para fundamentar el diagnóstico diferencial entre *A. fumigatus* y especies relacionadas. Cabe destacar, no obstante, que el ancho de los estípites de nuestros aislamientos osciló entre los 3 μm y los 10 μm , mientras que *A. fumigatus* s.s., *A. lentulus*, *A. fumigatiaffinis*, *A. fumisynnematus* y *A. novofumigatus* presentan estípites con anchos superiores a 8 μm .

***Aspergillus geometricus* S. M. Romero, Comerio & A. I. Romero sp. nov.**

Holotypus: Argentina, Catamarca, 3221, 22/08/11, RN 60 km 934, 29°33,581'S, 64° 52,937'W, 186 msnm. Cultivo seco.

Lámina 7

Species insignis ornamento ascosporarum, a speciebus homothallicis microtuberculatis generis Aspergilli sectionis Fumigatorum propter microtubercula praecipue conjuncta dispositaque in lineis fractiflexis et cristas multangulas notabiles margines praebentes distincta.

Etimología: *geometricus* –a –um, adj., geométrico, caracterizado por líneas rectilíneas o curvilíneas, o figuras utilizadas en la geometría.

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 55-58 mm diam., blancas, velutinosas y surcadas; 14 días de incubación, extendidas por toda la placa de cultivo, blancas a crémeas, velutinosas y surcadas, exudado claro en área central; reverso castaño claro con un leve tinte color salmón. Esporulación escasa a nula. En **MEA**, 25 °C, 7 días, 64-73 mm diam., de color blanco a amarillo pálido en el centro, muy granulosas, exudado claro en el centro; 14 días de incubación, extendidas por toda la placa de cultivo, blancas a crémeas muy granulosas, exudado claro; reverso en tonos de color marrón. Esporulación asexual escasa a nula. Desarrollo presente a 10 °C, ausente a 48 °C. En **OA**, 25 °C, 7 días, 53-55 mm diam., blancas, de aspecto granuloso por la producción de cleistotecios, exudado escaso y claro; cubriendo toda la placa de cultivo a los 14 días de incubación y de igual aspecto que a los 7 días, exudado claro; reverso claro.

Ascomas cleistoteciales globosos, blancos, 270-420 µm diam., pared del peridio compuesta por células angulares. *Ascosporas* globosos, evanescentes, 11-12 µm diam., con 8 esporas. *Ascosporas* hialinas, lenticulares, 7 × 4-4,5 µm, con superficies convexas muy ornamentadas. En MEB se observan crestas poligonales, no muy separadas entre sí con borde conspicuo; las caras convexas del cuerpo de la espora presentan espinas, tubérculos y barras anastomosadas. *Cabezuelas conidiales* columnares. *Conidióforos* con estípites sinuosos en algunos casos, 73-325 × 2-5 µm. *Vesículas* globosas a subglobosas o piriformes, 8-16 µm diam., uniseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* 5-8 × 2-3 µm. *Conidios* globosos a subglobosos, con ornamentación muy delicada 2,5-3 × 2-2,5 µm.

Materiales examinados: Catamarca, **3221**, 22/08/11, RN 60 km 934, 29°33,581'S, 64° 52,937'W, 186 msnm (holotipo).

Citas geográficas: -.

Hábitat: suelo.

Patogenicidad: -

Observaciones:

Esta cepa presenta características morfológicas que no coinciden con las especies conocidas hasta el momento, especialmente en relación con la morfología de las ascosporas, que presentan espinas, tubérculos y barras anastomosadas en las caras convexas del cuerpo de la espora, crestas poligonales, con borde muy conspicuo y no muy separadas entre sí.

Tanto en el análisis de MP y de NJ (Figs. 4 y 7) la nueva especie propuesta se relaciona con buenos soportes (Figs. 5 y 9) con *A. fumisynematus* en un grupo formado por *A. lentulus*, *A. fumigatus* y *A. fischeri*. Este último agrupamiento coincide con el obtenido por Samson *et al.* (2007).

A. fumisynematus es una especie solo conocida en estado anamórfico, caracterizada por la formación de sinemas en MEA (Horie *et al.*, 1993). Este carácter ha sido utilizado como definitorio para separarla de otras relacionadas (Horie *et al.*, 1993) y aceptado por Samson *et al.* (2007). La especie nueva argentina no presenta sinemas, desarrolla también estado teleomórfico y se incorporaría al grupo de especies afines mencionado en el párrafo anterior.

Debido a estos resultados se propone esta especie nueva.

Aspergillus huiyanae Y. Horie, Matsuzawa, Abliz & Yaguchi, Mycoscience 55: 218, 2014

Lámina 8

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 44-48 mm diam., blanquecinas, velutinosas, con exudado escaso y claro; 14 días de incubación 60-64 mm diam., de color amarillento más intenso en el centro que en los bordes, surcada transversal y radialmente, pigmento soluble en tonos pardos; reverso de color marrón rojizo. Esporulación asexual escasa a nula. A 37 °C, 7 días, 25-28 mm diam. En **MEA**, 25 °C, 43-48 mm diam., de color blanco con centro castaño claro, poco surcada sin exudado, textura predominantemente granulosa a causa de la abundante producción de cleistotecios; 14 días de incubación 72 mm diam., blancas amarillentas surcadas y con abundante exudado amarillo; reverso de color marrón anaranjado. Esporulación asexual escasa a nula. Desarrollo presente a 10 y 45 °C, ausente a 48 °C. En **OA**, 25 °C, 7 días, 34-44 mm diam., blancas, granulosas, sin exudado; 14 días de incubación color blanco a amarillento verdoso en los bordes, extendiéndose por toda la placa de cultivo, granulosa debido a la presencia de cleistotecios, sin exudado; reverso amarillento. En **PDA**, 14 días, 25 °C, 65 mm diam., de color blanco con centro y exudado amarillento, pigmento soluble anaranjado; reverso anaranjado. Esporulación asexual ausente. En **M20**, 25 °C, 7 días, esporulación asexual abundante y ausencia de cleistotecios.

Ascomas cleistoteciales superficiales, mayormente globosos a subglobosos, blanquecinos a blanco amarillentos, 90-250 µm diam., cubiertos por una red poco profusa y laxa de hifas hialinas, en algunas zonas se observan hifas con ligera pigmentación castaña, peridio compuesto por células angulares. *Ascosporas* globosos, evanescentes, 10-13 × 10-12 µm, con 8 esporas. *Ascosporas* hialinas, lenticulares, 5-6,5 × 4,5-5 µm, con superficies convexas rugosas, con verrugas irregulares en algunos casos anastomosadas, rara vez formando retículos incompletos y con dos crestas ecuatoriales. *Cabezuelas conidiales* columnares cortas. *Conidióforos* 110-175 × 2-4 µm algunos muy sinuosos. *Vesículas* piriformes a espatuladas, algunas deformes, fértiles en la mitad superior, 10-15 × 7-10 µm diam., uniseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* 3-7 × 2-3 µm. *Conidios* lisos, globosos a subglobosos, 2-3 µm diam.

Materiales examinados: Catamarca, **0515**, 05/01/09, RN 60 km 1146, 28°13,086'S 66°22,675'W, 1051 msnm; **3421**, 23/08/11, RN 60 km 1102, 28°55,246'S 66° 08,768'W, 338 msnm.

Hábitat: suelo (Matsuzawa *et al.*, 2014).

Citas geográficas: China (Matsuzawa *et al.*, 2014).

Observaciones:

Esta descripción coincide con la de Horie *et al.* (2014). Sin embargo, el diámetro de los cleistotecios según la descripción original no supera los 190 μm . Las ascosporas de esta especie presentan cierta similitud con las de *A. fennelliae* Kwon-Chung & S.J. Kim, pero esta última es heterotálica, a diferencia de *A. huiyanae* que es homotálica. Las ascosporas de nuestros aislamientos son hialinas, Matsuzawa *et al.* (2014) describen en el protologo ascosporas de color marrón amarillento a marrón amarillento claro. Sin embargo, es característico del grupo *A. fumigatus* (Raper y Fennell, 1965) la producción de ascosporas sin color. Por otra parte, los conidióforos presentes en el micelio aéreo de las cepas argentinas nunca alcanzaron una longitud de 270 μm , como describieron Matsuzawa *et al.* (2014).

El estudio de los caracteres moleculares refuerza la identificación realizada, ya que de acuerdo con los análisis de MP y NJ de BenA y CaM (Figs. 4 y 7) las cepas argentinas identificadas como *A. huiyanae* integraron un clado con buen soporte (Figs. 5 y 9) con la secuencia de referencia de esta especie. Dicho clado es compartido con *A. fennelliae*, *A. denticulatus* (Samson, S.B. Hong & Frisvad) Samson, S.B. Hong, Visagie & Houbraken y *A. sublevisporus* Someya, Yaguchi & Udagawa. Matsuzawa *et al.* (2014) exhiben similares resultados. Además, se agregan al clado *A. otanii* Takada, Y. Horie & Abliz y *A. ferenczii* (Varga & Samson) Samson, Varga, Visagie & Houbraken coincidiendo con Nováková *et al.* (2014).

Se encontraron dos aislamientos de esta especie pertenecientes a distintos muestreos, verano de 2009 e invierno de 2011, y muy cercanos geográficamente (aproximadamente 40 km).

La presente constituye la segunda cita mundial para esta especie.

Aspergillus laciniosus S.B. Hong, Frisvad & Samson, Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 56: 484, 2006

≡ *Neosartorya laciniosa* S.B. Hong, Frisvad & Samson, Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 56: 484, 2006.

Lámina 9

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 52-64 mm diam., de color amarillo pálido a crema, velutinosas a granuladas debido a la presencia de ascomas cleistoteciales, exudado escaso, claro; 14 días de incubación de color amarillo pálido, extendiéndose por toda la placa de cultivo, exudado escaso, transparente; reverso anaranjado pálido. Esporulación asexual escasa a nula. A 37 °C, 7 días, hasta 75 mm diam. En **MEA**, 25 °C, 7 días, 65-68 mm diam., de color blanco a amarillento, textura granulosa; 14 días de incubación color amarillento, cubrió la placa de cultivo, textura predominantemente granulosa debido a la abundante producción de ascomas cleistoteciales, abundante exudado transparente; reverso castaño anaranjado. Esporulación asexual escasa a nula. Desarrollo presente a 10 y 48 °C. En **OA**, 25°C, 7 días, 40-60 mm diam., blancas, delicadas; 14 días de incubación de color blanquecino, extendiéndose por toda la placa de cultivo, crecimiento delicado y con poca presencia de ascomas cleistoteciales, exudado abundante y transparente; reverso claro. En **M20**, 25 °C y 37 °C, 7 días, esporulación asexual abundante.

Ascomas cleistoteciales globosos, blanquecinos a amarillo pálidos, 200-350 µm diam., cubiertos por una red laxa formada por hifas hialinas a ligeramente amarillentas, peridio constituido por células angulares. *Ascosporas* globosas a subglobosas, evanescentes, 11-14 × 10-13 µm, con 8 esporas. *Ascosporas* hialinas, lenticulares, 6-7 × 5 µm, con superficies convexas y con espinas que se anastomosan formando un retículo delicado (Lám. 9.H). En MEB también se pueden apreciar los dos anillos de proyecciones microtuberculadas en la zona ecuatorial (Lám 9.I).

Cabezuelas conidiales columnares, cortas. *Conidióforos* 190-475 × 3-4,5 µm. *Vesículas* subglobosas a subclaviformes, fértiles en la mitad superior, 10-13 µm diam., uniseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* 4-5 × 2,5-3µm. *Conidios* lisos, globosos a subglobosos, 2-2,5 µm diam.

Materiales examinados: Catamarca, BAFCCult 3021 (**022**), 05/01/09, y **221**, 02/01/10, RN 60 km 934, 29°33,581'S, 64°52,937'W, 186 msnm; **1111**, 09/01/09, RP 46 Km 70, 28°05,578'S, 66°12,913'W, 859 msnm; **2012**, 12/01/09 y **5023**, 23/08/11, RN 38 km 563,

28°35,088'S, 65°52,451'W, 522 msnm; **4423**, 25/08/11, RN 40, 27°18,858'S, 66°53,584'W, 1707 msnm.

Citas geográficas: Corea, Estados Unidos, Holanda, Kenia, Pakistán, República Dominicana, Surinam (Hong *et al.*, 2006), Tailandia (Eamvijarn *et al.*, 2013).

Hábitat: suelo (plantación de tomate), corales (referencias *idem* punto anterior).

Patogenicidad: reporte de un caso en ser humano inmunocomprometido (Malejczyk *et al.*, 2013).

Observaciones:

La descripción de los presentes aislamientos coincide, en cuanto a las características culturales y micromorfológicas, con Hong *et al.* (2006) y Samson *et al.* (2007); sin embargo, los conidios se presentan ligeramente más pequeños en nuestros aislamientos.

En el estudio de los caracteres moleculares (Figs. 4 y 7), las cepas argentinas se presentan asociadas a *A. lacinosus*, *A. spinosus* Kozak. y *A. takakii* Y. Horie, Abliz & K. Fukush. con buenos soportes, especialmente para CaM (MP y NJ, Fig. 9). La relación entre *A. lacinosus* y *A. spinosus* coincide con Hong *et al.* (2006), estos autores no incluyeron a *A. takakii*. Por otro lado, Hong *et al.* (2006) incluyeron a *A. coreana* que no fue considerada en la lista de nombres aceptados por la ICPA (Samson *et al.*, 2014) que se sigue en esta Tesis. Dentro de este grupo, las cepas argentinas se relacionan más entre sí que con *A. lacinosus*, excepto con el marcador CaM (MP y NJ). Sin embargo, hasta poder comparar con el tipo, se tomó la decisión de identificar como *A. lacinosus* a los aislamientos estudiados. Las ascosporas de *A. spinosus* poseen espinas y proyecciones circulares o triangulares; *A. takakii* también posee proyecciones dispuestas más o menos circularmente (Horie *et al.*, 2001), y algunos autores proponen su sinonimia con *A. spinosus* (Hong *et al.*, 2006; Samson *et al.*, 2007). De todas maneras, *A. takakii* es considerada actualmente una especie válida (Samson *et al.*, 2014).

Las seis cepas aisladas provinieron de muestras tomadas en las tres campañas.

Este constituye el primer registro para Argentina.

Aspergillus lentulus Balajee & K.A. Marr, in Balajee, Gribskov, Hanley, Nickle & Marr, Eukaryotic Cell 4(3): 631, 2005

Lámina 6

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 40-45 mm diam, de color blanca con bordes ligeramente azulados, velutinosas, surcadas, exudado ausente; reverso castaño claro. Esporulación asexual muy escasa. A 37 °C, 7 días, 40-45 mm diam. En **MEA**, 25 °C, 43-44 mm diam., de color blanco con sectores verde azulados debido al anamorfo, velutinosas, elevadas, exudado claro; reverso de color marrón anaranjado. Esporulación asexual abundante. Desarrollo presente a 10 °C, no crece a 50 °C.

Teleomorfo ausente. *Cabezuelas conidiales* columnares cortas. *Conidióforos* lisos con estípites sinuosos que presentan una constricción inmediatamente debajo de la vesícula, 75-190 × 3-5 µm. *Vesículas* globosas a piriformes, 7-17 µm diam., uniseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* 5-6 × 2 µm. *Conidios* lisos, subglobosos a elipsoidales, 2,5-3 × 2-2,5 µm diam.

Materiales examinados: Catamarca, **1612**, 10/01/09, Corral Quemado a Papachacra, 27°07,545'S, 66°56,598'W, 2152 msnm.

Citas geográficas: Argentina (Montenegro *et al.*, 2009), Corea (Hong *et al.*, 2005), España (Alhambra *et al.*, 2008), Estados Unidos (Balajee *et al.*, 2005).

Patogenicidad: patógeno humano (*idem* referencias anteriores).

Hábitat: suelo, fosa nasal de un delfín, ser humano (Hong *et al.*, 2005).

Observaciones:

Esta cepa se ubica tentativamente bajo el nombre de esta especie debido a las diferencias observadas. La descripción antes enunciada concuerda con la de Balajee *et al.* (2005). Sin embargo, *A. lentulus* presenta respecto de la cepa 1612 conidióforos más largos (de hasta 300 µm) y vesículas más pequeñas, de 8-10 µm (descritas como diminutas). En nuestro aislamiento fueron observadas vesículas muy pequeñas pero también de mayor tamaño, igual que lo informado por Samson *et al.* (2007) quienes registraron vesículas de hasta 25 µm. Estos últimos también describen a los conidios

como lisos a finamente rugosos; no obstante, Balajee *et al.* (2005) los describe como rugosos en el protologo de la especie. Los conidios de la cepa 1612 se observaron lisos bajo el microscopio óptico; no se dispone de imágenes de MEB para este aislamiento.

En los árboles de MP se une a la secuencia de la especie tipo con valores de *bs* de 100 para BenA y 87 para CaM. Con *NJ* se agrupa con *bs* de 91 y 71 para BenA y CaM, respectivamente (Figs. 5 y 9).

A. lentulus es una especie recientemente descrita (Balajee *et al.*, 2005) y prácticamente idéntica a *A. fumigatus* y a otros miembros de la sección. Probablemente aislamientos de origen clínico identificados como *A. fumigatus* se traten de *A. lentulus* (Montenegro *et al.*, 2009) o alguna especie relacionada.

Montenegro *et al.* (2009) aisló esta especie en nuestro país a partir de una paciente con probable aspergillosis pulmonar.

Aspergillus sculptus* S. M. Romero, A. I. Romero & Comerio *sp. nov.

Holotypus: Argentina, Catamarca, 0821, 06/01/09, RP 25, 28°15,510'S, 66° 08,788'W, 1424 msnm. Cultivo seco.

Lámina 10

Inter species homothallicas generis Aspergilli sectionis Fumigatorum microtuberculis atque angustis plicis ascosporarum ad A. aureolum et A. laciniosum accedens sed a priore nullis hyphis flavis ascomatibus cingentibus, a posteriore coloniis (CYA, 25 °C, 7d) lente crescentibus recedens.

Etimología: *sculptus*, adj., grabado, tallado.

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 11-16 mm diam., blancas muy arrugadas, exudado ausente; 14 días de incubación, 17-20 mm, de color amarillo grisáceo claro muy arrugadas y elevadas, exudado ausente; reverso castaño claro. Esporulación asexual ausente. A 37°C, 7 días, 20-32 mm diam. En **MEA**, 25 °C, 7 días, 12-21 mm diam., de color blanco, apretadas, surcadas, con anillos y bordes irregulares; 14 días de incubación, 25-28 mm, blancas con abundante exudado amarillento; reverso en tonos de marrón. Esporulación asexual escasa. Desarrollo presente a 10 °C, ausente a 45 °C. En **OA**, 25 °C,

7 días, 43-50 mm diam., blancas, de aspecto granuloso por la producción de cleistotecios, exudado ausente; cubriendo la placa de cultivo a los 14 días de incubación y de igual aspecto que a los 7 días, exudado claro; reverso claro. En **M20**, 25 °C, 7 días, 31-34 mm diam., blancas con sectores grisáceos debido a la presencia del anamorfo; 14 días hasta 44 mm diam.

Ascomas cleistoteciales, globosos, blancos, 120-220 µm diam, pared del peridio compuesta por células angulares. *Ascos* globosos a subglobosos, evanescentes, 13-17 × 11-14 µm, con 8 esporas. *Ascosporas* hialinas, lenticulares, 8-9 × 5-7 µm, con superficies convexas y ornamentación conspicua que consiste en formaciones irregulares a modo de barras sinuosas que parecen esculpidas, y crestas onduladas no muy separadas entre sí (Lám 10.H-J). *Cabezuelas conidiales* columnares cortas. *Conidióforos* septados, 95-225 × 3-5 µm. *Vesículas* globosas, fértiles en los dos tercios superiores, 10-15 µm diam., uniseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* 5-7 µm long. *Conidios* lisos, subglobosos a elipsoidales, 2-2,5 × 1,5-2 µm diam.

Materiales examinados: Catamarca, **0821**, 06/01/09, RP 25, 28°15,510'S, 66° 08,788'W, 1424 msnm (holotipo).

Citas geográficas: -.

Hábitat: suelo.

Patogenicidad: -

Observaciones:

El presente aislamiento exhibe una combinación de características morfológicas y de cultivo no compartida con las especies conocidas hasta el momento. Estas características son: la ornamentación de las ascosporas junto con colonias de crecimiento lento en MEA a 25 °C, 14 días.

Si bien en los análisis filogenéticos (MP y NJ, Figs. 5 y 8) se presenta muy relacionada con *A. hiratsukae* Udagawa, Tsub. & Y. Horie con valores de *bs* de 99 para BenA y 100 para CaM (Fig. 8) para MP y, con *bs* de 75 y 99 para BenA y CaM (Fig. 8), respectivamente, para NJ, *A. hiratsukae* se diferencia morfológicamente de manera notoria de la cepa argentina.

Las ascosporas de *A. sculptus* y *A. hiratsukae* comparten una característica en cuanto a la disposición de las crestas ecuatoriales: estas se encuentran separadas por un espacio muy estrecho. No obstante, *A. hiratsukae* se diferencia de *A. sculptus* porque posee ascosporas de menor tamaño, ornamentadas con un retículo delicado y con crestas ecuatoriales de menor tamaño (Udagawa *et al.*, 1991; Samson *et al.*, 2007; Guarro *et al.*, 2002). Por otra parte, los conidióforos de *A. sculptus* son más cortos y con estípites más delgados. En cuanto a las características culturales nuestro aislamiento presenta menores velocidades de crecimiento en MEA y OA. En MEA, además, *A. sculptus* produce un exudado muy abundante, no descrito para *A. hiratsukae* (Udagawa *et al.*, 1991; Samson *et al.*, 2007).

La ornamentación de las ascosporas de *A. sculptus* recuerda, de modo general, a las ascosporas de *A. aureolus* y *A. laciniosus*. *A. sculptus* se diferencia de la primera por la ausencia de hifas amarillas asociadas a los ascomas, y de la segunda a causa de su diferente desarrollo en CYA, 25 °C, 7 d (Samson *et al.*, 2007).

Por lo tanto, se presenta la hipótesis de esta cepa como una especie nueva.

Aspergillus shendawei (Yaguchi, Abliz & Y. Horie) Samson, Visagie & Houbraken, Stud. Mycol. 78: 157, 2014

= *Neosartorya shendawei* Yaguchi, Abliz & Y. Horie, Mycoscience 51 (4): 260, 2010.

Lámina 11

Colonias en CYA, 25 °C, 7 días, 11-17 mm diam., blancas, rugosas, sin exudado; 14 días de incubación 17-27 mm diam., blancas, exudado escaso y claro; reverso de color castaño claro con tintes grisáceos. Esporulación asexual muy escasa a nula. A 37°C, 7 días, 38-57 mm diam., ausencia de esporulación tanto sexual como asexual. En **MEA**, 25 °C, 38-50 mm diam., blancas a crémeas con bordes de color amarillo verdoso claro, velutinosa, exudado ligeramente amarillento; 14 días de incubación crémeo grisáceo, 48-55 mm diam., con exudado amarillento principalmente en los bordes; reverso marrón anaranjado. Desarrollo presente a 10 °C y a 48 °C. En **OA**, 25 °C, 7 días, 48-55 mm diam., blancas a grisáceas debido a la presencia del anamorfo principalmente en el centro, granulosas; 14 días de incubación blancas a grisáceas, más oscuras en el centro, exudado abundante y transparente; reverso claro. En **M20**, 25 °C, 7 días, blancas ligeramente

verdeazulado esporulación asexual abundante; a 37°C esporulación asexual muy abundante.

Ascomas cleistoteciales, globosos, blancos a ligeramente amarillentos, 70-240 µm diam., rodeados de una red laxa de color amarillo pálido formada por hifas hialinas, peridio formado por células angulares. *Ascos* globosos a subglobosos evanescentes, 11-15 × 11-14 µm, con 8 esporas. *Ascosporas* hialinas, lenticulares, 6-8 × 4-5 µm, con superficies convexas y tuberculadas. A mayores aumentos (MEB) se aprecian dos anillos de proyecciones microtuberculadas en la zona ecuatorial y tubérculos aislados sobre las crestas (Lám. 11.H-I). *Cabezuelas conidiales* columnares, cortas. *Conidióforos* 80-185 × 3,5-4 µm. *Vesículas* piriformes a espatuladas, fértiles en la mitad superior, 10-13 µm diam., uniseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* 5 × 2 µm. *Conidios* lisos, globosos a subglobosos, 2-3 µm diam.

Materiales examinados: Catamarca, **0411**, **0414**, **0424**, 05/01/09, **3411**, **3415**, **3416**, **3422** y **3425bis**, 23/08/11, RN 60 km 1102, 28°55,246'S, 66°08,768'338W; **0512** y **0524**, 05/01/09, RN 60 km 1146, 28°13,086'S, 66°22,675' W, 1051 msnm; **0611** (BAFCcult 1674), 05/01/09, RP 46, 28°46,365'S, 66°09,940'W, 1317 msnm; **0721**, 06/01/09 y **3721**, **3722**, 23/08/11, RP 25 28°14,602'S, 66°08,849'W, 1507 msnm; **0911** y **0922**, 06/01/09, 28°22,677'S, 66°11,836'W, 1304 msnm; **1411**, 10/01/09, RN 40, 27°18,858'S, 66°53,584'W, 1707 msnm; **2011**, **2022**, 12/01/09 y **5015**, **5022**, 23/08/11, 28°35,088'S, 65°52,451'W, 522 msnm; **4221**, 24/08/11, RP 46, 27°35,217'S, 66°22,183'W, 996 msnm; **4321**, 26/08/11, RP 46 km 185, 27°45,202'S, 66°47,989'W, 1069 msnm; **5122** y **5124**, 22/08/11, RP 33, 28°42,057'S, 65°46,128'W, 418 msnm; **5724**, 25/08/11 RN 40 km 4206,3, 27°00,294'S, 66°21,584'W, 2243 msnm; **5921**, 26/08/11, RN 40 km 4019, 28°11,546'S, 67°08,201'W, 1065 msnm. La Rioja, **1921**, 12/01/09, RN 60 Km 1172, 28°40,507'S, 66°30,038'W, 653 msnm; **6321** y **6328**, 27/08/11, RN 60 Km 1226, 28°25,352'S, 66°53,113'W, 911 msnm.

Citas geográficas: China (Yaguchi *et al.*, 2010).

Hábitat: suelo (Yaguchi *et al.*, 2010).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

Yaguchi *et al.* (2010) describieron ascomas pardo amarillento a amarillo claro de 55-135 μm diam. y conidióforos de longitud no superior a 100 μm para *A. shendawei*. Los aislamientos estudiados en esta Tesis en cambio, exhibieron ascomas de color blanco a amarillo pálido (sin tonos parduzcos) de diámetro mayor y conidióforos de longitud superior. Por otra parte, las colonias (MEA, 25 °C, 14 d) de nuestros aislamientos desarrollaron diámetros mayores en relación con los descritos para *A. shendawei*. Adicionalmente, los cultivos en CYA (25 °C, 14 d) de la mayoría de nuestros aislamientos presentaron pigmento amarillo en el micelio subyacente al estrato de los ascomas; esta característica no se encuentra descrita para *A. shendawei*. Los aislamientos 1411 y 1921 presentaron características particulares. El primero desarrolló colonias con bordes irregulares y 40 mm de diam. (CYA, 25 °C, 14 d); el segundo no presentó pigmentación amarilla en el micelio subyacente a los ascomas.

En el presente trabajo se obtuvieron 30 aislamientos, a partir de 18 muestras de las campañas de invierno y verano; se analizaron 26 secuencias del gen BenA y 25 de CaM (Figs. 4 y 9). En el árbol obtenido por MP, nuestros aislamientos se agruparon con la secuencia del tipo de *A. shendawei* con un valor de *bs* de 100 tanto para BenA como para CaM. Por *NJ* se agruparon con *bs* de 86 para CaM y 99 para BenA (Figs. 6 y 8).

Entre los aislamientos argentinos no se observan mayores diferencias en su morfología y en sus características de cultivo, salvo las ya mencionadas anteriormente. No obstante, en la filogenia se agrupan en forma de peine entre sí y separadas de la secuencia del tipo, indicando que al menos con dos marcadores no quedan bien establecidas las relaciones entre las cepas argentinas. Esto podría indicar que estamos frente a la presencia de un complejo de especies. Todo lo antedicho demuestra que el estudio filogenético requiere un análisis más detallado aumentando el número de secuencias provenientes de diversas regiones para confirmar si existe más de una entidad taxonómica.

La presente constituye la segunda cita a nivel mundial.

Aspergillus tatenoi Horie, Miyaji, Yokoyama, Udagawa & Takagi, Trans. Mycol. Soc. Japan 33: 395, 1992

= *Neosartorya tatenoi* Horie, Miyaji, Yokoyama, Udagawa & Takagi, Trans. Mycol. Soc. Japan 33: 395, 1992.

= *Aspergillus delicatus* H.Z. Kong, Mycotaxon 62: 429. 1997 $\equiv$ *Neosartorya delicata* H.Z. Kong, Mycotaxon 62: 429, 1997.

Lámina 12

Colonias en CYA, 25 °C, 7 días, 46-68 mm diam., de color blanco a amarillo muy pálido, velutinosas en la zona central, granulosa en la periferia debido a la presencia de ascomas cleistoteciales, exudado escaso y claro; 14 días de incubación color crema, extendiéndose por toda la placa de cultivo, exudado escaso, transparente a amarillento; reverso anaranjado. Esporulación asexual escasa a nula. A 37 °C, 7 días, hasta 75 mm diam. En *MEA*, 25 °C, 7 días, 60 mm diam., de color blanquecino a amarillento, textura predominantemente granulosa debido a la abundante producción de ascomas cleistoteciales; 14 días de incubación color crema extendiéndose por toda la placa de cultivo y con abundante exudado amarillento; reverso anaranjado. Esporulación asexual escasa a nula. Desarrollo presente a 45 °C, ausente a 10 °C y a 48 °C. En *OA*, 25 °C, 7 días, 65-72 mm diam., blanco amarillento, granulosa, con exudado abundante, hialino; 14 días de incubación color crema, más oscuras en los bordes, exudado abundante y hialino; reverso claro. En *M20* y en *ATA*, 25 °C, 7 días, esporulación asexual abundante; a 37°C esporulación asexual muy abundante.

Ascomas cleistoteciales globosos, blancos, 200-480 μ m diam., rodeados de una red laxa de color amarillo pálido formada por hifas hialinas, peridio constituido por células angulares. *Ascos* globosos, evanescentes, 11-15 $\times$ 11-14 μ m, con 8 esporas. *Ascosporas* hialinas, lenticulares, 6,5-7 $\times$ 5 μ m, con superficies convexas, reticuladas. *Cabezuelas conidiales* columnares, cortas. *Conidióforos* 180-340 $\times$ 4-7 μ m. *Vesículas* piriformes a espatuladas, fértiles en la mitad superior, 10-17 μ m diam., uniseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* 6-7 μ m long. *Conidios* lisos, globosos a subglobosos hasta elipsoidales, 2-3 μ m diam.

Materiales examinados: Catamarca, **0413** (BAFCcult1666) y **0412**, 05/01/09, RN 60 km 1102, 28°55,246'S, 66°08,768'W, 338 msnm; y **222**, 02/01/10, RN 60 km 934, 29°33,581'S 64°52,937'W, 186 msnm.

Materiales adicionales: Panamá, *NRRL* 4584, aislado de suelo. Esta cepa fue considerada de referencia ya que no se contó con el cultivo *ex typo* para su comparación.

Citas geográficas: Brasil (Horie *et al.*, 1992), China (Samson *et al.*, 2007), Panamá (NRRL colección de cultivos), República Dominicana (CBS colección de cultivos), Tailandia (Sanmanoch *et al.*, 2013; Yim *et al.*, 2014).

Hábitat: suelo (referencias *idem* punto anterior).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

La descripción de estos aislamientos coincide con la de Horie *et al.* (1992) a excepción de algunos comentarios que se detallan a continuación.

En CYA y MEA, 25°C, 7 días, nuestros aislamientos alcanzaron mayores diámetros que los presentados por Samson *et al.* (2007); no obstante, exhibieron estrecha similitud con el desarrollo descrito en el protocolo de la especie (Horie *et al.*, 1992). En particular, las colonias del aislamiento 222 (MEA, 25°C) mostraron bordes más irregulares que el resto a los 7 días de crecimiento en MEA 25 °C. Samson *et al.* (2007) utilizaron M20 y M40 para favorecer el desarrollo del anamorfo. En el presente trabajo, además de dichos medios de cultivo, se utilizó ATA a 30 °C y 37 °C; la esporulación asexual observada resultó abundante para ambas temperaturas de incubación.

Respecto de la morfología microscópica, tanto Horie *et al.* (1992) como Samson *et al.* (2007) describieron ascomas cleistoteciales de 140-360 × 140-310 µm, los de nuestros aislamientos presentaron forma más globosa y alcanzaron diámetros mayores (llegando a 480 µm). Los conidióforos presentes en el micelio aéreo evidenciaron menor longitud que aquellos surgidos del estrato basal; sus vesículas expresaron menor diámetro (9-12 µm) y menor número de fiálides. Los aislamientos analizados en esta oportunidad, cultivados en M20 y M40 a 30°C, manifestaron conidióforos espiralados (Lám 12.L) en el estrato basal del cultivo (en M20 con menos frecuencia). Esta última particularidad, no observada en MEA, ni en ATA, ni en Agar Heno, podría constituir una característica morfológica diferencial que justifique ulteriores estudios comparativos en relación con aislamientos de *A. tatenoi* provenientes de otros sitios geográficos. Adicionalmente, en M20, tanto a 25 °C como a 37 °C, nuestros aislamientos produjeron mayor cantidad de conidióforos que los de la cepa NRRL 4584 tomada como referencia. Los aislamientos 0412 y BAFCCult1666 (0413) presentaron vesículas de tamaño levemente mayor que las

aquí descritas anteriormente (18-29 µm diam.). Además, el aislamiento 0412 no evidenció conidios globosos sino subglobosos a elipsoidales.

Nuestros aislamientos se agruparon con la secuencia del tipo de *A. tatenoi* con un valor de *bs* de 100 para BenA (Fig. 5) y 99 en CaM (Fig. 8) en el árbol de MP, y de *bs* de 97 para BenA (Fig. 5) y 95 para CaM (Fig. 8), en el *NJ*.

Horie *et al.* (1992) fundaron *Neosartorya tatenoi* conjuntamente con su estado anamórfico *Aspergillus tatenoi*. Posteriormente, un aislamiento con ascosporas de similar ornamentación, fue descrito como *N. delicata* H.Z. Kong y *A. delicatus* H.Z. Kong por Kong (1997). Samson *et al.* (2007) consideró a *N. delicata* como sinónimo de *N. tatenoi*. Sin embargo, Samson *et al.* (2014) y el listado de las especies reconocidas en la página del *International Commission of Penicillium and Aspergillus (ICPA)* citan a *A. delicatus* sin hacer ninguna referencia a dicho sinónimo. En la lista de tipos la *ICPA* cita solamente a *A. tatenoi* y no al tipo de *A. delicatus*. Por lo tanto, la ausencia de *A. tatenoi* entre las especies aceptadas podría interpretarse como una omisión involuntaria.

La presente constituye la primera cita para nuestro país.

***Aspergillus tubercularis* S. M. Romero, Comerio & A. I. Romero sp. nov.**

Holotypus: Argentina, Catamarca, 0418, 05/01/09, RN 60 km 1102, 28°55,246'S, 66°08,768'338W. Cultivo seco.

Lámina 13

Species peculiaris, ab aliis speciebus homothallicis generis Aspergilli sectionis Fumigatorum microtuberculis discretis et conjunctis dispositisque in circumferentiarum arcibus gaudentibus propter corpora late elliptica vel elliptica a latere visa atque dorsum auranticum concomitatum coloniarum (CYA, 25 °C, 7 d) distincta.

Etimología: *tubercularis* –e, adj., que posee proyecciones similares a verrugas, que posee tubérculos.

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 14-20 mm diam., blancas, velutinosas, lisas a surcadas; 14 días de incubación, 36-50 mm blancas, velutinosas a ligeramente floccosas, lisas a surcadas, exudado claro abundante a muy abundante; reverso pardo anaranjado.

Esporulación asexual ausente. A 37°C, 7 días, 20-32 mm diam. En **MEA**, 25 °C, 7 días, 25-42 mm diam., blancas, velutinosas con o sin surcos; 14 días de incubación, 38-54 mm, blancas con abundante exudado claro; reverso de color marrón anaranjado a marrón en los bordes. Esporulación asexual generalmente escasa. Desarrollo presente a 10 °C, ausente a 48 °C. En **OA**, 25°C, 7 días, 34-40 mm diam., blancas, planas, con cleistotecios dispersos; 14 días de incubación, 65-70 mm, blancas, granuladas, exudado claro; reverso claro.

Ascomas cleistoteciales globosos, blancos, 100-420 µm diam, pared del peridio compuesta por células angulares. *Ascos* globosos, evanescentes, 12-15 × 10-14 µm, con 8 esporas. *Ascosporas* hialinas, lenticulares, 6-8 x 4-5 µm, con superficies convexas microtuberculadas y crestas con borde. *Cabezuelas conidiales* columnares cortas. *Conidióforos* con estípites flexuosos y tabicados en algunos aislamientos, 110-185 × 2,5-4,5 µm. *Vesículas* subclaviformes, 7-15 µm diam., uniseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* 4-7 µm long. *Conidios* lisos, globosos a subglobosos, 2 × 2,5 µm diam.

Materiales examinados: Catamarca, **0418**, 05/01/09, RN 60 km 1102, 28°55,246'S, 66°08,768'338W. La Rioja, **6311**, **6315**, **6316**, **6324** y **6327**, 27/08/11, RN 60 km 1226, 28°25,352'S, 66°53,113'W, 911 msnm.

Citas geográficas: -.

Hábitat: suelo.

Patogenicidad: -

Observaciones:

Los presentes aislamientos exhiben una combinación de características no observadas en las especies hasta ahora descritas. Adicionalmente, se observaron algunas diferencias entre los mismos. El aislamiento 6315 en MEA, 25 °C, 14 días, presenta mayor velocidad de crecimiento que los otros aislamientos, hasta 70 mm, además las colonias poseen centro azulado debido a la presencia del anamorfo y borde festoneado. Se observaron conidióforos de menor longitud, 25-63 y 31-90 µm para las cepas 6311 y 6315, respectivamente. Por otra parte, las cepas 0418 y 6327 (MEA, 25 °C, 14 d) presentan funículos en bajo número. Los seis aislamientos poseen ascosporas

microtuberculadas de igual aspecto, aunque en las ascosporas del 6315 la ornamentación parecería abarcar los bordes de las crestas y presentar mayor densidad de tubérculos.

Una particularidad de *A. tubercularis* solo compartida, en el grupo de las especies microtuberculadas, por *A. biparmatus* es el color anaranjado del reverso de las colonias en CYA, 25 °C, 14 d. De todas maneras, *A. tubercularis* se diferencia de *A. biparmatus* por la forma ampliamente elipsoidal del cuerpo de sus esporas, de su desarrollo lento en CYA, 25 °C, 7 d (moderado en el caso de *A. biparmatus*) y de su desarrollo lento a moderado en CYA, 37 °C, 7 d (rápido en el caso de *A. biparmatus*).

A diferencia de otras especies con ascosporas microtuberculadas tales como *A. galapagensis* y *A. papuensis*, las colonias de nuestros aislamientos resultaron menores en CYA, 25 °C, 7 días. Por otra parte, *A. tubercularis* se diferencia de *A. shendawei* y de *A. australensis* porque presenta desarrollo más lento en CYA, 37 °C, 7 d.

En base a los estudios moleculares (Figs. 4 y 7), las cepas argentinas se relacionaron moderadamente con *A. galapagensis* con el marcador BenA (MP *bs* = 97, NJ *bs* = 51, Fig. 6); en cambio con el marcador CaM (Fig. 8) no se relacionaron con *A. galapagensis* y se mantuvieron unidas (MP: *bs* = 100; NJ: *bs* = 98). *A. galapagensis* se caracteriza por la abundante producción de funículos tanto en CYA como en MEA (la colonia es conspicuamente funiculosa), la producción de los ascomas se produce a las dos semanas de incubación, y la liberación de las ascosporas a las tres semanas. En nuestras cepas siempre se observaron ascosporas maduras a los 14 días de incubación.

En esta Tesis se propone una especie nueva, no obstante, podría tratarse de un complejo que requerirá posteriores estudios para su elucidación.

Clave para las especies de *Aspergillus* sect. *Fumigati* estudiadas en el presente trabajo

1	Teleomorfo presente	2
1'	Teleomorfo ausente	12
2	Ascosporas reticuladas	3
2'	Ascosporas no reticuladas	4
3	Anamorfo abundante en MEA, 25 °C, 7 d	<i>Aspergillus fischeri</i>
3'	Anamorfo escaso o nulo en MEA, 25 °C, 7 d	<i>Aspergillus tatenoi</i>
4	Colonias en CYA, 25 °C, 7 d mayores de 40 mm de diam.	5
4'	Colonias en CYA, 25 °C, 7 d menores de 40 mm de diam.	7
5	Ascosporas ornamentadas con pliegues groseros a modo de cordones, sin microtubérculos	<i>Aspergillus huiyanae</i>
5'	Ascosporas ornamentadas con pliegues angostos y/o microtubérculos	6
6	Ascosporas ornamentadas con microtubérculos y pliegues radiales angostos que se extienden hasta las crestas inclusive	<i>Aspergillus lacinosus</i>
6'	Ascosporas ornamentadas solo con microtubérculos, éstos mayoritariamente asociados en complejos lineales zigzagueantes; crestas de las ascosporas con bordes notorios que describen un polígono	<i>Aspergillus geometricus</i>
7	Colonias en CYA, 25 °C, 7 d 30-40 mm de diam.	<i>Aspergillus biparmatus</i>
7'	Colonias en CYA, 25 °C, 7 d menores de 30 mm de diam.	8
8	Ascosporas con microtubérculos y pliegues radiales angostos que se extienden hasta las crestas inclusive	<i>Aspergillus sculptus</i>
8'	Ascosporas solo con microtubérculos	9
9	Colonias en CYA, 37 °C, 7 d mayores de 35 mm de diam.	10
9'	Colonias en CYA, 37 °C, 7 d menores de 35 mm de diam.	<i>Aspergillus tubercularis</i>
10	Microtubérculos mayoritariamente asociados en cúmulos o haces de tres a seis unidades; vesículas de los conidióforos 5-10 µm de diam.	<i>Aspergillus cacuminosus</i>
10'	Microtubérculos mayoritariamente solitarios no asociados en cúmulos ni en haces; vesículas de los conidióforos 10-16 µm de diam.	11
11	Colonias en CYA, 25 °C, 14 d mayores de 35 mm de diam., con reverso pálido	<i>Aspergillus australensis</i>
11'	Colonias en CYA, 25 °C, 14 d menores de 35 mm de diam., con reverso castaño claro.....	<i>Aspergillus shendawei</i>
12	Conidióforos con forma de clava presentes	13
12'	Conidióforos con forma de clava ausentes, con una constricción notoria inmediatamente debajo de la vesícula	<i>Aspergillus lentulus</i>
13	Conidios lisos	<i>Aspergillus fumigatiaffinis</i>
13'	Conidios rugosos	<i>Aspergillus</i> aff. <i>fumigatus</i>

Aspergillus subg. *Nidulantes* (sect. *Nidulantes*)

El subgénero *Nidulantes* contiene las secciones *Nidulantes*, *Ochraceorosei*, *Usti*, *Sparsi* y *Aeni* (Frisvad *et al.*, 2005, Peterson, 2008, Varga *et al.*, 2010; Houbraken *et al.*, 2011).

La sect. *Nidulantes* contiene especies con teleomorfos tipo emericella (Pitt *et al.*, 2000; Samson *et al.*, 2000; Frisvad & Samson, 2004).

Raper & Fennell (1965: 491) resumen los caracteres más destacados de esta sección.

Aspergillus sydowii (Bainier & Sartory) Thom & Church, *Aspergilli*: 147, 1926

≡ *Sterigmatocystis sydowii* Bainier & Sartory, *Ann. Mycol.* 11: 25, 1913.

Descripciones e ilustraciones: Raper & Fennell, 1965; Klich, 2002; Domsch *et al.*, 2007.

Materiales examinados: Catamarca, **1024**, 08/01/09, Rincón; **3911**, 23/08/11, RP 25, 28°22,677'S, 66°11,836'W, 1304 msnm.

Citas geográficas: Argentina (Winitzky, 1948), Alaska, Australia, Austria, Brasil, Canadá, EEUU, Egipto, España, India, Italia, Islas Británicas, Japón, Kuwait, Malasia, Namibia, Pakistán, Perú, Singapur, Sudáfrica, Siria, ex Unión soviética (Domsch *et al.*, 2007).

Hábitat: principalmente suelo, pero también de ambientes externos e internos (Klich, 2002). Esta especie ha sido encontrada en numerosos alimentos, especialmente en alimentos secos (Pitt & Hocking, 2009). Esponjas marinas (Ein-Gil *et al.*, 2009).

Patogenicidad: en humanos fue informado un caso de onicomycosis (Yamada *et al.*, 2012) y de peritonitis (Chiu *et al.*, 2005). Producción de dermatitis en caballos (Lee *et al.*, 2012). Patógeno de corales (Rypien *et al.*, 2008; Ein-Gil *et al.*, 2009).

Observaciones:

Las características de los aislamientos concuerdan con las descripciones de Raper & Fennell (1965) y Klich (2002).

En nuestro país ha sido aislada previamente a partir de muestras de aire de la Ciudad de Buenos Aires (Winitzky, 1948), semillas de amaranto (Bresler *et al.*, 1995), pasas de uva (Romero *et al.*, 2005), de granos de maíz y soja (Sepúlveda *et al.*, 2005), de suelos semiáridos de San Luis (Mangiaterra *et al.*, 2006), de hierbas medicinales (Sánchez *et al.*, 2006) y en suelo de bosques nativos de *Celtis tala* de la Provincia de Buenos Aires (Elíades *et al.*, 2006a; Allegrucci *et al.*, 2007).

Aspergillus subg. *Nidulantes* (sect. *Usti*)

Raper & Fennell (1965) propuso el “*Aspergillus ustus* species group” que incluyó a *A. ustus* (Bainier) Thom & Church junto con otras cuatro especies. Actualmente la sección *Usti* incluye 21 especies, de las cuales dos poseen teleomorfo (Peterson, 2008; Samson *et al.*, 2011).

Raper & Fennell (1965: 543) resumen los caracteres más destacados de esta sección.

***Aspergillus fuscicans* S. M. Romero, A. I. Romero & Comerio sp. nov.**

Holotypus: Argentina, Catamarca, 1611, 10/01/09, Corral Quemado a Papachacra, 27°07,545'S, 66°56,598'W, 2152 msnm. Cultivo seco.

Lámina 14

Habitu morphologiaque A. usto et affinibus speciebus similis; ad A. calidoustum accedens, sed ab ea specie conidiis modice majoribus ac cellulis obtengentibus non modo irregulariter elongatis sed etiam oviformibus recedens.

Etimología: *fuscus* –i, adjetivo, pardo grisáceo o negruzco, pardo negruzco muy oscuro; –icans, sufijo, indica proceso de conversión o un parecido tan cercano como para ser casi

idéntico); *fusc-* + *-icans* = *fuscicans*; *fuscicans*: que llega a ser marrón negruzco muy oscuro.

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 33-35 mm, blancas con centro grisáceo, pigmento soluble amarillo, exudado amarillento; reverso amarillo anaranjado. A 37 °C, 7 días, 23-27 mm diam. En **CZ**, 25 °C, 7 días, 30-34 mm diam., blancas centro pardo muy claro; reverso claro. En **MEA**, 25 °C, 7 días, 37-47 mm diam., de color gris parduzco con gotas pequeñas de exudado oscuro. Se torna de color castaño muy oscuro a negro luego de dos semanas de incubación (detalle en Lám. 14.C). A 40 °C, 7 días, 4-5 mm diam. Desarrollo ausente a 42 °C. En **MEAB**, 25 °C, 7 días, 38-48 mm diam., pardo grisáceo; con pigmento soluble y reverso amarillos. En **OA**, 25°C, 7 días, 35-37 mm diam., de color pardo grisáceo; pigmento soluble amarillo ligeramente verdoso, reverso amarillo verdoso. En **CREA**, 25 °C, 7 días, 20-21 mm diam., esporulación pobre, sin producción de ácido, micelio hialino.

Teleomorfo ausente. *Conidióforos* con tintes de color marrón, lisos, cortos en el micelio aéreo, con septos, 48-178 × 4-6 µm, algunos curvados. *Vesículas* globosas a piriformes, 10-16 µm diam., biseriadas. *Células conidiógenas (fiálides)* 5-6 µm long. *Conidios* muy ornamentados con espinas gruesas y barras, globosos, 3,5-5 µm diam. Células de Hülle hialinas, escasas, irregularmente elongadas a ovoides. En los sucesivos cultivos se encontraron en número decreciente.

Materiales examinados: Catamarca, **1611**, 10/01/09, Corral Quemado a Papachacra, 27°07,545'S, 66°56,598'W, 2152 msnm (holotipo).

Citas geográficas: -.

Hábitat: suelo.

Patogenicidad: -.

Observaciones:

Este aislamiento reúne características que no coinciden con ninguna de las especies conocidas hasta el momento. A diferencia de *A. ustus*, la especie más conocida y más frecuentemente aislada de la sect. *Usti*, nuestra cepa crece a 37°C°. *A. calidoustus*

Varga, Houbraken & Samson y *A. pseudodeflectus* Samson & Mouch. Son especies estrechamente vinculadas con *A. fuscicans*. No obstante, esta se diferencia de *A. calidoustus* por la reacción de Ehrlich, la morfología y el tamaño de los conidios. Por otra parte, se distingue de *A. pseudodeflectus*, porque esta especie no produce células de Hülle. En la Tabla 3 se compara la especie nueva aquí propuesta con las tres especies de más parecidas de la sect. *Usti*.

Tabla 3: Características morfológicas y fisiológicas de *A. fuscicans* y otras especies relacionadas de la sect. *Usti*.

Especie	Diam (mm)		Reacción de Ehrlich	CREA	Color MEA	Conidios (µm)
	CYA37	YES				
<i>A. calidoustus</i>	20-35	36-41	Violeta	Crecimiento débil a moderado. Micelio hialino	Gris amarronado	2,7-3,5
<i>A. fuscicans</i>	33-35	38-40	Ninguna	Crecimiento débil. Micelio hialino	Grisáceo	3,5-5
<i>A. pseudodeflectus</i>	15-20	20-30	Ninguna	Crecimiento débil a moderado. Micelio hialino	Sin esporulación	3,5-5
<i>A. ustus</i>	-	43-49	Ninguna	Buen crecimiento. Micelio amarillo tenue	Castaño	3,2-4,5

Los análisis filogenéticos en base a los marcadores BenA y CaM realizados, confirman los resultados previos con respecto a la sect. *Usti* (Varga *et al.*, 2008) cuyas especies forman un clado bien definido (Fig. 10, MP BenA y CaM). El aislamiento 1611 se agrupó con *A. calidoustus* y *A. pseudodeflectus* con buen soporte. La relación filogenética de esta especie nueva con *A. calidoustus* y *A. pseudodeflectus* es la misma que la observada entre estas dos especies en trabajos previos (Samson *et al.*, 2007 y 2011; Varga *et al.*, 2008), es decir siempre están relacionados *A. calidoustus* y *A. pseudodeflectus* con soportes altos (entre 90 y 100) para ambos marcadores y actina, y diferenciados entre sí principalmente por caracteres morfológicos y fisiológicos (tamaño de colonia, reacción de Ehrlich, presencia/ausencia de células de Hülle, etc.).

En base a las diferencias en estos caracteres es que se propone la presente especie nueva.

Hamigera Stolk & Samson, Persoonia 6 (3): 342, 1971

Especie tipo del género: *Hamigera avellanea* (Thom & Turesson) Stolk & Samson.

Hamigera avellanea (Thom & Turesson) Stolk & Samson, Persoonia 6 (3): 343, 1971

≡ *Penicillium avellaneum* Thom & Turesson, Mycologia 7 (5): 284, 1915.

≡ *Talaromyces avellaneus* (Thom & Turesson) C.R. Benj., Mycologia 47 (5): 682, 1955.

= *Hamigera avellanea* Stolk & Samson, Persoonia 6 (3): 345, 1971 var. *avellanea*

= *Hamigera avellanea* var. *alba* Morinaga, Ikeda & Nomi, J. Jap. Bot. 58 (8): 253, 1983.

Lámina 15

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 35-38 mm diam., lanosas, surcadas, de color amarillento a marrón claro, rosado en sectores con conidióforos; reverso de color marrón oscuro a rojizo. En **MEA**, 25 °C, 7 días, 38-45 mm diam., de color blanco o amarillo pálido en el centro; exudado transparente, el tono rojizo y la abundancia del exudado se incrementan con el aumento del tiempo de incubación. *Ascomas* gimnoteciales globosos, blanquecinos, 120-280 µm diam., rodeados de hifas rojizas con incrustaciones (Lám. 15.E). *Ascos* subglobosos a claviformes, solitarios, 22-18 × 12-14 µm, con 8 esporas. *Ascosporas* hialinas, elipsoidales anchas, de pared gruesa y espinas delicadas, 6,5-8 × 5-7 µm. *Conidióforos* 110-380 × 2,5-5 µm con los ápices ensanchados. *Métulas* 7-9 × 2-4 µm, dispuestas de manera regular o irregular sobre el ápice del conidióforo, en algunos casos subterminales (Lám. 15. J-K), ensanchadas apicalmente. *Células conidiógenas* (*fiálides*) 7-9 × 2-3 µm long. *Conidios* elipsoidales lisos, 3-4 × 2-3 µm.

Materiales examinados: Catamarca, **0416**, 05/01/09, y **3424**, 23/08/11, RN 60 km 1102, 28°55,246'S, 66°08,768'W, 338 msnm; **0525**, 05/01/09, RN 60 km 1146, 28°13,086'S, 66°22,675'W, 1051 msnm; **0824**, 06/01/09, RP 25, 28°15,510'S, 66°08,788'W, 1424 msnm; **5713**, 25/08/11, RN 40 km 4206,3, 27°00,294'S, 66°21,584'W, 2243 msnm.

Secuencias: BenA y CaM para 0416.

Materiales adicionales: EEUU, Texas, San Antonio, *NRRL* 1938 *ex typo*, aislado de suelo.

Citas geográficas: Argentina (Godeas, 1975), EEUU (Stolk & Samson, 1971), España, (Peterson *et al.*, 2010), Tailandia (Piasai *et al.*, 2009), Taiwán (BCRC Colección de Cultivos).

Hábitat: suelo, estiércol (*idem* referencias anteriores).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

La descripción de nuestros aislamientos concuerda en gran parte con la del protocolo (Stolk & Samson, 1971) y con Peterson *et al.* (2010). Sin embargo, en CYA, 25 °C, 7 días, el cultivo *ex tipo* presentó reverso de color rojo intenso, casi púrpura, mientras que el presente aislamiento exhibió reverso rojizo.

En nuestro país el primer y único registro de esta especie hasta el presente fue el realizado por Godeas (1975) en Chascomús, Provincia de Buenos Aires.

Se han llevado a cabo estudios de termorresistencia de esta especie debido a que es frecuentemente encontrada como contaminante de alimentos pasteurizados que contienen azúcar y derivados de frutas (Scaramuzza & Berni, 2014).

Hamigera ingelheimensis (J.F.H. Beyma) S.W Peterson, Mycology 5 (3): 105, 2014

≡ *Penicillium ingelheimense* J.F.H. Beyma, Antonie van Leeuwenhoek 8:109, 1942.

= *Merimbla ingelheimensis* (J.F.H. Beyma) Pitt, in Pitt & Hocking, Can. J. Bot. 57 (21): 2394, 1979.

≡ *Raperia ingelheimensis* (J.F.H. Beyma) Arx, Mycotaxon 26:121, 1986.

Lámina 14

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 54-60 mm diam., velutinosas, planas, aunque con micelio aéreo en el centro sobre los conidióforos, de color marrón claro con bordes amarillentos, sin exudado ni pigmento soluble; reverso de color marrón rojizo oscuro en el centro, más claro y anaranjado en los bordes. Esporulación asexual muy abundante. En **MEA**, 25 °C, 7 días, 58-70 mm diam., similares a las observadas en CYA aunque sin surcos; reverso de color rojizo más intenso que en CYA.

No se observó teleomorfo. *Conidióforos* con estípites lisos 160-350 × 2,5-5 µm, en algunos casos con ápices vesiculados o espatulados de 5-8 µm de ancho. Métulas

anchas $7-11 \times 3-6 \mu\text{m}$. *Células conidiógenas (fiálides)* cilíndricas a ampuliformes $7-8 \times 3 \mu\text{m}$, agrupadas generalmente en grupos de 5 o más por métula. Frecuentemente se observan conidióforos de mayor tamaño que sustentan métulas y fiálides subapicales. *Conidios* lisos, elipsoidales, $3-4 \times 2-3 \mu\text{m}$ diam.

Materiales examinados: Catamarca, **0422**, 05/01/09, RN 60 km 1102, $28^{\circ}55,246'S$, $66^{\circ}08,768'W$, 338 msnm; **0514**, 05/01/09, RN 60 km 1146, $28^{\circ}13,086'S$, $66^{\circ}22,675'W$, 1051 msnm.

Materiales adicionales: Alemania, *NRRL 2110 ex typo*, aislado de aire.

Citas geográficas: Alemania, EEUU, India, Rumania, Suiza (Peterson *et al.*, 2010),

Hábitat: suelo, aire, estiércol (*idem* referencias anteriores).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

La morfología de los aislamientos obtenidos coincide con el protologo (Pitt & Hocking, 1979) y con la descripción de Peterson *et al.* (2010).

Se obtuvieron dos aislamientos en muestras cercanas geográficamente en la campaña de verano.

La presente constituye la primera cita para nuestro país.

Hamigera paravellanea S.W. Peterson, Jurjevic, Bills, Stchigel, Guarro & F.E. Veja
Mycologia 102 (4): 852, 2010

Lámina 16

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 50-70 mm diam., de color tostado a anaranjado pálido (*Light Brownish Olive* a *Isabella*, R. Pl. XXX); reverso pardo rojizo oscuro. En **MEA**, 25 °C, 7 días, 47-67 mm diam., de color claro o anaranjado pálido a tostado; reverso oscuro principalmente en el centro de la colonia.

Ascomas gimnoteciales, globosos, blanquecinos, 120-280 μm diam., rodeados de hifas. Ascos subglobosos a claviformes, solitarios, 15-20 $\times$ 11-12 μm , con 8 esporas. *Ascosporas* hialinas, ampliamente elipsoidales, con pared gruesa y espinas delicadas, 7-7,5 $\times$ 5-6 μm . *Conidióforos* lisos a rugosos en la base, 120-480 $\times$ 3-5 μm con los ápices ensanchados. Métulas ensanchadas apicalmente, 10-15 $\times$ 4-6 μm . *Células conidiógenas* (fiálides) ampuliformes, 8-6 $\times$ 2-3 μm . *Conidios* elipsoidales lisos, 3-4 $\times$ 2-3 μm .

Materiales examinados: Catamarca, **0813**, 06/01/09, **3811** y **3812**, 23/08/11, RP 25, 28°15,510'S, 66°08,788'W, 1424 msnm; **5721**, 25/08/11, RN 40 km 4206,3, 27°00,294'S, 66°21,584'W, 2243 msnm.

Citas geográficas: España, Polonia (Peterson *et al.*, 2010),

Hábitat: (*idem* referencias anteriores).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

Las descripciones de los aislamientos obtenidos en el presente trabajo coinciden con Peterson *et al.* (2010).

La cepa 5721 presentó colonias de color más anaranjado en el centro y bordes irregulares.

Este constituye el primer registro de la especie para nuestro país.

Leiothecium Samson & Mouch., Can. J. Bot. 53(16): 1634, 1975

Especie tipo del género: *Leiothecium ellipsoideum* Samson & Mouchacca.

El género *Leiothecium* fue descrito por Samson & Mouchacca (1975), a partir de un aislamiento de suelos rocosos en Grecia, durante un estudio de micobiota termorresistente. En ese trabajo se describió una única especie, *L. ellipsoideum*.

Leiothecium ellipsoideum Samson & Mouch., Can. J. Bot. 53(16): 1634, 1975

Colonias en **MEA**, 25 °C, 7 días, 82-83 mm diam., oscuras, con micelio blanco superficial en círculos concéntricos; reverso oscuro. A 35 °C, extendiéndose por toda la placa de cultivo antes de 7 días; reverso oscuro debido a la abundancia de ascomas. En **OA**, 25 °C, 7 días, colonias oscuras formadas por una capa continúa de ascomas cleistoteciales, prácticamente sin micelio aéreo. A 35 °C, extendiéndose por toda la placa de cultivo antes de 7 días; el desarrollo en círculos sutil, micelio aéreo menos floco que en MEA.

Hifas vegetativas lisas, hialinas de 3-11 µm diam. *Ascomas* cleistoteciales, globosos, 40-90 µm diam., color marrón muy oscuro, tanto superficiales como semisumergidos en el agar y cubiertos por micelio aéreo blanco donde también se observan ascomas. Los ascomas cleistoteciales poseen una pared persistente de 5-8 µm de grosor, *textura angularis* compuesta por células de color marrón oscuro de 15-25 µm diam. *Ascosporas* globosos a subglobosos, 14-18 × 13-15 µm. *Ascosporas* elipsoidales hialinas de 7-9 × 5,5-7 µm con una ornamentación en placas reticuladas. En ascosporas jóvenes se observa una capa interna blanca que va desapareciendo con la madurez de la ascospora (Lám. 17.H). En MEB se observan, en ascosporas maduras, las placas que conforman la pared que, a su vez contienen un reticulado (Lám. 17.M-N). *Clamidosporas* solitarias, subglobosas a elipsoidales, umbonadas, de 4,5-11 µm diam., lisas, se originan endógenamente y también de modo terminal al madurar (Lám. 17.J-K).

Materiales examinados: Catamarca, **0311**, 05/01/09, **2322**, 02/01/10 y **3321**, 22/08/11 RN 60 km 1016, 29°30,068'S, 65°37,951'W, 237 msnm; **0417**, 05/01/09, RN 60 km 1102, 28°55,246'S, 66°08,768'W, 338 msnm; **0521**, 23/08/11, RN 60 km 1146, 28°13,086'S, 66°22,675'W, 1051 msnm; **2013** y **2021**, 12/01/09, RN 38 km 563, 28°35,088'S, 65°52,451'W, 522 msnm; **5012**, **5013** y **5021**, 23/08/11, RN 38 km 563, 28°35,088'S, 65°52,451'W, 522 msnm; **5121**, 22/08/11, RP 33, 28°42,057'S, 65°46,128'W, 418 msnm; **5311**, 24/08/11, RP 47 km 35,5, 27°26,840'S, 66°24,427'W, 2700 msnm; **5712**, 25/08/11, RN 40 km 4206,3, 27°00,294'S, 66°21,584'W, 2243 msnm.

Citas geográficas: Grecia y Canadá (Samson & Mouchacca, 1975), Colombia (Marín *et al.*, 2011), EEUU, España, Hungría, Portugal y Venezuela (CBS, Catálogo de cultivos).

Hábitat: suelo (*idem* referencias anteriores).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

Nuestros aislamientos coinciden en gran parte con la descripción de Samson & Mouchacca (1975). Sin embargo, nuestras cepas crecieron más rápido en MEA, 35 °C, 7 días, que en lo indicado en la descripción de la especie (70 mm a los 7 días). En cuanto a la micromorfología, no se observaron clamidosporas en cadenas y los ascomas no alcanzaron 125 µm diam. Las ascosporas del tipo en MEB (Guarro *et al.*, 2012) presentan placas con bordes más elevados que los observados en nuestras ascosporas.

Cabe destacar que se pudo observar el desarrollo particular de formación de las clamidosporas no descrito en el protocolo de la especie. Este proceso comienza con el colapso del citoplasma de una célula intercalar quedando éste como una banda citoplasmática en el centro de la célula, posteriormente uno de los extremos cercano al septo comienza a ensancharse hasta adquirir forma globosa o subglobosa con un pequeño umbón que ejerce presión sobre centro del septo coincidiendo con el poro del mismo. Al desintegrarse las paredes celulares de dicha célula la clamidospora queda libre en el extremo de una hifa delgada (Lám 17.K).

L. ellipsoideum fue descrito por Samson & Mouchacca (1975) cuando describieron el género. Marín *et al.* (2011) citaron un aislamiento identificado sólo a nivel genérico a partir de suelo de Colombia. Marín-Felix *et al.* (2014) describieron una nueva especie para el género, denominada, *L. cristatum* Y. Marín, Stchigel & Cano, a partir de suelo del Parque Iguazú en Misiones, Argentina. No se encontraron otras menciones bibliográficas de esta especie.

Nuestros trece aislamientos, identificados por el momento como *L. ellipsoideum*, constituirían la primera cita para Argentina, y fueron hallados en 10 muestras distintas tanto en el muestreo de invierno como en el de verano. Se realizarán estudios con marcadores moleculares de nuestras cepas para analizar si existe una variación intraespecífica o si se trata de especies diferentes, debido a que se observan algunas diferencias entre las cepas argentinas y las ya mencionadas al compararlas con la descripción original de la especie.

Penicillium Link Mag. Gesell. naturf. Freunde, Berlin 3(1-2): 16, 1809: Fr., Syst. mycol. 3: 406, 1832

Especie tipo del género: *Penicillium expansum* Link, 1809.

Visagie *et al.* (2014) describen detalladamente la historia del género y los numerosos cambios ocurridos desde su descripción original por Link in 1809. Peterson (2000) demostró que *Penicillium* es polifilético y, por lo tanto, la clasificación basada en la ramificación de los conidióforos no es congruente con la filogenia. Houbraken & Samson (2011) redefinieron el género *Penicillium* y crearon un género monofilético (*Penicillium sensu stricto*) con anamorfos y teleomorfos, dentro de la Fam. *Aspergillaceae*, y lo dividieron en dos subgéneros (*Aspergilloides* y *Penicillium*) y 25 secciones. Otras especies, antes pertenecientes a *Penicillium*, actualmente se ubican en el género *Talaromyces* C.R. Benj., y se discutirá en dicho género.

En el presente trabajo se obtuvieron ocho aislamientos de *Penicillium*. Se identificaron dos cepas pertenecientes a dos secciones diferentes del subg. *Aspergilloides*.

Penicillium subg. *Aspergilloides* (sect. *Ramigera*)

Penicillium capsulatum Raper & Fennell, Mycologia 40(5): 528, 1948

Lámina 18

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 12-15 mm diam., más o menos elevadas respecto del sustrato, surcadas; textura superficial tenuemente fasciculada; micelio blanco; conidiogénesis densa, color verde grisáceo a verde opaco; exudado ausente; pigmento soluble ausente y reverso pálido amarillento. A 37 °C, 7 días, 18-21 mm diam.; textura superficial funiculosa; micelio blanco; exudado ausente; pigmento soluble ausente y reverso de color pálido a castaño claro. A 5 °C germinación ausente. Colonias en **MEA**, 25 °C, 7 días, 14-18 mm diam., prácticamente no elevadas en relación con el sustrato, planas; textura superficial velutinosa; micelio blanco; conidiogénesis densa pero menor que en CYA, de idéntico color que en CYA; exudado ausente; pigmento soluble ausente y reverso pálido amarillento. Colonias en **G25N**, 25 °C, 7 días, 6 mm diam., surcadas; textura superficial velutinosa a flocosa; micelio blanco; conidios en masa de idéntico

color que en CYA; exudado ausente; pigmento soluble ausente y reverso pálido amarillento.

Teleomorfo ausente. *Conidióforos* que se originan desde la superficie del sustrato o desde el micelio superficial, pies de los conidióforos 10-40 μm long., algo sinuosos, con paredes lisas, monoverticilados, mayoritariamente no vesiculados, aunque en algunos casos con vesículas de hasta 4 μm diam. (Lám 18.F). *Células conidiógenas (fiálides)* 5-8, ampuliformes a acerosas, $6 \times 2 \mu\text{m}$, con cuellitos cortos. *Conidios* elipsoidales a cilíndricos $3\text{-}3,5 \times 2 \mu\text{m}$ con paredes lisas.

Material examinado: Catamarca, **5125** (BAFCcult1627), 22/08/11, RP 33, $28^{\circ} 42,057'S$, $65^{\circ} 46,128'W$, 418 msnm.

Citas geográficas: Islas Gilbert, Panamá (Raper & Fennell, 1948); China (Chen *et al.*, 2013).

Hábitat: Instrumento óptico, telas y equipamiento militar deteriorado (Raper & Fennell, 1948), pulpa de remolacha contaminada (Puls & Coughlan, 1996).

Patogenicidad: patógeno humano, tracto respiratorio de paciente diabético (Chen *et al.*, 2013).

Observaciones:

La descripción del presente aislamiento coincide generalmente con la descripción original y con la de Pitt (1979). Al igual que lo informado por este último autor, se observaron conidióforos vesiculados y fiálides un poco más largas (8 μm long.). Pitt (1979) describe las colonias en CYA 25 °C como deprimidas en el centro, en cambio las estudiadas en este trabajo son elevadas y fasciculadas centralmente.

La presente constituye la primera cita para nuestro país.

Penicillium subg. *Aspergilloides* (sect. *Citrina*)

Penicillium citrinum Thom, U.S.D.A. Bur. Animal Industr. Bull. 118: 61. 1910

Descripción e ilustración: Pitt, 1979.

Materiales examinados: Catamarca, **1617**, 10/01/09, Corral Quemado a Papachacra, 27°07,545'S, 66°56,598'W, 2152 msnm.

Citas geográficas: Argentina (Bonera *et al.*, 1982), Australia, Brasil, Chile, China, Costa de Marfil, Egipto, Escocia, India, Israel, Japón, Nepal, Paquistán, Perú, Polinesia, Polonia, Siria, Somalia, Sudáfrica, Suecia, Sri Lanka, Tahití, Turquía, ex Unión Soviética (Domsch *et al.*, 2007).

Hábitat: suelo, vegetación en descomposición, textiles y otros materiales en degradación y una gran variedad de alimentos como cereales, carnes curadas y fermentadas, uvas y pasas de uva, quesos, agua mineral embotellada, granos de cacao y de café, etc. (Domsch *et al.*, 2007).

Patogenicidad: es el principal productor de citrinina, una micotoxina de toxicidad moderada (Pitt & Hocking, 2009).

Observaciones:

La descripción de nuestro aislamiento coincide con la descripción de Pitt (1979).

En nuestro país ha sido aislado en numerosas ocasiones, generalmente a partir de alimentos, tales como semillas de amaranto (Bresler *et al.*, 1991, 1995), alimento balanceado para aves (Magnoli *et al.*, 1998), pasas de uva (Romero *et al.*, 2005), entre otros.

Trichocomaceae

Talaromyces C.R. Benj., Mycologia 47 (5): 681, 1955

Especie tipo del género: *Talaromyces flavus* (Klöcker) Stolk & Samson, 1972.

Benjamin (1955) introdujo el género *Talaromyces* para especies de *Penicillium* con estados teleomórficos. Otros autores propusieron géneros adicionales, *Hamigera*, *Rasamsonia* Houbraken & Frisvad, *Thermomyces* Tsikl. y *Warcupiella* Subram. (Stolk & Samson, 1971; Houbraken *et al.*, 2012 y 2014).

Houbraken & Samson (2011) demostraron que *Penicillium* subg. *Biverticillium* y especies de *Talaromyces* forman un clado monofilético. Samson *et al.* (2011) recombinaron a todas las especies aceptadas de *Penicillium* subg. *Biverticillium* en *Talaromyces* de acuerdo con las nuevas normas nomenclaturales (McNeill *et al.*, 2012). Yilmaz *et al.* (2014) realizaron una monografía del género, aplicando el concepto polifásico de especie y propusieron una nueva clasificación, ubicando a las 88 especies aceptadas en siete secciones distintas.

Se obtuvieron 18 aislamientos pertenecientes a este género, de los cuales se identificaron cinco taxones (ubicados en dos secciones) a partir de nueve cepas estudiadas.

Talaromyces sect. *Talaromyces*

Talaromyces macrosporus (Stolk & Samson) Frisvad, Samson & Stolk, Antonie van Leeuwenhoek 57: 186, 1990

≡ *Talaromyces flavus* var. *macrosporus* Stolk & Samson, Stud. Mycol. 2: 15, 1972.

= *Penicillium macrosporum* Frisvad *et al.*, Antonie van Leeuwenhoek 57: 186, 1990.

Descripción e ilustración: Stolk & Samson, 1972.

Materiales examinados: Catamarca, **5123**, 22/08/11, RP 33, 28°42,057'S, 65°46,128'W, 418 msnm.

Citas geográficas: Corea, Estados Unidos, Ghana, Holanda, Japón, Malasia, Nueva Guinea, Panamá, Polonia, Sudáfrica (CBS, Catálogo de Cultivos; Stolk & Samson, 1972).

Hábitat: suelo, conservas de manzanas (Stolk & Samson, 1972).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

Nuestro material coincide con la descripción de Stolk & Samson (1972). Estos autores reconocieron dos variedades: *T. flavus* var. *flavus* y *T. flavus* var. *macrosporus*. Esta última posee ascosporas de mayor tamaño, pero comparten el resto de las características morfológicas. Frisvad *et al.* (1990) las elevó al rango de especie basándose en las diferencias de tamaño de las ascosporas, resistencia térmica de las mismas y producción de metabolitos secundarios. Beuchat (1988) comparó aislamientos de *T. flavus* y encontró que las cepas de ascosporas pequeñas eran menos termorresistentes que las de ascosporas grandes. Entre las cepas de ascosporas grandes él incluyó al cultivo tipo de la entidad que luego se denominaría *T. flavus* var. *macrosporus*.

En la Argentina hay registros de la presencia en suelo de *T. flavus* var. *flavus* (Bertoni 1973; Eliades *et al.*, 2006a y b; Magnoli *et al.*, 1998) o *T. flavus* sin aclarar variedad. Frisón *et al.* (2012) aislaron *T. macrosporus* a partir de frutillas recién cosechadas, tratadas a 80 °C por 15 min.

Talaromyces pinophilus (Hedgc.) Samson, Yilmaz, Frisvad & Seifert, Stud. Mycol. 70: 176, 2011

≡ *Penicillium pinophilum* Hedgc., U.S.D.A. Bur. Animal Industr. Bull. 118: 37, 1910.

= *Penicillium korosum* Rai, Wadhani & Tewari, Antonie van Leeuwenhoek 35: 430, 1969.

Descripción e ilustración: Pitt (1979).

Materiales examinados: Catamarca, **1616**, 10/01/09, Corral Quemado a Papachacra, 27°07,545'S, 66°56,598'W, 2152 msnm.

Citas geográficas: Australia, EEUU, Francia, India, Papua Nueva Guinea (Pitt, 1979), Argentina (Magnoli *et al.*, 1998), Uruguay (Galvalisi *et al.*, 2012).

Hábitat: suelo, vegetación en descomposición, materiales deteriorados, granos de cebada, embutidos fermentados secos, alimento balanceado para aves (*idem* referencias anteriores).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

No se encontraron diferencias con la descripción de Pitt (1979).

Esta especie ha sido aislada previamente en nuestro país, como *Penicillium pinophilum*, a partir de muestras de maíz y alimento balanceado para aves (Magnoli *et al.*, 1998; Etcheverry *et al.*, 1999; Nesci *et al.*, 2006) y de suelos semiáridos de San Luis (Mangiaterra *et al.*, 2006).

Talaromyces sect. *Trachyspermi*

Talaromyces systylus S. M. Romero, V. A. Barrera, A. I. Romero & Comerio, **sp. nov.**

Holypus: Argentina, Catamarca, 5421a (Cultivo seco BAFC 52367, culture ex type BAFCcult 3419), 24/08/11, RP 47 km 43,5, 27°24,147'S, 66°24,149'W, 3056 msnm.

MycoBank MB 812381

Láminas 19 y 20

Ab affinibus biverticillatis symmetricis penicillatis cum synnematibus aut grossis funiculis speciebus praeclare distinguitur conidiis globosis manifeste rugosis et evidentibus conidiorum columnis.

Etimología: *Syn* (συν, prefijo), con + *Stylos* (στυλος, sustantivo masculino), pilar, column = sy + *stylus* = *systylus*. Hace referencia a las columnas de conidios.

Colonias en **CYA**, 25 °C, 7 días, 14–18 mm diam., blancas a color rosa pálido (*Cartridge Buff*, R. Pl. XXX), coriáceas, haces de micelio semejantes a sinemas en el centro de las colonias y sinemas inmaduros en la periferia, esporulación muy pobre o ausente, exudado ausente; reverso castaño pálido (*Cream-Buff*, R. PL. XXX); pigmento soluble ausente. A 5 °C, 7 días, desarrollo ausente. A 37 °C, 7 días, 16-19 mm diam., convexas, compuestas de sinemas inmaduros en áreas centrales y haces blancos de micelio semejantes a sinemas en la periferia, esporulación ausente, exudado ausente; reverso castaño pálido. En **MEA**, 25 °C, 7 días, 18-21 mm diam., de color crema a marrón pálido, con textura coriácea, ligeramente húmedas; reverso castaño pálido a tostado (*Clay Color*, R. Pl. XXIX); esporulación ausente; presencia abundante de cristales bipiramidales cuadrados elongados en el agar; 14 días, azulado a verde grisáceo (*Gnaphalium Green* o *Celandine Green*, a *Artemisia Green*, R. Pl. XLVII), buena esporulación. En **OA**, 25 °C, 7 días, plana, esporulación escasa pero densa en el área de inoculación, conidios en masa de color verde oscuro (*Dull Greenish Black*, R. Pl. XLVII); reverso verde amarillento claro (*Pale Chalcedony Yellow*, R. Pl. XVII); 14 días de incubación, presencia en las áreas periféricas de estructuras globulares blancas semejantes a ascomas inmaduros, pero sin ascos ni ascosporas; cristales presentes al igual que en MEA, pero no tan fácilmente observables. En **CZ**, 25 °C, 7 días, 21-23 mm diam., blancas, con haces de micelio semejantes a sinemas en el centro de las colonias, sin sinemas en la periferia, esporulación ausente, exudado ausente; reverso marrón amarillento pálido (*Chamois to Honey Yellow*, R. Pl. XXX); 14 días de incubación, 31-34 mm diam., con esporulación escasa, anverso de color gris pálido en el punto de inoculación (*Pearl Gray*, R. Pl. LII) rodeada por tres anillos periféricos de micelio en tonos anaranjados: castaño anaranjado (*Antique Brown to Amber Brown*, R. Pl. III), anaranjado amarillento (*Pale Orange-Yellow to Orange-Buff*, R. PL. III) y color terracota (*Mars Orange to Burnt Sienna*, R. Pl. II); un halo transparente sutil rodea completamente a las colonias; reverso del mismo color. Sectores de micelio inconspicuo usualmente presentes. En **BMEA**, 25 °C, 7 días, 21–25 mm diam., blancas, verde azulado pálido en el centro (*Pale Blue Green to Pale Turquoise Green*, R. Pl. VII) a causa de la esporulación, planas y poco elevadas, sinemas en el centro pero no en los márgenes de las colonias, exudado y pigmento soluble ausentes; reverso pálido a amarillento (*Ivory Yellow to Colonial Buff*, R. Pl. XXX). No se desarrolló a 10 °C ni a 45 °C. A 30 °C se observó la mayor velocidad de crecimiento. En **G25N**, 25 °C, 7 días, germinación de conidios pero sin crecimiento lineal. La germinación observa principalmente en aquellos

conidios agregados en grupos y está prácticamente ausente en conidios aislados. En **YES**, 25 °C, 7 días, 9-12 mm diam., convexas, amarillo pálidas (*Cream-Buff*, R. Pl. XXX), compuestas de sinemas inmaduros en áreas centrales y haces de micelio semejantes a sinemas en los márgenes; reverso anaranjado pálido (*Chamois*, R. Pl. XXX). En **CREA**, 25 °C, 7 días, desarrollo ausente o débil alcanzando 11 mm diam., sin esporulación; buena producción de ácido sin producción posterior de base. La primera semana de cultivo desprende aroma a levaduras en MEA, OA, CYA, CZ, BMEA and YES.

Teleomorfo ausente. Micelio crémeo en MEA, inconspicuo en OA. *Sinemas* en MEA indeterminados paralelos, subulados, 1200-3000 (-4000) μm long, conidios mayoritariamente en los $\frac{2}{3}$ más basales. *Conidióforos* penicilados en MEA originados a partir de sinemas, aunque también escasamente originados desde funículos; en OA se originan desde funículos postrados, sinemas ausentes; mayoritariamente adpresos simétricos y biverticilados, aunque a veces con algunas ramas adicionales. Estípites con paredes lisas $25-60 \times 2,5-3 \mu\text{m}$. *Métulas* en grupos de tres o cinco, adpresas, lisas, $10-11 \times 2,5-3 \mu\text{m}$. *Células conidiógenas (fiálides)* en grupos de tres o cinco, acerosas o estrechamente ampuliformes, $10-12 \times 2,5-3 \mu\text{m}$, con cuellos $2-3 \mu\text{m}$ long. más o menos visible a bajos aumentos. *Conidios* maduros globosos, verdes, $3,5-4 \mu\text{m}$ diám., con paredes gruesas, ornamentadas con espinas obtusas; espinas a menudo combinadas para formar crestas; cadenas de conidios estrechamente asociadas para formar columnas de $120-180 \times 30-50 \mu\text{m}$.

Materiales examinados: Catamarca, **5421a** (BAFC 52367, cultivo *ex type* BAFCcult 3419), 24/08/11, RP 47 km 43,5, 27°24,147'S, 66°24,149'W, 3056 msnm (holotipo).

Citas geográficas: -.

Hábitat: suelo.

Patogenicidad: -.

Observaciones:

El presente aislamiento constituye un caso especial dentro del género porque combina la producción de sinemas indeterminados y conidios globosos muy rugosos. Con respecto de la forma del conidióforo y de los conidios resulta similar a *T. aculeatus* (Raper

& Fennell) Samson, Yilmaz, Frisvad & Seifert, *T. apiculatus* Samson, Yilmaz & Frisvad, *T. diversus* (Raper & Fennell) Samson, Yilmaz & Frisvad, *T. solicola* Visagie & K. Jacobs y *T. verruculosus* (Peyronel) Samson, Yilmaz, Frisvad & Seifert (Samson *et al.*, 2011; Visagie *et al.*, 2009; Visagie & Jacobs, 2012 y Yilmaz *et al.*, 2014). Por otro lado, la producción de sinemas sugiere una conexión con *T. allahabadensis* (B.S. Mehrotra & D. Kumar) Samson, Yilmaz & Frisvad y *T. duclauxii* (Delacr.) Samson, Yilmaz, Frisvad & Seifert. La presencia de sinemas indeterminados y columnas de conidios indicaría también una relación con *T. palmae* (Samson, Stolk & Frisvad) Samson, Yilmaz, Frisvad & Seifert. La textura de la colonia de *T. systylus* se asemeja a la de *T. funiculosus* (Thom) Samson, Yilmaz, Frisvad & Seifert (Fig. 39 B de Yilmaz *et al.*, 2014), el que tiene como característica distintiva la producción de colonias fuertemente funiculosas.

La Tabla 4 presenta algunas de las características evidenciadas por *Talaromyces* productores de sinemas; en la Tabla 5 se describen algunas de las características de *Talaromyces* spp. no productores de sinemas y con conidios rugosos.

Con relación a las colonias en MEA de nuestro aislamiento, después de dos semanas de incubación, además de los sinemas, bajo el microscopio estereoscópico se observaron funículos delicados que se conectaban de un sinema a otro (Lám. 19.G). La presencia de estructuras globulares blancas semejantes a ascomas en sus primeros estadios (Lám 19.E) podría reforzar la conexión con el estado sexual.

Desde el punto de vista filogenético, nuestro aislamiento representa una nueva especie debido a que se encontraron diferencias con otras especies relacionadas de *Talaromyces* basándose en las secuencias de *ITS*, *BenA* y *CaM*. Los árboles obtenidos a partir de los análisis de MP y *NJ* no mostraron diferencias con los clados de *Talaromyces* obtenidos en Yilmaz *et al.* (2014). En el presente trabajo se compararon las secuencias de nuestro aislamiento y 29 secuencias de todas las especies tipo relacionadas y aceptadas en Yilmaz *et al.* (2014). El conjunto de datos de *ITS* incluyó 31 taxones y 574 caracteres; para *BenA*, 31 taxones y 503 caracteres y para *CaM*, 29 taxones y 537 caracteres. En MP de *ITS*, 155 caracteres resultaron informativos, se obtuvieron 17 árboles, con un largo de 917 pasos con *CI* = 29, *RI* = 23. En el análisis de *BenA*, 238 caracteres resultaron informativos, se obtuvieron 6 árboles, con un largo de 1618 pasos con *CI* = 30, y *RI* = 30. En el análisis de MP de *CaM* 297 caracteres resultaron informativos, se obtuvieron 4 árboles, con un largo de 2394 pasos con *CI* = 27 y *RI* = 29.

Tabla 4: Características morfológicas de especies de *Talaromyces* que producen sinemas

Especies	Pies de los conidióforos	Fialides	Forma de los conidios	Ornamentación de los conidios	Organización de las cadenas de conidios
<i>T. allahabadensis</i> ^a	lisos	acerosas ^c	elipsoidales a fusiformes	lisos, ocasionalmente finamente rugosos	en columnas sueltas desordenadas ^c
<i>T. calidicanus</i>	finamente rugosos ^d	ampuliformes a acerosas	elipsoidales, fusiformes cortos, ovoides o subglobosos	espiralado-estriados (transversalmente)	largas desordenadas
<i>T. cecidicola</i>	lisos	acerosas o estrechamente ampuliformes	elipsoidales	lisos o ligeramente rugosos	desordenadas ^b
<i>T. chloroloma</i>	lisos	acerosas	elipsoidales	lisos	desordenadas
<i>T. coalescens</i>	lisos, rara vez rugosos ^d	acerosas	comúnmente elipsoidales pero también subesferoidales	lisos	agregadas en columnas compactas, a veces retorcidas
<i>T. dendriticus</i>	lisos	acerosas	elipsoidales	lisos	ordenadas en largas columnas
<i>T. duclauxii</i>	lisos a finamente rugosos ^d	acerosas	elipsoidales a apiculados	lisos a finamente rugosos	desordenadas
<i>T. flavovirens</i>	lisos	cilindroides	ovoide-elipsoidales	ligeramente verrucosos	-
<i>T. palmae</i>	lisos	acerosas	elipsoidales	lisos	largas, columnares
<i>T. panamensis</i>	lisos	acerosas	elipsoidales	lisos	-
<i>T. pittii</i>	lisos	acerosas	subesféricos a elipsoidales	lisos	cadenas enredadas
<i>T. pseudostromaticus</i>	lisos	acerosas	elipsoidales	lisos	desordenadas
<i>T. ramulosus</i>	lisos	acerosas	subesferoidales a elipsoidales	lisos	estrechamente agrupadas
<i>T. systylus</i>	lisos	acerosas o estrechamente ampuliformes	globosos	rugosos, espinas combinadas formando crestas	ordenadas en columnas

^a Descrito como fuertemente funiculoso y con producción de sinemas después de un prolongado período de incubación (Van Reenen-Hoekstra *et al.* 1990).

^b No se describen explícitamente, conjeturable a partir del protologo.

^c Según la ilustración de Van Reenen-Hoekstra *et al.* (1990).

^d Lisos de acuerdo a Yilmaz *et al.* (2014).

(-): información no encontrada.

En el análisis de los tres genes concatenados *ITS* + *BenA* + *CaM*, se utilizaron 1614 caracteres de los cuales 689 resultaron informativos, produciendo cuatro árboles parsimoniosos (4934 pasos; *CI* = 28; *RI* = 28). Secuencias de *Trichocoma paradoxa* se utilizaron como *outgroup* para los análisis (Yilmaz *et al.*, 2014). Los árboles de consenso estricto de MP basados en *ITS*, *BenA* and *CaM*, separados y combinados, también con los valores de *bs* de *NJ* (Figuras 11 a 14).

La posición de la secuencia de nuestra cepa fue la misma para ambos análisis (MP y *NJ*), para los tres marcadores (*ITS*, *BenA*, *CaM*), separados o combinados; siempre se agrupó dentro de la sect. *Trachyspermi* según Yilmaz *et al.* (2014). En el árbol de MP de *ITS*, *T. systylus* (GenBank KP026917) se agrupó en el mismo clado (MP = 63 *bs*; *NJ* = 55 *bs*) formado por *T. assiutensis* JN899323 y *T. trachyspermus* JN899354. En el árbol de MP de *BenA*, *T. trachyspermus* KF114803 se agrupó en el mismo clado (MP = 86 *bs*; *NJ* = 67 *bs*) formado por *T. systylus* KR233838 y *T. assiutensis* KJ865720. En los análisis filogenéticos de *CaM*, las tres especies agruparon juntas en una politomía (MP = 96 *bs*; *NJ* = 99 *bs*). En el árbol de MP con los marcadores concatenados, los clados son idénticos al árbol de *ITS* pero con mayores valores de *bs* = 100 en el clado correspondiente a *T. systylus*, *T. trachyspermus* and *T. assiutensis*. Sin embargo, el largo de las ramas es diferente (38 para *T. systylus* vs 21 para el par compuesto por *T. assiutensis* y *T. trachyspermus*).

El presente análisis filogenético no sólo sustenta a *T. systylus*, sino que lo ubica cercano a los miembros de la sect. *Trachyspermi* (definida por Yilmaz *et al.*, 2014). *T. systylus* comparte las características principales de esta sección, como el lento crecimiento de CYA y YES, y más rápido en MEA, crecimiento pobre en CREA, y la producción de pigmento anaranjado intenso.

Además, dentro de la sect. *Trachyspermi* la nueva especie se separa de otros miembros por sus conidios globosos groseramente rugosos y dispuestos en columnas. En todo el análisis filogenético realizado en el presente estudio, *T. systylus* siempre aparece asociado en el mismo clado con *T. trachyspermus* (Shear) Stolk & Samson y *T. assiutensis* Samson & Abdel-Fattah, pero en el análisis de la longitud de las ramas en el árbol de la matriz combinada con los tres marcadores, se pueden apreciar 38 cambios que separan *T. systylus* de las otras dos especies. Desde el punto de vista morfológico, *T. trachyspermus* y *T. assiutensis* tienen fiálides acerosas, conidios lisos ovoides a elipsoidales en cadenas desordenadas; estas características son diferentes a las de *T. systylus* (Tabla 5). Además,

T. systylus produce ácido en el CREA y *T. trachyspermus* y *T. assiutensis* no. Estas dos especies desarrollan ascomas, no se conoce un teleomorfo de nuestro aislamiento.

Desde el punto de vista práctico, vale la pena señalar que sólo el MEA Oxoid favoreció el buen desarrollo de sinemas en 7 días y su esporulación en dos semanas. Este hecho sugiere dicho medio de cultivo sería útil para comprobar la producción de sinemas en especies de *Talaromyces*. Además, CZ resultó el medio más útil para la expresión de pigmentos.

Por todas las características mencionadas se propone a esta cepa como una especie nueva.

Tabla 5: Características morfológicas de especies de *Talaromyces*, cercanas a *T. systylus*, que no producen sinemas

Especies	Pies de los conidióforos	Fiálides	Forma de los conidios	Ornamentación de los conidios	Organización de las cadenas de conidios
<i>T. aculeatus</i>	lisos	ampuliforme -acerosas	mayormente esferoidales	muy verrucosos a espinosos	desordenadas
<i>T. apiculatus</i>	lisos	con forma de matraz	globosos y apiculados en menor proporción	equinulados	-
<i>T. diversus</i>	lisos o casi lisos	acerosas	elipsoidales a subglobosos	lisos a delicadamente rugosos	cadenas paralelas, laxas
<i>T. solicola</i>	lisos	acerosas	subesferoidales	verrucosos, rugosos	desordenadas
<i>T. verruculosus</i>	lisos	ampuliforme -acerosas	esferoidales, subesferoidales	notoriamente verrucosos	desordenadas

(-): información no encontrada.

Talaromyces trachyspermus (Shear) Stolk & Samson, Stud. Mycol. 2: 32, 1972, var. ***trachyspermus***

≡ *Arachniotus trachyspermus* Shear, Science, N.Y. 16: 138, 1902.

= *Penicillium spiculisporum* Leman, Mycologia 12: 268, 1920.

Descripción e ilustración: Stolk & Samson, 1972.

Materiales examinados: Catamarca, **1211** y **1212**, 09/01/09, RP 46, 27°35,217'S, 66°22,183'W, 996 msnm; **3613**, 24/08/11, RP 46, 28°46,365'S, 66°09,940'W, 1317 msnm; **4613**, 25/08/11, 27°07,545'S, 66°56,598'W, 2152 msnm; **5321**, 24/08/11, RP 47 km 35,5, 27°26,840'S, 66°24,427'W, 2700 msnm.

Secuencias: BenA y ACT para 1211 y 1212.

Citas geográficas: Alemania, Argentina, Estados Unidos, India, Japón, Nepal, Pakistán, Reino Unido, República Popular de Bangladés, Sudáfrica, Tahiti, Uganda (Domsch *et al.*, 2007).

Hábitat: suelo, estiércol, viñedos, granos, frutos (Domsch *et al.*, 2007).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

La descripción de los aislamientos coincide con la descripción original. Pitt (1979) considero consideró a *T. trachyspermus* var. *macrocarpus* J.E. Wright & Loewenb. sinónimo de la presente especie; sinonimia que no se comparte y que se explica en el taxón correspondiente.

Se obtuvieron cinco aislamientos a partir de las dos estaciones muestreadas.

En Argentina fue aislado a partir de suelos de Provincia de Buenos Aires (Wright *et al.*, 1971; Godeas, 1975).

***Talaromyces trachyspermus* var. *macrocarpus* J.E. Wright & Loewenb.**

Descripción e ilustración: Bertoni *et al.*, 1973.

Materiales examinados: Catamarca, **132**, 09/01/09, RP 46 km 185, 27°45,202'S, 66°47,989'W, 1069 msnm.

Secuencias: BenA y ACT.

Citas geográficas: Argentina (Bertoni *et al.*, 1973).

Hábitat: suelo (Bertoni *et al.*, 1973).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

La descripción de nuestro aislamiento coincide con la descripción de Bertoni *et al.* (1973). Pitt (1979) consideró a este taxón como un sinónimo *T. trachyspermus*, sin embargo, la variedad argentina posee cleistotecios de mayor tamaño (500-1500 μm vs 50-350 μm) y también ascosporas ligeramente mayores. Pitt (1979) desestimó esta diferencia y no justificó la propuesta de la variedad; sin embargo, no realizó el estudio del tipo.

Hasta estudiar el tipo y mayor número de cepas, secuenciando algunos marcadores, se prefiere mantener la propuesta de este taxón como una variedad.

PLEOSPORALES

Pleosporaceae

Epicoccum Link, Mag. Gesell. naturf. Freunde, Berlin 7: 32, 1816

Especie tipo del género: *Epicoccum nigrum* Link, 1816.

Epicoccum nigrum Link, Mag. Gesell. naturf. Freunde, Berlin 7: 32, 1816

Numerosos sinónimos, ver en Schol-Schawrz, 1959.

Descripción e ilustraciones: Ellis, 1971; Domsch *et al.*, 2007.

Materiales examinados: Catamarca, **1712**, 10/01/09, Papachacra 2564 msnm.

Citas geográficas: Australia, Canadá, Egipto, Estados Unidos, Holanda, India, Japón, Nepal, Nueva Zelanda, Pakistán, Reino Unido, Somalia, Sudáfrica, entre otros (Domsch *et al.*, 2007).

Hábitat: suelo, granos, cereales, frutos, entre otros (Domsch *et al.*, 2007).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

La descripción del presente aislamiento coincide con las descripciones de Ellis (1971) y Domsch *et al.* (2007).

Se obtuvo una única cepa en el muestreo de verano.

En Argentina se encuentran numerosos registros de esta especie, como por ejemplo fue aislada de suelo de Jujuy (Giusiano *et al.*, 2002), en trigo y soja de Entre Ríos (Broggi *et al.*, 2007), suelo y hojarasca de la Provincia de Buenos Aires (Allegruchi *et al.*, 2005, 2007), de frutos de alpataco (Canafoglia *et al.*, 2007), entre otros.

SORDARIALES

Chaetomiaceae

Trichocladium Harz, Bull. Soc. Imp. nat. Moscou 44 (1): 125, 1871

Especie tipo del género: *Trichocladium asperum* (Corda) Harz, 1871.

Trichocladium pyriforme M. Dixon, Trans. Br. Mycol. Soc. 51 (1): 160, 1968

Lámina 18

Colonias en **MEA**, a 25 °C, 7 días, 36-40 mm, de color verde grisáceo a oliva, reverso muy oscuro; extendiéndose por toda la placa de cultivo a los 21 días de incubación.

Clamidosporas (conidios holotáticos) terminales, lisas, piriformes 16-19 × 6-7,5 µm, formadas frecuentemente por tres células, pero en algunos casos por cuatro, célula distal de color marrón oscuro, ápice más agudo y poro germinativo. El micelio se oscurece con a medida que envejece el cultivo, 2-5 µm de ancho.

Materiales examinados: Catamarca, **021**, 05/01/09, RN 60 km 934, 29°33,581'S, 64°52,937'W, 186 msnm; **5611**, 25/08/11, RN 40 km 4243,5, 26°51,378'S, 66°05,859'W, 2031 msnm.

Citas geográficas: Irlanda (Dixon, 1968), Republica Checa (Mantle *et al.*, 2006).

Hábitat: suelo (Dixon, 1968; Goh & Hyde, 1999).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

La descripción de nuestro aislamiento coincide plenamente con la de Dixon (1968) y con la de Goh & Hyde (1999).

Domsch *et al.*, (2007) señalan una notable resistencia térmica por parte de esta especie, los cultivos toleraron hasta 95 °C durante 10 min (Dixon, 1968). Bollen (1969) encontró que solamente fue aislado en tratamientos con temperaturas mayores a 55 °C.

La presente constituye la primera cita para Argentina.

Lasiosphaeriaceae

Arthrinium Kunze, in Kunze & Schmidt, Mykologische Hefte (Leipzig) 1: 9, 1817

Especie tipo del género: *Arthrinium caricicola* Kunze & J.C. Schmidt, 1817.

Arthrinium phaeospermum (Corda) M.B. Ellis, Mycol. Pap. 103: 8, 1965

≡ *Gymnosporium phaeospermum* Corda 1837.

Numerosos sinónimos, ver en Ellis, 1965.

Descripción e ilustraciones: Ellis, 1971; Domsch *et al.*, 2007, Crous & Groenewald, 2013.

Materiales examinados: Catamarca, **4121**, 24/08/11, RP 46 km 70, 28°05,578'S, 66°12,913'W, 859 msnm; **4222**, 24/08/11, RP 46, 27°35,217'S, 66°22,183'W, 996 msnm.

Citas geográficas: Argentina (Broggi *et al.*, 2007), Alemania, Australia, Estados Unidos, Francia, Holanda, Italia, Nueva Zelanda, Polonia, Reino Unido, República Popular de Bangladés (Domsch *et al.*, 2007), Irán, Japón (Crous & Groenewald, 2013).

Hábitat: suelo, estiércol, cereales y materiales vegetales en general (Domsch *et al.*, 2007).

Patogenicidad: Ha sido citado como productor de infecciones cutáneas en humanos (De Hoog. *et al.*, 2000).

Observaciones:

La descripción de estos aislamientos coincide con la descripción de Domsch *et al.* (2007). Los mismos fueron obtenidos solamente a partir de muestras de la campaña de invierno.

En Argentina, esta especie ha sido aislada previamente de suelos de la región interserrana en la Pcia. De Buenos Aires (Cabello, 1986) y de cereales de Entre Ríos (Broggi *et al.*, 2007; Sacchi *et al.*, 2009).

POSICION INCIERTA

Gilmaniella G.L. Barron, Mycologia 56 (4): 514, 1964

Especie tipo del género: *Gilmaniella humicola* G.L. Barron, 1964.

Gilmaniella humicola G.L. Barron, Mycologia 56 (4): 514, 1964

Lámina 18

Descripción e ilustraciones: Barron, 1964.

Materiales examinados: Catamarca, **3622**, 24/08/11, RP 46, 28°46,365'S, 66°09,940'W, 1317 msnm, **3813** y **3821**, 23/08/11, RP 25, 28°15,510'S, 66°08,788'W, 1424 msnm.

Citas geográficas: Canadá, Egipto, India, Islas Salomón, Japón, Namibia (Domsch *et al.*, 2007).

Hábitat: suelo, estiércol, maní, papas, tomates (Domsch *et al.*, 2007).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

La descripción de estos aislamientos concuerda con la descripción de Barron (1964).

Gilmaniella humicola es una especie termorresistente (Domsch *et al.*, 2007), y resultó la más resistente encontrada por Bollen (1969), 90 °C por 30 minutos.

Fueron aisladas tres cepas a partir de dos muestras, ambas del muestreo de invierno.

En Argentina fue aislada a partir de suelos de bosques de coihue (*Nothofagus dombeyi*) en la Provincia de Río Negro (Godeas, 1977).

Análisis cualitativo de datos

A continuación, se presentan los resultados respecto de la presencia estacional de las especies identificadas. Así mismo se informa la cantidad de muestras a partir de la cual cada especie fue aislada (Tabla 6). En este análisis no se consideraron las dos muestras tomadas en el verano de 2010. Por ejemplo, *T. saturnisporum* se aisló de 3 muestras en verano, en cambio no se aisló durante la campaña de invierno. Como se ve en la Tabla 6 la riqueza de verano y de invierno es de 56 y 45, respectivamente.

En la Tabla 7 se presentan los índices de riqueza en base a los datos de presencia/ausencia de cada especie por sitio geográfico. Cabe destacar que en los sitios de las muestras 10 y 17 sólo fueron tomadas en la campaña de verano, por otro lado, en los sitios de las muestras 52 a 63 solamente fueron coleccionadas en invierno. Los sitios 04/34, 05/35 y el 21/51 son los que registraron mayor riqueza.

Tabla 6: Lista de especies por cantidad de muestras en las que se aislaron en cada estación. En la tercera columna se agrega el número total de veces que fue aislada cada especie.

Especies	N° de muestras*		N° total de cepas
	verano	invierno	
<i>Arthrimum phaeospermum</i>	0	2	2
<i>Aspergillus australensis</i>	1	0	1
<i>Aspergillus biparmatus</i>	1	0	1
<i>Aspergillus cacuminosus</i>	1	0	1
<i>Aspergillus fischeri</i>	6	2	10
<i>Aspergillus flavus</i>	1	0	1
<i>Aspergillus fumigatiaffinis</i>	1	0	1
<i>Aspergillus aff. fumigatus</i>	5	5	19
<i>Aspergillus fuscicans</i>	1	0	1
<i>Aspergillus geometricus</i>	0	1	1
<i>Aspergillus huiyanae</i>	1	1	2
<i>Aspergillus laciniosus</i>	3	2	5
<i>Aspergillus lentulus</i>	1	0	1
<i>Aspergillus montevidensis</i>	2	0	2
<i>Aspergillus perforatus</i>	1	1	1
<i>Aspergillus sculptus</i>	1	0	1
<i>Aspergillus shendawei</i>	9	9	30
<i>Aspergillus sydowii</i>	1	1	2
<i>Aspergillus tatenoi</i>	1	0	2
<i>Aspergillus tubercularis</i>	0	1	6
<i>Epicoccum nigrum</i>	1	0	1
<i>Gilmaniella humicola</i>	0	2	3
<i>Hamigera avellanea</i>	3	2	5
<i>Hamigera ingelheimensis</i>	2	0	2
<i>Hamigera paravellanea</i>	0	2	4
<i>Leiothecium ellipsoideum</i>	5	6	12
<i>Penicillium capsulatum</i>	0	1	1
<i>Penicillium citrinum</i>	1	0	1
<i>Talaromyces macrosporus</i>	0	1	1
<i>Talaromyces pinophilus</i>	1	0	1
<i>Talaromyces systylus</i>	0	1	1
<i>Talaromyces trachyspermus</i> var. <i>macrocarpus</i>	1	0	1
<i>Talaromyces trachyspermus</i> var. <i>trachyspermus</i>	1	3	5
<i>Trichocladium pyriforme</i>	1	1	2
<i>Trichoderma saturnisporum</i>	3	0	9
Total	56	45	145

*Como se tomó una muestra por sitio, el número de muestras es equivalente al número de sitios.

Tabla 7: Presencia/ausencia de especies por sitio geográfico. Los valores totales corresponden a los valores de riqueza absoluta.

Especies	Sitios de muestreo																															
	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21												
	32	33	34	35	36	37	38	39		41	42	43	44	45	46		48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63
<i>Arthrinium phaeospermum</i>										x	x																					
<i>Aspergillus australensis</i>				x																												
<i>A. biparmatus</i>					x																											
<i>A. cacuminosus</i>								x																								
<i>A. fischeri</i>				x			x												x	x												
<i>A. flavus</i>																		x														
<i>A. fumigatiaffinis</i>						x																										
<i>A. aff. fumigatus</i>			x	x			x								x				x	x	x											
<i>A. fuscicans</i>															x																	
<i>Aspergillus geometricus</i>	x																															
<i>A. huiyanae</i>				x	x																											
<i>A. lacinosus</i>	x									x			x						x													
<i>A. lentulus</i>															x																	
<i>A. montevidensis</i>												x				x																
<i>A. perforatus</i>																				x												
<i>A. sculptus</i>							x																									
<i>A. shendawei</i>				x	x	x	x		x			x	x	x				x	x	x						x		x				x
<i>A. sydowii</i>								x	x																							
<i>A. tatenoi</i>	x			x																												
<i>A. tubercularis</i>				x																												x
<i>Epicoccum nigrum</i>																x																
<i>Gilmaniella humicola</i>					x		x																									
<i>Hamigera avellanea</i>				x	x			x																		x						

Tabla 7 continuación: Presencia/ausencia de especies por sitio geográfico. Los valores totales corresponden a los valores de riqueza absoluta.

Especies	Sitios de muestreo																																		
	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21															
	32	33	34	35	36	37	38	39		41	42	43	44	45	46		48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63			
<i>H. ingelheimensis</i>			x	x																															
<i>H. paravellanea</i>							x																			x									
<i>Leiothecium ellipsoideum</i>		x	x	x															x	x		x				x									
<i>Penicillium capsulatum</i>																				x															
<i>P. citrinum</i>															x																				
<i>Talaromyces macrosporus</i>																				x															
<i>T. pinophilus</i>															x																				
<i>T. systylus</i>																						x													
<i>T. trachyspermus</i> var. <i>macrocarpus</i>					x						x				x							x													
<i>T. trachysper.</i> var. <i>trachyspermus</i>												x																							
<i>Trichocladium pyriforme</i>	x																																		
<i>Trichoderma saturnisporum</i>		x				x			x															x											
<i>Aspergillus</i> spp.			x	x		x		x									x			x	x		x			x		x						x	
<i>Hamigera</i> sp.			x																																
<i>Penicillium</i> spp.																	x					x													
<i>Talaromyces</i> spp.					x									x	x		x			x			x		x	x									
TOTAL	4	3	9	7	3	4	5	3	2	2	3	3	2	0	6	2	0	2	5	7	1	2	1	0	1	4	0	1	0	0	0	0	2		
Total con especies sin identificar	4	3	11	8	4	5	5	4	3	2	3	3	2	1	7	2	3	2	5	9	2	3	2	1	1	6	2	1	0	0	0	0	3		

DISCUSIÓN GENERAL

El presente trabajo de Tesis Doctoral representa el primer estudio polifásico de ascomicetes termorresistentes de suelo en nuestro país. Se describieron, citaron e ilustraron 34 taxones. Se incorporaron a la micobiota argentina 8 especies, y 3 constituyeron la segunda cita a nivel mundial. Se describieron 7 especies nuevas, de las cuales cinco correspondieron a *Aspergillus* sect. *Fumigati*.

En la serie de trabajos titulados “Micoflora del suelo de la Argentina” (Godeas, 1972; Wright *et al.*, 1971; Wright & Marchand, 1972; Bertoni *et al.*, 1973; Godeas, 1975; Godeas *et al.*, 1977a) se presentan aislamientos de distintas regiones de Argentina (diferentes zonas de la Provincia de Buenos Aires, Salta, Chaco y Santiago del Estero) obtenidos mediante varias técnicas de aislamiento entre ellas, en algunos casos, la relacionada con hongos termorresistentes. El trabajo de estos autores ofrece 64 especies (dos taxones nuevos) pertenecientes a órdenes diversos. Los estudios realizados en la Argentina, en general, utilizaron otras técnicas de aislamiento de hongos de suelo. Y, a excepción de Wright *et al.* (1971) o de los artículos relacionados con alimentos (Vincenzini *et al.*, 1998; Sobrero *et al.*, 2002; Frisón *et al.*, 2012), no se hallaron comunicaciones que amplíen el conocimiento sobre micobiota termorresistente en nuestro país. La escasez de información sobre hongos termorresistentes en el plano nacional ocasionó cierta dificultad en cuanto a la comparación de los resultados de esta Tesis.

La caracterización morfológica llevada a cabo en *Aspergillus* de la sect. *Fumigati* fue consistente en su mayor parte con los análisis filogenéticos realizados en la presente Tesis y con los de Samson *et al.* (2007). Por otro lado, en el caso de cepas identificadas como *A. shendaweii* (26), no se observaron diferencias al menos con estos dos marcadores, por lo cual podría interpretarse a este conjunto de cepas como un complejo de especies. Estos complejos requerirían análisis filogenéticos más detallados, con mayor número de secuencias de diversas regiones y otros marcadores. Esto ha sido demostrado para muchos grupos, como es el caso del complejo o clado *Aspergillus niger* (Samson *et al.*, 2004) o el caso de *Trichoderma harzianum* que se ha resuelto en varias especies (Chaverri *et al.*, 2015).

Nuestras cepas se obtuvieron a partir de más de 50 muestras en el curso de un trabajo de aislamiento e identificación que se extendió durante cinco años. Varias de las

especies nuevas se propusieron a partir de un aislamiento único, o sea que los holotipos constituyen las cepas de esas especies exclusivamente. Existe en el ámbito micológico cierta opinión acerca de la inconveniencia de proponer nuevas especies sobre la base de aislamientos únicos. Desde luego, una sola cepa no es suficiente para construir la filogenia de cada una de estas especies. No obstante, en el contexto de este trabajo, las características morfológicas, fisiológicas y moleculares de las cepas obtenidas sustentaron adecuadamente su carácter de entidades biológicas autónomas. Posteriores estudios ecológicos y moleculares podrían arrojar luz sobre la biología de las nuevas especies descritas y sus variaciones intraespecíficas.

Las especies halladas en el presente trabajo y que fueron citadas anteriormente como termorresistentes son: *Gilmaniella humicola* (Bollen, 1969; Jesenská *et al.*, 1992), *Hamigera avellanea* (Jesenská *et al.*, 1992; Scaramuzza & Berni, 2014), *Leiothecium ellipsoideum* (Samson & Mouchacca, 1975), *Talaromyces macrosporus* (Beuchat, 1988; Frisón *et al.*, 2012), *Trichocladium pyriforme* (Dixon, 1968; Bollen, 1969), *Neosartorya fischeri* (= *Aspergillus fischeri*; Bollen, 1969; Jesenská *et al.*, 1992; Frisón *et al.*, 2012) y en general los *Aspergillus* tipo neosartoria (Samson *et al.*, 2007). *Arthrimum phaeospermum* fue aislado de mermelada de frutillas tratadas térmicamente y sus conidios fueron sometidos a ensayos de termorresistencia (Kashiwagi *et al.*, 2009); en Argentina esta especie fue encontrada en frutillas frescas, pero no en frutillas sometidas a tratamiento térmico (Frisón *et al.*, 2012).

No fue posible obtener información sobre termorresistencia en relación con *Aspergillus montevidensis*. Sin embargo, *Eurotium herbariorum* (actualmente *Aspergillus glaucus* (L.) Link), una especie de la misma sect. aunque xerofílica, se aisló de un evento de contaminación de jaleas y mermeladas de uvas y se analizó su termorresistencia (Splittstoesser *et al.*, 1989). La literatura consultada tampoco presentó información acerca de la termorresistencia de *Trichoderma saturnisporum*; no obstante, la producción de clamidosporas (Samuels *et al.*, 1998) explicaría la supervivencia al tratamiento térmico en nuestras muestras.

Byssochlamys nivea, tal vez la especie más conocida como termorresistente, no se aisló durante este trabajo. Esto podría deberse a que no toleró el tratamiento aplicado (75 °C, 30 min), ya que otros autores determinaron que puede sobrevivir a 70 °C por 60-75 min pero no a 80 °C durante 1 min (Piecková *et al.*, 1994). A partir de la aplicación de este último tratamiento, los mismos autores indican también que a 80 °C *Talaromyces flavus* sobrevive 300 min, *Hamigera avellanea* 120 min y *Aspergillus fischeri* 175 min; a

esta misma temperatura *Dichotomyces cejpii*, *Gilmaniella humicola* y *T. bacillisporus* sobreviven entre 8-14 min. Aunque no se hallaron trabajos sobre termorresistencia de *H. paravellanea*, dada la resistencia que numerosos artículos describen para *H. avellanea* es de suponer que la primera posea una capacidad similar. Por otro lado, se desconoce la producción de ascosporas por *H. ingelheimensis* (conocido sólo en estado anamórfico), con lo cual su presencia podría deberse a un teleomorfo no recuperado aún, como se interpretó en el caso de *Paecilomyces variotii*/*Byssosclamyces spectabilis* (Houbraken *et al.*, 2008).

Las especies obtenidas que no han sido citadas como termorresistentes podrían ser consideradas como contaminación ambiental de las muestras posterior al tratamiento térmico. Asimismo, podrían atribuirse a cierta heterogeneidad en el tratamiento aplicado. Pitt & Hocking (2009) señalan que la presencia de especies de *Aspergillus* como *A. flavus*, entre otros, indicarían contaminación. Sin embargo, como esta especie es heterotálica (Horn *et al.*, 2009) la presencia de ascosporas que resistieron el tratamiento con calor no podría excluirse. Una interpretación similar (heterotalismo) podría aplicarse a las otras especies aisladas durante el presente trabajo y que no han sido citadas como termorresistentes en la literatura como *A. fumigatiaffinis*, *A. lentulus*, *Penicillium capsulatum*, *P. citrinum* y *Talaromyces pinophilus*.

Si bien en esta Tesis no se realizaron muestreos con diseño experimental ni análisis estadísticos para obtener resultados ecológicos significativos, cualitativamente se observó que *A. phaeospermum*, *A. tubercularis*, *A. geometricus*, *G. humicola*, *H. paravellanea*, *T. macrosporus* y *T. systylus* se aislaron solamente de las muestras recolectadas durante el invierno; sin embargo, como se obtuvieron uno o pocos aislamientos de cada una de las especies no se puede afirmar que existan diferencias estacionales (Tabla 6). El total de especies por estación fue similar (45 vs 56). En cuanto a las especies de la sect. *Fumigati*, el índice de riqueza para cada estación fue de 21 para el verano y de 22 para el invierno. No se hallaron trabajos sobre la ecología de *Aspergillaceae* en suelo, ni acerca de su variación estacional. Los trabajos citados anteriormente (Godeas, 1972; Bettucci *et al.*, 2002; etc.) no presentan información vinculada con las variaciones estacionales de ascomicetes termorresistentes. Sí existen trabajos de ecología de hongos de suelos pero que involucran especies de diversas familias y con objetivos ecológicos propiamente dichos (Cabello & Arambarri, 2002; Mangiaterra *et al.*, 2006; etc.).

Aunque en este estudio de ascomicetes termorresistentes no se analizó el estudio de la composición de suelos, se pudieron observar algunas características particulares de los mismos. Las muestras 02 y 32, corresponden a las Salinas Grandes (Tabla 1). Al observar las fotos de éstas (Fig. A y B), se aprecian diferencias en la disponibilidad salina en las distintas estaciones. No obstante, la composición de especies encontrada (Tablas 6 y 7) resultó similar. En este sitio la riqueza fue baja, solamente se obtuvieron 4 especies (*Aspergillus geometricus*, *A. laciniosus*, *A. tatenoi* y *Trichocladium pyriforme*) generalmente presentes en ambas estaciones. No se aislaron especies de *Aspergillus* sect. *Aspergillus* citadas como parte de la micobiota de otras regiones salinas (Butinar *et al.*, 2005; Zalar *et al.*, 2008). Por otra parte, no se obtuvieron aislamientos de las muestras 60, 61 y 62. Aunque estas muestras corresponden a tres sitios cercanos geográficamente (Tabla 1), el tipo de suelo recolectado presentaría diferencias.

CONCLUSIONES

El trabajo desarrollado confirmó la hipótesis planteada sobre la existencia de especies de ascomicetes termorresistentes novedosos en los suelos semiáridos de la región fitogeográfica del Monte de la Provincia de Catamarca. Los objetivos propuestos se llevaron a cabo satisfactoriamente y, en consecuencia, puede puntualizarse lo siguiente:

- ✓ Como contribución al conocimiento de la diversidad de especies de este grupo fúngico se propusieron 7 especies nuevas para la ciencia. Por otra parte, se identificaron 27 especies previamente descritas para otros países; 9 de éstas constituyeron primeras citas para nuestro país y 3 segundas citas mundiales.
- ✓ El mayor número de especies identificadas corresponden al género *Aspergillus* (17) distribuidas en cinco secciones. Entre éstas, la sección *Fumigati*, manifestó la mayor representación en las muestras analizadas.
- ✓ *A. shendawei* resultó la especie más frecuentemente aislada (30 cepas provenientes de 18 muestras y 14 sitios de muestreo).
- ✓ En el presente trabajo se encontraron especies con antecedentes de termorresistencia.
- ✓ Este es el primer estudio polifásico de ascomicetes termorresistentes de suelos semiáridos en nuestro país.

BIBLIOGRAFÍA

- Alcazar-Fuoli, L., Mellado, E., Alastruey-Izquierdo, A., Cuenca-Estrella, M., & Rodriguez-Tudela, J. L. (2008). *Aspergillus* section *Fumigati*: antifungal susceptibility patterns and sequence-based identification. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52 (4), 1244-1251.
- Alhambra, A., Catalán, M., Tosantos D. M., Alonso, S. B., San Emeterio, J. P., González, J. C. M., & del Palacio, A. (2008). Isolation of *Aspergillus lentulus* in Spain from a critically ill patient with chronic obstructive pulmonary disease. *Revista Iberoamericana de Micología*, 25 (4), 246-249.
- Allegrucci, N., Cazau, M. C., Cabello, M. N., & Arambarri, A. M. (2005). Análisis de las comunidades de microhongos de la hojarasca de *Scutia buxifolia* (*Rhamnaceae*) en el este de la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Darwiniana*, nueva serie, 43 (1-4), 01-09.
- Allegrucci, N., Eliades, L., Bucsinszky, A. M., Cabello, M., & Arambarri, A. (2007). Diversidad de Anamorfos de Ascomycota en bosques nativos de *Celtis tala* (*Ulmaceae*) en la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 42 (1-2), 79-86.
- Allegrucci, N., Cabello, M. N., & Arambarri, A. M. (2009). Diversity of saprotrophic anamorphic ascomycetes from native forests in Argentina: an updated review. *Darwiniana*, 47 (1), 108-124.
- Arambarri, A.M.; Gamundi, I. J. & Bucsinszky, A.M. (1981). Microflora de la hojarasca de *Nothofagus dombeyi*. III. *Darwiniana* 23 (2-4), 327-348.
- Arambarri, A.M. & Gamundi, I. J. (1984). Microflora de la hojarasca de *Nothofagus pumilo* y *N. obliqua*. II. *Darwiniana* 25 (1-4), 255-265.
- Arambarri A. M. & I. Gamundi. (1985). Some fungi from Argentina occurring on *Nothofagus pumilio* leaf litter. *Agarica* 6 (12), 124-132.
- Arambarri, A. M. & Spinedi, H. (1984). Micoflora de la hojarasca de *N. pumilio*. III. *Darwiniana* 25 (1-4), 321-330.
- Arambarri, A.M.; Cabello, M.N. & Mengascini, A. (1987a). New Hyphomycetes from Santiago River (Buenos Aires Province, Argentina). *Mycotaxon* 29, 29-35.
- Arambarri, A.M.; Cabello, M.N. & Mengascini, A. (1987b). New Hyphomycetes from Santiago River II. (Buenos Aires Province, Argentina). *Mycotaxon* 30, 263-267.

- Arambarri, A.M.; Cabello, M. & Mengascini, A. (1987c). Estudio de los hyphomycetes del río Santiago (Prov. Buenos aires, Argentina). *Darwiniana*, 28 (1-4), 293-301.
- Arambarri, A. M.; M. N. Cabello & A. Mengascini. (1987d). Estudio sistemático de los Hyphomycetes del río Santiago II. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 25, 213-222.
- Arrieta, A. M. (2014). Los endofitos fúngicos como inductores de cambios en la rizósfera de gramíneas nativas. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires.
- Balajee, S. A., Gribskov, J. L., Hanley, E., Nickle, D., & Marr, K. A. (2005). *Aspergillus lentulus* sp. nov., a new sibling species of *A. fumigatus*. *Eukaryotic Cell*, 4 (3), 625-632.
- Baquiao, A. C., de Oliveira, M. M. M., Reis, T. A., Zorzete, P., Atayde, D. D., & Correa, B. (2013). Polyphasic approach to the identification of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from Brazil nuts. *Food chemistry*, 139 (1), 1127-1132.
- Barberis, M. G., Gaj Merlera, G., Reynoso, M. M., Chulze, S. N., & Torres, A. M. (2014). Factors affecting distribution and abundance of *Aspergillus* section *Nigri* in vineyard soils from grapevine growing regions of Argentina. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94 (14), 3001-3007.
- Barrera, V. A. (2012). El género *Hypocrea* Fr. (Hypocreales, Ascomycota) en la Argentina. Estudio de la variabilidad molecular de su estado anamórfico *Trichoderma*. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires.
- Barron, G. L. (1964). A new genus of the Hyphomycetes from soil. *Mycologia*, 56 (4), 514-518.
- Barron, G. L., & Peterson, J. (1968). The genera of Hyphomycetes from soil. *Soil Science*, 106 (6), 477.
- Berni, E., Degola, F., Cacchioli, C., Restivo, F. M., & Spotti, E. (2011). Polyphasic approach for differentiating *Penicillium nordicum* from *Penicillium verrucosum*. *Food Additives and Contaminants*, 28 (4), 477-484.
- Benjamin, C. R. (1955). Ascocarps of *Aspergillus* and *Penicillium*. *Mycologia*, 47 (5), 669-687.
- Bertoni, M. D., Godeas, A. M., Loewenbaum, M. E., & Wright, J. E. (1973). Micoflora del suelo de la Argentina. IV Algunas formas ascospóricas adicionales de la Región Chaqueña. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 15, 93-105.
- Bettucci, L., Malvarez, I., Dupont, J., Bury, E., & Roquebert, M. F. (2002). Paraná river delta wetlands soil microfungi. *Pedobiologia*, 46 (6), 606-623.
- Beuchat, L. R. (1986). Influence of organic acids on heat resistance characteristics of *Talaromyces flavus* ascospores. *International Journal of Food Microbiology*, 6 (2), 97-105.

- Beuchat, L. R. (1988). Influence of organic acids on heat resistance characteristics of *Talaromyces flavus* ascospores. *International Journal of Food Microbiology*, 6 (2), 97-105.
- Beuchat, L. R., & Pitt, J. I. (1992). Detection and enumeration of heat-resistant molds. *Compendium for the Microbiological Examination of Foods*, 251-263.
- Bianchinotti, M. V. (1994). Estudio sistemático y ecológico de la micoflora del chañar (*Geoffroea decorticans*) en los alrededores de Bahía Blanca. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur.
- Bills, G.F., Christensen, M., Powell, M. & Thorn, G. 2004. Saprobic Soil Fungi: 271-302. En *Biodiversity of Fungi, Inventory and Monitoring Methods*. Mueller, G.M., Bills, G.F. & Foster, M.S. (Eds.). 2004. Elsevier Academic Press, Amsterdam.
- Blaser, P. (1975). Taxonomische und physiologische Untersuchungen über die Gattung *Eurotium* Link ex Fries. *Sydowia* 28, 1-49.
- Bollen, G. J. (1969). The selective effect of heat treatment on the microflora of a greenhouse soil. *Netherlands Journal of Plant Pathology*, 75 (1-2), 157-163.
- Bollen, G. J. (1974). Fungal recolonization of heat-treated glasshouse soils. *Agro-Ecosystems*, 1, 139-155.
- Bonera, N., Pinto, V. F., Vaamonde, G., & Varsavsky, E. (1982). Hongos toxicogénicos en la flora fúngica de semillas de soja. *Anales de la Asociación Química Argentina*, 70, 773-781.
- Bresler, G., Vaamonde, G., & Brizzio, S. (1991). Natural occurrence of zearalenone and toxicogenic fungi in amaranth grain. *International Journal of Food Microbiology*, 13 (1), 75-80.
- Bresler, G., Brizzio, S. B., & Vaamonde, G. (1995). Mycotoxin-producing potential of fungi isolated from amaranth seeds in Argentina. *International Journal of Food Microbiology*, 25 (1), 101-108.
- Broggi, L. E., González, H. H. L., Resnik, S. L., & Pacin, A. (2007). *Alternaria alternata* prevalence in cereal grains and soybean seeds from Entre Rios, Argentina. *Revista Iberoamericana de Micología*, 24 (1), 47.
- Butinar, L., Zalar, P., Frisvad, J. C., & Gunde-Cimerman, N. (2005). The genus *Eurotium*-members of indigenous fungal community in hypersaline waters of salterns. *FEMS Microbiology Ecology*, 51 (2), 155-166.
- Cabello, M. N. (1983). Micoflora del suelo de la región interserrana (Partido de Coronel Suárez, Provincia de Buenos Aires). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 22, 7-20.

- Cabello, M. (1986). Análisis de la metodología empleada en el aislamiento de hongos en suelos de la región interserrana. *Ciencia del suelo* 2: 225-229.
- Cabello, M.N., Cazau, M.C. & Arambarri, A.M. (1990). New Hyphomycetes from Santiago River. III. (Buenos Aires Province, Argentina). *Mycotaxon* 38:15-19.
- Cabello, M.N., Cazau, M.C. & Arambarri, A.M. (1993). Estudio sistemático de los Hyphomycetes del Río Santiago. VI. (Buenos Aires, Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 29:11-14.
- Cabello, M., & Arambarri, A. (2002). Diversity in soil fungi from undisturbed and disturbed *Celtis tala* and *Scutia buxifolia* forests in the eastern Buenos Aires Province (Argentina). *Microbiological Research*, 157 (2), 115-125.
- Cabral, D., Cafaro, M. J., Saidman, B., Lugo, M., Reddy, P. V., & White Jr, J. F. (1999). Evidence supporting the occurrence of a new species of endophyte in some South American grasses. *Mycologia*, 315-325.
- Cabrera, A.L. 1971. Fitogeografía de la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 14 N° 1-2.
- Canafoglia, M., Comerio, R., Pinto, V. F., & Vaamonde, G. (2007). Hongos toxicogénicos contaminantes de frutos de alpataco. *Revista Iberoamericana de Micología*, 24 (1), 56-58.
- Capdet, M. (2012). Biodiversidad de Ascomycetes sexuales y asexuales xilófilos sobre palmeras nativas en la República Argentina. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires.
- Carlile, M. J., & Watkinson, S. C. (1994). *The Fungi*. Academic Press.
- Carmarán, C. (2003). Contribución al estudio del orden Diatrypales, biodiversidad y taxonomía. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires.
- Castellari, C. C., Cendoya, M. G., Valle, F. J. M., Barrera, V., & Pacin, A. M. (2015). Factores extrínsecos e intrínsecos asociados a poblaciones fúngicas micotoxigénicas de granos de maíz (*Zea mays* L.) almacenados en silos bolsa en Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 47 (4), 350-359.
- Castellari, C., Quadrelli, A. M., & Laich, F. (2010). Surface mycobiota on Argentinean dry fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 142 (1), 149-155.
- Catania, M. 2009. Diversidad de especies de Hymenoascomycetes y Loculoascomycetes sobre *Podocarpus parlatorei* Pilg. en las provincias de Tucumán y Catamarca. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Tucumán.
- Cazau, M.C.; Arambarri, A.M. & Cabello, M.N. (1990). New Hyphomycetes from Santiago River. IV (Buenos Aires Province, Argentina). *Mycotaxon* 38:21-25.

- Cazau, M.C.; Arambarri, A.M. & Cabello, M.N. (1993). New Hyphomycetes from Santiago River. VI. (Buenos Aires Province, Argentina). Mycotaxon 46:235-240.
- CBS, Catálogo de Cultivos. <http://www.cbs.knaw.nl/Collections/> 14/04/2016.
- Chaverri, P., Branco-Rocha, F., Jaklitsch, W., Gazis, R., Degenkolb, T., & Samuels, G. J. (2015). Systematics of the *Trichoderma harzianum* species complex and the re-identification of commercial biocontrol strains. Mycologia, 107 (3), 558-590.
- Chen, M., Houbraken, J., Pan, W., Zhang, C., Peng, H., Wu, L., Xu, D., Xiao, Y, Wang, Z. & Liao, W. (2013). Pulmonary fungus ball caused by *Penicillium capsulatum* in a patient with type 2 diabetes: a case report. BMC infectious diseases, 13 (1), 496.
- Chiotta, M. L., Ponsone, M. L., Sosa, D. M., Combina, M., & Chulze, S. N. (2013). Biodiversity of *Aspergillus* section *Nigri* populations in Argentinian vineyards and ochratoxin A contamination. Food microbiology, 36(2), 182-190.
- Chiu, Y. L., Liaw, S. J., Wu, V. C., & Hsueh, P. R. (2005). Peritonitis caused by *Aspergillus sydowii* in a patient undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis. Journal of Infection, 51 (3), e159-e161.
- Coriglione, G., Stella, G., Gafa, L., Spata, G., Oliveri, S., Padhye, A.A., & Ajello, L. (1990). *Neosartorya fischeri* var. *fischeri* (Wehmer) Malloch and Cain 1972 (anamorph: *Aspergillus fischerianus* Samson and Gams 1985) as a cause of mycotic keratitis. European Journal of Epidemiology 6: 382–385.
- Crous, P. W., & Groenewald, J. Z. (2013). A phylogenetic re-evaluation of *Arthrinium*. IMA fungus, 4 (1), 133.
- De Hoog, G. S., Guarro, J., Gené, J., & Figueras, M. J. (2000). Atlas of clinical fungi (No. Ed. 2). Centraalbureau voor Schimmelcultures (CBS).
- Dalcero, A., Magnoli, C., Luna, M., Ancasi, G., Reynoso, M. M., Chiacchiera, S., Miazzo, R. & Palacio, G. (1998). Mycoflora and naturally occurring mycotoxins in poultry feeds in Argentina. Mycopathologia, 141 (1), 37-43.
- Davel, G., & Canteros, C. E. (2007). Situación de las micosis en la República Argentina. Revista Argentina de Microbiología, 39 (1), 28-33.
- De Errasti, A., Carmarán, C. C., & Novas, M. V. (2010). Diversity and significance of fungal endophytes from living stems of naturalized trees from Argentina. Fungal Diversity, 41 (1), 29-40.
- Dijksterhuis, J. (2007). Heat-resistant ascospores. In Food Mycology, a multifaceted approach to fungi and food. Dijksterhuis & Samson (Eds.). CRC Press, Taylor & Francis Group.

- Dijksterhuis, J., & Samson, R. A. (2006). Activation of ascospores by novel food preservation techniques. In *Advances in Food Mycology* (pp. 247-260). Springer US.
- Dixon, M. (1968). *Trichocladium pyriformis* sp. nov. *Transactions of the British Mycological Society*, 51 (1), 160-IN17.
- Domsch, K. H., Gams, W., & Anderson, T. H. (1980). *Compendium of soil fungi* (Vol. 1, No. 2). London: Academic press.
- Domsch, K. H., Gams, W., & Anderson, T. H. (2007). *Compendium of soil fungi*, 2nd taxonomically revised edition by W. Gams. IHW, Eching.
- Eamvijarn, A., Gomes, N. M., Dethoup, T., Buaruang, J., Manoch, L., Silva, A., Pedro, M. Marini, I., Roussis, V. & Kijjoa, A. (2013). Bioactive meroditerpenes and indole alkaloids from the soil fungus *Neosartorya fischeri* (KUFC 6344), and the marine-derived fungi *Neosartorya laciniosa* (KUFC 7896) and *Neosartorya tsunodae* (KUFC 9213). *Tetrahedron*, 69 (40), 8583-8591.
- Ein-Gil, N., Ilan, M., Carmeli, S., Smith, G. W., Pawlik, J. R., & Yarden, O. (2009). Presence of *Aspergillus sydowii*, a pathogen of gorgonian sea fans in the marine sponge *Spongia obscura*. *The ISME journal*, 3 (6), 752-755.
- Eliades, L. A., Cabello, M. N., & Voget, C. E. (2006a). Soil microfungi diversity in *Celtis tala* and *Scutia buxifolia* forests in Eastern Buenos Aires Province (Argentina). *Journal of Agricultural Science and Technology*, 2 (2), 229-249.
- Eliades, L. A., Cabello, M. N., & Voget, C. E. (2006b). Contribution to the study of alkalophilic and alkalitolerant Ascomycota from Argentina. *Darwiniana*, 44(1), 64-73.
- Ellis, M. B. (1965). Dematiaceous hyphomycetes. VI. *Arthrinium*. *Mycological papers* no. 103. Commonwealth Mycological Institute. Kew, 46 p.
- Ellis, M. B. (1971). *Dematiaceous Hyphomycetes*, Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England, 507 pp.
- Etcheverry, M., Nesci, A., Barros, G., Torres, A., & Chulze, S. (1999). Occurrence of *Aspergillus* section *Flavi* and aflatoxin B1 in corn genotypes and corn meal in Argentina. *Mycopathologia*, 147 (1), 37-41.
- Esquivel, P., Mangiterra, M., Giusiano, G., & Sosa, M. A. (2004). Microhongos anemófilos en ambientes abiertos de dos ciudades del nordeste argentino. *Bol. Inst. Med. Reg. (esp)*, 19-28.

- Frąc, M., Jezierska-Tys, S., & Yaguchi, T. (2015). Occurrence, Detection, and Molecular and Metabolic Characterization of Heat-Resistant Fungi in Soils and Plants and Their Risk to Human Health. *Advances in Agronomy*. *Advances in Agronomy*, Volume 132.
- Frisón, L. N., Colomba, P. S., Aríngoli, E. E., & Basílico, J. C. (2012). Diversidad fúngica en ambientes de industrias alimentarias. *FABICIB*, 16 (1), 78-92.
- Frisvad, J. C., Filtenborg, O., Samson, R. A., & Stolk, A. C. (1990). Chemotaxonomy of the genus *Talaromyces*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 57 (3), 179-189.
- Frisvad, J.C. & Samson, R.A. (2004). Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. *Studies in Mycology* 47: 1–174.
- Frisvad, J. C., Skouboe, P., & Samson, R. A. (2005). Taxonomic comparison of three different groups of aflatoxin producers and a new efficient producer of aflatoxin B 1, sterigmatocystin and 3-O-methylsterigmatocystin, *Aspergillus rambellii* sp. nov. *Systematic and Applied Microbiology*, 28(5), 442-453.
- Galvalisi, U., Lupo, S., Piccini, J., & Bettucci, L. (2012). *Penicillium* species present in Uruguayan salami. *Revista Argentina de Microbiología*, 44, 36-42.
- Gams, W., Christensen, M., Onions, A. H., Pitt, J. I., & Samson, R. A. (1986). Infrageneric taxa of *Aspergillus*. In *Advances in Penicillium and Aspergillus systematics* (pp. 55-62). Springer US.
- Gams, W. (2007). Biodiversity of soil-inhabiting fungi. *Biodiversity and conservation*, 16(1), 69-72.
- Gamundí, I. J. (1956). El género *Scutellinia* en la Argentina. *Fac. de Cs. Exactas y Nat., ser. Bot.* I (2): 70-80.
- Gamundí, I. J. (1957). El género *Cookeina* en la República Argentina. *Bol. Soc. Argent. Bot.* VI (3-4): 212-222.
- Gamundí, I. J. (1958). Discomycetes operculados de la Argentina: Familias Pezizaceae y Humariaceae. Tesis Doctoral. Universidad Buenos Aires.
- Gamundí, I. J. (1962). Discomycetes inoperculados del Parque Nacional Nahuel Huapi (Argentina). *Darwiniana* 12 (3): 385-445.
- Gamundí, I. J. (1964). Discomycetes operculados del Parque Nacional Nahuel Huapi, Argentina. *Darwiniana* 13 (2-4): 568-606.
- Gamundí, I. J. (1971). Las "Cyttariales" sudamericanas. *Darwiniana* 16: 461-510.

- Gamundí, I. J. (1975). Fungi, Ascomycetes Pezizales. Flora Criptogámica de Tierra del Fuego 10 (3): 7-184.
- Gamundí, I. J. (1977). Micoflora de la hojarasca de *Nothofagus dombeyi*. Darwiniana 21 (1): 81-114.
- Gamundí, I. J.; A. M. Arambarri & A. M. Bucsinszky. 1979. Micoflora de la hojarasca de *Nothofagus dombeyi*, II. Darwiniana 22 (1-3): 189-216.
- Gamundí, I. J.; Arambarri, A. M.; Franci, J. & Spinedi, H.. (1983). Variación estacional de la Micoflora en la hojarasca de *Nothofagus dombeyi*. Rev. Mus. La Plata 13 sec. Bot. N° 74: 123-141.
- Gamundí, I.J. (1986). Fungi. Ascomycetes. Cyttariales. Helotiales: Geoglossaceae Dermateaceae. Flora Criptogámica de Tierra del Fuego X (4): 1-126.
- Gamundí, I.J. & Giajotti, A.L. (1998). Nota sobre Discomycetes andino-Patagónico II. Novedades taxonómicas. Darwiniana 35 (1-4): 49-60.
- Gamundí, I. J. & Romero, A. I. (1998). Fungi. Ascomycetes Helotiales: Helotiaceae. In S.A. Guarrera, I.J.; Gamundí de Amos & C.M. Matteri (eds). Flora Criptogámica de Tierra del Fuego 10 (5): 130 p.
- Gamundí, I.J.; Minter, D.W.; Romero, A.I.; Barrera, V.A.; Giajotti, A.; Messuti. M.I. & Stecconi, M. 2004. Checklist of the Discomycetes (fungi) of Patagonia, Tierra del Fuego and adjacent areas. Darwiniana 42 (1-4): 63-164.
- Gentile, A., Rossi, M. S., Cabral, D., Craven, K. D., & Schardl, C. L. (2005). Origin, divergence, and phylogeny of epichloë endophytes of native Argentine grasses. Molecular phylogenetics and evolution, 35 (1), 196-208.
- Gilman, J. (1945). A manual of soil fungi. The Iowa State University Press, Ames, Ia.
- Giusiano, G., Piontelli, L., Mangiaterra, M., & Sosa, M. A. (2002). Distribución altitudinal de hongos queratinófilos, epífitos y endófitos en suelos semiáridos del noreste argentino (Prov. de Jujuy, 23° L. S y 66° L. W). Boletín. Micológico, 17, 51-62.
- Glass, N. L., & Donaldson, G. C. (1995). Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. Applied and Environmental Microbiology, 61 (4), 1323-1330.
- Godeas, A. M. (1972). Micoflora del suelo de la Argentina. I Algunas formas ascospóricas de la Región Chaqueña. Mycopathologia et mycologia applicata, 46 (3), 189-204.

- Godeas, A. M. (1975). Micoflora del suelo de la Argentina V. Formas ascospóricas adicionales de la Pcia. De Buenos Aires, provincia fitogeográfica del Espinal, Distrito de los Talaes. *Mycopathologia*, 56 (2), 81-96.
- Godeas, A. (1977). Estudio cuali y cuantitativo de los hongos del suelo del bosque de *Nothofagus dombeyi*. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires.
- Godeas, A.M.; Marchand, S & Bertoni, M.D. (1977a). Micoflora de la Argentina VI. Algunos hongos imperfectos hallados frecuentemente en el suelo de la Pcia. Bs. As. Bol. Soc. Argent. Bot. 18: 33-55
- Godeas, A.M.; Marchand, S. & Cabral, D. (1977b). Fungi imperfecti: Hyphomycetales. En Guarrera et al. (Eds.) Flora Criptogámica de Tierra del Fuego X (1). FECIC, Buenos Aires, 120 p.
- Godeas, A.M. (1985). Hifomicetes (Deuteromycotina) acuáticos de Tierra del Fuego. *Physis*, Secc. B, 43 (104): 7-9.
- Godeas, A. M. & M. A. Arambarri. (1993). Fungi, Fungi Imperfecti, Hyphomycetales, Hifomicetes Acuáticos. Flora Criptogámica de Tierra del Fuego 12 (2): 5-60.
- Goh, T. K., & Hyde, K. D. (1999). A synopsis of *Trichocladium* species, based on the literature. *Fungal Diversity*, 2, 101-118.
- Goh, T. K., Lee, L. L., & Teo, K. C. (2013). A new coprophilous *Gilmaniella* species from Malaysia. *Mycotaxon*, 125 (1), 234-240.
- Goloboff, P. (1999). NONA (No Name) version 2. Published by the author, Tucumán, Argentina.
- Gomes, N. M., Bessa, L. J., Buttachon, S., Costa, P. M., Buaruang, J., Dethoup, T., Silva, A.M. & Kijjoa, A. (2014). Antibacterial and antibiofilm activities of tryptoquivalines and meroditerpenes isolated from the marine-derived fungi *Neosartorya paulistensis*, *N. laciniosa*, *N. tsunodae*, and the soil fungi *N. fischeri* and *N. siamensis*. *Marine drugs*, 12 (2): 822-839.
- Gonçalves, S. S., Stchigel, A. M., Cano, J. F., Godoy-Martinez, P. C., Colombo, A. L., & Guarro, J. (2012). *Aspergillus novoparasiticus*: a new clinical species of the section Flavi. *Medical mycology*, 50 (2), 152-160.
- González, H. H. L., Resnik, S. L., Boca, R. T., & Marasas, W. F. O. (1995). Mycoflora of Argentinian corn harvested in the main production area in 1990. *Mycopathologia*, 130 (1), 29-36.

- Greco, M., Kemppainen, M., Pose, G., & Pardo, A. (2015). Taxonomic Characterization and Secondary Metabolite Profiling of *Aspergillus* Section *Aspergillus* Contaminating Feeds and Feedstuffs. *Toxins*, 7 (9), 3512-3537.
- Greco, M. V., Pardo, A. G., Ludemann, V., Martino, P. E., & Pose, G. N. (2012). Mycoflora and natural incidence of selected mycotoxins in rabbit and chinchilla feeds. *The Scientific World Journal*, Article ID 956056, 6 pages.
- Guarro, J., Kallas, E. G., Godoy, P., Karenina, A., Gene, J., Stchigel, A., & Colombo, A. L. (2002). Cerebral *Aspergillosis* caused by *Neosartorya hiratsukae*, Brazil. (Dispatches). *Emerging infectious diseases*, 8 (9), 989-992.
- Guarro, J., Gene, J., Stchigel, A. M., & Figueras, M. J. (2012). Atlas of Soil Ascomycetes. CBS Biodiversity Series no. 10. Utrecht: CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre.
- Iannone, L. J., White Jr, J. F., Giussani, L. M., Cabral, D., & Novas, M. V. (2011). Diversity and distribution of *Neotyphodium*-infected grasses in Argentina. *Mycological progress*, 10 (1), 9-19.
- Hall, T. A. (1999, January). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. In *Nucleic acids symposium series* (Vol. 41, pp. 95-98).
- Hawksworth, D. L., Kirk, P. M., Sutton, B. C., & Pegler, D. N. (1995). *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the fungi* (8th) CAB International, Wallingford.
- Hibbett, D. S.; M. Binder; J. F. Bischoff; M. Blackwell; P. F. Cannon; O. E. Eriksson; S. Huhndorf; T. James; P. M. Kirk; R. Lücking; H. Thorsten Lumbsch; F. Lutzoni; P. B. Matheny; D. J. McLaughlin; M. J. Powell; S. Redhead; C. L. Schoch; J. W. Spatafora; J. A. Stalpers; R. Vilgalys; M. C. Aime; A. Aptroot; R. Bauer; D. Begerow; G. L. Benny; L. A. Castlebury; P. W. Crous; Y.-Ch. Dai; W. Gams; D. M. Geiser; G. W. Griffith; C. Gueidan; D. L. Hawksworth; G. Hestmark; K. Hosaka; R. A. Humber; K. D. Hyde; J. E. Ironside; U. K. Ljalg; C. P. Kurtzman; K.-H. Larsson; R. Lichtwardt; J. Longcore; J. Mia; Dlikowska; A. Miller; J.-M. Moncalvo; S. Mozley-Standridge; F. Oberwinkler; E. Parmasto; V. Reeb; J. D. Rogers; C. Roux; L. Ryvarden; J. P. Sampaio; A. Schüßle J. Sugiyama; R. G. Thorn; L. Tibell; W. A. Untereiner; C. Walker; Z. Wang; A. Weir; M. Weiss; M. M. White; K. Winka; Y.-J. Yao; N. Zhang. 2007. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi. *Mycological Research* 111: 509-547.
- Hladki, A. I. (2007). La Familia Xylariaceae (Orden Xylariales) en la provincial de Tucumán. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Tucumán.

- Hong, S. B., Go, S. J., Shin, H. D., Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2005). Polyphasic taxonomy of *Aspergillus fumigatus* and related species. *Mycologia*, 97 (6), 1316-1329.
- Hong, S. B., Cho, H. S., Shin, H. D., Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2006). Novel *Neosartorya* species isolated from soil in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 56: 477-486.
- Hong, S. B., Shin, H. D., Hong, J., Frisvad, J. C., Nielsen, P. V., Varga, J., & Samson, R. A. (2008). New taxa of *Neosartorya* and *Aspergillus* in *Aspergillus* section Fumigati. *Antonie van Leeuwenhoek*, 93 (1-2), 87-98.
- Horn, B. W., Moore, G. G., & Carbone, I. (2009). Sexual reproduction in *Aspergillus flavus*. *Mycologia*, 101 (3), 423-429.
- Horie, Y., Miyaji, M., Yokoyama, K., Udagawa, S., Campos-Takaki, G. M. (1992). *Neosartorya tatenoi*, a new species from Brazilian soil. *Transactions of the Mycological Society of Japan* 33: 395-399.
- Horie, Y., Miyaji, M., Nishimura, K., Taguchi, H., & Udagawa, S. (1993). *Aspergillus fumisynnematus*, a new species from Venezuelan soil. *Transactions of the Mycological Society of Japan (Japan)*.
- Horie, Y., Abliz, P., Fukushima, K., Okada, K., & Gusmão, N. B. (2001). *Neosartorya takakii*, a new species from soil in Brazil. *Mycoscience*, 42 (1), 91-95.
- Houbraken, J., & Samson, R. A. (2006). Standardization of methods for detecting heat resistant fungi. In *Advances in Food Mycology* (pp. 107-111). Springer US.
- Houbraken, J., Varga, J., Rico-Muñoz, E., Johnson, S., & Samson, R. A. (2008). Sexual reproduction as the cause of heat resistance in the food spoilage fungus *Byssoschlamys spectabilis* (anamorph *Paecilomyces variotii*). *Applied and Environmental Microbiology*, 74 (5), 1613-1619.
- Houbraken, J., & Samson, R. A. (2011). Phylogeny of *Penicillium* and the segregation of *Trichocomaceae* into three families. *Studies in Mycology*, 70, 1-51.
- Houbraken, J., Spierenburg, H., & Frisvad, J. C. (2012). *Rasamsonia*, a new genus comprising thermotolerant and thermophilic *Talaromyces* and *Geosmithia* species. *Antonie van Leeuwenhoek*, 101(2), 403-421.
- Houbraken, J., de Vries, R. P., & Samson, R. A. (2014). Modern taxonomy of biotechnologically important *Aspergillus* and *Penicillium* species. *Advances in Applied and Environmental Microbiology*, 86, 199-249.

- Hubka, V., Kolarik, M., Kubátová, A., & Peterson, S. W. (2013). Taxonomic revision of the genus *Eurotium* and transfer of species to *Aspergillus*. *Mycologia*, 12-151.
- Igarashi, Y., Hanafusa, T., Gohda, F., Peterson, S., & Bills, G. (2014). Species-level assessment of secondary metabolite diversity among *Hamigera* species and a taxonomic note on the genus. *Mycology*, 5 (3), 102-109.
- Ito, Y., Peterson, S. W., Donald, T., & Tetsuhisa, G. (2001). *Aspergillus pseudotamarii*, a new aflatoxin producing species in *Aspergillus* section *Flavi*. *Mycological Research*, 105 (02), 233-239.
- Jesenská, Z., Piecková, E., & Bernát, D. (1992). Heat-resistant fungi in the soil. *International Journal of Food Microbiology*, 16 (3), 209-214.
- Jurjević, Ž., Kubátová, A., Kolařík, M., & Hubka, V. (2015). Taxonomy of *Aspergillus* section *Petersonii* sect. nov. encompassing indoor and soil-borne species with predominant tropical distribution. *Plant Systematics and Evolution*, 301 (10), 2441-2462.
- Kashiwagi, S., Baba, H., Yoshida, S., Udagawa, S. (2009). Identification and cultural characters of two species of *Arthrimum* isolated from spoilt foods. *Japanese Journal of Food Microbiology*, 26 (1), 16-22.
- Kavanagh, J., Larchet, N., & Stuart, M. (1963). Occurrence of a heat-resistant species of *Aspergillus* in canned strawberries. *Nature* 198, 1322.
- King, A. D., Michener, H. D., & Ito, K. A. (1969). Control of *Byssochlamys* and related heat-resistant fungi in grape products. *Applied microbiology*, 18 (2), 166-173.
- Kirk, P.M.; Cannon, P.F.; Minter, D.W. & Stalper, J.A. (2008). *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. 10th ed. CAB International, Wallingford. 772 p.
- Klich, M. A. (2002). Identification of common *Aspergillus* species. Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Kong, H. Z. (1997). *Stachybotrys yunnanensis* sp. nov. and *Neosartorya delicata* sp. nov. isolated from Yunnan, China. *Mycotaxon*, 62, 427-433.
- Kotzekidou, P. (1997). Heat resistance of *Byssochlamys nivea*, *Byssochlamys fulva* and *Neosartorya fischeri* isolated from canned tomato paste. *Journal of Food Science*, 62 (2), 410-412.
- Kozakiewicz, Z. (1989). *Aspergillus* species on stored products (No. 161).
- Lee, S. K., Kang, H. G., Na, K. J., & Han, J. I. (2012). Fungal dermatitis caused by *Aspergillus sydowii* in a thoroughbred horse. *Journal of Equine Veterinary Science*, 32 (12), 835-839.

- Litvinov, M. A. (1967). Opredeletel'Mikroskopicheskikh Pochvennykh Gribov (Guide for Determination of the Microscopic Soil Fungi).
- Lonial, S., Williams, L., Carrum, G., Ostrowski M., & McCarthy P. Jr (1997). *Neosartorya fischeri*: an invasive fungal pathogen in an allogeneic bone marrow transplant patient. Bone Marrow Transplantation 19: 753–755.
- Lorenzo, L. E. (1992). Pyrenomycetes sensu lato coprófilos de la Patagonia y Tierra del Fuego (Argentina). Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires.
- Lorenzo, L.E. & Messuti, M. I. (1998). Noteworthy hysteriaceae from southern South America. Mycological Research 102 (9):1101-1107.
- Lumbsch, H. T., & Huhndorf, S. M. (2011). Myconet Volume 14. Part One. Outline of Ascomycota-2009. Part Two. Notes on Ascomycete Systematics. Nos. 4751–5113.
- Magnoli, C. (1998). Enumeration and identification of *Aspergillus* group and *Penicillium* species in poultry feeds from Argentina. Mycopathologia, 142 (1), 27-32.
- Malejczyk, K., Sigler, L., Gibas, C.F.C, Smith, S.W. (2013). Invasive Sino-Orbital Mycosis in an Aplastic Anemia Patient Caused by *Neosartorya laciniosa*. J. Clin. Microbiol. 51:4 1316-1319.
- Malloch, D., & Cain, R. F. (1972). The Trichocomataceae: ascomycetes with *Aspergillus*, *Paecilomyces*, and *Penicillium* imperfect states. Canadian Journal of Botany, 50 (12), 2613-2628.
- Mangiaterra, M., Giusiano, G., González, I. (2006). Algunos microhongos geofílicos de las planicies semiáridas del noroeste de la Provincia de San Luis (Argentina). Boletín Micológico 21: 43-48.
- Manghi, I. F. E., Brouwer, I. F. M., Montenegro, I. A. C., Parmuchi, L. C. B. M. G., Bono, L. C. B. J., & Strada, G. M. (2005). Mapa Forestal Provincia de Catamarca. http://www.ambiente.gob.ar/archivos/web/UMSEF/File/2002_catamarca.pdf 12/04/16.
- Mantle, P. G., Hawksworth, D. L., Pazoutova, S., Collinson, L. M., & Rassing, B. R. (2006). *Amorosia littoralis* gen. sp. nov., a new genus and species name for the scorpinone and caffeine-producing hyphomycete from the littoral zone in The Bahamas. Mycological Research, 110(12), 1371-1378.
- Marín, Y., Stehigel, A.M., Guarro, J. (2011). Nuevos e interesantes Eurotiales de suelos de Colombia. 18th Symposium on Cryptogamic Botany. Barcelona, July 13 rd -16 th.
- Marin-Felix, Y., Cano-Lira, J. F., Guarro, J., & Stehigel, A. M. (2014). *Leiothecium cristatum* sp. nov. and *Aspergillus posadasensis* sp. nov., two species of Eurotiales from rainforest soils

- in South America. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 64: 2871-2877.
- Matsuzawa, T., Horie, Y., Abliz, P., Gono, T., & Yaguchi, T. (2014). *Aspergillus huiyanae* sp. nov., a new teleomorphic species in *Aspergillus* sections sect. *Fumigati* isolated from desert soil in China, and described using polyphasic approach. *Mycoscience*. 55, (3), 213-220.
- McNeill J, Barrie FF, Buck WR, *et al.* (eds.) (2012). *International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Melbourne Code)*. Koeltz Scientific Books, Königstein. [Regnum vegetabile no. 154.]
- Menéndez, A., Bertoni, M. D., & Cabral, D. (1997). Endófitos fúngicos en *Juncus imbricatus* var. *chamissonis*: identificación de los patrones de colonización. *Revista Iberoamericana de Micología*, 14, 125-8.
- Mellado, E., Alcazar-Fuoli, L., Garcia-Effro, G., Alastruey-Izquierdo, N. A., Cuenca-Estrella, M., Rodríguez-Tudela, J. L. (2006). New resistance mechanisms to azole drugs in *Aspergillus fumigatus* and emergence of antifungal drugs-resistant *A. fumigatus* atypical strains. *Medical Mycology*, 44, S367-S371.
- Messuti, M. I. & Lorenzo, L. E. (1997). A new species of *Hysterium* from Patagonia, Argentina. *Mycol. Res.* 101 (3): 302-304.
- Messuti, M. I. & Lorenzo, L. E. (2003). Notes on the genus *Hysterographium* (Ascomycota, Hysteriaceae) in southern South America. *Nova Hedwigia* 76 (3-4): 451-458.
- Messuti, M. I. & Lorenzo L. E. (2007). Taxonomy of *Glonium* (Hysteriales, Ascomycota) in southern Argentina and Chile. *Nova Hedwigia* 84 (3-4): 521-528.
- Montenegro, G., Puch, S. S., Jewtuchowicz, V. M., Pinoni, M. V., Relloso, S., Temporitti, E., Iovannitti, C. A. & Mujica, M. T. (2009). Phenotypic and genotypic characterization of *Aspergillus lentulus* and *Aspergillus fumigatus* isolates in a patient with probable invasive aspergillosis. *Journal of medical microbiology*, 58 (3), 391-395.
- Morlans, M. C. (1995). Regiones naturales de Catamarca. Provincias geológicas y provincias fitogeográficas. *Revista de ciencia y técnica*, 2 (2), 1-42.
- Mouchacca, J., Allsopp, D., Colwell, R. R., & Hawksworth, D. L. (1993). Thermophilic fungi in desert soils: a neglected extreme environment. In *Microbial diversity and ecosystem function: proceedings of the IUBS/IUMS Workshop held at Egham, UK, 10-13 August 1993*. (pp. 265-288). CAB INTERNATIONAL.

- Mouchacca, J. (2007). Heat tolerant fungi and applied research: Addition to the previously treated group of strictly thermotolerant species. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23: 1755-1770.
- Moubasher, A. H. (1993). Soil fungi in Qatar and other Arab countries. The Centre for Scientific and Applied Research, University of Qatar.
- Munitz, M. S., Garrido, C. E., González, H. H., Resnik, S. L., Salas, P. M., & Montti, M. I. (2013). Mycoflora and potential mycotoxin production of freshly harvested blueberry in Concordia, Entre Ríos Province, Argentina. *International Journal of Fruit Science*, 13 (3), 312-325.
- Mueller, G. M. & Halling, R. E. (1995). Biodiversity and conservation of Neotropical montane forests. En *Proceedings of a symposium*, New York Botanical Garden, 21-26 June 1993. pp. 303-312. Churchill, S. P., Balslev, H., Forero, E., Luteyn, J. L. Eds.
- Negróni, P. (1957). Desarrollo de los estudios micológicos en la Argentina en el último decenio. *Mycopathologia et mycologia applicata*, 8 (3), 216-238.
- Negróni, P. & Daglio C. A. (1954). Microfitos de las tierras de Tucumán y Santiago del Estero. *Rev. Inst. Malbrán* 16: 118-119.
- Nesci, A., Barros, G., Castillo, C., & Etcheverry, M. (2006). Soil fungal population in preharvest maize ecosystem in different tillage practices in Argentina. *Soil and Tillage Research*, 91 (1), 143-149.
- Nixon, K. C. (2002). WinClada ver. 1.00. 08. Published by the author, Ithaca, NY.
- NRRL, ARS (Agriculture Research Service) Culture Collection. <http://NRRL.ncaur.usda.gov/database.html> 12/04/16.
- Nováková, A., Hubka, V., Dudová, Z., Matsuzawa, T., Kubátová, A., Yaguchi, T., & Kolařík, M. (2014). New species in *Aspergillus* section *Fumigati* from reclamation sites in Wyoming (USA) and revision of *A. viridinutans* complex. *Fungal Diversity*, 64 (1), 253-274.
- Palacios, S. A., Ramírez, M. L., Cabrera Zalazar, M., Farnochi, M. C., Zappacosta, D., Chiacchiera, S. M., Reynoso, M. M., Chulze, S. N. & Torres, A. M. (2011). Occurrence of *Fusarium* spp. and fumonisin in durum wheat grains. *Journal of agricultural and food chemistry*, 59 (22), 12264-12269.
- Peña, N.I. & Arambarri, A.M. (1996). Hongos marinos lignícolas de Mar del Plata (provincia de Buenos Aires, Argentina). II. *Darwiniana* 34 (1-4): 293-298.
- Peña, N.I. & Arambarri, A.M. (1997). *Argentinomyces naviculisporis* Gen. ET. sp. nov., a new marine lignicolous ascomycete from Mar del Plata, Argentina. *Mycotaxon*, 65: 331-337.

- Peña, N. I. & Arambarri, A. M. (1998). Hongos marinos lignícolas de la laguna costera de mar Chiquita (Provincia de Buenos Aires, Argentina). I. Ascomycotina y Deuteromycotina sobre *Spartina densiflora*. *Darwiniana* 35: 61-67.
- Peña, N.I.; Arambarri, A.M. & Negri, R.M. (1996). Hongos marinos lignícolas de Mar del Plata (provincia de Buenos Aires, Argentina). I. *Darwiniana* 34 (1-4): 267-273.
- Pereira, S. (2013). *Aspergillus* spp. en plantas de maní nativo y cultivado. Identificación, capacidad toxicogénica y control biológico. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Buenos Aires.
- Peterson, S. W. (2000). Phylogenetic analysis of *Penicillium* species based on ITS and LSU-rDNA nucleotide sequences. Integration of Modern Taxonomic Methods for *Penicillium* and *Aspergillus* Classification. Hargrove Academic Publishers, Amsterdam.
- Peterson, S. W., Ito, Y., Horn, B. W., & Goto, T. (2001). *Aspergillus bombycis*, a new aflatoxigenic species and genetic variation in its sibling species, *A. nomius*. *Mycologia*, 689-703.
- Peterson, S. W. (2008). Phylogenetic analysis of *Aspergillus* species using DNA sequences from four loci. *Mycologia*, 100 (2), 205-226.
- Peterson, S.W., Jurjevic, Z., Bills, G.F., Stchigel A.M., Guarro J., Vega F. E. (2010). Genus *Hamigera*, six new species and multilocus DNA sequence based phylogeny. *Mycologia* 102 (4): 847-64.
- Piasai, O., & Manoch, L. (2009). Coprophilous ascomycetes from Phu Luang Wildlife Sanctuary and Khao Yai National Park in Thailand. *Kasetsart Journal (National Sciences)*, 43, 34-40.
- Piecková, E., Bernat, D., & Jesenská, Z. (1994). Heat resistant fungi isolated from soil. *International Journal of Food Microbiology*, 22 (4), 297-299.
- Pildaín, M. B., Cabral, D., & Vaamonde, G. (2005). Poblaciones de *Aspergillus flavus* en maní cultivado en diferentes zonas agroecológicas de la Argentina, caracterización morfológica y toxigénica. *Rev Invest Agropec*, 34, 3-19.
- Pildaín, M. B., Frisvad, J. C., Vaamonde, G., Cabral, D., Varga, J., & Samson, R. A. (2008). Two novel aflatoxin-producing *Aspergillus* species from Argentinean peanuts. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 58 (3), 725-735.
- Pitt J.I. (1979). The genus *Penicillium* and its teleomorphic states *Eupenicillium* and *Talaromyces*. Academic Press Inc, London.

- Pitt, J. I., & Hocking, A. D... (1979). *Merimbla* gen. nov. for the anamorphic state of *Talaromyces avellaneus*. Can. J. Bot. 57, 2394–2398.
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (1997). Fungi and Food Spoilage. Blackie Academic & Professional. New South Wales, Australia.
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). Fungi and Food Spoilage. Springer, New York.
- Pitt, J. I., & Taylor, J. W. (2014). *Aspergillus*, its sexual states, and the new International Code of Nomenclature. Mycologia, 106 (5), 1051-1062.
- Pringle, A., Baker, D. M., Platt, J. L., Wares, J. P., Latge, J. P., & Taylor, J. W. (2005). Cryptic speciation in the cosmopolitan and clonal human pathogenic fungus *Aspergillus fumigatus*. Evolution, 59 (9), 1886-1899.
- Ramírez-Camejo, L. A., Zuluaga-Montero, A., Lázaro-Escudero, M., Hernández-Kendall, V., & Bayman, P. (2012). Phylogeography of the cosmopolitan fungus *Aspergillus flavus*: is everything everywhere?. Fungal biology, 116 (3), 452-463.
- Puls, J., & Coughlan, M. P. (1996). Purification and characterization of two arabinofuranosidases from solid-state cultures of the fungus *Penicillium capsulatum*. Applied and environmental microbiology, 62: 168-173.
- Put, H. (1964). A selective method for cultivating heat resistant moulds, particularly those of the genus *Byssochlamys*, and their presence in Dutch soil. Journal of Applied Bacteriology, 27 (1), 59-64.
- Raper, K. B., & Fennell, D. I. (1948). New species of *Penicillium*. Mycologia, 40: 507-546.
- Raper, K. B., & Fennell, D. I. (1965). *The genus Aspergillus*.
- Reynoso, M. M., Torres, A. M., & Chulze, S. N. (2006). Biological species in the *Gibberella fujikuroi* species complex isolated from maize kernels in Argentina. Plant Pathology Journal, 5 (3), 350-355.
- Ridgway, R. 1912: Color standards and color nomenclature. – Published by the author, Washington DC.
- Romero, A.I. (1994). Estudio florístico y ecológico de micromicetes xilófilos sobre tocones de *Eucalyptus viminalis* en el NE de la Pcia. de Buenos aires. Tesis Doctoral, Universidad de Buenos Aires.
- Romero, S. M., Comerio, R. M., Larumbe, G., Ritieni, A., Vaamonde, G., & Pinto, V. F. (2005). Toxigenic fungi isolated from dried vine fruits in Argentina. International journal of food microbiology, 104 (1), 43-49.

- Rossman, A.Y. & Palm-Hernández, M.E. 2008. Systematics of plant pathogenic fungi: why it matters. *Plant Disease* 92: 1376-1386.
- Rypien, K. L., Andras, J. P., & Harvell, C. (2008). Globally panmictic population structure in the opportunistic fungal pathogen *Aspergillus sydowii*. *Molecular Ecology*, 17 (18), 4068-4078.
- Sacchi, C., González, H. H. L., Broggi, L. E., Pacin, A., Resnik, S. L., Cano, G., & Taglieri, D. (2009). Fungal contamination and mycotoxin natural occurrence in oats for race horses feeding in Argentina. *Animal feed science and technology*, 152 (3), 330-335.
- Samadi, R., Arzanlou, M., Ghosta, Y., Babai-Ahari, A., & Samadi, A. Biodiversity of *Aspergillus* species in soils of the National Park of Urmia Lake (NW Iran).
- Samuels, G. J., Petrini, O., Kuhls, K., Lieckfeldt, E., & Kubicek, C. P. (1998). The *Hypocrea schweinitzii* complex and *Trichoderma* sect. *Longibrachiatum*. *Studies in Mycology* 41, 0-54.
- Samson, R. A., & Mouchacca, J. (1975). Two new soil-borne cleistothecial ascomycetes. *Canadian Journal of Botany*, 53: 1634-1639.
- Samson, R. A. (1994). Taxonomy-current concepts of *Aspergillus* systematics. In *Aspergillus* (pp. 1-22). Springer US.
- Samson, R.A., Hoekstra, E., Frisvad J.C & O. Filtenborg (eds.) 2000: Introduction to Food- and airborne Fungi, 6th ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht.
- Samson, R. A., Houbraken, J. A. M. P., Kuijpers, A. F., Frank, J. M., & Frisvad, J. C. (2004). New ochratoxin A or sclerotium producing species in *Aspergillus* section *Nigri*. *Studies in Mycology*, 50, 45-61.
- Samson, R. A., Hong, S., Peterson, S. W., Frisvad, J. C., & Varga, J. (2007). Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Fumigati* and its teleomorph *Neosartorya*. *Studies in Mycology*, 59, 147-203.
- Samson, R. A., Houbraken, J., Varga, J., & Frisvad, J. C. (2009). Polyphasic taxonomy of the heat resistant ascomycete genus *Byssoschlamys* and its *Paecilomyces* anamorphs. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 22 (1), 14-27.
- Samson, R. A., Yilmaz, N., Houbraken, J., Spierenburg, H., Seifert, K. A., Peterson, S. W., Varga, J. & Frisvad, J. C. (2011). Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. *Studies in Mycology*, 70, 159-183.

- Samson, R. A., Visagie, C. M., Houbraken, J., Hong, S. B., Hubka, V., Klaassen, C. H., Perrone, G., Seifert, K. A., Susca, A., Tanney, J. B., Varga, J., Kocsub, S., Szigeti, G., Yaguchi, T. & Frisvad, J. C. (2014). Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology*, 78, 141-173.
- Sánchez, V., González, A.M. & Lurá, M.C. (2006). Análisis microbiológico de hierbas medicinales y su contaminación por especies de *aspergillus* toxicogénicos. *Acta Farm. Bonaerense*, 25 (1), 89-94.
- Sánchez, R. (2011). Estudio Sistemático de Micromicetes de la Región Andinopatagónica. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur.
- Sanmanoch, W., Mongkolthanaruk, W., Kanokmedhakul, S., Aimi, T., & Boonlue, S. (2013). Isolation of ascomycetous fungi, *Neosartorya* spp. and screening for its antibacterial metabolites. *Journal of Life Sciences and Technologies*, 1 (3), 180-183.
- Scaramuzza, N., & Berni, E. (2014). Heat-resistance of *Hamigera avellanea* and *Thermoascus crustaceus* isolated from pasteurized acid products. *International Journal of Food Microbiology*, 168, 63-68.
- Schol-Schwarz, M. B. (1959). The genus *Epicoccum* Link. *Transactions of the British Mycological Society*, 42 (2), 149IN3-173.
- Scholte, R. P. M., Samson, R. A., Dijksterhuis, J. (2004). Spoilage fungi in the industrial processing of food. *Introduction to Food-and Airborne Fungi*, (Ed. 7), 339-356.
- Scott, D. B. (1968). The genus *Eupenicillium* Ludwig. *Council for Scientific and Industrial Research Report*, 272.
- Sepúlveda, O., & Piontelli, L. (2005). Poblaciones de *Aspergillus* en semillas de maíz y soja de importación argentina: Énfasis en la sección *Flavi*. *Bol. Micol*, 20, 41-55.
- Soares, C., Rodrigues, P., Peterson, S. W., Lima, N., & Venâncio, A. (2012). Three new species of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from almonds and maize in Portugal. *Mycologia*, 104 (3), 682-697.
- Sobrero, M. S., de la Luz, M., Sanchis, J. C., & Basílico, J. C. (2002). Identificación de variedades de *Neosartorya fischeri* aisladas de jugos cítricos concentrados. *FABICIB*, 6 (1), 183-187.
- Splittstoesser, D. F., Kuss, F. R., Harrison, W., & Prest, D. B. (1971). Incidence of heat-resistant molds in eastern orchards and vineyards. *Applied microbiology*, 21 (2), 335-337.
- Splittstoesser, D. F., Lammers, J. M., Downing, D. L., & Churey, J. J. (1989). Heat resistance of *Eurotium herbariorum*, a xerophilic mold. *Journal of Food Science*, 54 (3), 683-685.

- Stchigel, A. M. (2000). Estudio taxonómico de los Ascomycetes del suelo. Tesis Doctoral. Universitat Rovira i Virgili. <http://tesis.enxarxa.net/handle/10803/8735>, 04/05/16
- Stern, W. T. (2004). Botanical Latin. - Timber Press, Portland.
- Stolk, A. C., & Samson, R. A. (1971). Studies on *Talaromyces* and related genera I. *Hamigera* gen. nov. and *Byssochlamys*. Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi, 6 (3), 341-357.
- Stolk, A. C., & Samson, R. A. (1972). The genus *Talaromyces*: studies on *Talaromyces* and related genera. Centraalbureau voor Schimmelcultures.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipowski, A., & Kumar, S. (2013). MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular biology and evolution 30, 2725-2729.
- Taniwaki, M. H., Pitt, J. I., Iamanaka, B. T., Sartori, D., Copetti, M. V., Balajee, A., Funfaru, N. H. P. & Frisvad, J. C. (2012). *Aspergillus bertholletius* sp. nov. from Brazil Nuts. PloS one, 7 (8), e42480.
- Thom, C., & Raper, K. B. (1941). The *Aspergillus glaucus* group (Vol. 424). US Dept. of Agriculture.
- Tournas, V. (1994). Heat-resistant fungi of importance to the food and beverage industry. Critical Reviews in Microbiology, 20 (4), 243-263.
- Udagawa, S., Tsubouchi, H., Horie, Y. (1991). *Neosartorya hiratsukae*, a new species of food-borne Ascomycetes. Transactions of the Mycological Society of Japan, 32, 23-29.
- Van der Spuy, J. E., Matthee, F. N., & Crafford, D. J. A. (1975). Heat resistance of moulds *Penicillium vermiculatum* Dangeard and *Penicillium brefeldianum* Dodge in apple juice. Phytophylactica 7: 105.
- Varga, J., Houbaken, J., Van Der Lee, H. A., Verweij, P. E., & Samson, R. A. (2008). *Aspergillus calidoustus* sp. nov., causative agent of human infections previously assigned to *Aspergillus ustus*. Eukaryotic cell, 7 (4), 630-638.
- Varga, J., Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2010). *Aspergillus* sect. *Aeni* sect. nov., a new section of the genus for *A. karnatakaensis* sp. nov. and some allied fungi. IMA fungus, 1 (2), 197-205.
- Varga, J., Frisvad, J. C., & Samson, R. A. (2011). Two new aflatoxin producing species, and an overview of *Aspergillus* section *Flavi*. Studies in Mycology, 69, 57-80.
- Varsavsky (1965). Contribución al conocimiento de las Gymnoascaceae argentinas. Tesis Doctoral.

- Vincenzini, A. Z., Luque, A., Zapata, M. L., Basílico, J. C. (1998). Aislamiento e identificación de hongos resistentes al calor en frutillas. *FABICIB* 2: 91-97.
- Visagie, C. M., Roets, F., & Jacobs, K. (2009). A new species of *Penicillium*, *P. ramulosum* sp. nov., from the natural environment. *Mycologia*, 101 (6), 888-895.
- Visagie, C. M., & Jacobs, K. (2012). Three new additions to the genus *Talaromyces* isolated from Atlantis sandveld fynbos soils. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 28 (1), 14-24.
- Visagie, C. M., Houbraken, J., Frisvad, J. C., Hong, S. B., Klaassen, C. H. W., Perrone, G., Seifert, K. A., Susca, A., Tanney, J. B., Varga, J., Kocsubé, S., Szigeti, G., Yaguchi, T., & Samson, R. A. (2014). Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Studies in mycology*, 78, 343-371.
- Warcup, J. H. & Baker, K. F. (1963). Occurrence of dormant ascospores in soil. *Nature*, 197, 1317-1318.
- Watanabe, T. (1994). *Soil and seed fungi*. New York, Lewis Publishers.
- Watanabe, T. (2010). *Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species*. CRC Press.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. J. W. T., & Taylor, J. W. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR protocols: a guide to methods and applications*, 18 (1), 315-322.
- Winitzky, J. (1948). Las especies de *Aspergillus* en muestras de tierra y aire de la Ciudad de Buenos Aires. *Revista de Investigaciones Agrícolas* II (3): 97-104.
- Winitzky, J. (1952). Las especies de “*Aspergillus*” en muestras de tierra y aire de la “Estepa pampeana”. *Revista de Investigaciones Agrícolas*, V (3), 303-316.
- Winitzky, J. (1953). Las especies de “*Aspergillus*” en muestras de tierra y aire del “Parque Mesopotámico” y de la “Selva Misionera”. *Revista de Investigaciones Agrícolas*, 7, 341-354.
- Winitzky de Wilson, J. (1957). Las especies de *Aspergillus* en muestras de tierra y aire del "Parque Chaqueño". *Revista de Investigaciones Agrícolas*, 11 (2), 149-162.
- Wright, J. E., Godeas, A. M., & Bertoni, M. D. (1971). Micoflora del suelo de la Argentina. II. Algunas formas ascospóricas de la Provincia de Buenos Aires. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 14 (1-2), 43-56.
- Wright, J. E., & Marchand, S. (1972). Micoflora del suelo de la Argentina. III. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, 14, 305-310.

- Yaguchi, T., Matsuzawa, T., Tanaka, R., Abliz, P., Hui, Y., & Horie, Y. (2010). Two new species of *Neosartorya* isolated from soil in Xinjiang, China. *Mycoscience*, 51(4), 253-262.
- Yamada, A., Noguch, H., Sakae, H., Sugita, T., Hiruma, M., & Hiruma, M. (2012). A case of onychomycosis caused by *Aspergillus sydowii*. *Medical Mycology Journal*, 53 (3), 205-209.
- Yilmaz, N., Visagie, C. M., Houbraken, J., 2014). Polyphasic taxonomy of the genus *Talaromyces*. *Studies in Mycology*, 78, 175-341.
- Yim, T., Kanokmedhakul, K., Kanokmedhakul, S., Sanmanoch, W., & Boonlue, S. (2014). A new meroterpenoid tatenic acid from the fungus *Neosartorya tatenoi* KGU-2NK23. *Natural product research* 28, 1847-1852.
- Zalar, P., Frisvad, J. C., Gunde-Cimerman, N., Varga, J., & Samson, R. A. (2008). Four new species of *Emericella* from the Mediterranean region of Europe. *Mycologia*, 100 (5), 779-795.

Figuras

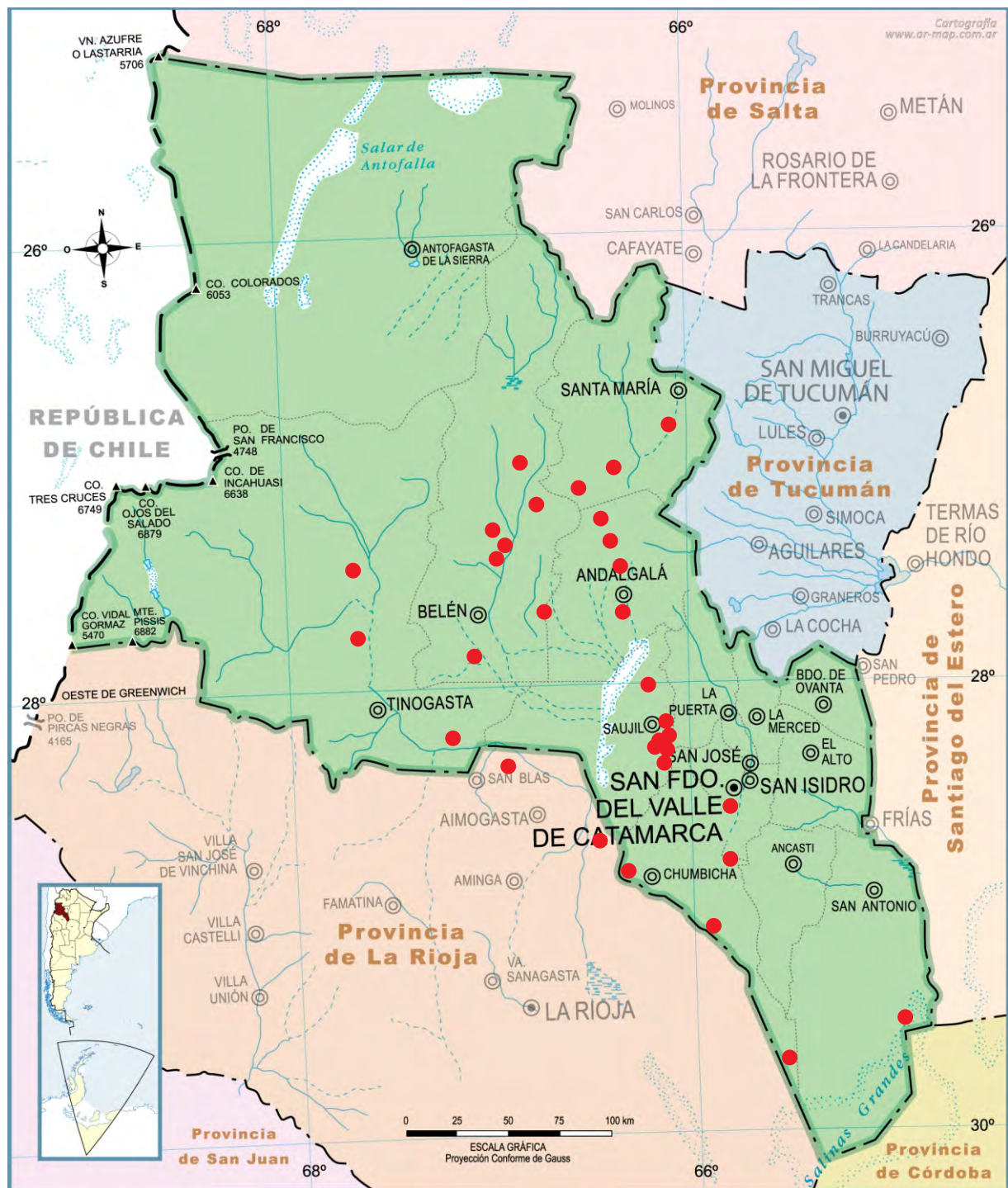


Figura 1: Mapa político de la Provincia de Catamarca con la ubicación aproximada de los sitios de muestreo (puntos rojos).



Figura 2: Vistas de algunos sitios de muestreo. **A-B.** Salinas, muestras 02 (Verano) y 32 (Invierno), respectivamente. **C.** RP 25, entre Pomán y Rosario de Colana (09, V). **D.** RN 60, entre Mazán y Villa Mazán (49, I). **E.** RN 40, San Fernando a Puerta de Corral Quemado (14, V). **F.** RN 40 (57, I). **G.** Entre Corral Quemado y Papachacra (16, V). **H.** RN 60, entre Tinogasta y Fiambalá (61, I).

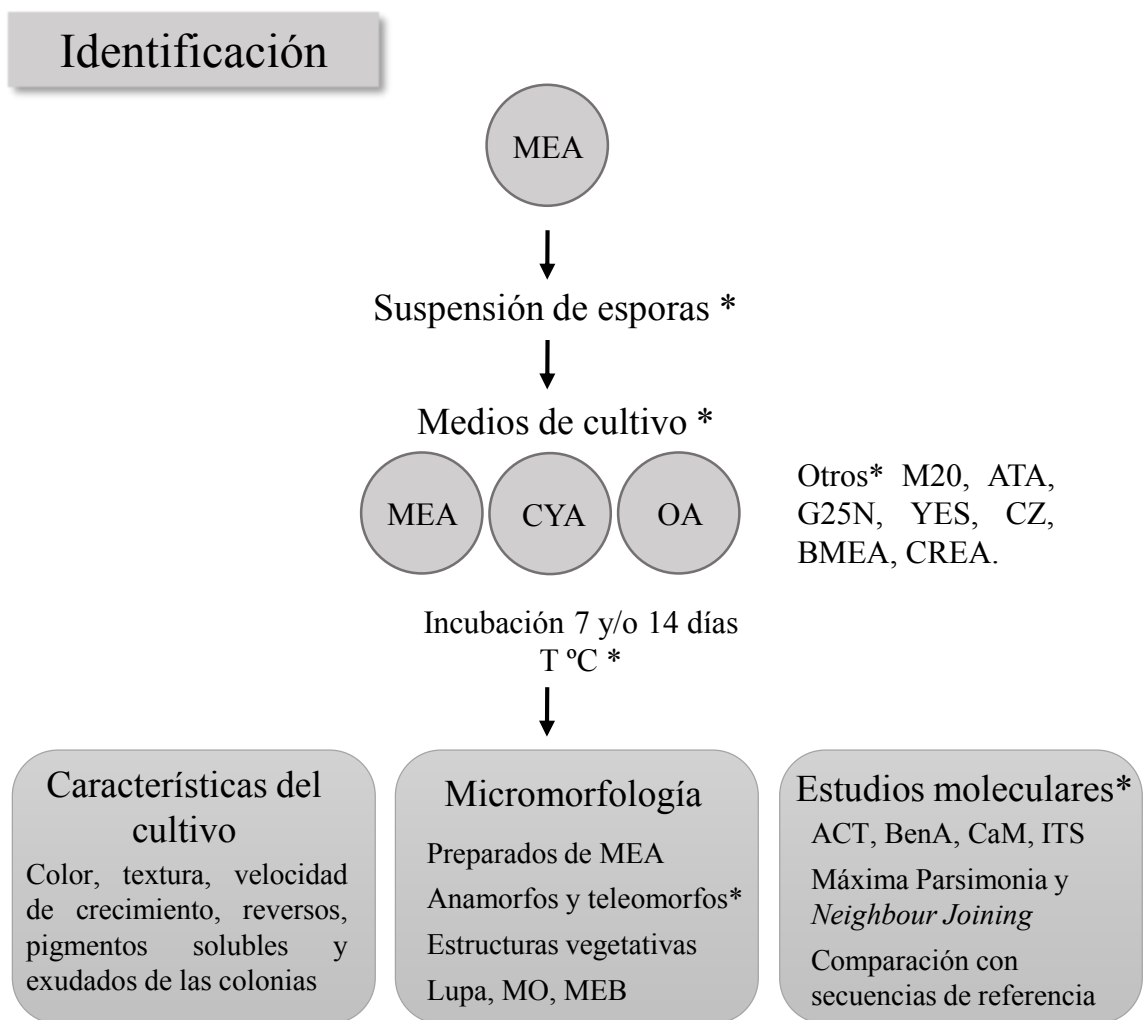
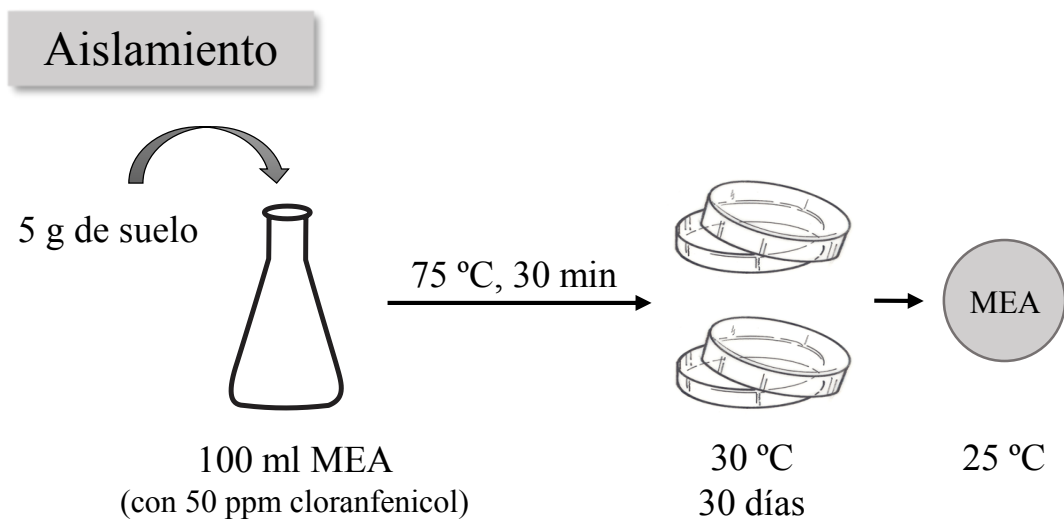


Figura 3: Esquema de la metodología del aislamiento e identificación de cepas termorresistentes. * Según los géneros tratados.

β-tubulina (BenA)

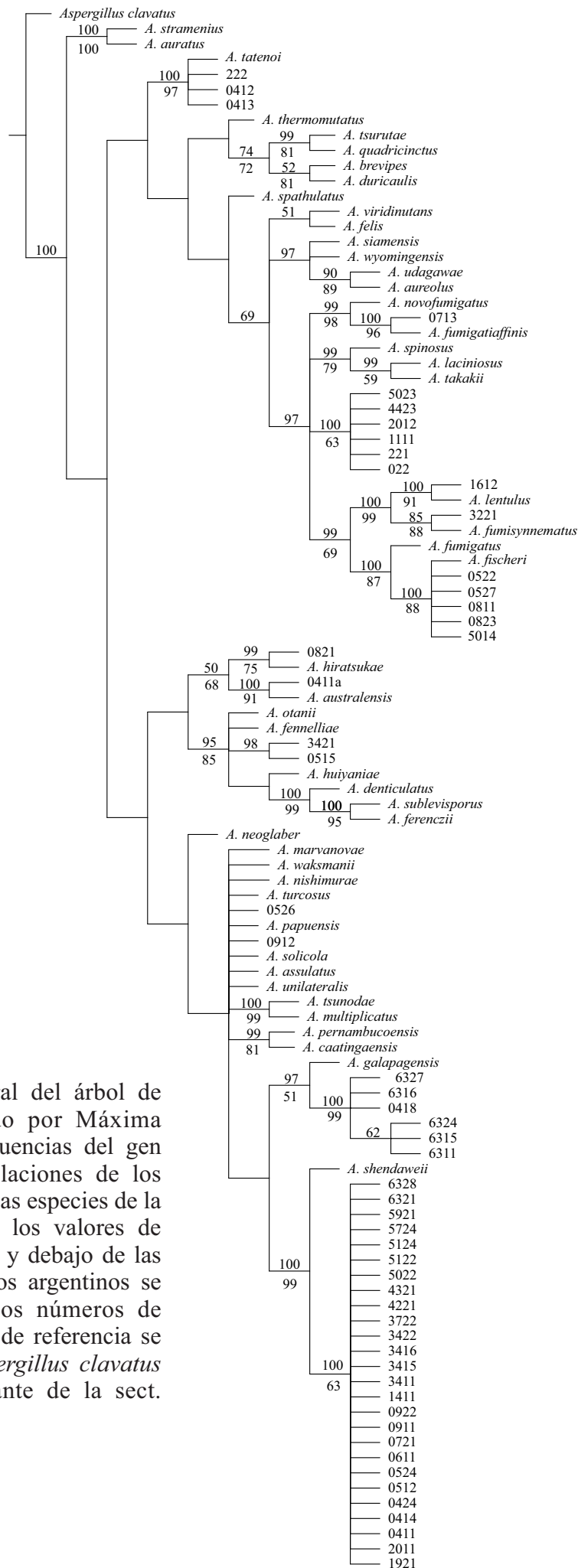


Figura 4: Topología general del árbol de consenso estricto, obtenido por Máxima Parsimonia, a partir de secuencias del gen BenA. Se presentan las relaciones de los aislamientos argentinos con las especies de la sect. *Fumigati*. Se exhiben los valores de *bootstrap* ≥ 50 , arriba (MP) y debajo de las ramas (NJ). Los aislamientos argentinos se presentan con números. Los números de GenBank de las secuencias de referencia se detallan en la Tabla 2. *Aspergillus clavatus* como *outgroup*, representante de la sect. *Clavati*.

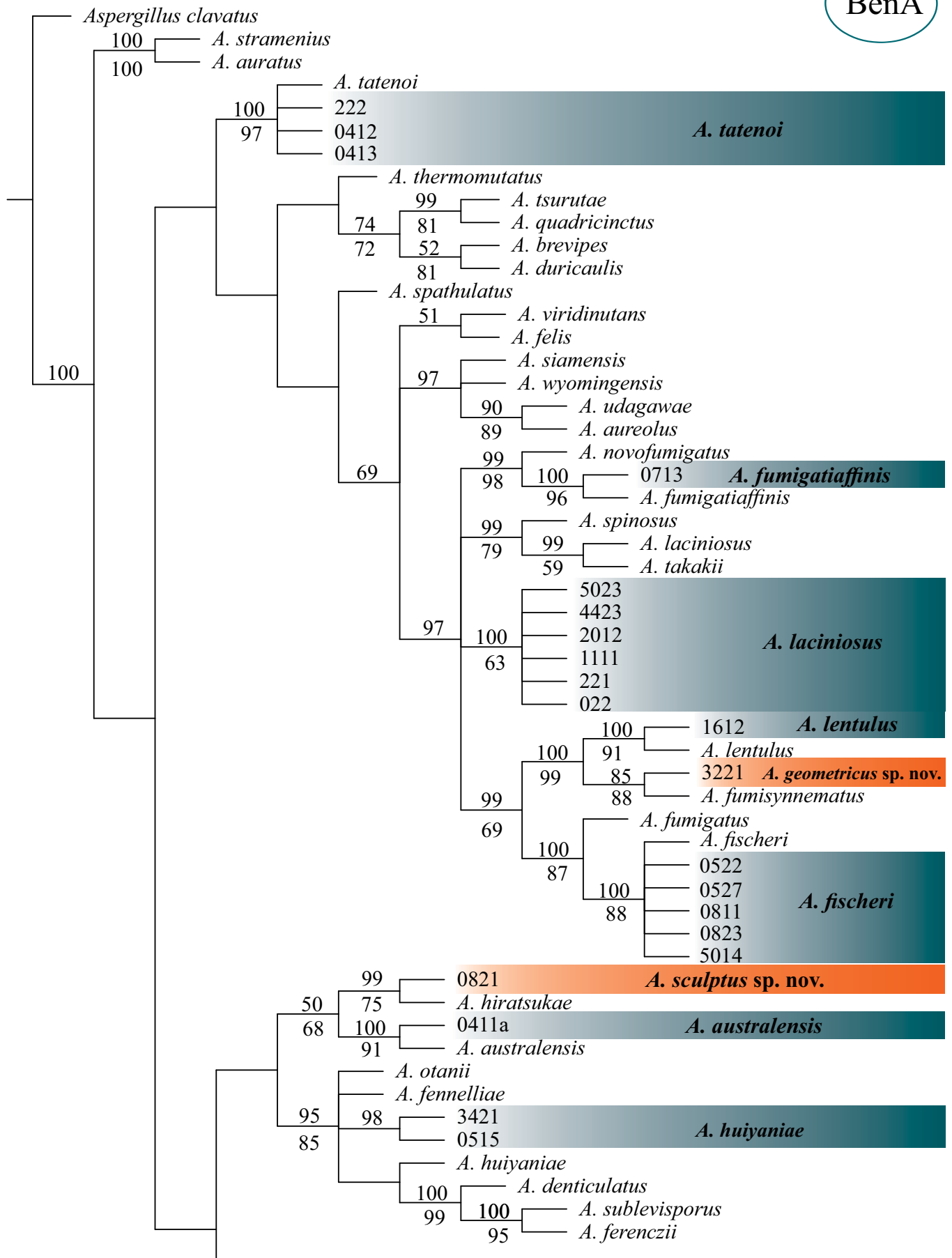


Figura 5: Ampliación 1 del árbol de la Figura 4, que exhibe las conclusiones en cuanto a las identificaciones de las cepas argentinas.

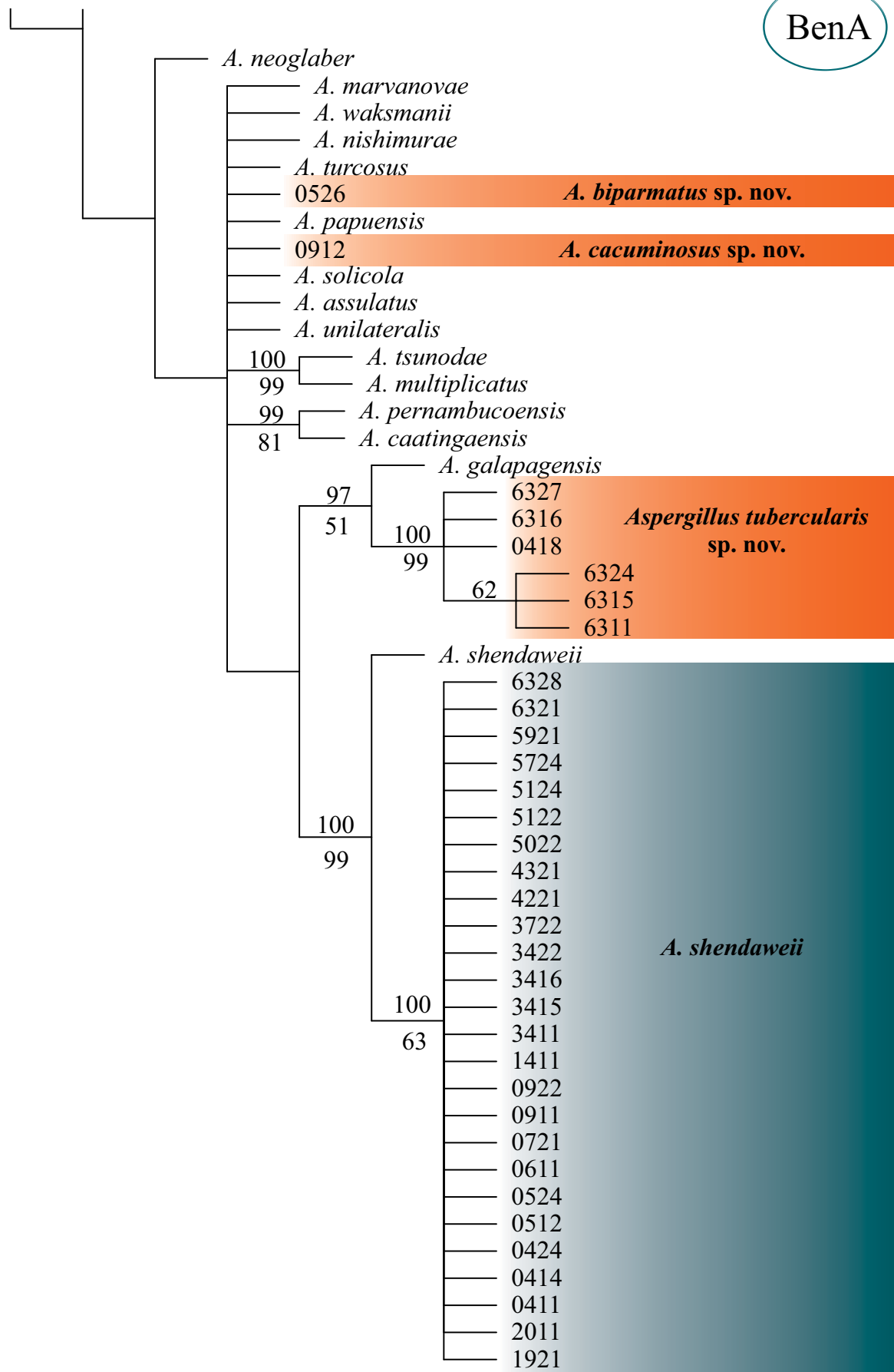


Figura 6: Ampliación 2 del árbol de la Figura 4, que exhibe las conclusiones en cuanto a las identificaciones de las cepas argentinas.

Calmodulina (CaM)

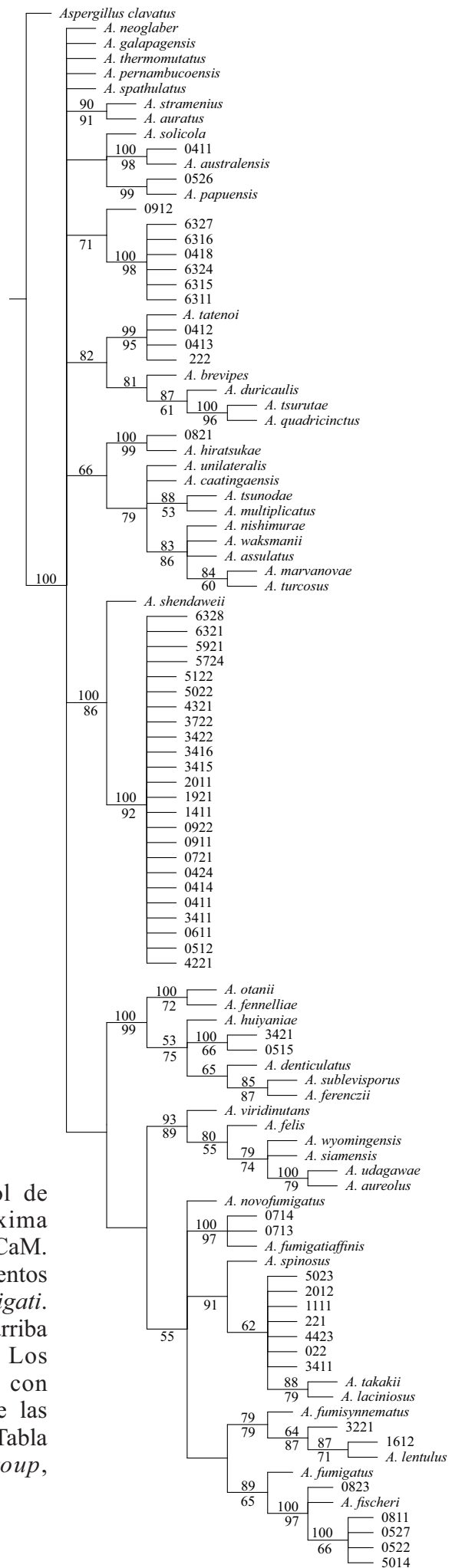


Figura 7: Topología general del árbol de consenso estricto, obtenido por Máxima Parsimonia, a partir de secuencias del gen CaM. Se presentan las relaciones de los aislamientos argentinos con las especies de la sect. *Fumigati*. Se exhiben los valores de *bootstrap* ≥ 50 , arriba (MP) y debajo de las ramas (NJ). Los aislamientos argentinos se presentan con números. Los números de GenBank de las secuencias de referencia se detallan en la Tabla 2. *Aspergillus clavatus* como *outgroup*, representante de la sect. *Clavati*.

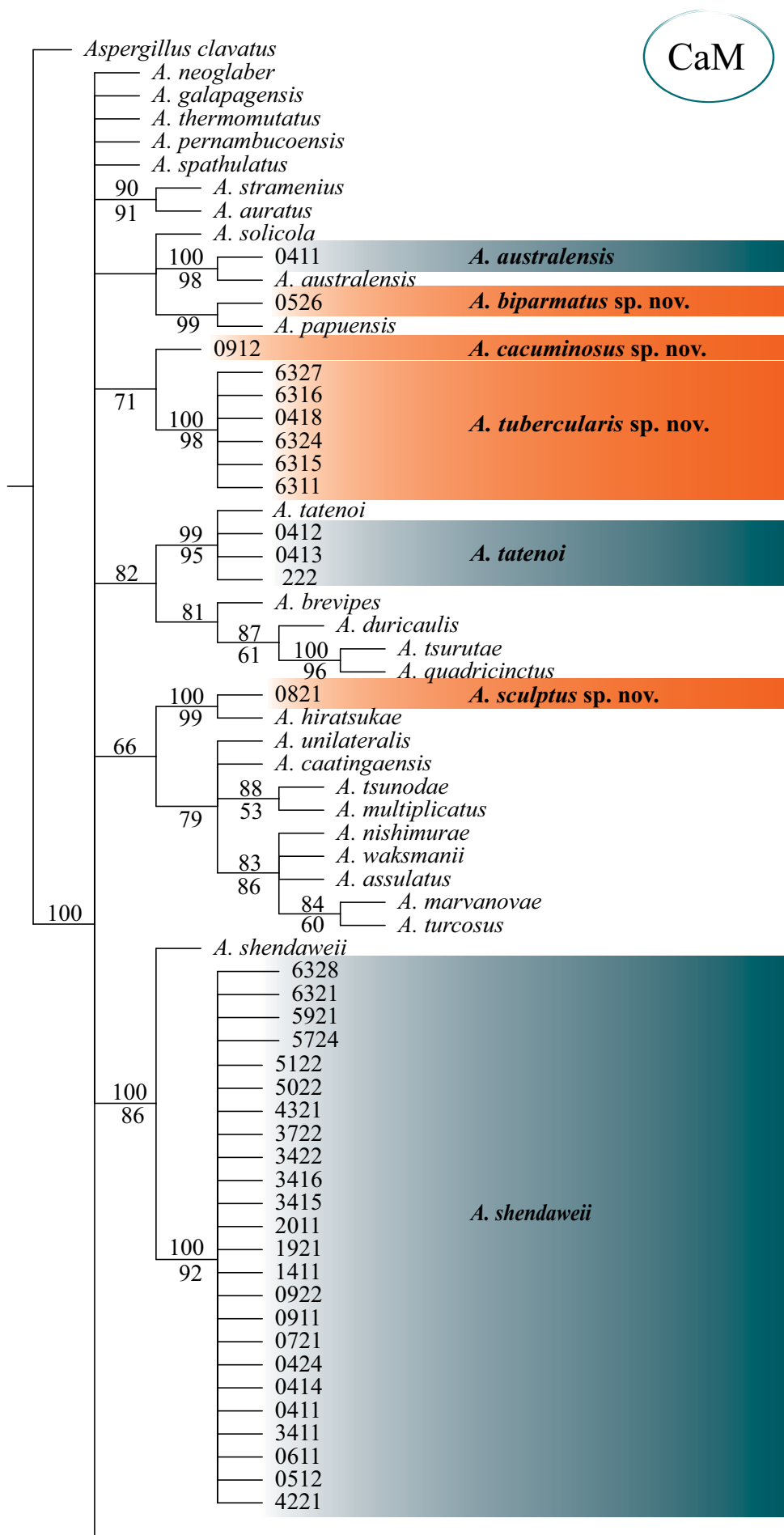


Figura 8: Ampliación 1 del árbol de la Figura 7, que exhibe las conclusiones en cuanto a las identificaciones de las cepas argentinas.

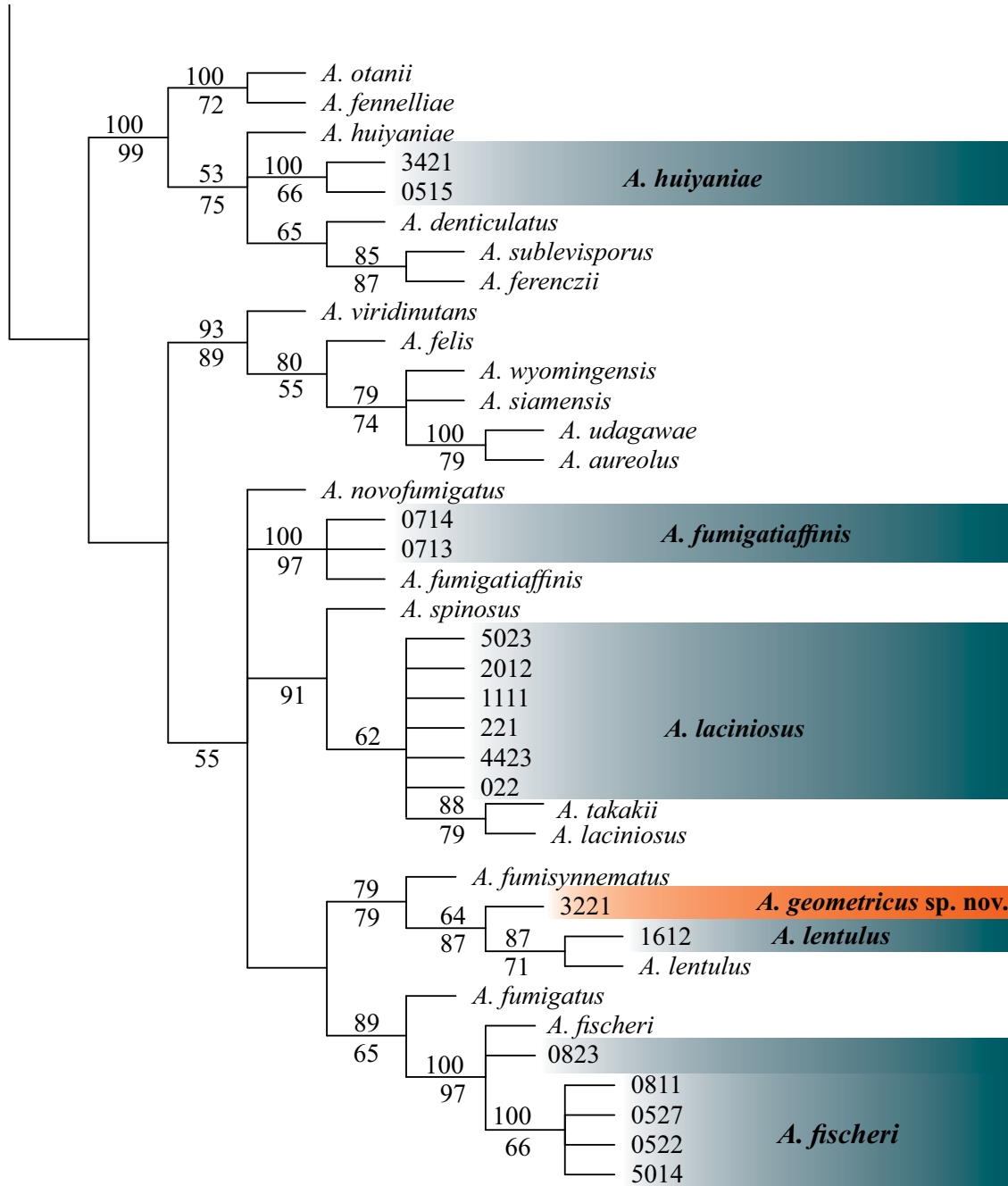


Figura 9: Ampliación 2 del árbol de la Figura 7, que exhibe las conclusiones en cuanto a las identificaciones de las cepas argentinas.

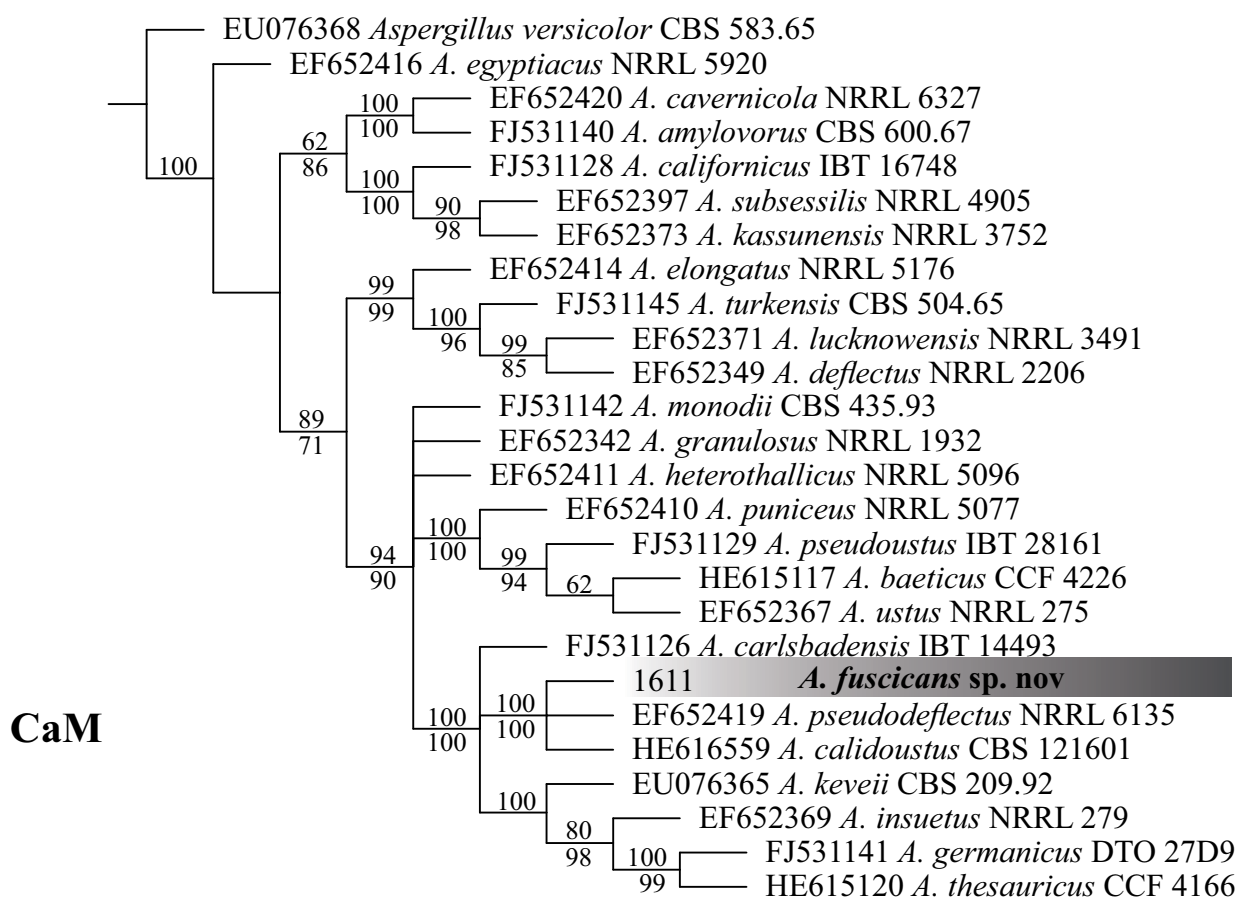
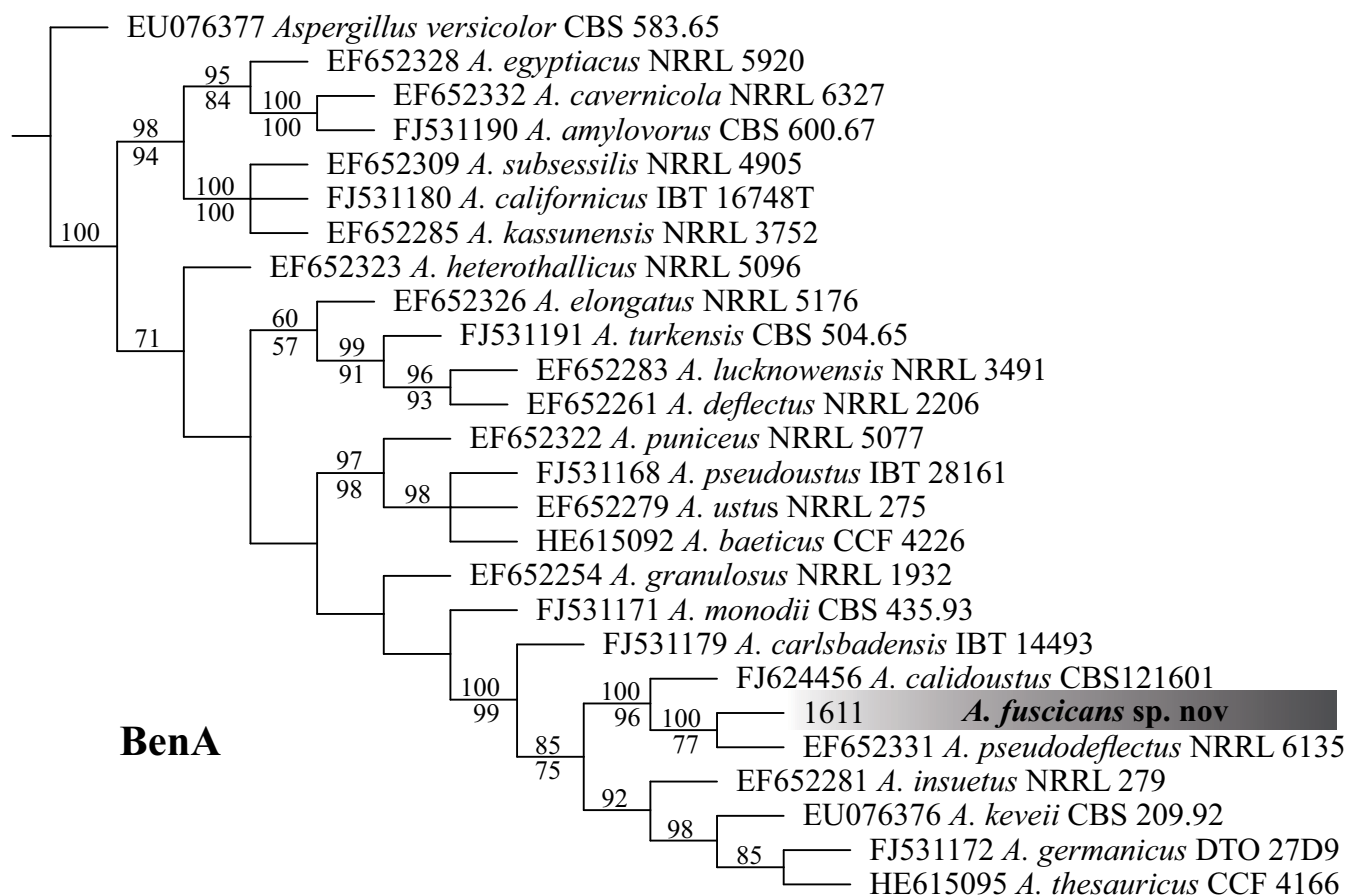


Figura 10: Árboles de consenso estricto (BenA y CaM), obtenidos por Máxima Parsimonia mostrando las relaciones del aislamiento argentino con las especies de la sect. *Usti*. Los valores de *bs* de MP y NJ > 50% se muestran por encima y debajo de las ramas respectivamente. En los nodos terminales se indica el número de GenBank, el nombre de la especie y el número de la colección.

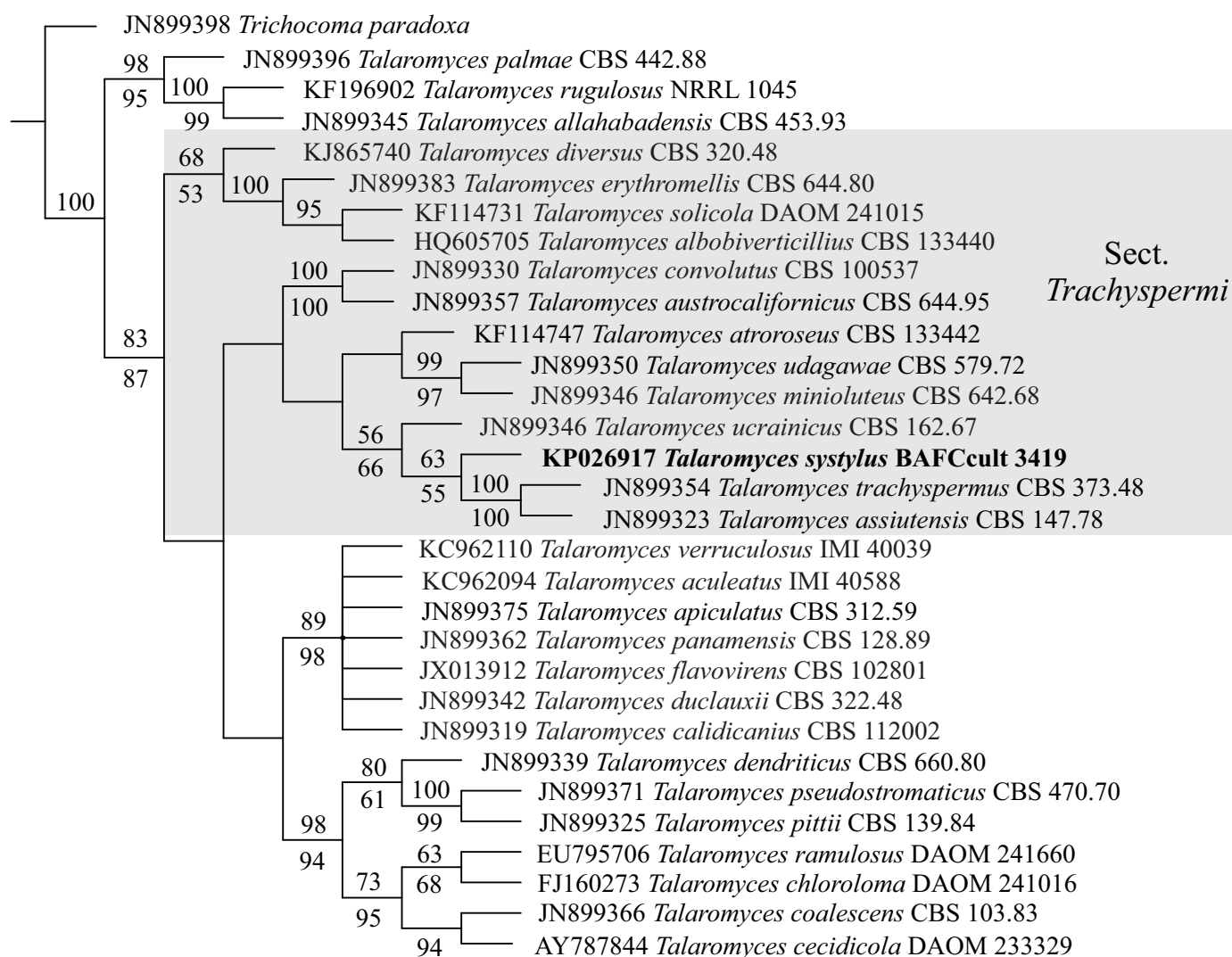


Figura 11: Árbol de consenso estricto construido por Máxima Parsimonia en base a secuencias de ITS. Se muestran arriba y debajo de las ramas los valores de bs de MP y NJ >50%, respectivamente. En los nodos terminales se indican los números de GenBank, los nombres de las especies y el número de colección.

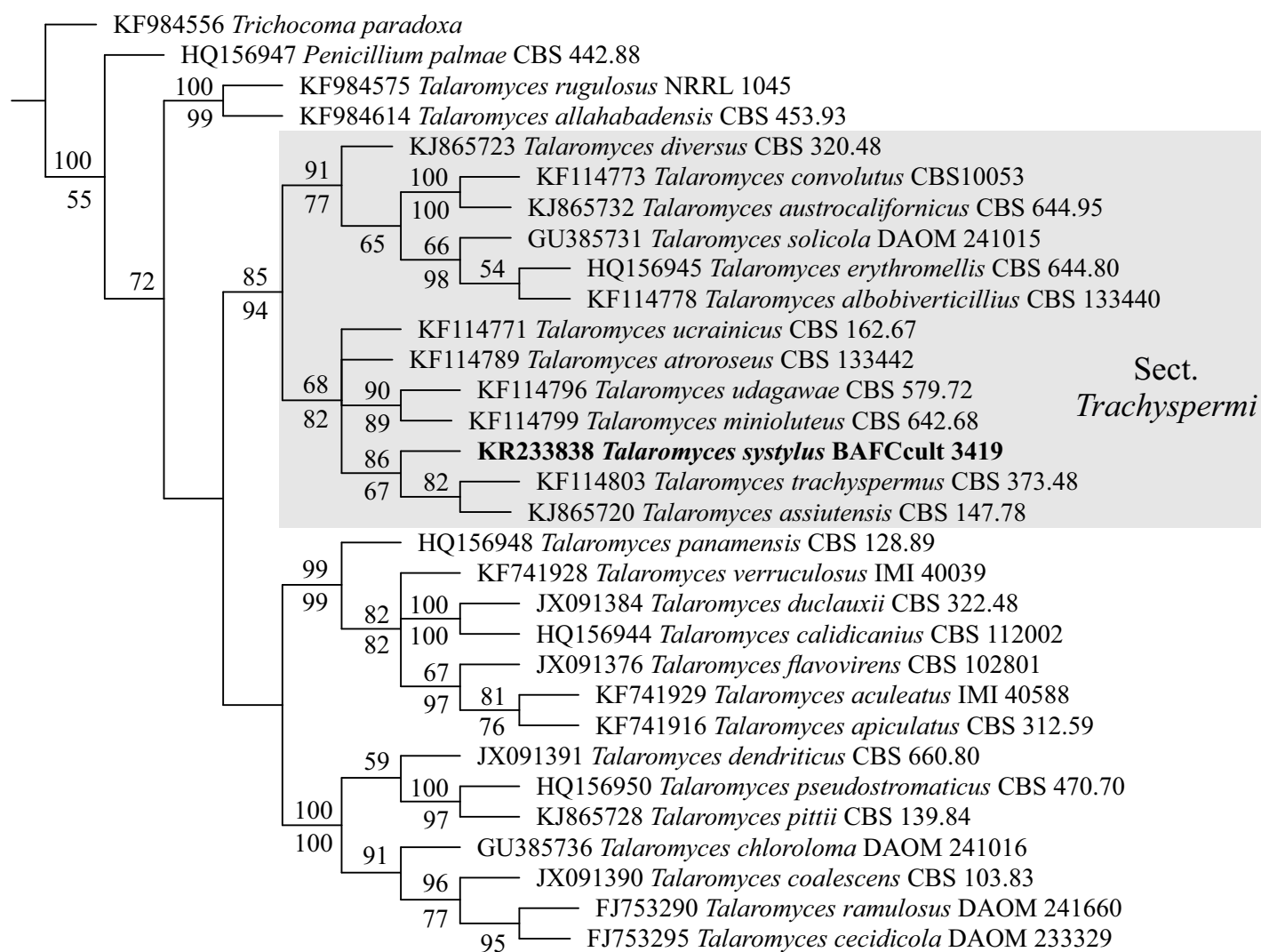


Figura 12: Árbol de consenso estricto construido por Máxima Parsimonia en base a secuencias de BenA. Se muestran arriba y debajo de las ramas los valores de bs de MP y NJ >50%, respectivamente. En los nodos terminales se indican los números de GenBank, los nombres de las especies y el número de colección.

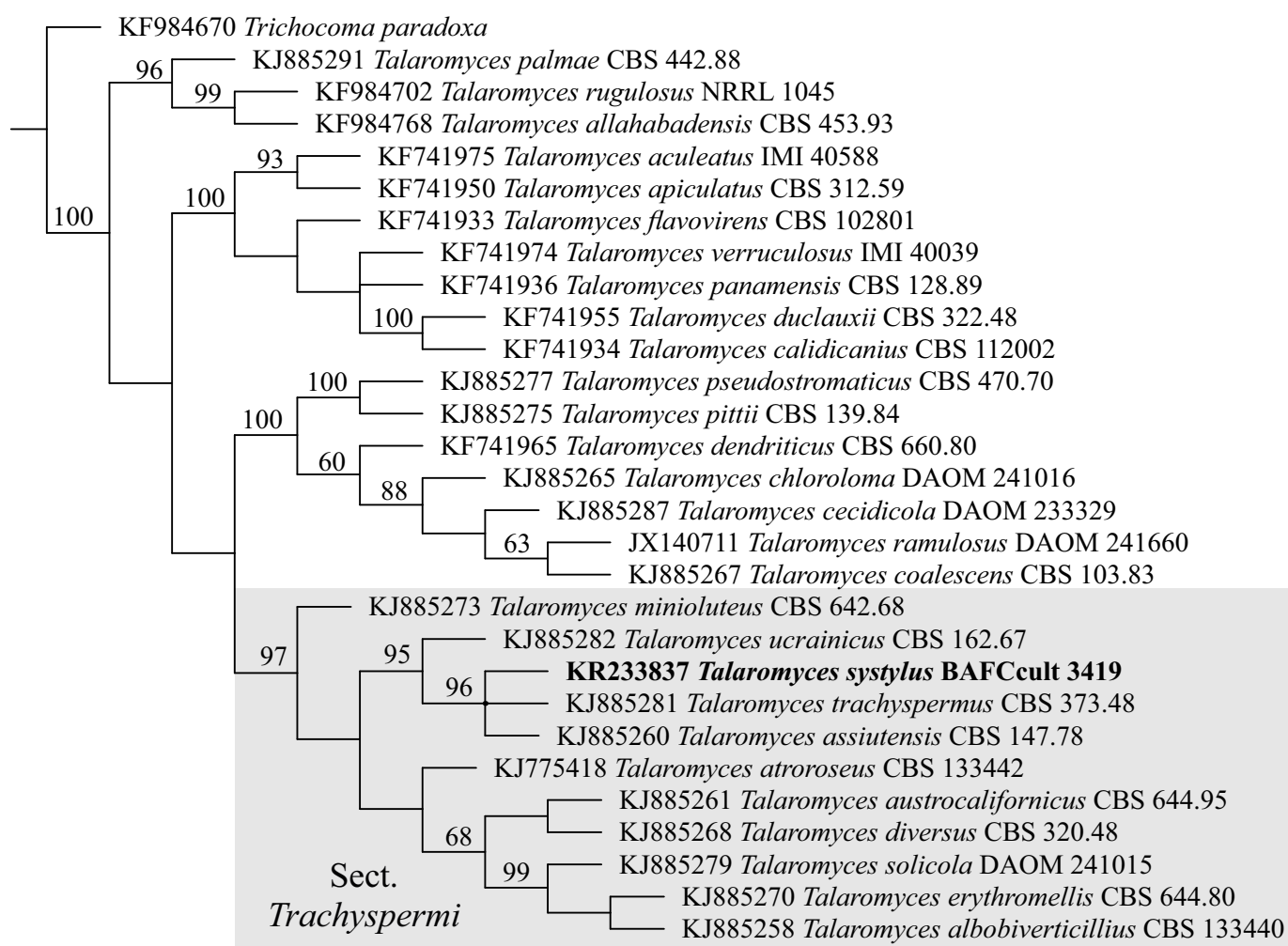


Figura 13: Árbol de consenso estricto construido por Máxima Parsimonia en base a secuencias de CaM. Se muestran arriba y debajo de las ramas los valores de *bs* de MP y NJ >50%, respectivamente. En los nodos terminales se indican los números de GenBank, los nombres de las especies y el número de colección.

ITS + BenA + CaM

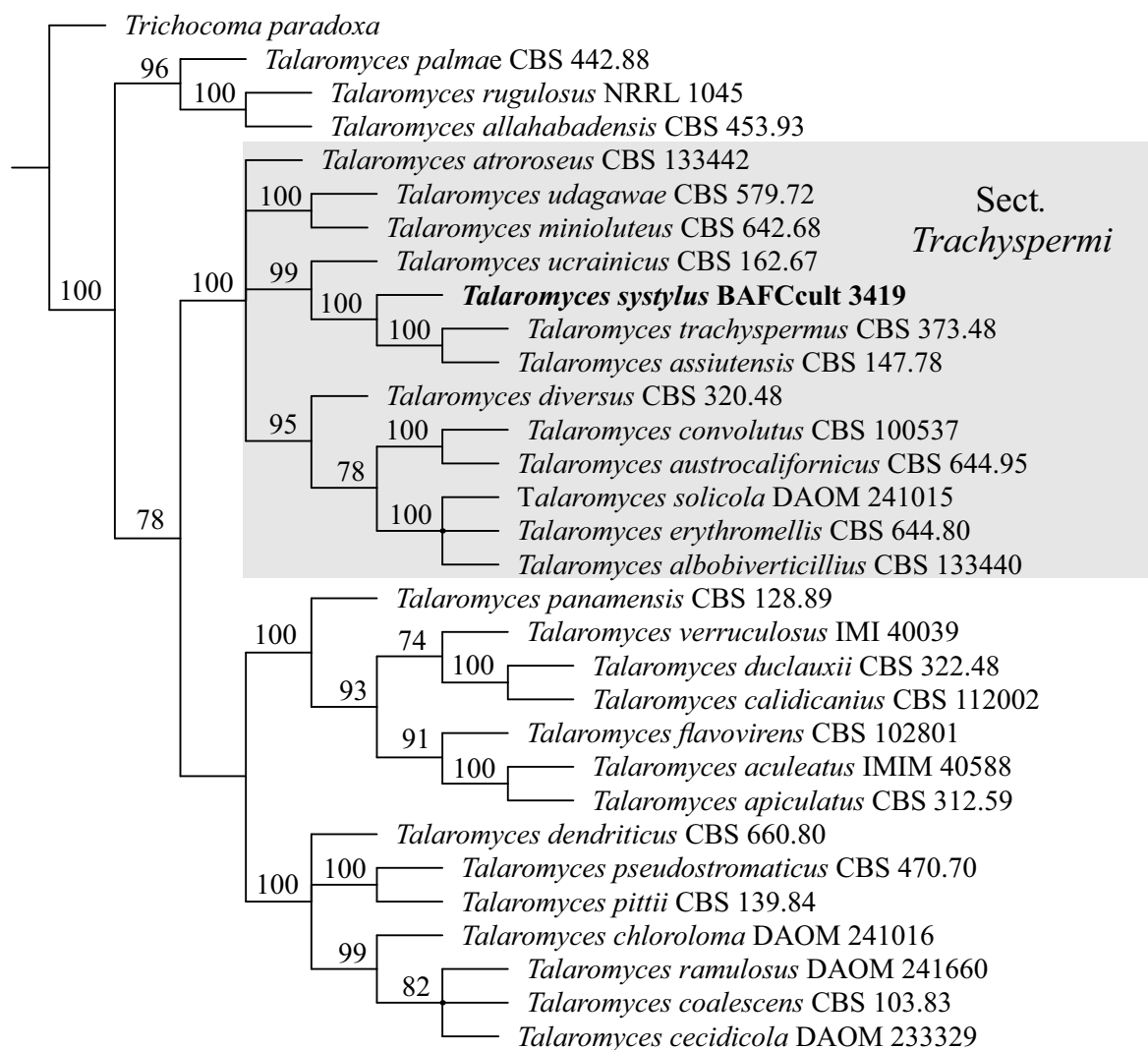


Figura 14: Árbol de consenso estricto construido por Máxima Parsimonia en base a secuencias de ITS, BenA y CaM combinadas. Se muestran arriba y debajo de las ramas los valores de bs de MP y NJ >50%, respectivamente. En los nodos terminales se indican los números de GenBank, los nombres de las especies y el número de colección.

Láminas

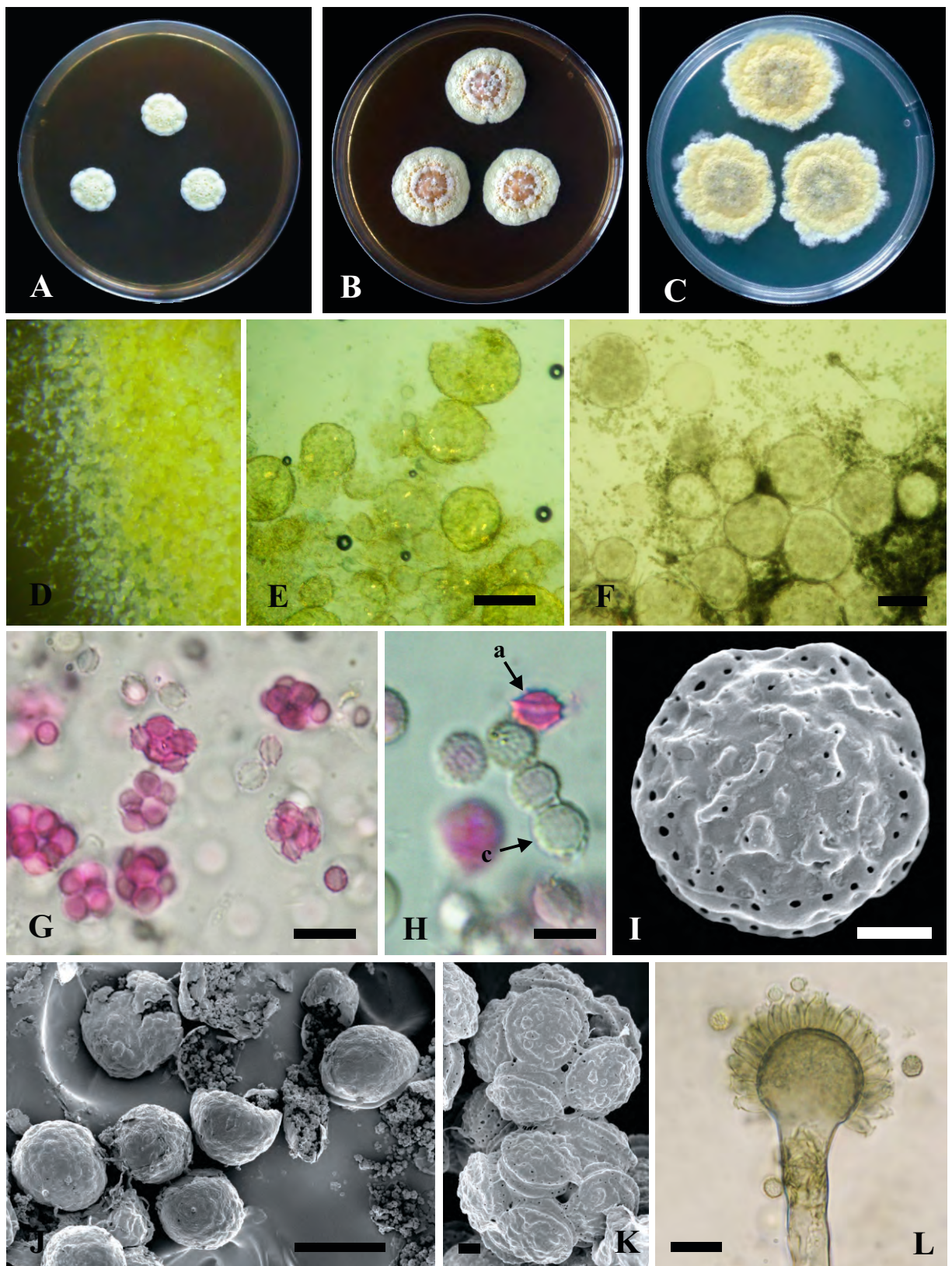


Lámina 1: *Aspergillus montevidensis*. A-D. Colonias a 25°C. A. MEA, 7 días. B. MEA, 14 días. C. CY20S, 7 días. D-F. Ascomas. G. Ascosporas. H. Ascosporas (a) y conidios en cadena (c). I. Ascospora, vista frontal (SEM). J. Ascomas rotos, ascos y ascosporas (MEB). K. Ascos con ascosporas (MEB). L. Conidióforo y conidios. Escala: E, F, J = 100 μ m; G, L = 10 μ m; H = 5 μ m; I, K = 1 μ m.

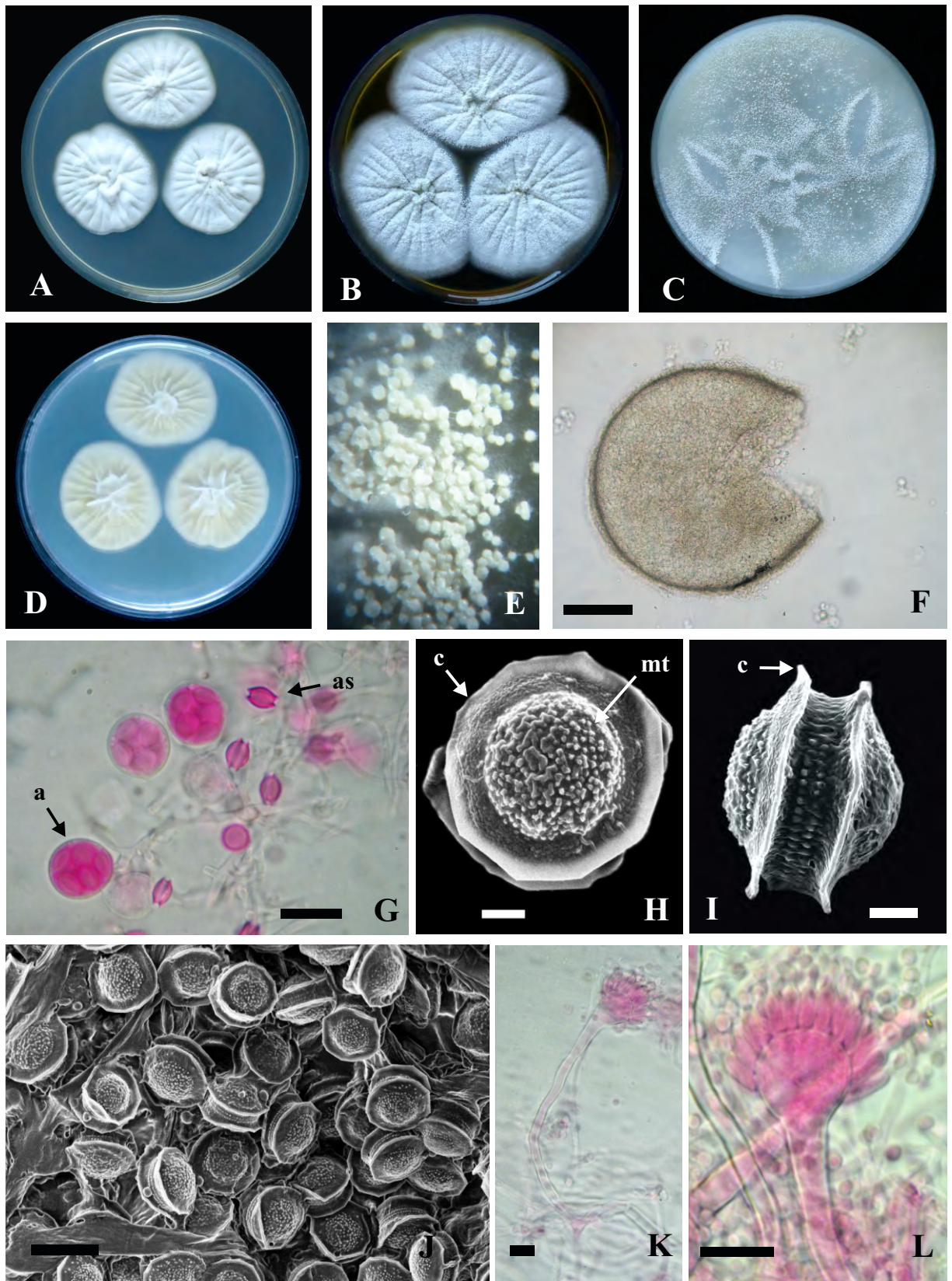


Lámina 2: *Aspergillus australensis*. A-D. Colonias a 25°C, 14 días. A. CYA. B. MEA. C. OA. D. Reverso en CYA. E. Ascomas. F. Detalle de ascoma abierto. G. Ascós (a) y ascosporas (as). H-J. Ascosporas (MEB). c = cresta, mt = microtubérculos. K. Conidióforo. L. Detalle de cabezuela. Escala: F = 100 μ m; G, K, L = 10 μ m; H, I = 1 μ m.

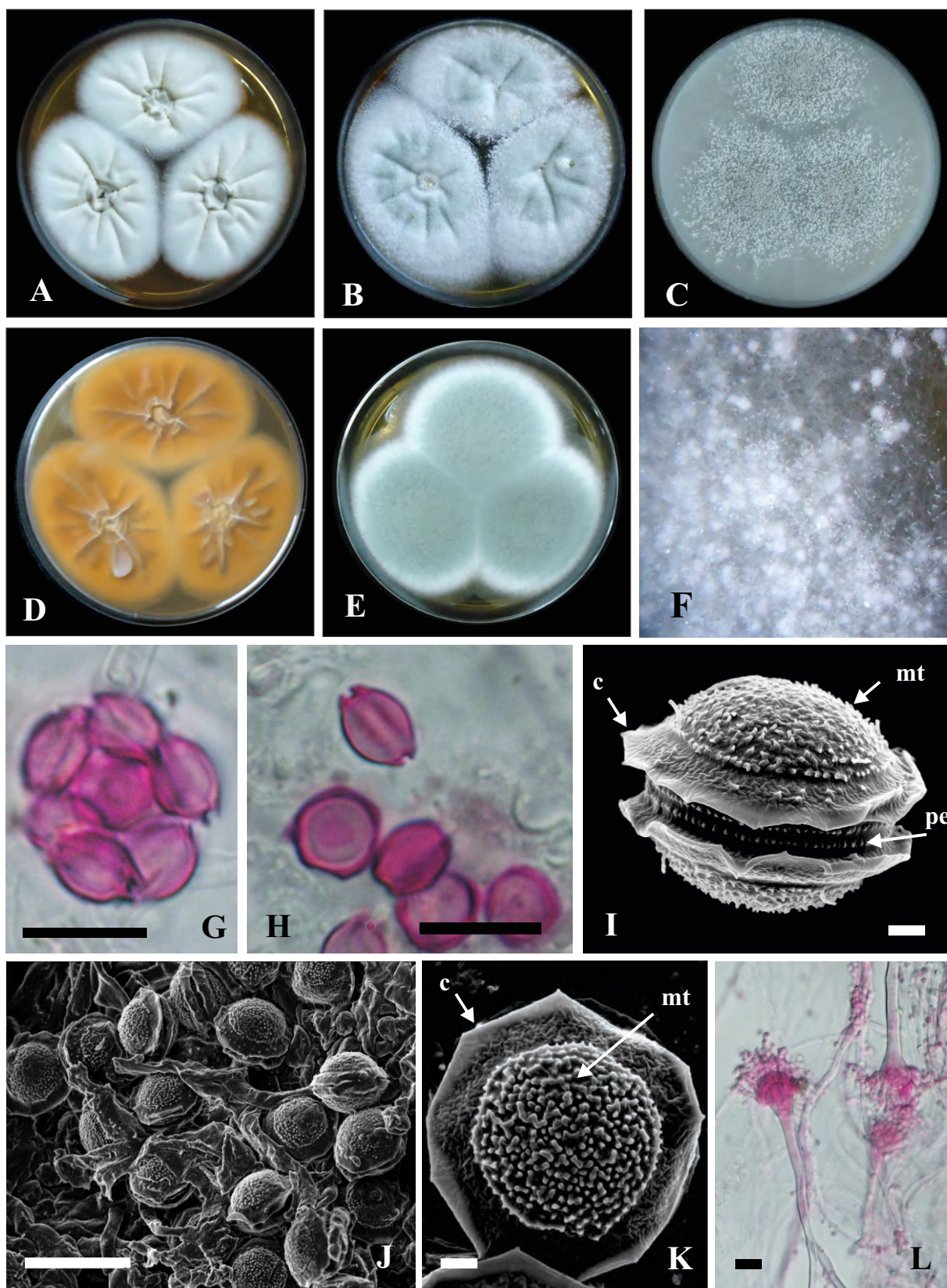


Lámina 3: *Aspergillus biparmatus* (holotipo). A-D. Colonias a 25°C, 14 días. A. CYA. B. MEA. C. OA. D. Reverso en CYA. E. M20. F. Ascomas. G. Asco con ascosporas. H. Ascosporas. I-K. Ascosporas (MEB). c = cresta, mt = microtubérculos, pe = proyecciones ecuatoriales. L. Conidióforo. Escala: G, H, J, L = 10 μ m; I, K = 1 μ m.

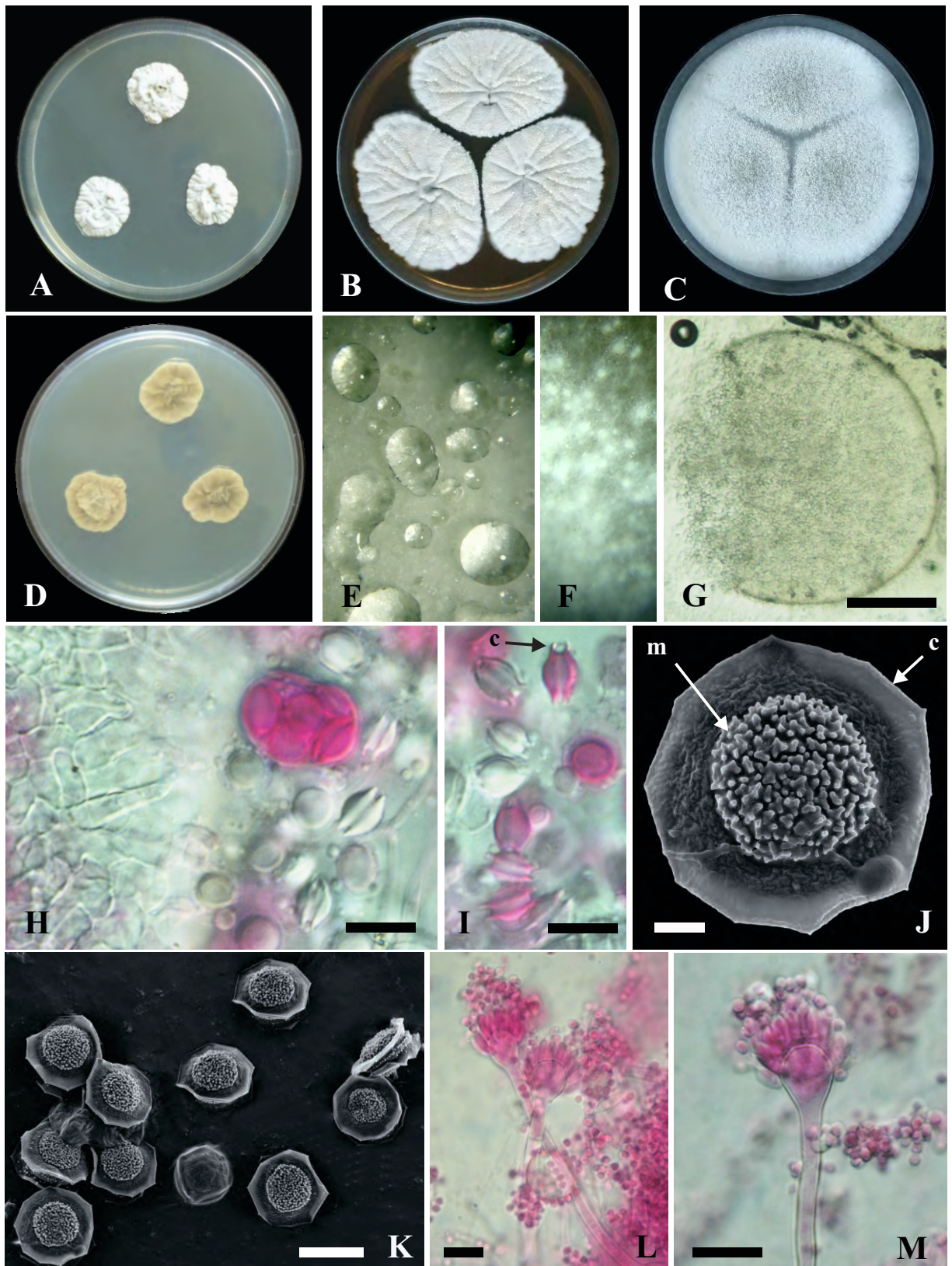


Lámina 4: *Aspergillus cacuminosus* (holotipo). **A-D**. Colonias a 25°C, 14 días. **A**. CYA. **B**. MEA. **C**. OA. **D**. Reverso en CYA. **E-F**. Detalle de colonias. **E**. Exudado abundante del centro de la colonia, ascomas inmersos. **F**. Ascomas jóvenes en el borde de la colonia. **G**. Cleistotecio abierto con ascos liberados. **H-I**. Ascós y ascósporas. c = crestas. **J-K**. Ascósporas (MEB). c = crestas, m = tubérculos. **K**. Conidióforo y conidios. Escala: G = 50 μm ; H, I, L, M = 10 μm ; J = 1 μm ; K = 5 μm .

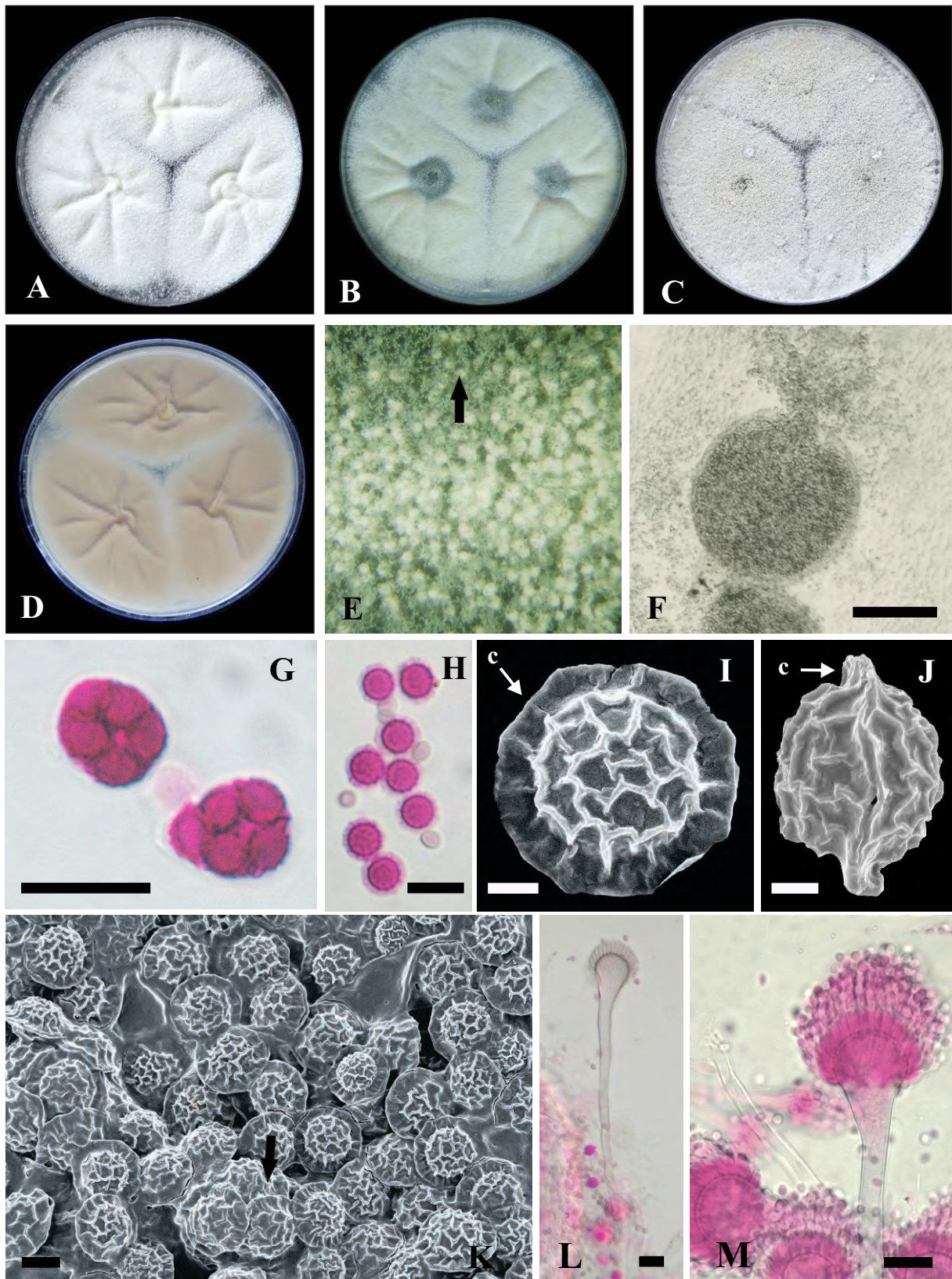


Lámina 5: *Aspergillus fischeri*. A-D. Colonias a 25°C, 14 días. A. CYA. B. MEA. C. OA. D. Reverso en CYA. E. Ascomas y anamorfo (flecha). F. Ascoma roto y ascosporas. G. Ascós con ascosporas. H. Ascosporas. I-J. Ascosporas, frente y perfil (MEB). c = cresta. K. Asco (flecha) y ascosporas en MEB. L. Conidióforo. Escala: F = 100 μ m; G, H, L, M = 10 μ m; K = 5 μ m; I, J = 1 μ m.

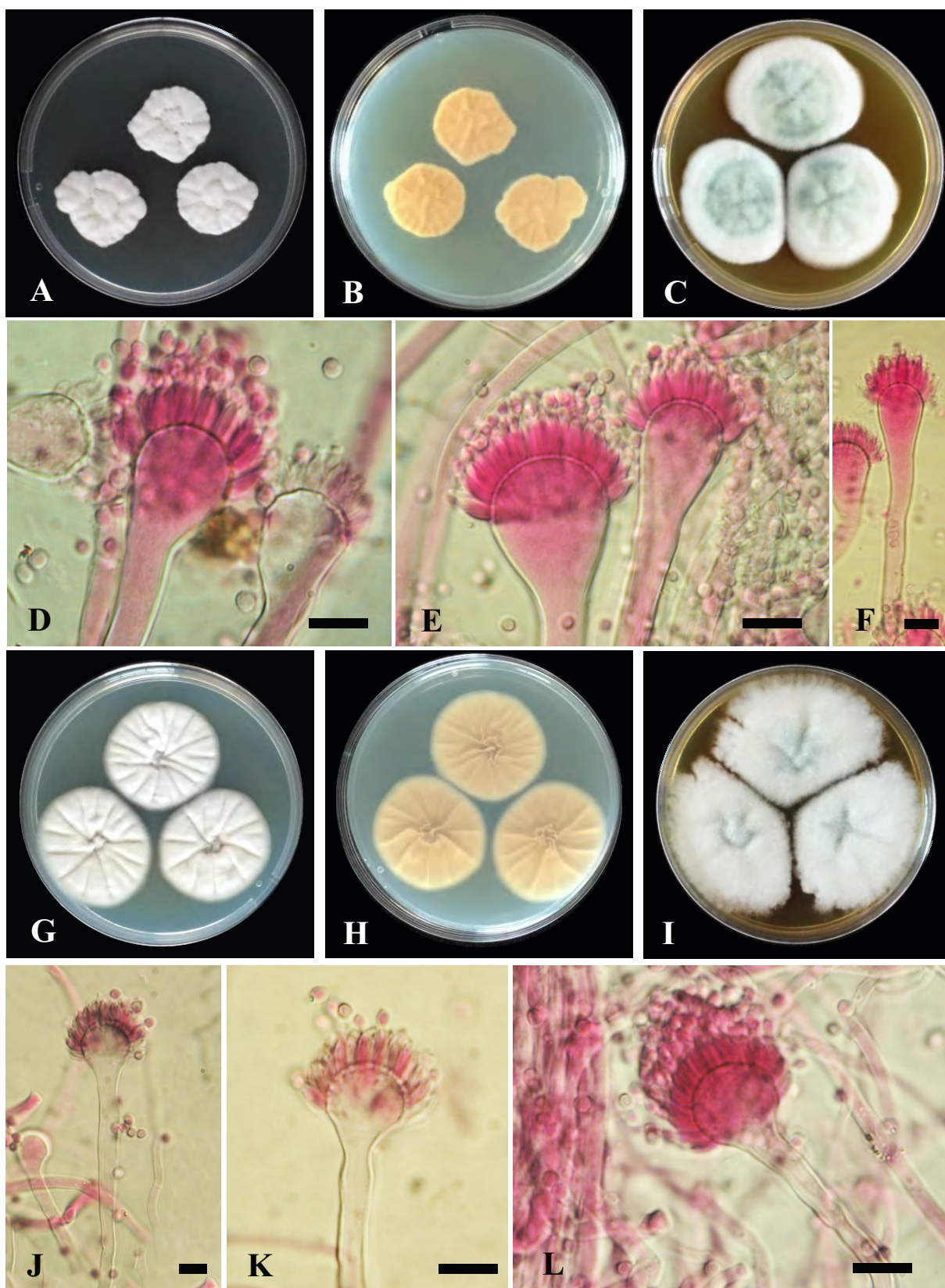


Lámina 6: A-E. *Aspergillus fumigatiaffinis*. A-C. Colonias a 25°C, 14 días. A. CYA. B. Reverso en CYA. C. MEA. D-F. Conidióforos. G-L. *Aspergillus lentulus*. G-I. Colonias a 25°C, 14 días. G. CYA. H. Reverso en CYA. I. MEA. J-L. Conidióforos. Escala: D-F, J-L = 10 μm.

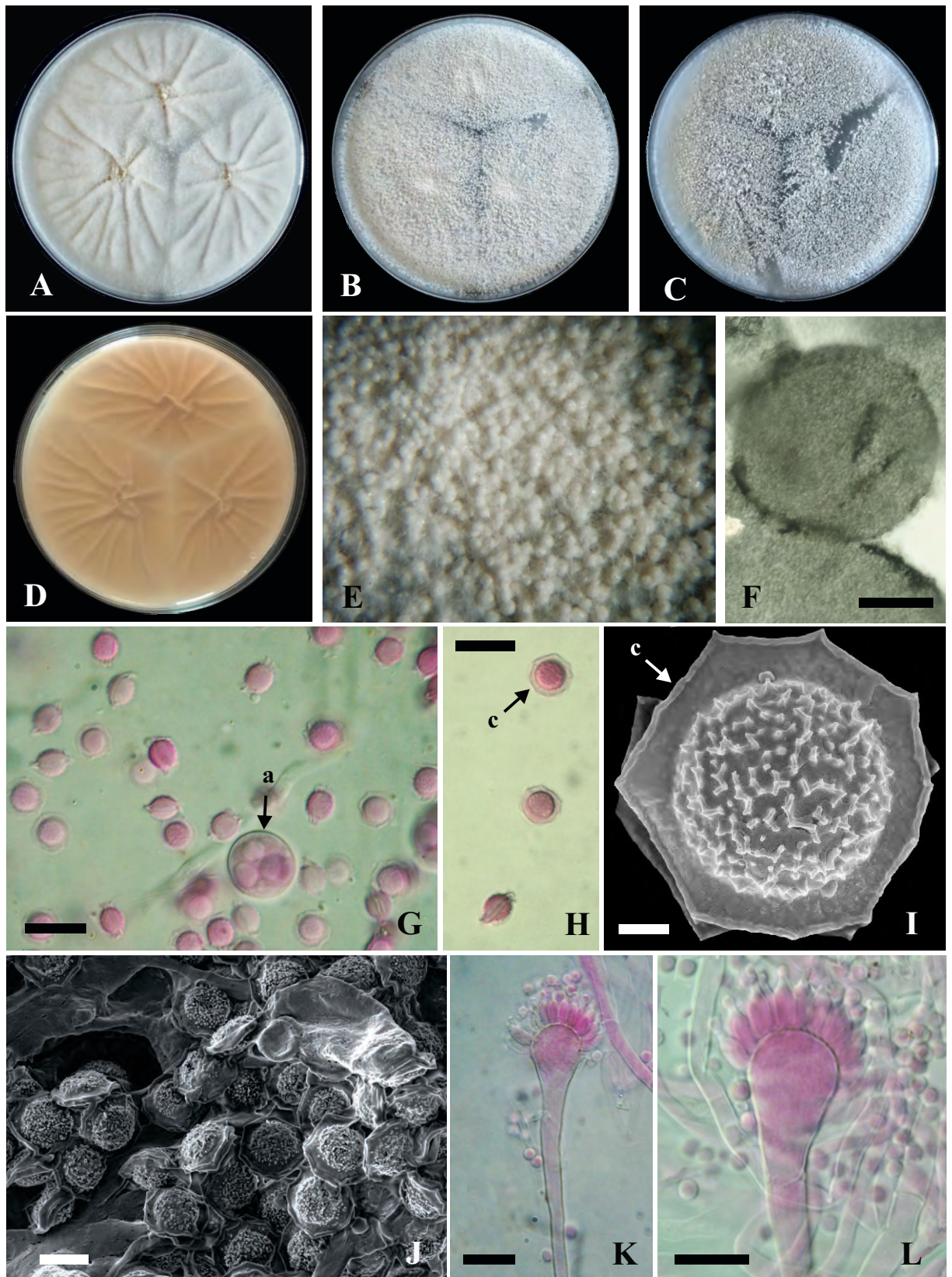


Lámina 7: *Aspergillus geometricus* (holotipo). A-D. Colonias a 25°C, 14 días. A. CYA. B. MEA. C. OA. D. Reverso en CYA. E-F. Ascomas. G-H. Ascó (a) y ascósporas. I-J. Ascósporas (MEB). c = crestas. K-L. Conidióforo y conidios. Escala: F = 100 μ m; G, H, K, L = 10 μ m; I = 1 μ m; J = 5 μ m.

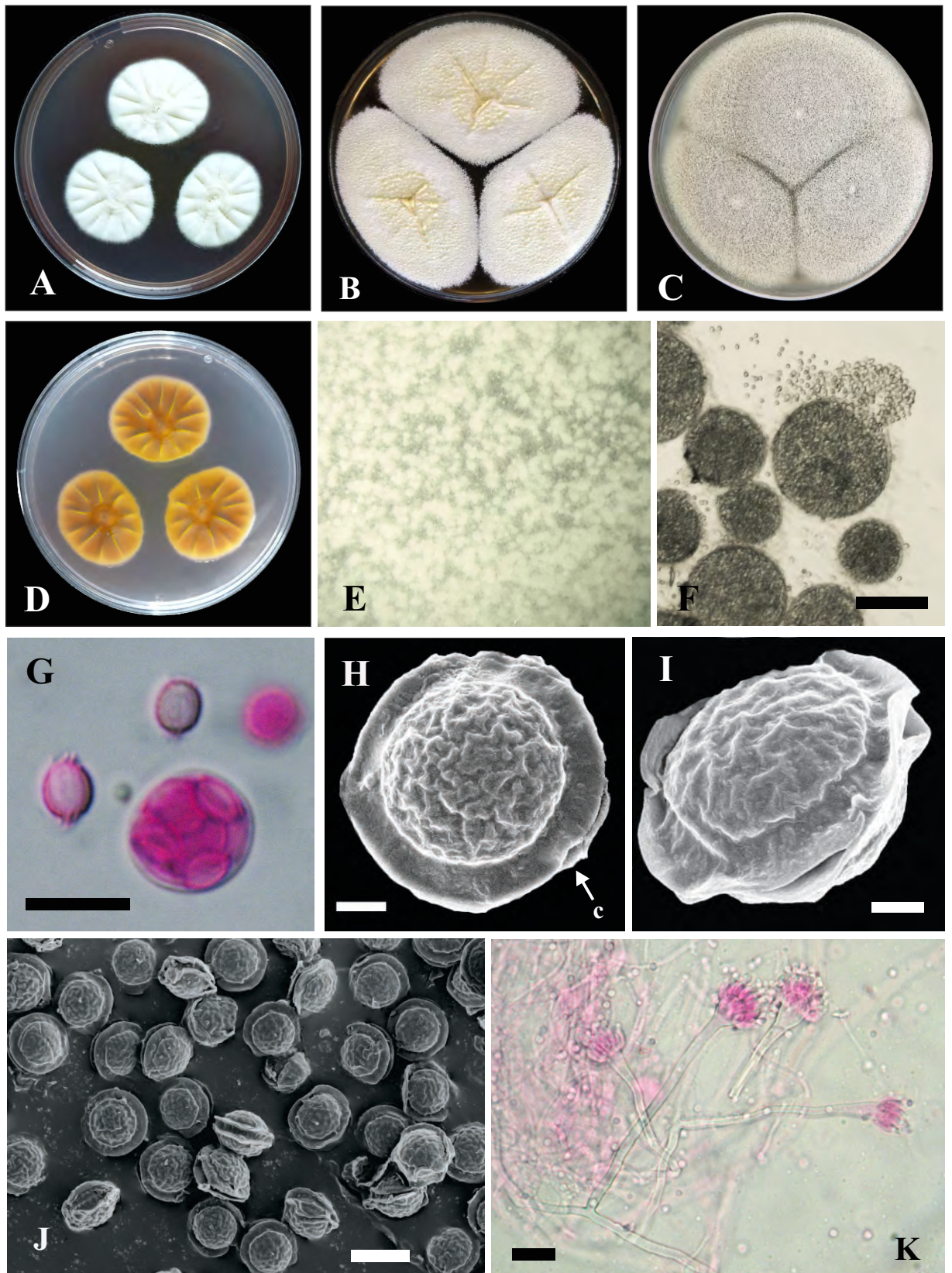


Lámina 8: *Aspergillus huiyanae*. A-D. Colonias a 25°C, 14 días. A. CYA. B. MEA. C. OA. D. Reverso en CYA. E-F. Ascomas. G. Asco y ascoporas. H-J. Ascoporas (MEB). c = cresta. K. Conidióforos. Escala: F = 100 µm; G = 10 µm; K = 20 µm; J = 5 µm; H, I = 1 µm.

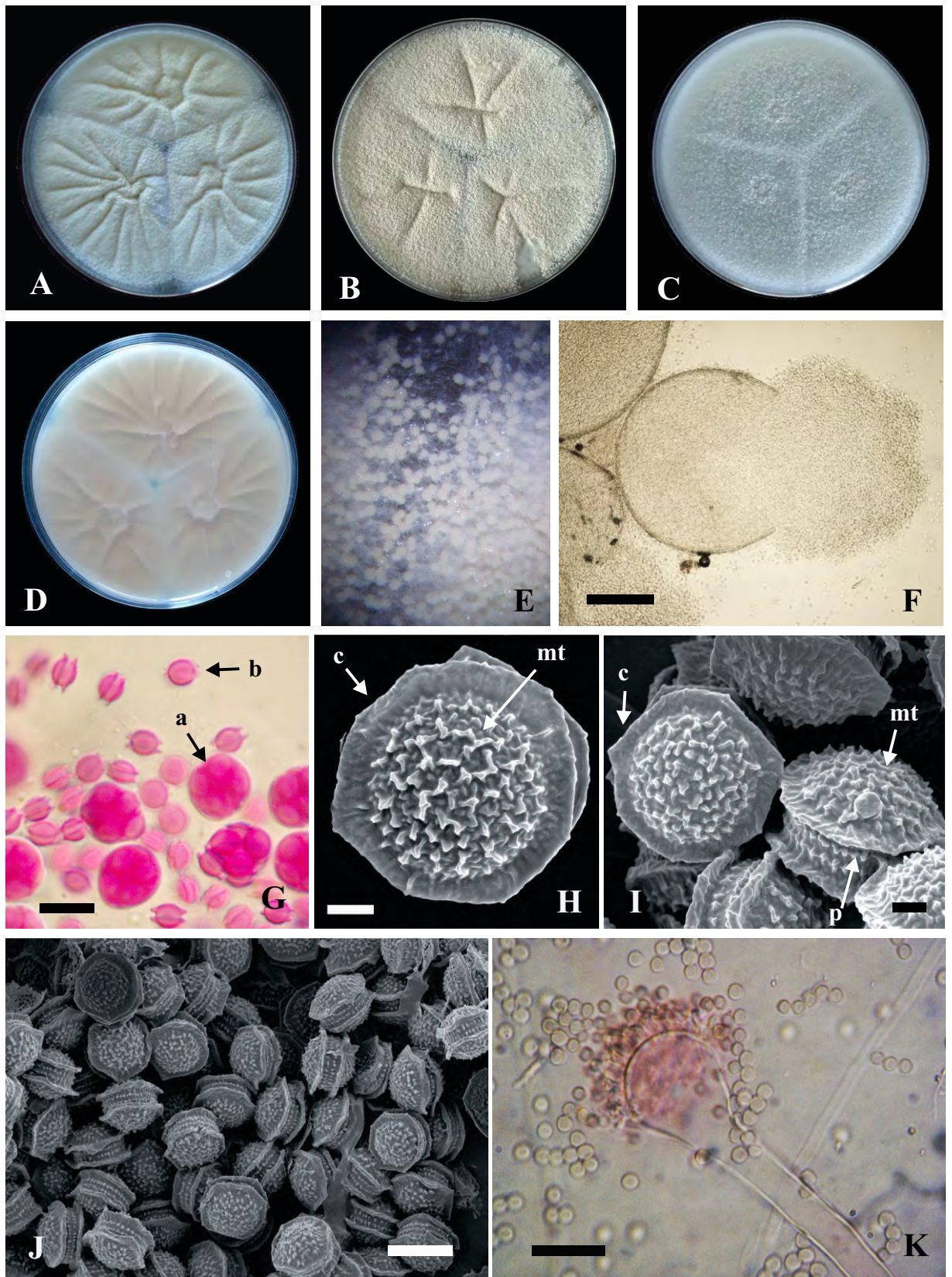


Lámina 9: *Aspergillus laciniosus*. **A-D**. Colonias a 25°C, 14 días. **A**. CYA. **B**. MEA. **C**. OA. **D**. Reverso en CYA. **E-F**. Ascomas. **G**. Ascós (a) y ascósporas (b). **H-J**. Ascósporas (MEB). c = crestas, mt = microtubérculos, p = anillos de proyecciones microtuberculadas. **K**. Conidióforo y conidios. Escala: F = 100 µm; G, K = 10 µm; H, I = 1 µm; J = 5 µm.

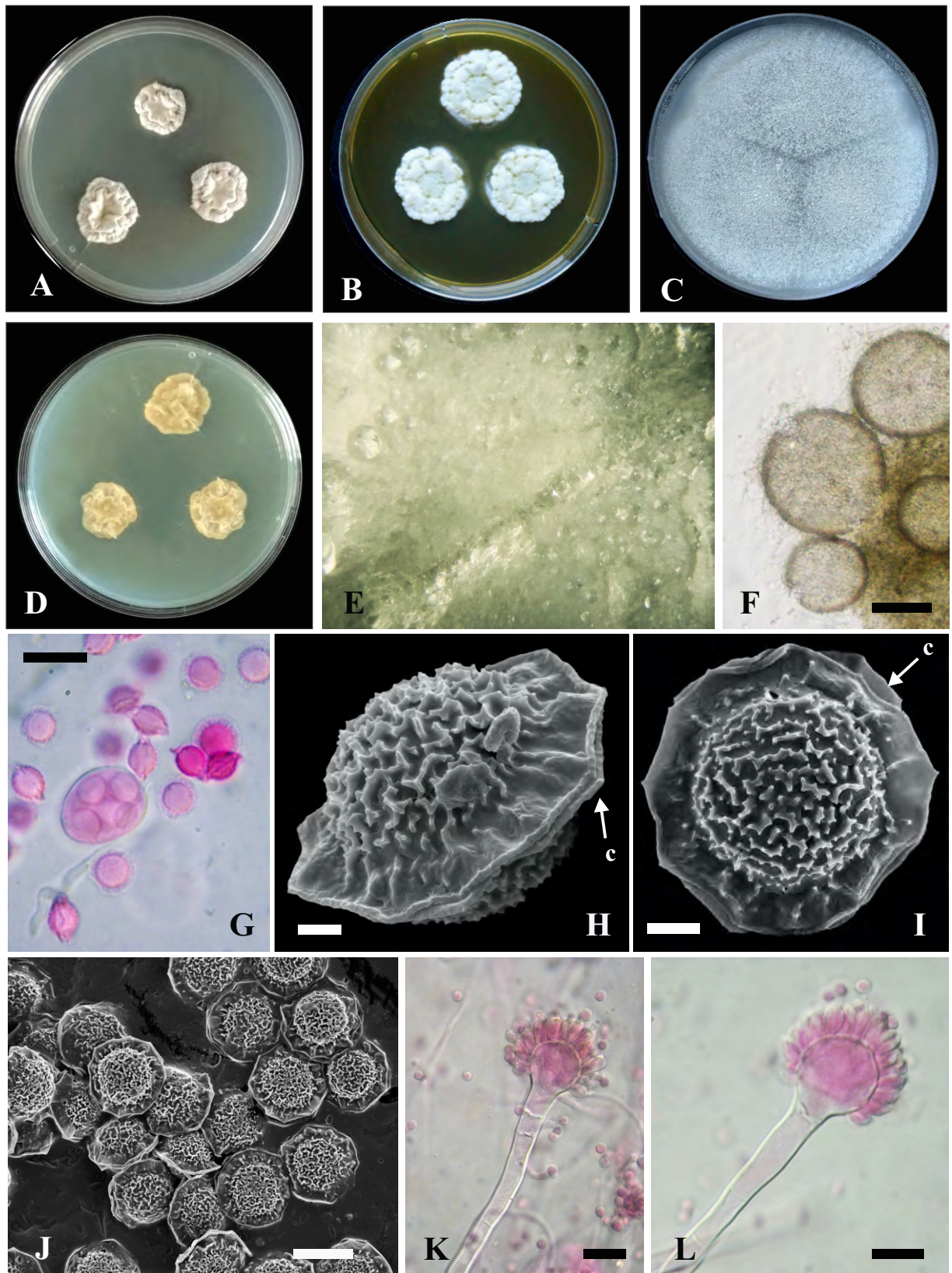


Lámina 10: *Aspergillus sculptus* (holotipo). **A-D**. Colonias a 25°C, 14 días. **A**. CYA. **B**. MEA. Note los surcos radiales y los anillos. **C**. OA. **D**. Reverso en CYA. **E**. Ascomas inmersos en micelio con exudado muy abundante. **F**. Ascomas. **G**. Asco y ascosporas. **H-J**. Ascosporas (MEB). c = cresta. **K**. Conidióforo. Escala: F= 100 μ m; G= 10 μ m; K, L= 10 μ m; J= 5 μ m; H, I= 1 μ m.

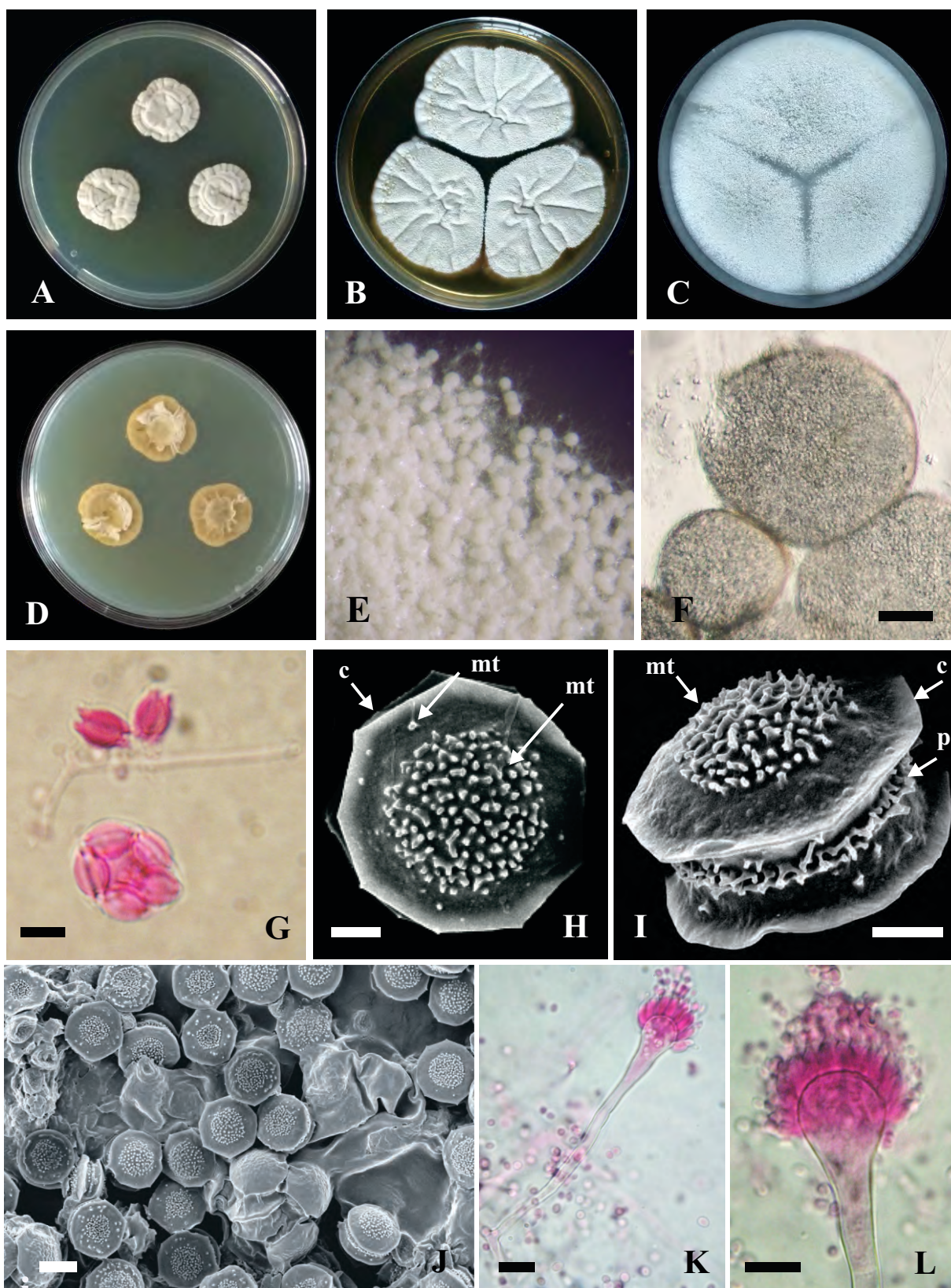


Lámina 11: *Aspergillus shendawei*. A-D. Colonias a 25°C, 14 días. A. CYA. B. MEA. C. OA. D. Reverso en CYA. E-F. Ascomas. G. Ascó y ascósporas. H-J. Ascósporas (MEB). c = crestas, mt = microtubérculos, p = anillos de proyecciones microtuberculadas. K-L. Conidióforos. Escala: F = 50 μm ; G, J = 5 μm ; H, I = 1 μm ; K, L = 10 μm .

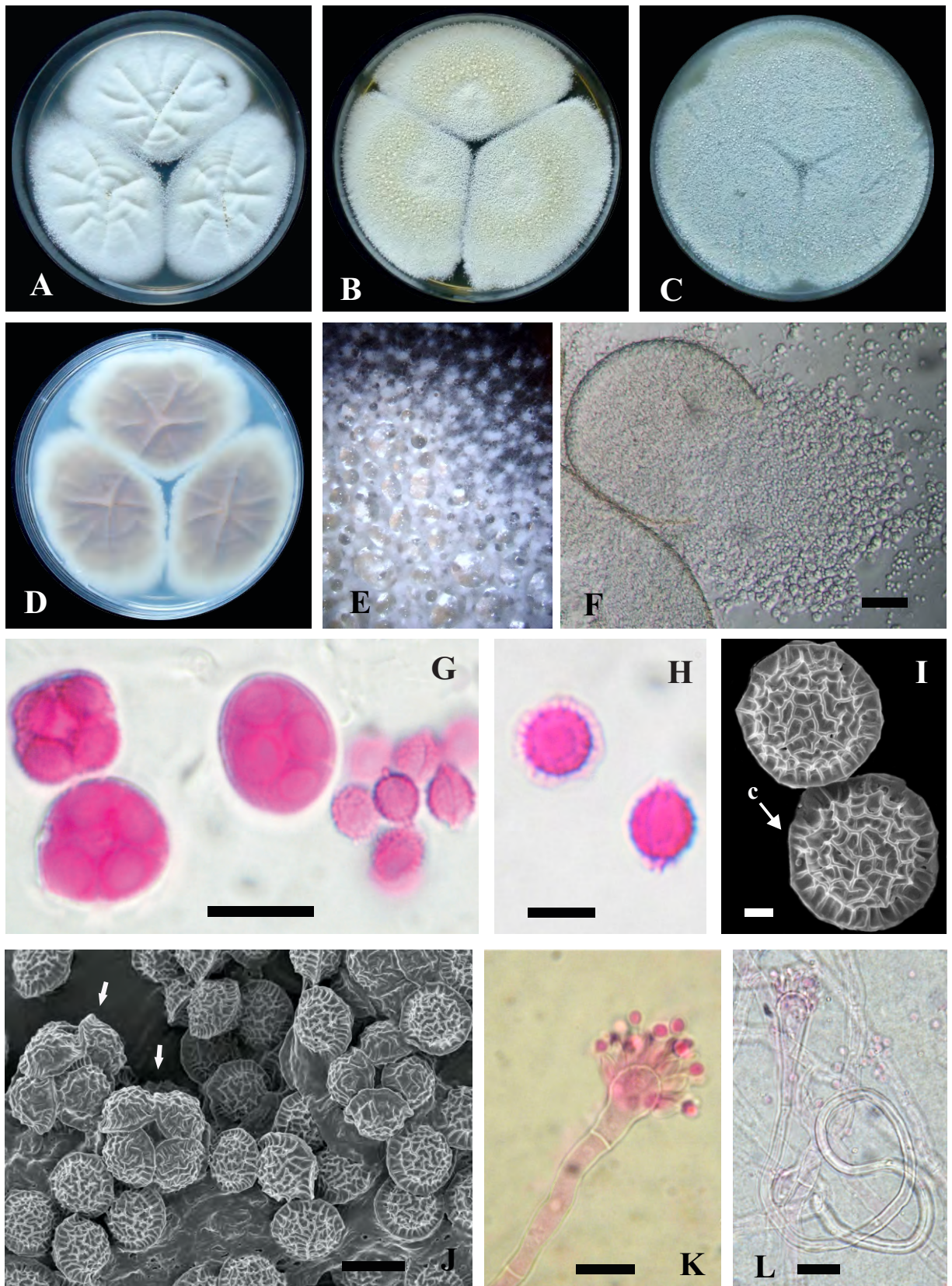


Lámina 12: *Aspergillus tatenoi*. **A-D**. Colonias a 25°C, 14 días. **A**. CYA. **B**. MEA. **C**. OA. **D**. Reverso en CYA. **E**. Ascomas con exudado. **F**. Ascoma abierto y ascos libres. **G**. Ascosporas. **H**. Ascosporas. **I-J**. Ascosporas (MEB), c = cresta. **K**. Conidióforo. **L**. Conidióforo con pie espiralado. Escala: F = 50 μ m; G, K, L = 10 μ m; H, J = 5 μ m; I = 1 μ m.

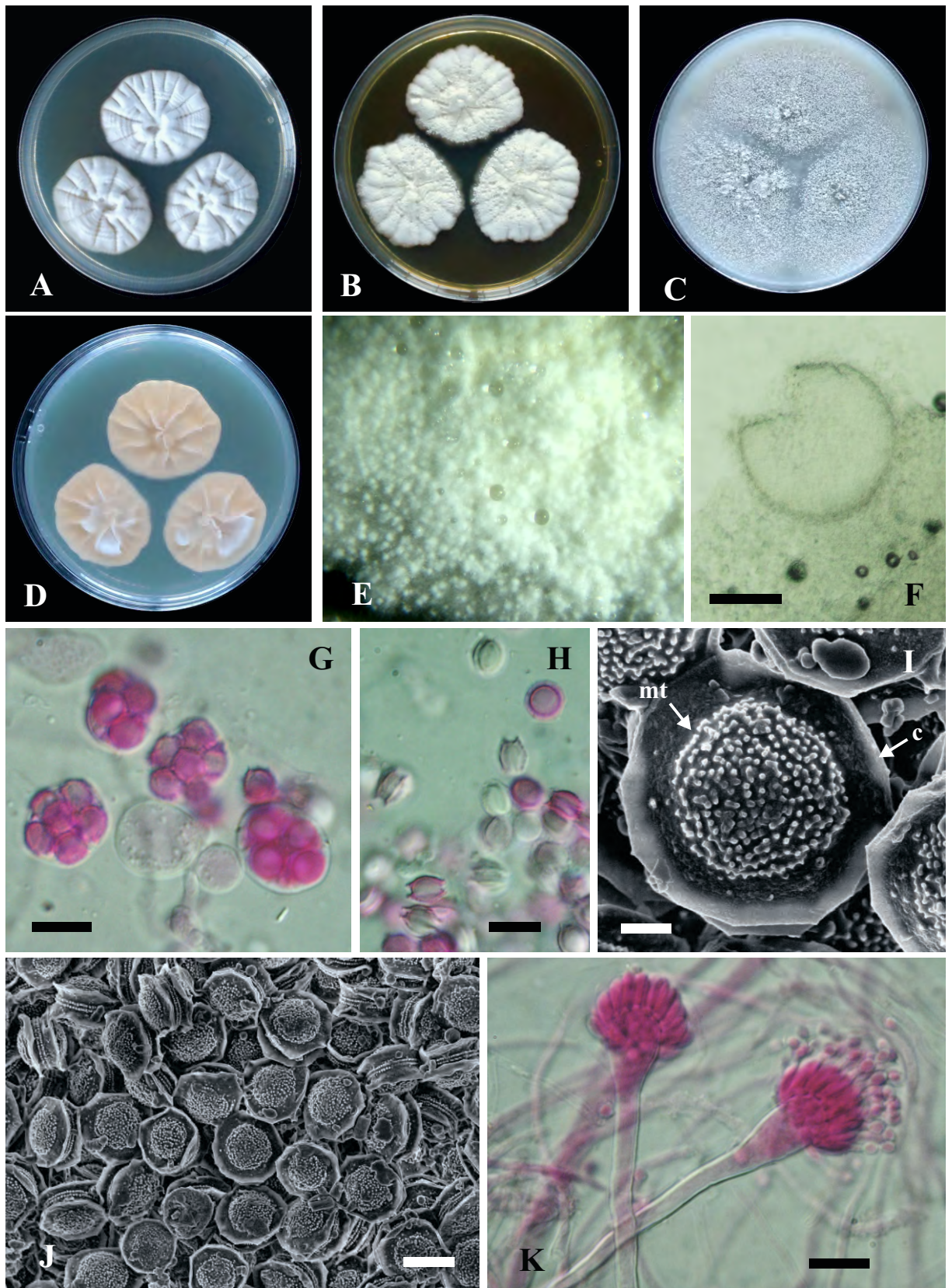


Lámina 13: *Aspergillus tubercularis* (holotipo). A-D. Colonias a 25°C, 14 días. A. CYA. B. MEA. C. OA. D. Reverso en CYA. E. Ascomas con exudado. F. Ascoma abierto. G. Ascus y ascosporas. H. Ascosporas. I-J. Ascosporas (MEB). c = cresta. mt = microtubérculos. K. Conidióforo. Escala: F = 100 μm; G, H, K = 10 μm; J = 5 μm; I = 1 μm.

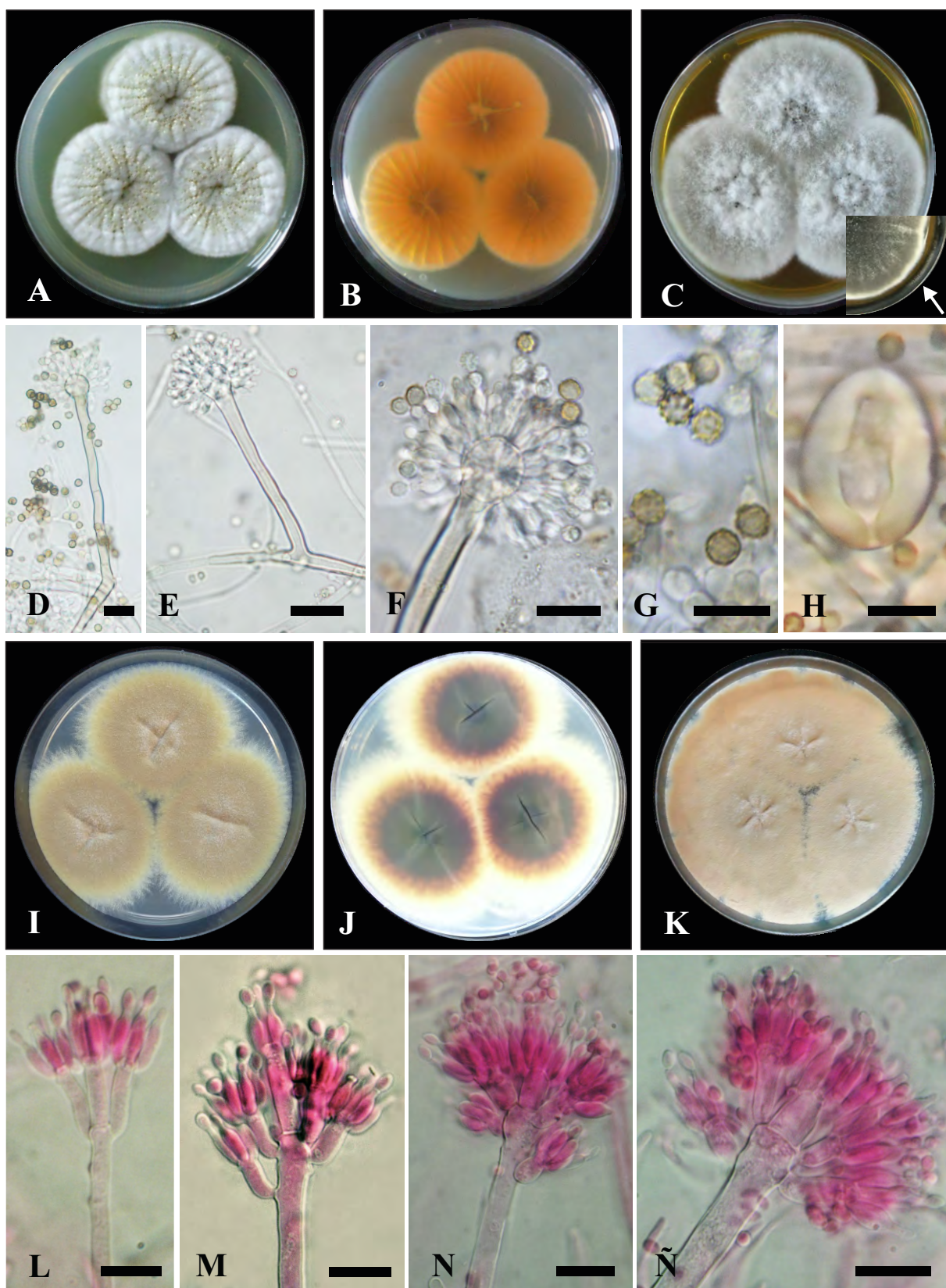


Lámina 14: **A-H. *Aspergillus fuscicans***. (holotipo). **A-C**. Colonias a 25°C, 7 días. **A**. CYA. **B**. Reverso en CYA. **C**. MEA, detalle de la colonia a los 30 días (flecha). **D-F**. Conidióforos. **G**. Conidios. **H**. Célula de Hülle. **I-L. *Hamigera ingelheimensis***. **I-K**. Colonias a 25°C, 7 días. **I**. CYA. **J**. Reverso en CYA. **K**. MEA. **L-Ñ**. Conidióforos y conidios. Escala: D, E = 20 μ m; F, G, L-N = 10 μ m.

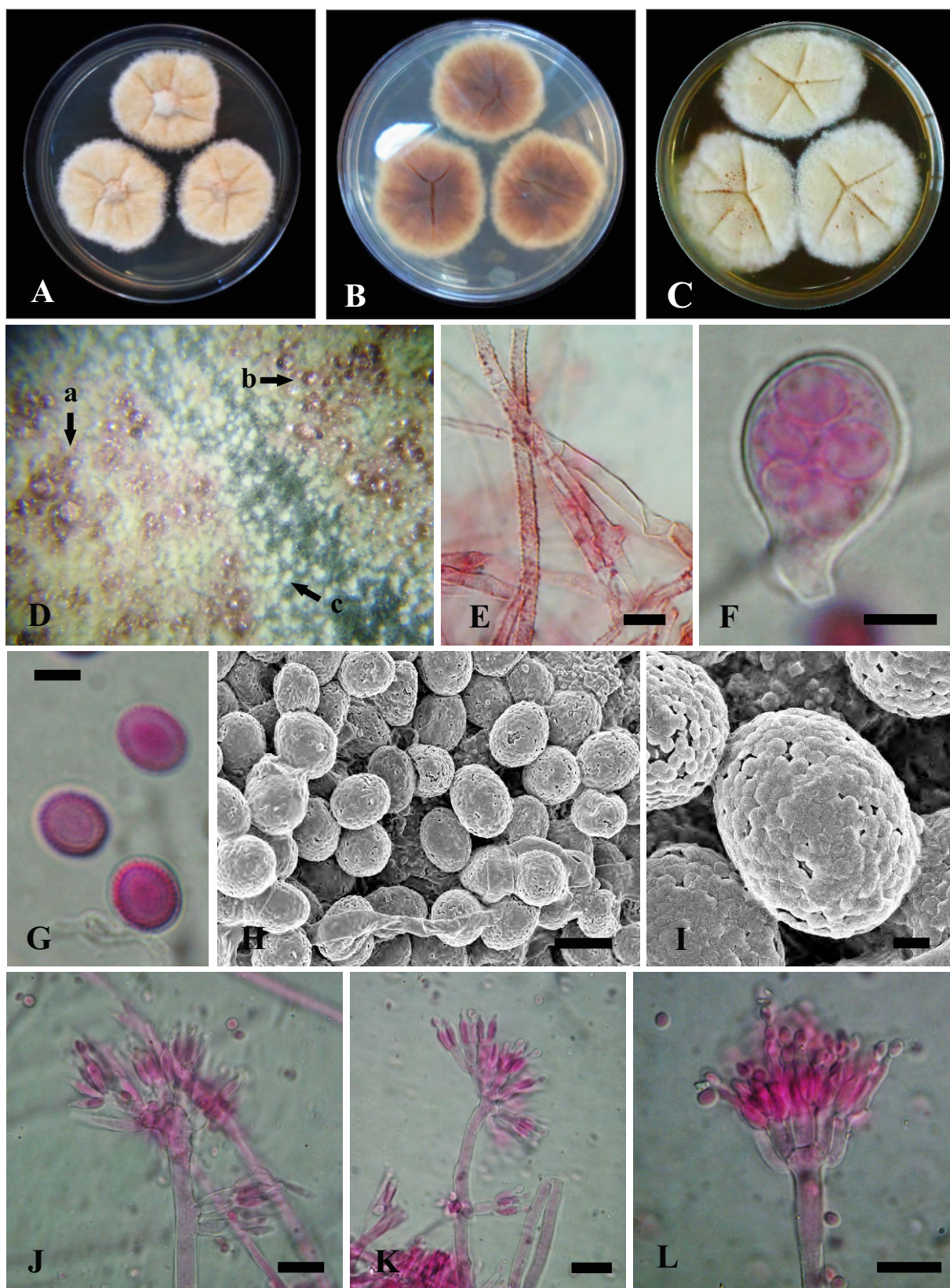


Lámina 15: *Hamigera avellanea*. A-C. Colonias a 25°C, 7 días. A. CYA. B. Reverso en CYA. C. MEA. D. Detalle de colonia en MEA a 25°C, 14 días; a. coloración rojiza debido a hifas coloreadas, b. gotas de exudado, c. ascomas. E. Hifas rojizas con incrustaciones. F. Asco con ascosporas. G. Ascosporas. H-I. Ascosporas (MEB). J-L. Conidióforos. Escala: E-H = 5 µm; I = 1 µm; J-L = 10 µm.

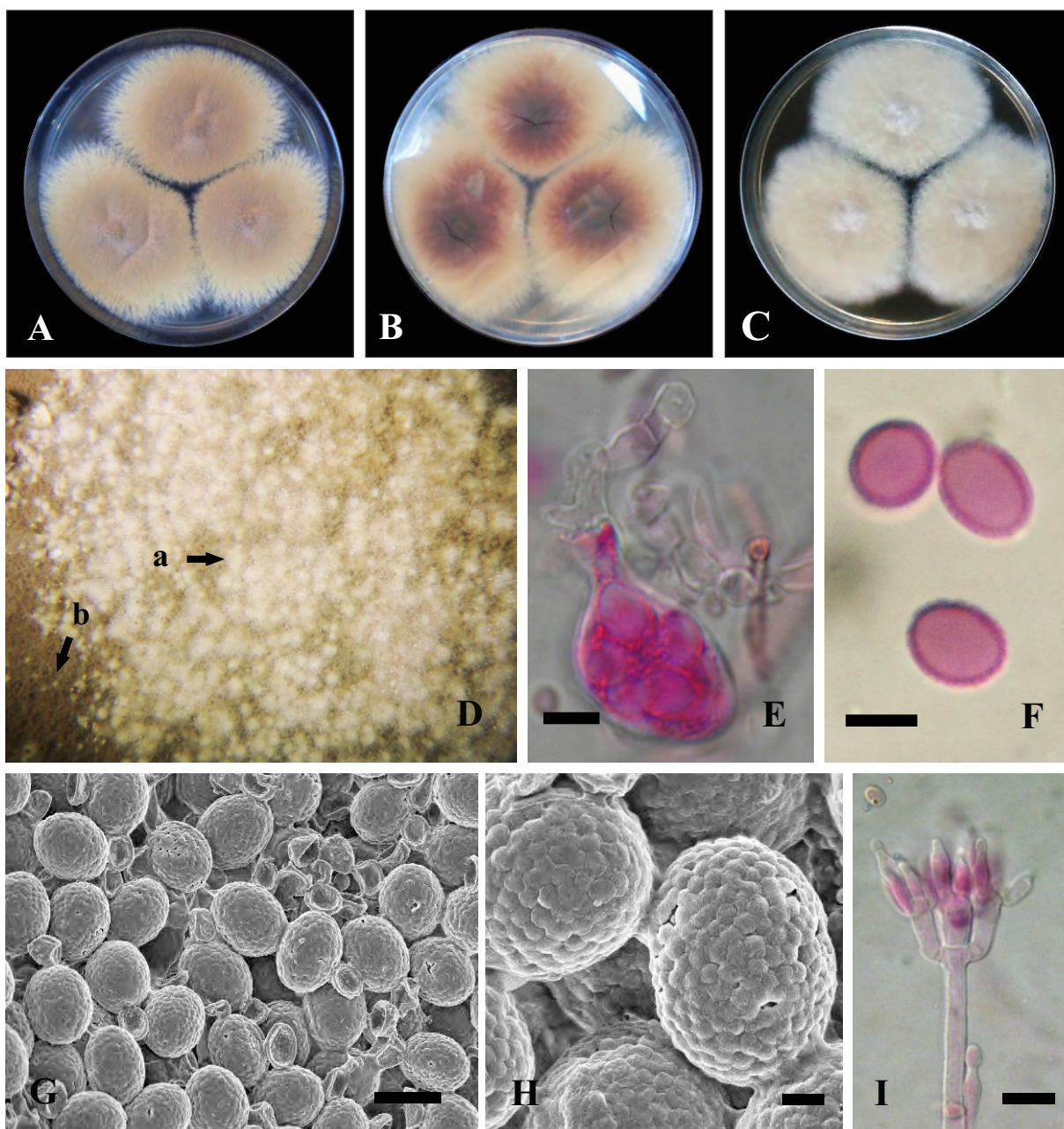


Lámina 16: *Hamigera paravellanea*. Colonias a 25°C, 7 días. **A.** CYA. **B.** Reverso en CYA. **C.** MEA. **D.** Detalle de colonia en MEA a 25°C, 14 días; a. ascomas, b. conidióforos en masa (color amarronado). **E.** Asco con ascosporas. **F.** Ascosporas. **G-H.** Ascosporas (MEB). **I.** Conidióforo. Escala: E-G = 5 μm ; H = 1 μm ; I = 10 μm .

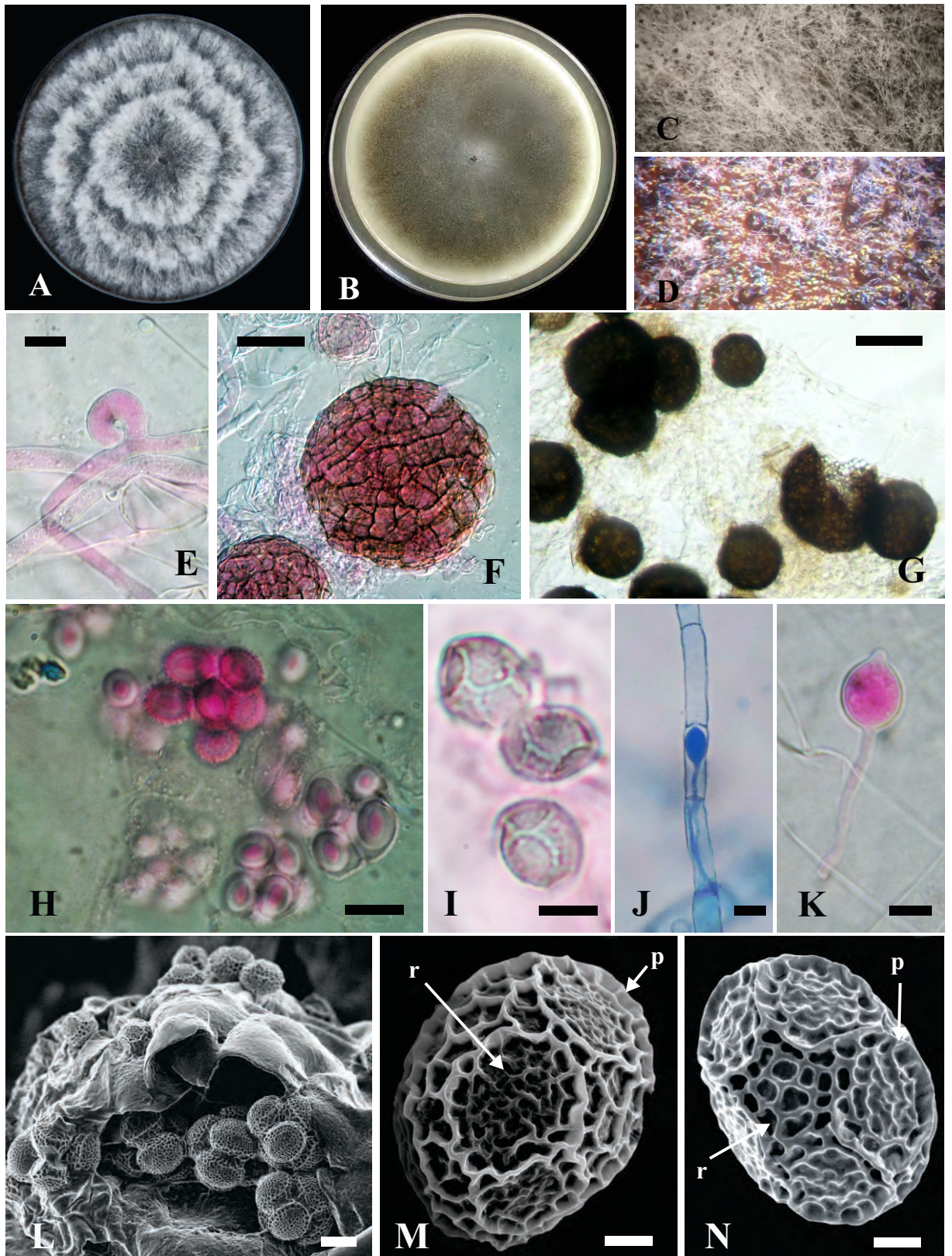


Lámina 17: *Leiothecium ellipsoideum*. A-B. Colonias a 25°C, 14 días. A. MEA. B. OA. C. Ascomas en el micelio aéreo. D. Ascomas semisumergidos en el medio de cultivo. E. Hifas ascógenas, célula inicial del asco. F. Ascomas, pared de *textura angularis*. G. Ascomas. H. Ascosporas, pared interna gruesa mas evidente en ascos jóvenes (flechas). I. Ascosporas, detalle de placas. J. Clamidospora dentro de una hifa. K. Clamidospora libre. L. Ascos con ascosporas bajo una porción de peridio (MEB). M-N. Ascosporas (MEB). p = placas, r = retículo. Escala: E, H, J = 10 µm; F = 20 µm; G = 50 µm; I, K, L = 5 µm; M, N = 1 µm.

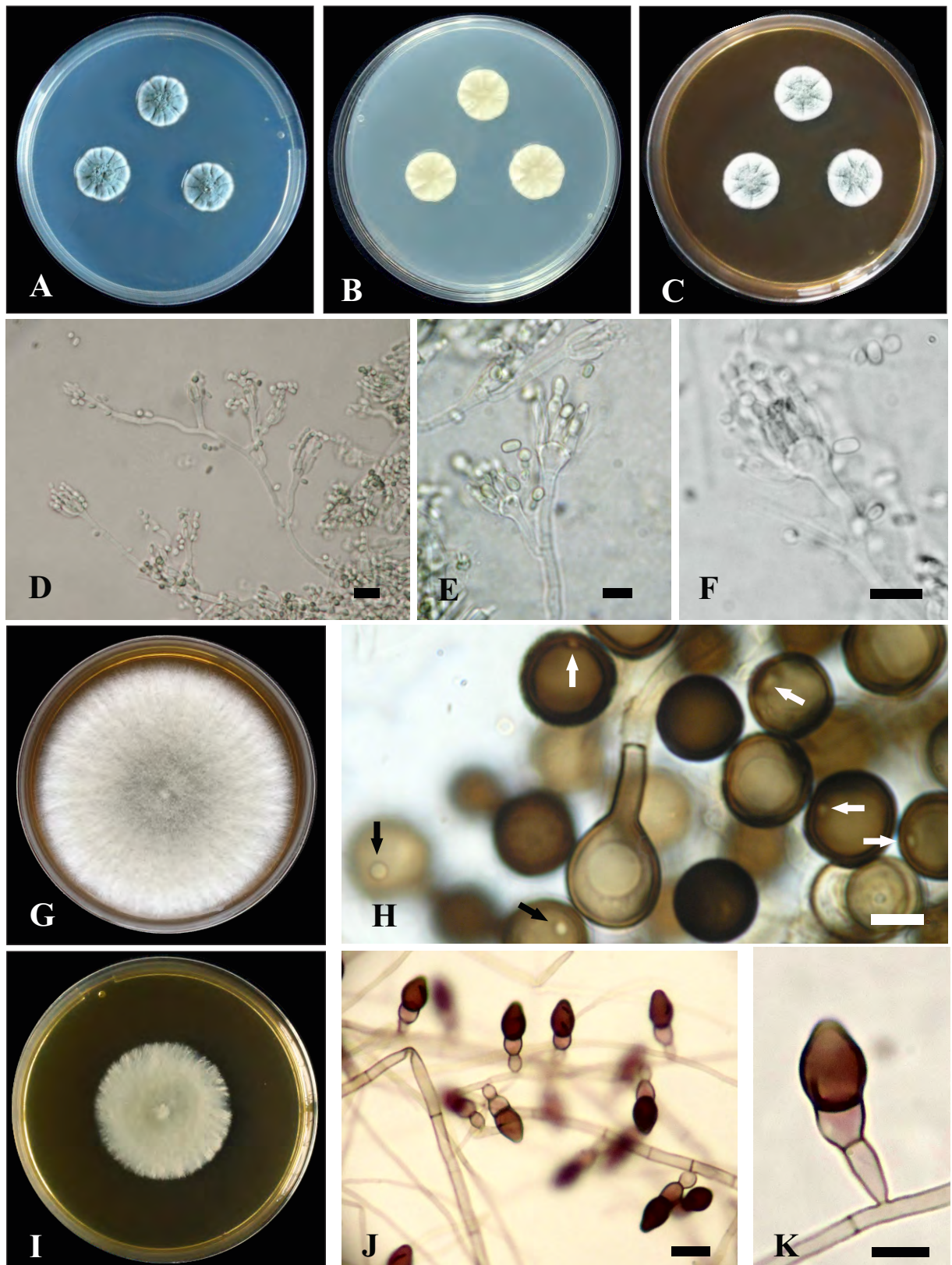


Lámina 18: A-F. *Penicillium capsulatum*. A-C. Colonias a 25°C, 14 días. A. CYA. B. Reverso en CYA. C. MEA. D-F. Conidióforos y conidios. G-H. *Gilmaniella humicola*. G. Colonias en MEA a 30°C, 7 días. H. Conidios con poro germinativo (flechas). I-K. *Trichocladium pyriforme*. I. Colonias en MEA a 25°C, 14 días. J-K. Clamidosporas. Escala: D, J = 10 μ m; E, F, H, K = 5 μ m.

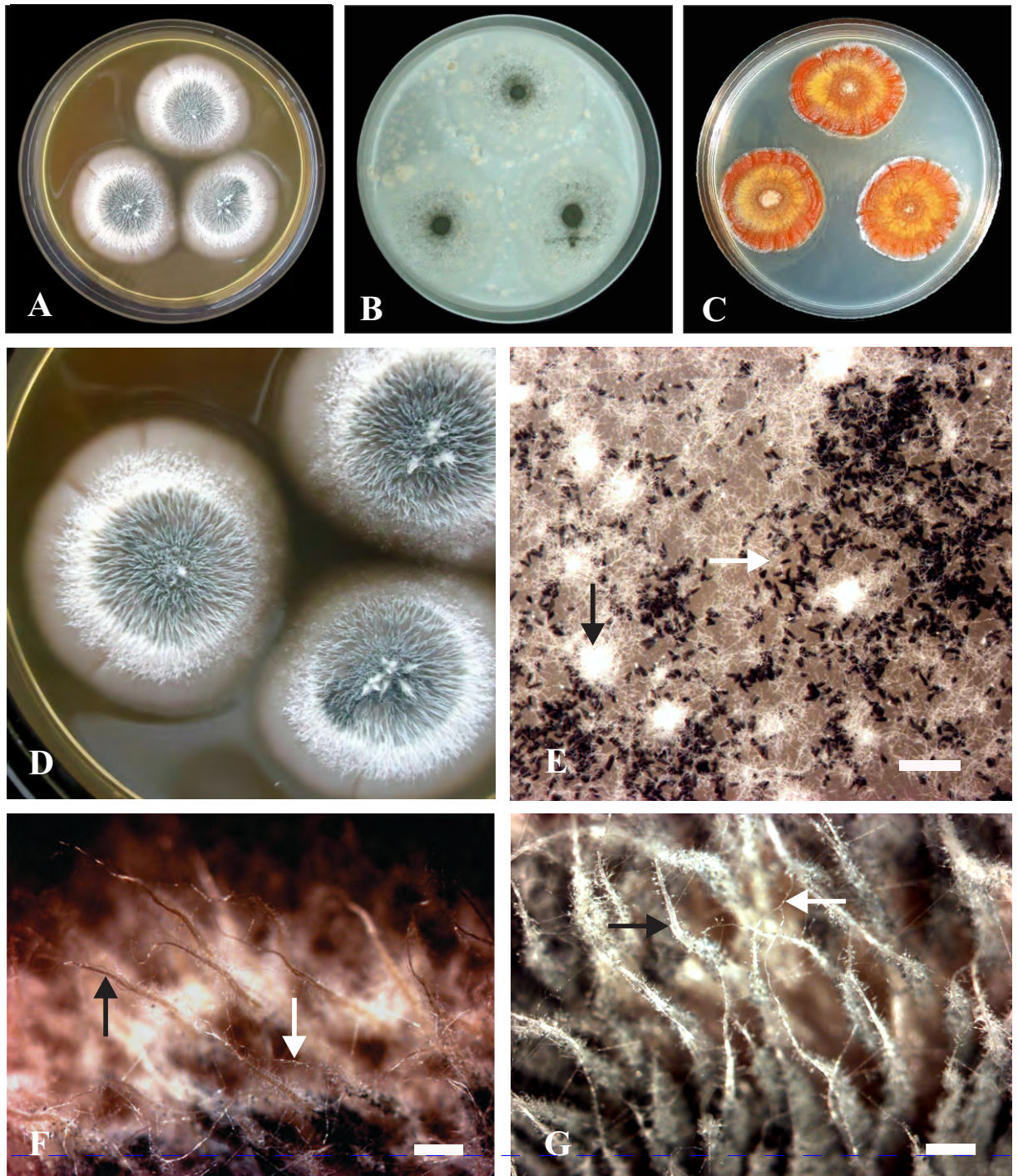


Lámina 19: *Talaromyces systylus* (holotipo). A-C. Colonias a 25°C, 14 días. A. MEA. B. OA. C. CZ. D. Detalle de la colonia en MEA. E. Estructuras globulares blancas similares a ascomas en etapas tempranas de formación (flecha negra) y columnas de conidios (flecha blanca). F-G. Sinemas (flechas negras) y funículos (flechas blancas). Escala: E-G = 500 μ m.

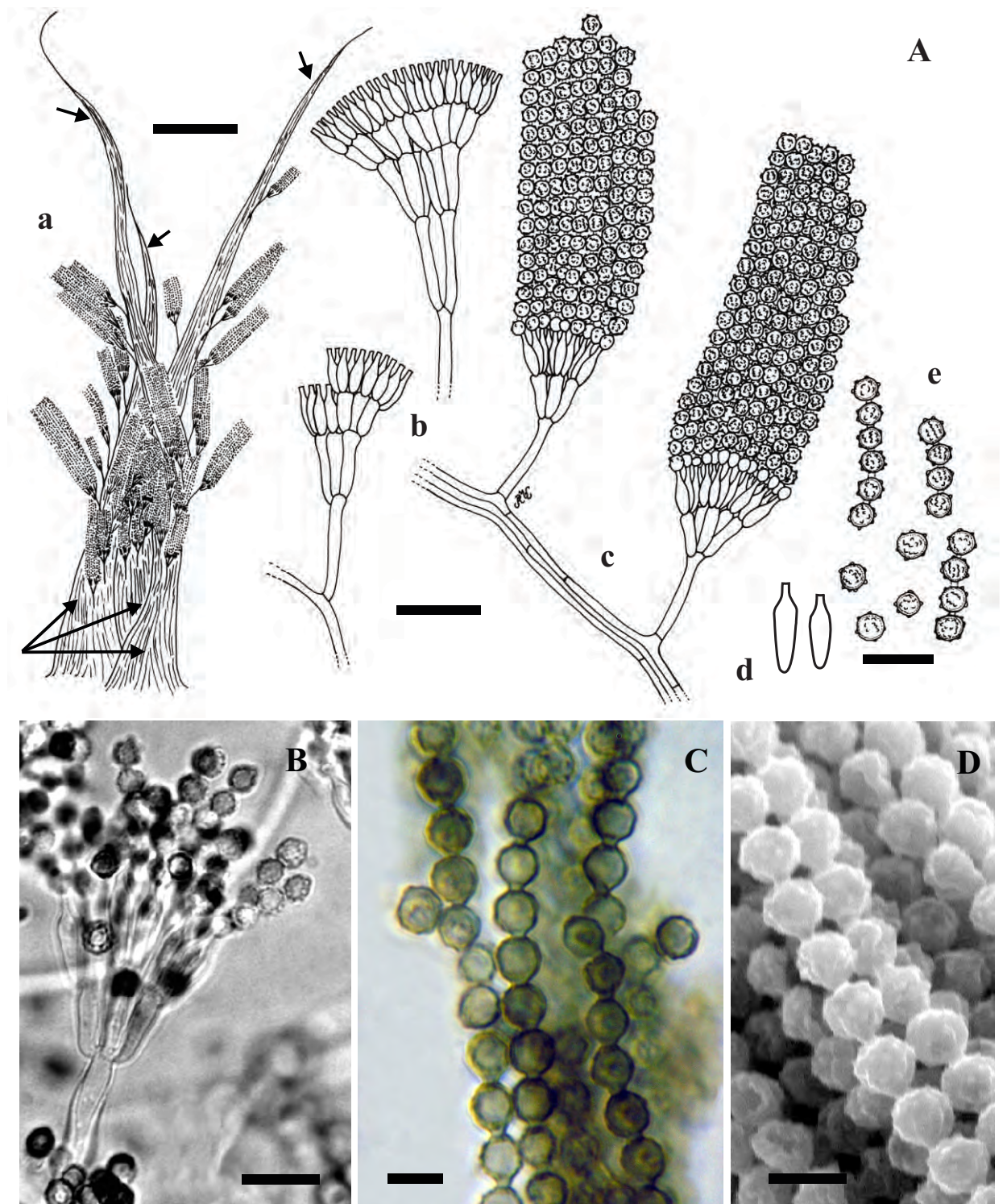


Lámina 20: *Talaromyces systylus* (holotipo). A. Dibujo cortesía del Dr. R. Comerio. a. Tres sinemas en MEA (se señalan con flechas las bases y los ápices de los mismos). b. Conidióforos sinematosos con ramas adicionales. c. Conidióforos biverticilados funiculosos en OA. d. Fíalides. e. Conidios. B. Conidióforo. C. Cadenas de conidios (MO). D. Detalle de columnas de conidios (MEB). Escala: A.a = 200 μm ; A.b, A.c = 20 μm ; A.d, A.e, B, = 10 μm ; C, D = 5 μm .

CAPÍTULO II

Actividad biológica de extractos crudos de ascomicetes aislados de suelo



INTRODUCCIÓN

Todos los organismos vivos sintetizan metabolitos que pueden ser clasificados en primarios y secundarios. Los azúcares, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos se clasifican como metabolitos primarios, son abundantes y esenciales para el desarrollo de los organismos vivos. Los metabolitos secundarios, denominados también productos naturales, corresponden a estructuras de bajo peso molecular y generalmente se encuentran en baja cantidad. Se considera que en la naturaleza existen aproximadamente 1,5 millones de especies de hongos. Esta estimación hace de los productos naturales fúngicos una vasta fuente no explorada de estructuras químicas únicas que se han optimizado por evolución en respuesta a la comunicación y adaptación constante en sus hábitats (Gloer, 2007; Gamboa Angulo & de la Rosa García, 2008).

Numerosos compuestos con utilidad terapéutica se aislaron a partir de ascomicetes: penicilinas de *Penicillium chrysogenum* Thom, cefalosporinas de *Acremonium strictum* W. Gams, actualmente *Sarocladium strictum* (W. Gams) Summerb., ciclosporina de *Tolypocladium inflatum* W. Gams, lovastatina de *Aspergillus terreus* Thom, etc. (Fleming, 1929; Newton & Abraham, 1955; Alberts *et al.*, 1980; Wenger, 1984; Bennet, 1998; Gloer, 2007).

El suelo, en particular, es un nicho ecológico ampliamente estudiado como reservorio de microorganismos elaboradores de productos naturales biológicamente activos (Kumar *et al.*, 2010). La mayoría de los antibióticos y antifúngicos se aislaron de habitantes comunes de suelo (Lihan *et al.*, 2014).

Una alta proporción de cepas fúngicas productoras de antimicrobianos son aisladas de ambientes con condiciones extremas, esto podría estar asociado con funciones de defensa de los organismos para mantener su nicho ecológico en esos medios. Por otro lado, la supervivencia de los hongos en esos ambientes competitivos supone un metabolismo compatible con el mismo y fuertemente influenciado por la selección natural (Gloer, 2007). Por estas razones los microorganismos aislados de zonas hasta ahora no exploradas y/o de ambientes extremos constituyen una elección interesante para la búsqueda de potenciales metabolitos bioactivos nuevos (Phoebe *et al.*, 2001).

Durante las últimas décadas se ha producido un importante incremento en la frecuencia de las infecciones por hongos en pacientes inmunocomprometidos (Herbrecht, 1996). Las micosis profundas se observan cada vez más en los pacientes neutropénicos

que reciben quimioterapia y aquellos que están sujetos a trasplante de células hematopoyéticas. También se observan infecciones fúngicas en pacientes con trasplante de órganos sólidos, que alcanzan el 5% en los receptores de riñón, entre el 15% y el 35% en los de pulmón y corazón, y hasta un 40% en los trasplantados de hígado. Los agentes fúngicos más comunes asociados a estas infecciones (infecciones fúngicas masivas) son *Candida albicans* (C.P. Robin) Berkhout y *Aspergillus fumigatus* Fresen. (Phoebe *et al.*, 2001). Además, con la aparición del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), y sobre todo en pacientes cuyo recuento de CD4 desciende a valores menores a 100, es frecuente observar infecciones por levaduras u hongos filamentosos. Los organismos más comúnmente encontrados en estos pacientes son *Cryptococcus neoformans* (San Felice) Vuill., *Pneumocystis carinii* P. Delanoë & Delanoë y *C. albicans* (Hood & Denning, 1996; Odds *et al.*, 2003). Por otro lado, el uso generalizado de los azoles está provocando la aparición de cepas clínicamente resistentes de *Candida* spp. (Sanguinetti *et al.*, 2015). El surgimiento de cepas resistentes también es un fenómeno habitual en bacterias, por lo tanto, también resulta crítica la búsqueda de nuevas moléculas activas para sustituir antibióticos que pierden efectividad (Laxminarayan *et al.*, 2013).

El término antifúngico o antimicótico incluye aquellas sustancias que pueden producir modificaciones en estructuras básicas de la célula fúngica inhibiendo su desarrollo o alterando su viabilidad y produciendo las mínimas alteraciones posibles en las células del huésped (Kerridge y Vanden-Bossche, 1990). La similitud de los blancos de acción de algunos antifúngicos con estructuras o rutas metabólicas propias de las células humanas determina el escaso número de estos fármacos en comparación con los antibióticos antibacterianos existentes, así como la mayor posibilidad de aparición de efectos secundarios y/o tóxicos (Gubbins & Anaissie, 2009).

Los antifúngicos se clasifican sobre la base de su estructura química, su origen (natural o de síntesis química), su espectro (amplio o restringido) y su mecanismo de acción. Los antifúngicos más utilizados son los polienos (nistatina, anfotericina B), azoles (fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol), equinocandinas (caspofungina, micafungina, anidulafungina), alilaminas (terbinafina), entre otros (Andriole, 1999; Odds *et al.*, 2003).

Antimicrobianos y estudios de sensibilidad

Los antibiogramas son métodos *in vitro* que determinan la sensibilidad de los microorganismos respecto de una variedad de agentes antimicrobianos en condiciones de laboratorio específicas y estandarizadas (Palavecino Rosales, 1997). Los métodos más ampliamente conocidos son: difusión en medio sólido, dilución en agar y dilución en caldo (macro y microdilución).

El antibiograma por difusión en medio sólido o agar, también llamado por difusión por disco o método Kirby-Bauer, fue propuesto por Bauer y colaboradores en 1966 y es uno de los métodos actualmente recomendados por el ex *National Committee for Clinical Laboratories Standards (NCCLS)* llamado hoy *Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI)*. El microorganismo es inoculado en la superficie de una placa de agar, sobre la que se colocan discos de papel impregnados con una solución de concentración conocida del antibiótico. Las placas se incuban a un tiempo y temperatura determinados según los microorganismos analizados. Durante la incubación, el antibiótico difunde radialmente desde el disco a través del agar, por lo que su concentración va disminuyendo a medida que se aleja del disco. En un punto determinado, la concentración del antibiótico en el medio es incapaz de inhibir al microorganismo en estudio. Para determinar si la cepa es sensible o resistente se mide el halo de inhibición.

El método de microdilución consiste en la utilización de placas de 96 pocillos que contienen una determinada concentración del antifúngico. Se realizan diluciones al medio y se inocula la placa desde el pocillo n° 1 al n° 11. El duodécimo es el control de crecimiento sin droga. Se inocula la placa ya preparada con los antifúngicos, se incuba y se lee la concentración inhibitoria mínima (CIM). En términos prácticos, la CIM se considera como la mínima concentración de la droga que inhibe el 100% (u 80%) de crecimiento con respecto al control; depende tanto del microorganismo como de la droga ensayadas.

También han sido desarrollados productos comerciales, que se ajusten a las normas del *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*, para realizar pruebas de sensibilidad de levaduras respecto de antifúngicos. Tres de estos productos han sido aprobados por Administración de Alimentos y Fármacos de Estados Unidos (*FDA*) para la prueba de antifúngicos contra *Candida* en clínica médica: las placas colorimétricas YeastOne Sensititre® (TREK Diagnostic Systems, Inc., Cleveland, OH), la prueba de sensibilidad para levaduras Vitek 2 (BioMérieux, Inc., Marcy l'Etoile, Francia) y E-test

(bioMérieux). Típicamente representan modificaciones de los métodos de dilución en agar o microdilución en caldo y tienen como ventajas la facilidad de uso, la flexibilidad, normalización y rapidez de los resultados (Pfaller, 2012; Sanguinetti *et al.*, 2015). Por otra parte, también se desarrollaron nuevos métodos de diagnóstico basados en tecnologías emergentes, tales como métodos de espectrometría de masa *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization Time-of-Flight (MALDI-TOF)*, citometría de flujo, etc. (Sanguinetti *et al.*, 2015).

Métodos de referencia

En 1997, el *NCCLS* publicó el documento M27-A, en el mismo se propone un método de dilución en medio líquido para las pruebas de sensibilidad antifúngica de levaduras y organismos levaduriformes, sobre todo de *Candida* spp. y *Cryptococcus neoformans*. Posteriormente, en 1998, la necesidad de disponer de un protocolo para el estudio de la sensibilidad de hongos filamentosos propició la aparición del documento M38-P. Actualmente, los métodos vigentes son el M27-A3 y el M38-A2 para levaduras y hongos filamentosos respectivamente (*CLSI*, 2008a y b). Estos métodos de referencia incluyen la forma de preparación del inóculo, su volumen y concentración, el medio de cultivo sintético que debe utilizarse, la temperatura y el tiempo de incubación y los puntos de corte para distintos antifúngicos. Dichos documentos proveen las siguientes definiciones:

Antibiograma: perfil general de los resultados de sensibilidad de una especie microbiana a una batería de agentes antimicrobianos.

Concentración inhibitoria mínima (CIM): es la concentración más baja de un agente antimicrobiano que causa una reducción específica en el crecimiento visible en un ensayo de sensibilidad en agar o caldo. La magnitud de la reducción en el crecimiento visible se evalúa utilizando la siguiente escala numérica: 0, ópticamente claro; 1, ligeramente turbio; 2, disminución importante (alrededor del 50%); 3, reducción ligera en el crecimiento visible; y 4, sin reducción visible en el crecimiento.

Aunque se desarrollaron estos documentos, el *NCCLS* consideró que para determinar la sensibilidad de los hongos frente a varias clases de agentes antifúngicos aún existía la necesidad de un método alternativo simple, rápido y de bajo costo, que hiciera que los ensayos estuvieran más disponibles para el laboratorio de microbiología clínica.

Por esta razón desarrollaron un método de difusión en disco para estudiar la sensibilidad de especies de *Candida* a fluconazol y voriconazol, que fue publicado como el documento M44-A (NCCLS, 2004).

La concentración fungicida mínima (CFM) es la concentración más baja de un agente antimicrobiano en la que no se evidencia desarrollo o solo se observa un número de colonias inferior a tres. La CFM puede predecir mejor los resultados clínicos de algunos fungicidas que la CIM (Espinel-Ingroff *et al.*, 2002).

La Comunidad Europea desarrolló también un método estándar. El método *European Community Antifungal Susceptibility Testing (EUCAST)* incorporó algunas revisiones al método *CLSI*; sin embargo, los dos métodos son equivalentes (Espinel-Ingroff *et al.*, 2005; Pfaller, 2012).

Hipótesis

La diversidad de especies fúngicas de suelos semiáridos de la Provincia de Catamarca incluye ascomicetes productores de moléculas con potencial actividad biológica.

Objetivos

Objetivo General

- Explorar el potencial de los ascomicetes de suelo de la Provincia de Catamarca como productores de metabolitos secundarios con actividad biológica.

Objetivos específicos

- Evaluar la actividad antibacteriana de extractos fúngicos crudos frente a bacterias frecuentemente aisladas como contaminantes de alimentos.
- Evaluar la actividad antifúngica de extractos fúngicos crudos frente a cepas de hongos filamentosos y levaduras de origen clínico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas fúngicas utilizadas

Se utilizaron 15 cepas fúngicas provenientes de suelos semiáridos de la Provincia de Catamarca y de La Rioja; 12 de dichos aislamientos son termorresistentes, aislados e identificados en el Capítulo I. Se aislaron e identificaron, además, tres cepas aisladas con otras metodologías: pasteurización del suelo con etanol (una de Catamarca y la otra de La Rioja) y siembra directa en medio de cultivo de actividad acuosa baja (una cepa, suelo de Catamarca). En la Tabla 1 se detallan las especies, los números de cepa y las técnicas de aislamiento empleadas. La selección de las cepas para los ensayos de actividad biológica se realizó sobre la base de antecedentes bibliográficos o por el carácter extraordinario de su hallazgo (Brian & Hemming, 1946; Dennis & Webster, 1971; Ghisalberti & Sivasithamparam, 1991; Liang, 2008; Reino *et al.*, 2008).

Aislamiento e identificación de especies obtenidas por pasteurización del suelo con etanol

Se incluyeron dos cepas aisladas por tratamiento del suelo con etanol y posterior siembra en Agar Papa Zanahoria (PCA) de acuerdo con Bills *et al.* (2004). Los aislamientos se identificaron a nivel de especie según sus características macroscópicas y micromorfológicas en cultivo (MEA y OA, Apéndice 2).

Aislamiento e identificación de la especie obtenida por siembra directa del suelo en medio de cultivo de actividad acuosa baja

Se incluyó una cepa aislada por siembra directa de suelo en Agar Diclorán Glicerol 18% (DG18), $a_w = 0,955$, según la metodología para aislamiento de hongos xerófilos (Pitt & Hocking, 2009). Se identificó a nivel de especie según sus características macroscópicas y micromorfológicas en cultivo (MEA y OA, Apéndice 2).

Tabla 1: Aislamientos seleccionados para los ensayos de actividad biológica

Especie	Nº de cepa	Técnica de aislamiento
<i>Achaetomium luteum</i> *	192	PE
<i>Aspergillus laciniosus</i>	022	T
<i>Aspergillus tatenoi</i>	222	T
<i>Gilmaniella humicola</i>	3821	T
<i>Hamigera avellanea</i>	0525	T
<i>Hamigera avellanea</i>	0416	T
<i>Hamigera paravellanea</i>	5721	T
<i>Leiothecium ellipsoideum</i>	0311	T
<i>Leiothecium ellipsoideum</i>	5311	T
<i>Sordaria fimicola</i> *	104	PE
<i>Subplenodomus violicola</i> *	0327	X
<i>Trichocladium pyriforme</i>	021	T
<i>Trichoderma saturnisporum</i>	0352	T
<i>Trichoderma saturnisporum</i>	1019	T
<i>Trichoderma saturnisporum</i>	0312	T

PE: pasteurización con etanol, T: termorresistentes, X: xerófilos.

* Estas especies fueron identificadas para el presente capítulo y serán descritas en los resultados y discusión.

Obtención de extractos crudos

Los extractos crudos se obtuvieron a partir de aislamientos que se cultivaron en arroz autoclavado (30 g de arroz, 50 ml de agua) durante 15 días a 25°C. Los cultivos desarrollados se extrajeron con 50 ml de acetato de etilo durante 18 h en reposo y oscuridad, se filtraron y se llevaron a sequedad en evaporador rotatorio (35 °C). Los extractos secos se resuspendieron en cloroformo y se transfirieron cuantitativamente a viales previamente tarados. Se secaron bajo corriente de nitrógeno y se determinó la masa de cada uno. Se utilizó una balanza analítica (OHAUS, $\pm 0,0001$ g). Los extractos se mantuvieron secos a -30 °C hasta su uso.

Análisis de actividad antibacteriana

Para el estudio de la actividad antibacteriana se utilizaron extractos crudos de *Achaetomium luteum* J.N. Rai & J.P. Tewari, *Leiothecium ellipsoideum*, *Sordaria fimicola* (Roberge ex Desm.) Ces. & De Not., *Subplenodomus violicola* (P. Syd.) Gruyter, Aveskamp & Verkley y *Trichoderma saturnisporum*. Se estudió la actividad de estos extractos frente a

bacterias que frecuentemente contaminan alimentos tales como *Enterococcus faecalis* (Andrewes & Horder) Schleifer & Kilpper-Balz (ATCC 29212), *Escherichia coli* (Migula) Castellani and Chalmers (ATCC 8739), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (ex Kauffmann & Edwards) Le Minor & Popoff serovar Typhimurium (ATCC 13311) y *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* Rosenbach (ATCC 6538P).

Se realizaron antibiogramas por duplicado por el método de difusión (Bauer *et al.*, 1959). Se realizaron hisopados sobre Agar Mueller Hinton (MH, Oxoid, CM0337) con cultivos desarrollados en Caldo Infusión Cerebro Corazón (BHI, Britania B0214606) durante 18-24 h. Se colocaron sobre el medio de cultivo, discos de papel de filtro (Whatman N° 5, 6 mm de diámetro) embebidos en el extracto reconstituido en 500 µl de acetato de etilo. Como control positivo se utilizaron discos con 50 µg de cloranfenicol. El control negativo consistió en discos embebidos en acetato de etilo.

Se midieron los halos de inhibición luego de 24 h de incubación a 37 °C. Para evaluar la actividad antibacteriana de los extractos se calculó la relación porcentual entre los halos de inhibición del desarrollo bacteriano, producidos por los extractos fúngicos, respecto del halo de inhibición de la masa de cloranfenicol usada como control.

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{Halo de inhibición del extracto crudo (mm)}}{\text{Halo de inhibición de 50 µg de cloranfenicol (mm)}} \times 100$$

Análisis de actividad antifúngica

La actividad antifúngica de los extractos correspondientes a las especies presentadas en la Tabla 1 se ensayó frente a cepas de origen clínico. Estas últimas fueron aisladas y mantenidas en el Hospital Ramos Mejía (Unidad de Parasitología, Sección Micología), CABA. También se ensayó la actividad antifúngica frente a cepas de referencia provenientes de la colección *American Type Culture Collection* (ATCC).

Los extractos crudos pesados fueron disueltos en dimetil sulfóxido (DMSO) para obtener soluciones stock (s.s.) de los mismos. A partir de estas s.s. se realizaron diluciones al medio en agua destilada estéril para obtener concentraciones finales en un rango de 512-64 µg/ml para los extractos 0311 y 5311; y de 5120-64 µg/ml para el resto de los extractos analizados. Los extractos se mantuvieron a -30 °C hasta su uso.

Ensayos preliminares

Se realizaron ensayos preliminares de la actividad antifúngica de los extractos crudos frente a *Candida albicans* ATCC 6414 por el método de difusión en placa siguiendo las recomendaciones del documento M44-A (NCCLS, 2004).

Se hisoparon placas de Agar Mueller Hinton con glucosa 2% y azul de metileno, con cultivos de 24 h de la levadura. Se realizaron perforaciones con un sacabocados en el agar y en cada uno de ellas se agregaron 30 µl de cada dilución. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 72 h. Luego de ese periodo se midieron los halos de inhibición.

Análisis de la sensibilidad *in vitro* de levaduras y hongos filamentosos frente a los extractos

Aquellos extractos que demostraron actividad en los ensayos preliminares fueron seleccionados para el estudio de la concentración inhibitoria mínima (CIM) *in vitro* frente a 78 cepas clínicas de hongos filamentosos y levaduras siguiendo la metodología de microdilución del CLSI. Se siguieron las recomendaciones del documento M27-A3 (CLSI, 2008a), método de referencia para ensayos de susceptibilidad antifúngica de levaduras para dilución en caldo, y el documento M38-A2 (CLSI, 2008b), método de referencia para ensayos de susceptibilidad antifúngica de hongos filamentosos para dilución en caldo.

Los hongos filamentosos (n = 24) ensayados fueron: *Aspergillus niger* Tiegh, *A. flavus*, *A. fumigatus* y *A. terreus* Thom; las levaduras (n = 54) fueron *Candida albicans*, *C. guilliermondii* (Castell.) Langeron & Guerra, *C. krusei* (Castell.) Berkhout, *C. parapsilosis* (Ashford) Langeron & Talice, *C. tropicalis* (Castell.) Berkhout y *Cryptococcus neoformans*. Se incluyeron *Candida parapsilosis* ATCC 22019, *C. parapsilosis* ATCC 90018 y *C. krusei* ATCC 90028 como cepas de control de calidad, documento M27-A3 (CLSI, 2008a). También se incorporaron como controles de calidad los hongos filamentosos *Aspergillus flavus* ATCC 204304 y *A. fumigatus* ATCC 204305, recomendados en el documento M38-A2 (CLSI, 2008b). En la Tabla 2 se presenta la lista de las cepas utilizadas y su procedencia, así como también las cepas de colección empleadas.

Incorporación del extracto a las microplacas: se utilizaron microplacas de 96 hoyos con base plana (Corning, NY, Estados Unidos), a las cuales se agregó 100 µl de las distintas concentraciones del extracto fúngico a ensayar utilizando micropipeta multicanal. Se conservó la misma concentración por columna; las concentraciones

decrecieron conforme aumentó el número de filas desde la primera hasta la undécima. A los pocillos de la columna número 12 se les agregó 100 µl de agua estéril (control de crecimiento). Las placas se cerraron y se guardaron a -30 °C hasta su utilización.

Preparación del medio de cultivo: se preparó el medio líquido RPMI 1640 con glutamina y sin bicarbonato sódico (L. Microvet SRL, Argentina), pH = $7 \pm 0,1$ [tampón de ácido morfolinopropanosulfónico (MOPS)] (ICN, Sigma) según los documentos citados anteriormente.

Preparación del inóculo: se utilizaron las cepas de levaduras expuestas en la Tabla 2 (*Candida* spp. y *Cryptococcus neoformans*) desarrolladas en Agar Sabouraud Dextrosa (SDA, Oxoid CM41), 24 h, 28 °C. Los hongos filamentosos (Tabla 2) se sembraron en el mismo medio de cultivo, pero incubados durante 48-72 h a 35 °C. Se realizaron suspensiones de todas las cepas en agua destilada estéril. Para estandarizar la densidad del inóculo se comparó su turbidez con un patrón de BaSO₄ (McFarland 0,5). Los inóculos se prepararon diluyendo las suspensiones en medio RPMI 1640 (de doble concentración), para levaduras se utilizó una concentración final de $0,5 \times 10^3$ - 5×10^3 UFC/ml y para hongos filamentosos $0,5 \times 10^4$ - $4,5 \times 10^4$ UFC/ml de acuerdo con lo especificado en los métodos de referencia (CLSI, 2008a y b).

Inoculación de las microplacas: las placas conservadas a -30 °C se descongelaron a temperatura ambiente y se inocularon con 100 µl de la suspensión fúngica. Tanto el inóculo como las drogas quedaron diluidos a la mitad de su concentración original; la concentración final de los extractos fue de 256-0,25 µg/ml. Una misma placa de microdilución se utilizó para estudiar la sensibilidad a estos extractos de ocho cepas de origen clínico distintas. Las placas se incubaron a 35 °C durante 48 horas.

Lectura de la CIM: se realizó una lectura visual del punto final de la CIM a las 48 horas. Se consideró tanto el valor de 50%, como el de 100% de inhibición.

Determinación de la concentración fungicida mínima (CFM): la CFM *in vitro* se determinó colocando 30 µl en la superficie de una placa de MH, a partir de los hoyos de las microplacas que no evidenciaron crecimiento.

Tabla 2: Nombre de las especies, número y origen de las cepas estudiadas

Especie	Nº de cepa	Origen
<i>Aspergillus niger</i>	75	s.d.
<i>Aspergillus flavus</i>	916	P
<i>Aspergillus flavus</i>	596	LP
<i>Aspergillus flavus</i>	593	BN
<i>Aspergillus flavus</i>	1115	BN
<i>Aspergillus flavus</i>	591	BN
<i>Aspergillus flavus</i>	1321	SPN
<i>Aspergillus flavus</i>	838	s.d.
<i>Aspergillus flavus</i>	ATCC 204304	E
<i>Aspergillus flavus</i>	40	s.d.
<i>Aspergillus flavus</i>	1271	E
<i>Aspergillus flavus</i>	592	LP
<i>Aspergillus flavus</i>	1273	E
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1519	s.d.
<i>Aspergillus fumigatus</i>	76	s.d.
<i>Aspergillus fumigatus</i>	ATCC 204305	E
<i>Aspergillus fumigatus</i>	653	E
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1005	E
<i>Aspergillus fumigatus</i>	812	UP
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1100	E
<i>Aspergillus terreus</i>	105	s.d.
<i>Aspergillus terreus</i>	108	s.d.
<i>Aspergillus terreus</i>	109	s.d.
<i>Aspergillus terreus</i>	110	s.d.
<i>Candida albicans</i>	6746	E
<i>Candida albicans</i>	6846/1585	HB
<i>Candida albicans</i>	6708/1571	E
<i>Candida albicans</i>	1517	HB
<i>Candida albicans</i>	1516	HB
<i>Candida albicans</i>	982879	s.d.
<i>Candida albicans</i>	982891	s.d.
<i>Candida albicans</i>	6878/1595	HB
<i>Candida albicans</i>	1532	E
<i>Candida albicans</i>	1513	E
<i>Candida albicans</i>	6527/1537	HB
<i>Candida albicans</i>	522	HB
<i>Candida albicans</i>	509	HB
<i>Candida albicans</i>	514	HB
<i>Candida guilliermondii</i>	6636/1566	P
<i>Candida guilliermondii</i>	02150	s.d.
<i>Candida guilliermondii</i>	21150	s.d.
<i>Candida krusei</i>	671	HB
<i>Candida krusei</i>	842	HB
<i>Candida krusei</i>	521	UM
<i>Candida krusei</i>	ATCC 6815	s.d.

Tabla 2 continuación: Nombre de las especies, número y origen de las cepas estudiadas

Especie	Nº de cepa	Origen
<i>Candida krusei</i>	688	BAL
<i>Candida krusei</i>	827	E
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 22019	s.d.
<i>Candida parapsilosis</i>	6634/1565	UP
<i>Candida parapsilosis</i>	1543	BM
<i>Candida parapsilosis</i>	1545	UM
<i>Candida parapsilosis</i>	1552	MB
<i>Candida parapsilosis</i>	525	UM
<i>Candida parapsilosis</i>	544	UM
<i>Candida parapsilosis</i>	507	BAL
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 90018	H
<i>Candida parapsilosis</i>	547	O
<i>Candida tropicalis</i>	6784/1580	UM
<i>Candida tropicalis</i>	6800/1583	HB
<i>Candida tropicalis</i>	1515	E
<i>Candida tropicalis</i>	6846	s.d.
<i>Candida tropicalis</i>	1531	H
<i>Candida tropicalis</i>	1542	UP
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1424	LCR
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1437	s.d.
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1438	LCR
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1421	H
<i>Cryptococcus neoformans</i>	6641/1540	LCR
<i>Cryptococcus neoformans</i>	3145	s.d.
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1534	LCR
<i>Cryptococcus neoformans</i>	28/1069	H
<i>Cryptococcus neoformans</i>	25/1058	LCR
<i>Cryptococcus neoformans</i>	13/869	LCR
<i>Cryptococcus neoformans</i>	43/1312	LCR
<i>Cryptococcus neoformans</i>	44/1313	H
<i>Cryptococcus neoformans</i>	6/554	LCR
<i>Cryptococcus neoformans</i>	39/1285	LCR
<i>Cryptococcus neoformans</i>	16/944	LCR

BAL: lavado broncoalveolar; BM: biopsia mucosa; BN: biopsia nasal; E: esputo; H: hemocultivo; HB: hisopado de boca; LCR: líquido cefalorraquídeo; LP: líquido pleural; MB: mini BAL; O: orina; P: piel; SPN: senos paranasales; UM: uña de mano; UP: uña de pie; s.d. = sin datos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Especies obtenidas por pasteurización del suelo con etanol

Achaetomium luteum J.N. Rai & J.P. Tewari, in Rai, Tewari & Mukerji, Can. J. Bot. 42 (6): 694, 1964

= *Chaetomium luteum* (J.N. Rai & J.P. Tewari) P.F. Cannon, 1986.

Descripciones e ilustraciones: von Arx *et al.* (1988).

Materiales examinados: La Rioja, **192**, 12/01/09, RN 60 Km 1172, 28°40,507'S, 66°30,038'W, 653 msnm.

Citas geográficas: Australia, India, Japón, Pakistán, República de Senegal (Guarro *et al.* 2012).

Hábitat: suelo, rizósfera (Arx *et al.*, 1988).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

Las características de los aislamientos concuerdan con las descripciones de von Arx *et al.* (1988).

En 1986, Cannon transfirió a *A. luteum* al género *Chaetomium*. Sin embargo, von Arx *et al.* (1988) sustentó, por caracteres morfológicos, la posición de esta especie en el género *Achaetomium*. Hanlin & Lee (1999) analizaron las relaciones filogenéticas entre *Chaetomium* y géneros relacionados, y aunque no incluyeron a *A. luteum*, mantienen la separación entre los géneros *Chaetomium* y *Achaetomium* dentro de la Fam. Chaetomiaceae.

El presente aislamiento constituye el primer registro de la especie para Argentina.

Sordaria fimicola (Roberge ex Desm.) Ces. & De Not., Comm. Soc. Crittog. Ital. 1 (4): 226, 1863

Numerosos sinónimos, ver en Lundqvist, 1972.

Descripciones e ilustraciones: Lundqvist (1972); Domsch *et al.* (2007).

Materiales examinados: Catamarca, **104**, 08/01/09, Rincón, 28°22,05'S, 66°13,644'W.

Citas geográficas: Argentina, Brasil, Canadá, China, Costa Rica, Dinamarca, Egipto, Estados Unidos, Finlandia, Honduras, Indonesia, Japón, Marruecos, Noruega, Pakistán, Paraguay, Puerto Rico, República de Chad, República Democrática del Congo, Venezuela, entre otros (Lundqvist, 1972; Domsch *et al.*, 2007).

Hábitat: suelo, estiércol, nidos de aves, trigo, avena, cebada, rizósfera de plantas de té, maní, pecanes, etc. (Domsch *et al.*, 2007).

Patogenicidad: no se registran datos.

Observaciones:

Las características de los aislamientos concuerdan con las descripciones de Lundqvist (1972) y Domsch *et al.* (2007).

En Argentina fue aislada por primera vez a partir de suelos de la Provincia de Santiago del Estero (Godeas, 1972).

Especie obtenida por siembra directa del suelo en medio de cultivo de actividad acuosa baja

Subplenodomus violicola (P. Syd.) Gruyter, Aveskamp & Verkley, Stud. Mycol. 75: 23, 2012

= *Phoma violicola* P. Syd., Hedwigia 38 (Beibl.): (137), 1899.

= *Phyllosticta violae* f. *violae-hirtae* Allesch., Rabenh. Krypt.-Flora [ed. 2] Pilze 6 [Lief. 61]: 156. 1898 [vol. dated '1901'].

= *Phyllosticta violae* f. *violae-sylvaticae* Gonz. Frag., Trab. Mus. Nac. Cienc. Nat. (Bot.), Madr. 7: 35, 1914.

= *Phoma violae-tricoloris* Died., Annls mycol. 2: 179, 1904.

Lámina 1

Colonias en **OA**, 25 °C, 7 días, 53-54 mm diam., de color verde oliva a verde oscuro, micelio aéreo castaño claro, reverso del mismo color que el anverso; luego de 14 días de incubación a 22 °C y ciclos de luz se extendió por toda la placa de cultivo. En **MEA**, 25 °C, 7 días, 44-50 mm diam., de color blanco o gris oscuro a verdoso, bordes vináceo claro, flocosas; reverso negro castaño con bordes rojizos; 14 días de incubación a 22°C y ciclos de luz se extendido por toda la placa de cultivo.

Conidiomas picnidiales subglobosos, de color oscuro, 80-290 µm diam., con un ostiolo, papilado o con un cuello cilíndrico, generalmente agregados aunque también solitarios. Presencia de micropicnidos en el micelio aéreo. *Células conidiógenas* hialinas, ampuliformes a doliformes, 6-7 µm long. *Conidios* cilíndricos aseptados, lisos, hialinos, 10-13 x 2-3 µm diam., usualmente bigutulados pero en algunos casos con 3 gúttulas, terminales a subterminales. *Clamidosporas* unicelulares en cadenas y multicelulares botriosas-alternarioides o formando estructuras pseudoesclerotioides.

Materiales examinados: Catamarca, **0327**, 05/01/09, RN 60 km 1016, 29°30,068'S, 65°37,951'W, 237 msnm.

Distribución geográfica: Holanda y Nueva Zelanda (Aveskamp *et al.*, 2009).

Hábitat: folícola (Boerema *et al.*, 2004).

Patogenicidad: patógeno oportunista de plantas silvestres y cultivadas de *Viola* spp. y asociada a manchas foliares (Boerema *et al.*, 2004).

Observaciones:

En OA, 25°C, 7 días, nuestro aislamiento alcanzó mayores diámetros que el presentado por Boerema (1993). En MEA se observa micelio aéreo muy pigmentado, que se fractura produciendo artrosporas.

Esta especie no ha sido citada para suelo, en Europa ha sido asociada a manchas foliares de *Viola* spp., y la especie tipo fue aislada de *Viola tricolor* L. (nombre vulgar: pensamiento). *Viola tricolor* no está citada para Catamarca (Sanso *et al.*, 2005) sin embargo, es una especie cultivada, muy variable fenotípicamente, escapada de cultivo y, en algunos casos, asilvestrada. Por otro lado, la muestra proviene de un sitio de muestreo cercano geográficamente a la Provincia de Córdoba, para la cual sí está citada.

El género *Phoma* ha sido dividido por características morfológicas en nueve secciones, Boerema (1993) ubicó a *Phoma violicola* en la sección *Peyronellae* basándose en la producción de dictioclamidosporas o clamidosporas multicelulares. Aveskamp *et al.* (2009) estudiaron la diversidad genética y morfológica y observaron que *P. violicola* no se agrupó con especies de dicha sección, sino que se encontraban entre los linajes basales. De Gruyter *et al.* (2013) encontraron que *P. violicola* se relacionó filogenéticamente a la Fam. *Leptosphaeriaceae* y por lo tanto esta especie fue transferida a un nuevo género denominado *Subplenodomus*.

La presente constituye la primera cita para nuestro país.

Actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana de los extractos fúngicos se presenta en la Tabla 3. Los extractos de *Sordaria fimicola* exhibieron actividad contra las 4 especies bacterianas ensayadas y con elevadas relaciones porcentuales de inhibición. El extracto de *Leiothecium ellipsoideum* también presentó una inhibición importante pero menor a la masa del cloranfenicol usada como control positivo. El resto de las cepas ensayadas no demostró actividad antibacteriana evidente.

Tabla 3: Fuentes de extractos crudos y su acción inhibitoria sobre las especies bacterianas analizadas

Especie fuente del extracto	N° de cepa	% inhibición			
		<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. enterica</i>
<i>Achaetomium luteum</i>	192	0	0	19	0
<i>Leiothecium ellipsoideum</i>	0311	79	0	78	65
<i>Sordaria fimicola</i>	104	100	185	170	120
<i>Subplenodomus violicola</i>	0327	0	14	65	26
<i>Trichoderma saturnisporum</i>	1019	0	0	11	20
<i>Trichoderma saturnisporum</i>	0352	0	0	0	0

No se conocen actividades antibacterianas producidas por *Sordaria fimicola*, sin embargo, está registrada la capacidad antifúngica por compuestos producidos por otras especies de este género (Liang, 2008).

Leiothecium ellipsoideum fue descrita por Samson & Mouchacca (1975), existen pocas citas de esta especie nivel mundial y, hasta el momento, no se conoce que se hayan buscado actividades biológicas para la misma.

Por dicho anteriormente, estos constituyen los primeros datos de inhibición bacteriana por parte de *S. fimicola* y *L. ellipsoideum*.

Actividad antifúngica

Ensayos preliminares de actividad antifúngica

Se observó actividad antifúngica contra *Candida albicans* ATCC 6414 en los extractos crudos provenientes de *A. tatenoi* (222), *S. violicola* (0327) y *T. saturnisporum* (0312) (Tabla 4). Los extractos de *Leiothecium ellipsoideum* (cepas 0311 y 5311) se ensayaron en un rango de concentración de 512-64 µg/ml. Los extractos de *L. ellipsoideum* 0311 presentaron halos de inhibición de 20 y 18 mm de diámetro para las concentraciones de 512 y 256 µg/ml, respectivamente. No se observaron halos de inhibición en *L. ellipsoideum* 5311.

Tabla 4: Fuentes de extractos crudos y diámetros de los halos de inhibición producidos por extractos de diferente concentración

Especie fuente del extracto	Nº de cepa	Diámetro del halo (mm)			
		5120 µg/ml	2560 µg/ml	1280 µg/ml	640 µg/ml
<i>Achaetomium luteum</i>	192	-	-	-	-
<i>Aspergillus lacinosus</i>	022	-	-	-	-
<i>Aspergillus tatenoi</i>	222	20	17	17	14
<i>Gilmaniella humicola</i>	3821	-	-	-	-
<i>Hamigera avellanea</i>	0416	-	-	-	-
<i>Hamigera avellanea</i>	0525	-	-	-	-
<i>Hamigera paravellanea</i>	5721	-	-	-	-
<i>Sordaria fimicola</i>	104	-	-	-	-
<i>Subplenodomus violicola</i>	0327	20	14	12	9
<i>Trichocladium pyriforme</i>	021	-	-	-	-
<i>Trichoderma saturnisporum</i>	0352	-	-	-	-
<i>Trichoderma saturnisporum</i>	1019	-	-	-	-
<i>Trichoderma saturnisporum</i>	0312	32	29	25	17

El extracto de *Sordaria fimicola* no produjo inhibición del crecimiento en ninguna de las cepas fúngicas estudiadas, sin embargo, sí presentó actividad antibacteriana. Otra especie del género, *S. araneosa*, produce sordarina la cual inhibió a *C. albicans* (Liang, 2008).

Yim *et al.* (2014) aislaron a partir de una cepa de *A. tatenoi* aislada de suelo, un nuevo compuesto meroterpenoide al cual llamaron ácido tatenico. Además de otros compuestos conocidos aislaron aszonapironas que exhibieron actividad contra *Plasmodium falciparum* Welch, agente etiológico de la malaria, y citotóxica contra líneas celulares cancerígenas.

Shibazaki *et al.* (2004) describieron un nuevo compuesto antifúngico a partir de *Phoma* sp. Estos autores, evaluaron la actividad antifúngica por el método de microdilución y observaron valores de CIM de 2-16 µg/ml para *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* y *Aspergillus fumigatus*. Otros trabajos también informan actividad antifúngica a partir de *Phoma*, sin identificar a nivel de especie el aislamiento productor de la actividad biológica (Nagai *et al.*, 2002; Herath *et al.*, 2009; Qin *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2012). *Phoma lingam* (Tode) Desm., actualmente *Leptosphaeria maculans* (Tul. & C. Tul.) Ces. & De Not., fue citado como productor de compuestos antifúngicos como el ácido fomenoico y la fomenolactona (Devys *et al.*, 1984; Devys *et al.*, 1986; Topgi *et al.*, 1987). *Phoma etheridgei* L.J. Hutchison & Y. Hirats., actualmente *Leptosphaeria etheridgei* (L.J. Hutchison & Y. Hirats.) Gruyter, Aveskamp & Verkley, produjo un compuesto que inhibió a *Phellinus tremulae* (Bondartsev) Bondartsev & P.N. Borisov (Ayer & Jimenez, 1994). No se encontraron datos bibliográficos de actividad biológica a partir de *Subplenodomus violicola* (anteriormente *Phoma violicola*).

Algunas especies del género *Trichoderma* se estudiaron intensamente como potenciales fuentes de agentes de biocontrol, enzimas y productores de metabolitos secundarios bioactivos (Ghisalberti & Sivasithamparam, 1991; Reino *et al.*, 2008). Se analizaron tres cepas de *T. saturnisporum* y solamente una presentó actividad antifúngica. Rebuffat *et al.* (1993) determinaron que *T. saturnisporum* produce saturnisporinas (peptaiboles) que presentan actividad antibacteriana frente a *S. aureus* (gram positiva) pero no frente a *E. coli* (gram negativa). Ritieni *et al.* (1995) informó la producción de paracelcin E, un nuevo peptaibol producido por *T. saturnisporum*, este compuesto fue responsable de producir actividad antibacteriana frente a *Bacillus megaterium* de Bary y actividad tóxica frente *Artemia salina*. Ninguno de estos autores informó actividad antifúngica. Por otro lado, Sharma & Shanmugam (2012) observaron un efecto

antagónico de cepas de *T. saturnisporum* frente a *Fusarium oxysporum* Schltdl. en cultivo dual.

Análisis de la sensibilidad *in vitro* de levaduras y hongos filamentosos frente a los extractos

En relación con los análisis de sensibilidad descriptos, el punto final se define como la concentración más baja que presenta una prominente disminución de la turbidez en comparación con el control de crecimiento (CLSI, 2008a). La determinación del punto final depende del antifúngico analizado y se fija en relación con estudios previos correlacionados con la respuesta clínica. En el presente trabajo se evaluaron extractos crudos, es decir, mezclas extractivas de composición desconocida. Por esta razón, al conducir los ensayos de sensibilidad se registraron no solo los valores de CIM que producen el 100% de inhibición del desarrollo fúngico, sino también aquellos que ocasionan el 50% de inhibición (dos puntos finales). Las Tablas 5 y 6 muestran los resultados de todas las cepas analizadas.

El extracto crudo de *Trichoderma saturnisporum* exhibió los siguientes rangos de valores de CIM para el 50 y el 100% de inhibición respectivamente, en µg/ml: 0,125-128 y 8-512 frente a *Aspergillus* spp. (n=24); 0,125-4 y 0,125-512 para *C. albicans* y *C. guilliermondii*; 0,125-512 y de 2-512 para las otras especies de *Candida*; y 0,125-512 y 64-512 para *C. neoformans*.

Para el extracto de *Aspergillus tatenoi* se obtuvieron valores de CIM en el rango de 0,125-512 µg/ml, (50-100% de inhibición), frente a todas las levaduras ensayadas. Para todas las especies de *Aspergillus* la CIM fue de 0,125 µg/ml para el 50 % de inhibición. Sin embargo, se observaron rangos de 64-512 µg/ml para *A. flavus* y de 256-512 µg/ml para *A. fumigatus* al considerar el 100 % de inhibición.

Respecto del 100% de inhibición, el extracto crudo de *Leiothecium ellipsoideum* presentó en general menos actividad, un rango de CIM de 16-128 µg/ml, contra *C. parapsilosis* (n=10) que contra otras especies de *Candida*; sin embargo, en relación con el resto de los hongos estudiados este extracto resultó más activo contra *C. albicans*. *Cryptococcus. neoformans* (n=15) presentó un rango de 8-512 µg/ml, excepto en dos cepas cuyo valor fue de 0,125 µg/ml para el 100% de inhibición. Considerando este mismo porcentaje de inhibición, *Aspergillus* spp. (n=24) exhibió un rango de 32-512 µg/ml.

Tabla 5: CIM para 50 y 100% de inhibición (µg/ml) de diferentes extractos crudos en relación con levaduras de origen clínico

Especie	Nº de cepa	Fuente de los extractos							
		<i>T. saturnisporum</i>		<i>A. tatenoi</i>		<i>L. ellipsoideum</i>		<i>S. violicola</i>	
		50%	100%	50%	100%	50%	100%	50%	100%
<i>Candida albicans</i>	6746	4	16	64	128	4	8	0,125	0,125
<i>Candida albicans</i>	6846	0,5	4	1	4	0,5	2	0,125	0,125
<i>Candida albicans</i>	6708	0,125	0,25	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
<i>Candida albicans</i>	1517	0,5	2	0,125	0,125	0,25	2	0,125	0,125
<i>Candida albicans</i>	1516	2	4	0,125	1	4	8	0,125	0,125
<i>Candida albicans</i>	982879	1	4	0,125	1	0,125	2	0,125	0,125
<i>Candida albicans</i>	982891	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
<i>Candida albicans</i>	6878	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
<i>Candida albicans</i>	1532	2	4	1	1	0,125	8	0,125	0,125
<i>Candida albicans</i>	1513	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
<i>Candida albicans</i>	6527	0,125	512	512	512	8	32	0,125	0,125
<i>Candida albicans</i>	522	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
<i>Candida albicans</i>	509	4	512	0,125	512	0,125	4	0,125	0,125
<i>Candida albicans</i>	514	0,125	256	0,125	512	0,125	64	0,125	0,125
<i>Candida guilliermondii</i>	6636	0,125	512	0,125	128	0,25	32	0,125	0,125
<i>Candida guilliermondii</i>	02150	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125	0,125
<i>Candida guilliermondii</i>	21150	0,125	128	0,125	32	0,125		0,125	0,125
<i>Candida krusei</i>	ATCC 6815	0,25	8	0,125	8	0,25	4	0,125	0,125
<i>Candida krusei</i>	671	256	512	16	512	8	32	0,125	0,125
<i>Candida krusei</i>	842	0,125	128	0,125	64	0,125	32	0,125	0,125
<i>Candida krusei</i>	521	0,125	64	0,125	16	0,125	64	0,125	0,125
<i>Candida krusei</i>	688	0,125	16	0,125	8	0,125	16	0,125	0,125
<i>Candida krusei</i>	827	0,125	64	0,125	8	0,125	32	0,125	0,125
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 22019	64	128	16	128	32	64	0,125	0,125
<i>Candida parapsilosis</i>	6634	128	512	128	512	16	32	0,125	0,125
<i>Candida parapsilosis</i>	1543	0,125	256	0,125	256	0,125	16	0,125	0,125

Tabla 5 cont.: CIM para 50 y 100% de inhibición (µg/ml) de diferentes extractos crudos en relación con levaduras de origen clínico

Especie	Cepa	Fuente de los extractos							
		<i>T. saturnisporum</i>		<i>A. tatenoi</i>		<i>L. ellipsoideum</i>		<i>S. violicola</i>	
		50%	100%	50%	100%	50%	100%	50%	100%
<i>Candida parapsilosis</i>	1545	0,125	256	0,125	512	0,125	32	0,125	0,125
<i>Candida parapsilosis</i>	1552	0,125	256	0,125	256	0,125	64	0,125	0,125
<i>Candida parapsilosis</i>	525	0,125	512	0,125	512	0,125	64	0,125	0,125
<i>Candida parapsilosis</i>	544	0,125	2	0,125	0,5	0,125	64	0,125	0,125
<i>Candida parapsilosis</i>	507	0,125	256	0,125	32	0,125	32	0,125	0,125
<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 90018	0,125	256	0,125	512	0,125	128	0,125	0,125
<i>Candida parapsilosis</i>	547	0,125	512	0,125		0,125	64	0,125	0,125
<i>Candida tropicalis</i>	6784	512	512	512	512	0,25	64	0,125	0,125
<i>Candida tropicalis</i>	6800	512	512	512	512	8	64	0,125	0,125
<i>Candida tropicalis</i>	1515	64	128	0,125	128	0,125	16	0,125	0,125
<i>Candida tropicalis</i>	6846	512	512	128	512	8	32	0,125	0,125
<i>Candida tropicalis</i>	1531	256	512	0,125	512	0,125	0,125	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1424	0,125	64	0,125	512	0,125	0,125	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1437	0,125	512	4	512	32	128	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1438	0,125	512	0,125	512	0,125	32	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1421	4	512	512	512	8	128	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	6641	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	3145	0,125	512	0,125	512	0,125	8	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1534	512	512	0,125	512	0,125	0,125	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	28/1069	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	25/1058	0,125	512	0,125	128	0,125	128	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	13/869	0,125	512	0,125	512	0,125	64	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	43/1312	0,125	512	0,125	512	0,125	64	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	44/1313	0,125	512	0,125	128	0,125	32	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	6/554	0,125	512	0,125	512	0,125	32	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	39/1285	0,125	512	0,125	128	0,125	64	0,125	0,125
<i>Cryptococcus neoformans</i>	16/944	0,125	512	0,125	64	0,125	32	0,125	0,125

Tabla 6: CIM para 50 y 100% de inhibición (µg/ml) de diferentes extractos crudos en relación con a hongos filamentosos de origen clínico

Especie	Nº de cepa	Fuente de los extractos							
		<i>T. saturnisporum</i>		<i>A. tatenoi</i>		<i>L. ellipsoideum</i>		<i>S. violicola</i>	
		50%	100%	50%	100%	50%	100%	50%	100%
<i>Aspergillus niger</i>	75	128	512	0,125	512	0,25	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus flavus</i>	916	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus flavus</i>	596	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus flavus</i>	593	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus flavus</i>	1115	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus flavus</i>	591	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus flavus</i>	1321	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus flavus</i>	838	0,125	512	0,125	512	0,125	32	0,125	0,125
<i>Aspergillus flavus</i>	ATCC 204304	0,125	512	0,125	512	0,125	32	0,125	0,125
<i>Aspergillus flavus</i>	40	0,125	512	0,125	64	64	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus flavus</i>	1271	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus flavus</i>	592	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus flavus</i>	1273	16	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1519	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus fumigatus</i>	76	0,125	512	0,125	256	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus fumigatus</i>	ATCC 204305	0,125	8	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus fumigatus</i>	653	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1005	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus fumigatus</i>	812	0,125	512	0,125	512	0,125	32	0,125	0,125
<i>Aspergillus fumigatus</i>	1100	0,125	512	0,125	512	0,125	32	0,125	0,125
<i>Aspergillus terreus</i>	105	0,125	512	0,125	16	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus terreus</i>	108	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus terreus</i>	109	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125
<i>Aspergillus terreus</i>	110	0,125	512	0,125	512	0,125	512	0,125	0,125

El extracto que mostró mayor actividad fue el de *S. violicola*, el valor de CIM para todas las cepas fue de 0,125 µg/ml tanto para el 50 como para el 100% de inhibición. Dados los valores observados para este extracto, se estudió la CFM, para discernir los efectos fungistático o fungicida. El rango fue de 0,125-16 µg/ml para todas las especies de *Candida*, excepto para *C. tropicalis* en la cual el valor de CFM fue de 0,125 µg/ml; *C. neoformans* presentó una CFM de 0,125-512 µg/ml. Con respecto a los hongos filamentosos el extracto exhibió un rango de 0,125-512 µg/ml de CFM. La actividad observada de este extracto resulta promisorio, ya que inclusive *A. terreus* que es intrínsecamente resistente a anfotericina B, droga muy utilizada en clínica, fue sensible a la acción del extracto de *S. violicola*.

En este estudio, los extractos de *L. ellipsoideum*, *T. saturnisporum* y *A. tatenoi* presentaron valores CIM (50% de inhibición, 48 h) frente a la cepa de referencia de *C. parapsilosis* ATCC 22019 superiores en un orden de magnitud respecto a los observados con fluconazol e itraconazol, es decir fueron diez veces menos efectivos; el extracto de *S. violicola* en cambio resultó más activo que estos antifúngicos (St-Germain, 2001). Respecto de la cepa de *C. parapsilosis* ATCC 90018, este último autor informó un valor de CIM de 0,05 µg/ml para fluconazol y 0,06 µg/ml para itraconazol (50% de inhibición, 48 h). Todos nuestros extractos presentaron una CIM de 0,125 µg/ml contra la misma cepa (Tabla 5).

El documento M38-A2 (CLSI, 2008b) informa valores de CIM (100 % de inhibición, 48 h) de 0,12-1 µg/ml para itraconazol frente a la cepa de *A. fumigatus* ATCC 204305. Nuestros extractos, con excepción de *S. violicola*, fueron menos inhibitorios (Tabla 6). Con respecto a la cepa de *A. flavus* ATCC 204304, los rangos de CIM (100 % de inhibición, 48 h) para azoles como itraconazol (0,2-0,5 µg/ml), posaconazol (0,06-0,5 µg/ml), ravuconazol (0,5-4 µg/ml) y voriconazol (0,5-4 µg/ml) (CLSI, 2008b) son menores que las CIM observadas para los extractos de *L. ellipsoideum*, *T. saturnisporum* y *A. tatenoi*. En cambio, el extracto de *S. violicola* resultó más inhibitorio que el resto de los azoles, exceptuando al posaconazol.

Los resultados obtenidos indican la presencia de compuestos con actividad biológica en los extractos crudos de *A. tatenoi*, *L. ellipsoideum*, *S. fimicola*, *S. violicola* y *T. saturnisporum*.

CONCLUSIONES

El trabajo desarrollado confirmó la hipótesis planteada sobre la existencia de ascomicetes productores de moléculas con potencial actividad biológica, en suelos semiáridos de la Provincia de Catamarca. Las conclusiones con respecto a los objetivos relacionados con la evaluación de la actividad antimicrobiana se presentan a continuación:

- ✓ Los extractos crudos de *Sordaria fimicola* y *Leiothecium ellipsoideum* exhibieron actividad antibacteriana.
- ✓ Los extractos crudos de *Aspergillus tatenoi*, *Leiothecium ellipsoideum*, *Subplenodomus violicola* y *Trichoderma saturnisporum* exhibieron actividad antifúngica.
- ✓ Entre los extractos analizados, el de *S. violicola* exhibió el mejor desempeño antifúngico.
- ✓ Adicionalmente, las especies *Achaetomium luteum* y *Subplenodomus violicola* se registraron por primera vez para nuestro país.

BIBLIOGRAFÍA

- Alberts, A. W., Chen, J., Kuron, G., Hunt, V., Huff, J., Hoffman, C., Rothrock, J., Lopez, M., Joshua, H., Harris, E., Patchett, A., Monaghan, R., Currie, S., Stapley, E., Albers-Schonberg, G., Hensens, O., Hirshfield, J., Hoogsteen, K., Liesch, J., Springer, J. (1980). Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 77 (7), 3957-3961.
- Andriole, V. T. (1999). Current and future antifungal therapy: new targets for antifungal agents. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 44 (2), 151-162.
- Aveskamp, M. M., Verkley, G. J., de Gruyter, J., Murace, M. A., Perello, A., Woudenberg, J. H., Groenewald, J. Z. & Crous, P. W. (2009). DNA phylogeny reveals polyphyly of *Phoma* section *Peyronellaea* and multiple taxonomic novelties. *Mycologia*, 101 (3), 363-382.
- Ayer, W. A., & Jimenez, L. D. (1994). Phomalone, an antifungal metabolite of *Phoma etheridgei*. *Canadian Journal of Chemistry*, 72 (11), 2326-2332.
- Bauer, A. W., Perry, D. M., & Kirby, W. M. (1959). Single-disk antibiotic-sensitivity testing of staphylococci: An analysis of technique and results. *Archives of Internal Medicine*, 104 (2), 208.
- Bennett, J. W. (1998). Mycotechnology: the role of fungi in biotechnology. *Journal of biotechnology*, 66 (2), 101-107.
- Bills, G.F., Christensen, M., Powell, M. & Thorn, G. (2004). Saprobiic Soil Fungi: 271-302. En *Biodiversity of Fungi, Inventory and Monitoring Methods*. Mueller, G.M., Bills, G.F. & Foster, M.S. (Eds.). Elsevier Academic Press, Amsterdam.
- Boerema, G. H. (1993). Contributions towards a monograph of *Phoma* (Coelomycetes) -II. Section *Peyronellaea*. *Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*, 15 (2), 197-221.
- Boerema, G. H., Gruyter, J. D., Noordeloos, M. E., & Hamers, M. E. (2004). *Phoma* identification manual. Differentiation of specific and infra-specific taxa in culture. CABI publishing.
- Brian, P. W., & Hemming, H. G. (1947). Production of antifungal and antibacterial substances by fungi; preliminary examination of 166 strains of Fungi Imperfecti. *Microbiology*, 1 (2), 158-167.

- CLSI* (2008a). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved Standard-Third Edition. *CLSI* document M27-A3. Wayne, PA: *Clinical and Laboratory Standards Institute*.
- CLSI* (2008b). Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of filamentous fungi; approved standard *CLSI* document M38-A2. *Clinical and Laboratory Standards Institute*, Wayne.
- De Gruyter, J., Woudenberg, J. H. C., Aveskamp, M. M., Verkley, G. J. M., Groenewald, J. Z., & Crous, P. W. (2013). Redisposition of *Phoma*-like anamorphs in Pleosporales. *Studies in Mycology*, 75, 1-36.
- Dennis, C., & Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*: I. Production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*, 57 (1), 25-IN3.
- Devys, M., Férézou, J. P., Topgi, R. S., Barbier, M., Bousquet, J. F., & Kollmann, A. (1984). Structure and biosynthesis of phomenoic acid, an antifungal compound isolated from *Phoma lingam* Tode. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 2133-2137.
- Devys, M., Topgi, R. S., Férézou, J. P., Quaino, L., Bousquet, J. F., Kollmann, A., & Barbier, M. (1986). Phomenolactone, an antifungal substance from *Phoma lingam*. *Phytochemistry*, 25 (2), 531-532.
- Domsch, K. H., Gams, W., & Anderson, T. H. (2007). *Compendium of soil fungi*, 2nd taxonomically revised edition by W. Gams. IHW, Eching.
- Espinel-Ingroff, A., Fothergill, A., Peter, J., Rinaldi, M. G., & Walsh, T. J. (2002). Testing conditions for determination of minimum fungicidal concentrations of new and established antifungal agents for *Aspergillus* spp.: NCCLS collaborative study. *Journal of clinical microbiology*, 40 (9), 3204-3208.
- Espinel-Ingroff, A., Barchiesi, F., Cuenca-Estrella, M., Pfaller, M. A., Rinaldi, M., Rodriguez-Tudela, J. L., & Verweij, P. E. (2005). International and multicenter comparison of EUCAST and *CLSI* M27-A2 broth microdilution methods for testing susceptibilities of *Candida* spp. to fluconazole, itraconazole, posaconazole, and voriconazole. *Journal of clinical microbiology*, 43 (8), 3884-3889.
- Fleming, A. (1929). On the antibacterial action of cultures of a *Penicillium*, with special reference to their use in the isolation of *B. influenzae*. *British journal of experimental pathology*, 10 (3), 226.
- Gamboa Angulo, M.M. & de la Rosa García, S. (2008). Potencial Biológico y Creatividad Química de los Hongos del Trópico Americano: 251-272. En *Tópicos Sobre Diversidad*,

- Ecología y Usos de los Hongos Microscópicos en Iberoamérica. Heredia, G. (Editora). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED) e Instituto de Ecología, A.C. Xalapa, México.
- Ghisalberti, E. L., & Sivasithamparam, K. (1991). Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp. *Soil Biology and Biochemistry*, 23 (11), 1011-1020.
- Giusiano, G., Rodolfi, M., Mangiaterra, M., Piontelli, E., & Picco, A. M. (2010). Hongos endófitos en 2 plantas medicinales del nordeste argentino. I: Análisis morfotaxonómico de sus comunidades foliares. *Boletín Micológico*, 25.
- Godeas, A. M. (1972). Micoflora del suelo de la Argentina. I Algunas formas ascospóricas de la Región Chaqueña. *Mycopathologia et mycologia applicata*, 46 (3), 189-204.
- Gloer, J. B. (2007). 15 Applications of Fungal Ecology in the Search for New Bioactive Natural Products. *Environmental and Microbial Relationships*, 4, 257.
- Gubbins, P. O., & Anaissie, E. J. (2009). Antifungal therapy. *Clinical Mycology*, 2, 161-95.
- Herath, K., Harris, G., Jayasuriya, H., Zink, D., Smith, S., Vicente, F., Bills, G., Collado, J., González, A., Jiang, B., Nielsen Kahn, J., Galuska, S., Giacobbe, R., Abruzzo, G., Hickey, E., Liberator, P., Xu, D., Roemer, T., Sheo, T., & Singh, S. B. (2009). Isolation, structure and biological activity of phomafungin, a cyclic lipodepsipeptide from a widespread tropical *Phoma* sp. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 17 (3), 1361-1369.
- Herbrecht, R. (1996). The changing epidemiology of fungal infections: are the lipid-based forms of amphotericin B an advance? *European Journal of Haematology*, 56 (S57), 12-17.
- Hood, S., & Denning, D. W. (1996). Treatment of fungal infection in AIDS. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 37 (suppl B), 71-85.
- Kumar, C. G., Mongolla, P., Joseph, J., Nageswar, Y. V. D., & Kamal, A. (2010). Antimicrobial activity from the extracts of fungal isolates of soil and dung samples from Kaziranga National Park, Assam, India. *Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology*, 20 (4), 283-289.
- Kerridge, D., & Bossche, H. V. (1990). Drug discovery: a biochemist's approach. In *Chemotherapy of Fungal Diseases* (pp. 31-76). Springer Berlin Heidelberg.
- Laxminarayan, R., Duse, A., Wattal, C., Zaidi, A. K., Wertheim, H. F., Sumpradit, N. Vlieghe, E., Levy Hara, G., Gould, I., Goossens, H., Greko, C., So, A. D., Bigdeli, M., Tomson, G., Woodhouse, W., Ombaka, E., Quizhpe Peralta, A., Qamar, F., Mir, F., Kariuki, S., Bhutta, Z. A., Coates, A., Bergstrom, R., Wright, G. D., Brown, E. D., & Cars, O. (2013).

- Antibiotic resistance-the need for global solutions. *The Lancet infectious diseases*, 13 (12), 1057-1098.
- Lee, S., & Richard. T. Hanlin. (1999). Phylogenetic relationships of *Chaetomium* and similar genera based on ribosomal DNA sequences. *Mycologia*, 434-442.
- Liang, H. (2008). Sordarin, an antifungal agent with a unique mode of action. *Beilstein Journal of Organic Chemistry*, 4 (1), 31.
- Lihan, S., Choon, Y. K., Hua, N. K., & Wasli, M. E. (2014). Screening for antimicrobial activity of fungi in soil samples collected from Kubah National Park. *International Journal of Technology Enhancements and Emerging Engineering Research*, 3 (2), 1-9.
- Lundqvist, N. (1972). Nordic Sordariaceae s. lat. *Acta Universitatis Upsaliensis, Simbolae Botanicae Upsaliensis XX*: 1, Uppsala.
- Nagai, K., Kamigiri, K., Matsumoto, H., Kawano, Y., Yamaoka, M., Shimoi, H., Watanabe, M., & Suzuki, K. (2002). YM-202204, a new antifungal antibiotic produced by marine fungus *Phoma* sp. *The Journal of Antibiotics*, 55 (12), 1036-1041.
- NCCLS (2004). Method for Antifungal Disk Diffusion Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Guideline. NCCLS document M44-A. NCCLS, Pennsylvania, USA.
- Newton, G. G. F., & Abraham, E. P. (1955). Cephalosporin C, a new antibiotic containing sulphur and D- α -aminoadipic acid.
- Odds, F. C., Brown, A. J., & Gow, N. A. (2003). Antifungal agents: mechanisms of action. *Trends in microbiology*, 11 (6), 272-279.
- Palavecino Rosales, E. (1997). Interpretación de los estudios de susceptibilidad antimicrobiana. *Boletín Escuela de Medicina. Pontificia Universidad Católica de Chile*, 26, 156-160.
- Pfaller, M. A. (2012). Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. *The American journal of medicine*, 125 (1), S3-S13.
- Phoebe, C. H., Combie, J., Albert, F. G., Tran, K. V., Cabrera, J., Correia, H. J., Guo, Y., Lindermuth, J., Rauert, N., Galbraith, W., & Selitrennikoff, C. P. (2001). Extremophilic organisms as an unexplored source of antifungal compounds. *The Journal of antibiotics*, 54 (1), 56-65.
- Pitt, J. I., & Hocking, A. D. (2009). *Fungi and food spoilage*. New York: Springer.
- Qin, S., Hussain, H., Schulz, B., Draeger, S., & Krohn, K. (2010). Two New Metabolites, Epoxydine A and B, from *Phoma* sp. *Helvetica Chimica Acta*, 93 (1), 169-174.

- Rebuffat, S., Conraux, L., Massias, M., Auvin-Guette, C., & Bodo, B. (1993). Sequence and solution conformation of the 20-residue peptaibols, saturnisporins SA II and SA IV. *International journal of peptide and protein research*, 41 (1), 74-84.
- Reino, J. L., Guerrero, R. F., Hernández-Galán, R., & Collado, I. G. (2008). Secondary metabolites from species of the biocontrol agent *Trichoderma*. *Phytochemistry Reviews*, 7 (1), 89-123.
- Ritieni, A., Fogliano, V., Nanno, D., Randazzo, G., Altomare, C., Perrone, G., Bottalico, A., Maddau, L., & Marras, F. (1995). Paracelsin E, a new peptaibol from *Trichoderma saturnisporum*. *Journal of natural products*, 58 (11), 1745-1748.
- Samson, R. A., & Mouchacca, J. (1975). Two new soil-borne cleistothecial ascomycetes. *Canadian Journal of Botany*, 53: 1634-1639.
- Sharma, V., & Shanmugam, V. (2012). Purification and characterization of an extracellular 24 kDa chitinase from the mycoparasitic fungus *Trichoderma saturnisporum*. *Journal of basic microbiology*, 52 (3), 324-331.
- Sanso, A. M., Xifreda, C. C., & Colasante, M. (2005). Especies de *Viola* (*Violaceae*) adventicias en Argentina. *Darwiniana, nueva serie*, 43 (1-4), 192-200.
- Shibazaki, M., Taniguchi, M., Yokoi, T., Nagai, K., Watanabe, M., Suzuki, K., & Yamamoto, T. (2004). YM-215343, a novel antifungal compound from *Phoma* sp. QN04621. *The Journal of antibiotics*, 57 (6), 379-382.
- St-Germain, G. (2001). Impact of endpoint definition on the outcome of antifungal susceptibility tests with *Candida* species: 24-versus 48-h incubation and 50 versus 80% reduction in growth. *Mycoses*, 44 (1-2), 37-45.
- Sanguinetti, M., Posteraro, B., & Lass-Flörl, C. (2015). Antifungal drug resistance among *Candida* species: mechanisms and clinical impact. *Mycoses*, 58 (S2), 2-13.
- Topgi, R. S., Devys, M., Bousquet, J. F., Kollmann, A., & Barbier, M. (1987). Phomonoic acid and phomenolactone, antifungal substances from *Phoma lingam* (Tode) Desm.: kinetics of their biosynthesis, with an optimization of the isolation procedures. *Applied and Environmental Microbiology*, 53 (5), 966-968.
- von Arx, J. A., Figueras, M. J., & Guarro, J. (1988). Sordariaceous ascomycetes without ascospore ejaculation. *Nova Hedwigia* 94, 104 p. J. Cramer, Berlin.
- Wang, L. W., Xu, B. G., Wang, J. Y., Su, Z. Z., Lin, F. C., Zhang, C. L., & Kubicek, C. P. (2012). Bioactive metabolites from *Phoma* species, an endophytic fungus from the Chinese

medicinal plant *Arisaema erubescens*. Applied microbiology and biotechnology, 93 (3), 1231-1239.

Wenger, R. M. (1984). Synthesis of cyclosporine. Total syntheses of ‘cyclosporin A’ and ‘cyclosporin H’, two fungal metabolites isolated from the species *Tolypocladium inflatum* GAMS. Helvetica chimica acta, 67 (2), 502-525.

Yim, T., Kanokmedhakul, K., Kanokmedhakul, S., Sanmanoch, W., & Boonlue, S. (2014). A new meroterpenoid tatenic acid from the fungus *Neosartorya tatenoi* KCU-2NK23. Natural Product Research, 28 (21), 1847-1852.

Lámina

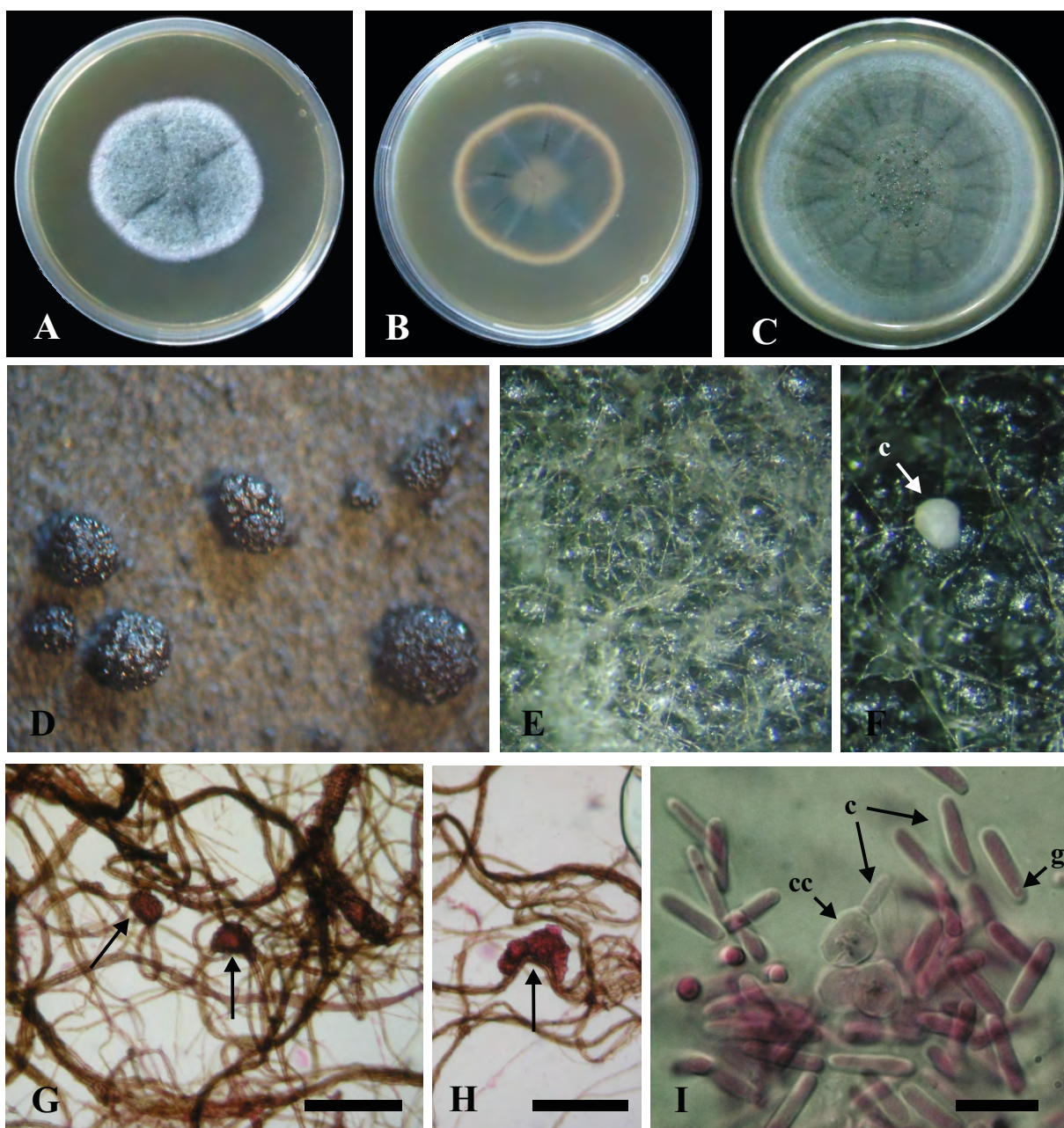
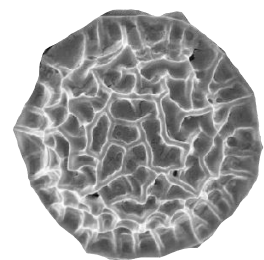


Lámina 1: *Subplenodomus violicola*. A-C. Colonias a 25°C. A. MEA, 7 días. B. Reverso en MEA, 7 días. C. MEA, 14 días. D-F. Conidiomas. c = cirro. G-H. Clamidosporas formando estructuras pseudoesclerotioides (flechas). I. Célula conidiogena y conidios. cc = célula conidiógena. c = conidios. g = gútula. Escala: G, H = 50 μm; I = 10 μm.

CAPÍTULO III

Estudio topográfico de ascosporas



INTRODUCCIÓN

La técnica *RIMAPS*

Rotated Image with Maximum Average Power Spectrum (RIMAPS) es una técnica numérica que brinda información acerca de la existencia de patrones geométricos superficiales que no puede ser obtenida de la interpretación directa de la imagen por la simple inspección visual (Fuentes & Favret, 2002). *RIMAPS* es una técnica independiente de la clase de microscopía y de las condiciones usadas para la observación, siempre y cuando las condiciones se mantengan constantes y todo el patrón esté presente en el área observada (Fuentes & Favret, 2002). Esta técnica consiste en el procesamiento de una imagen digitalizada empleando los siguientes pasos:

- Rotación de la imagen original de 0° a 360° .
- Para cada posición angular se calcula la integración, en una línea, de una de las variables de la transformada doble de Fourier.
- Se calcula, luego, el promedio sobre la otra variable de integración.
- Se grafica, por último, el valor máximo del espectro de potencia (*Maximum Average Power Spectrum*-MAPS) en función de la posición angular (*Rotated Image* – RI) (Favret *et al.*, 2003).

A modo de ejemplo en la Figura 1 se representa un espectro *RIMAPS* que se obtiene de analizar una imagen simple (un segmento de línea con una inclinación de 45° respecto de la horizontal). Los máximos, para dicha imagen ocurren para las posiciones angulares de 45° y 225° que es cuando el segmento de línea se ubica horizontalmente, paralelo al eje de abscisas. El aumento de la complejidad de las figuras geométricas analizadas incide sobre el número de picos y su distribución en el espectro, y los espectros *RIMAPS* ofrecen una clave para su interpretación (Rosi, 2002).

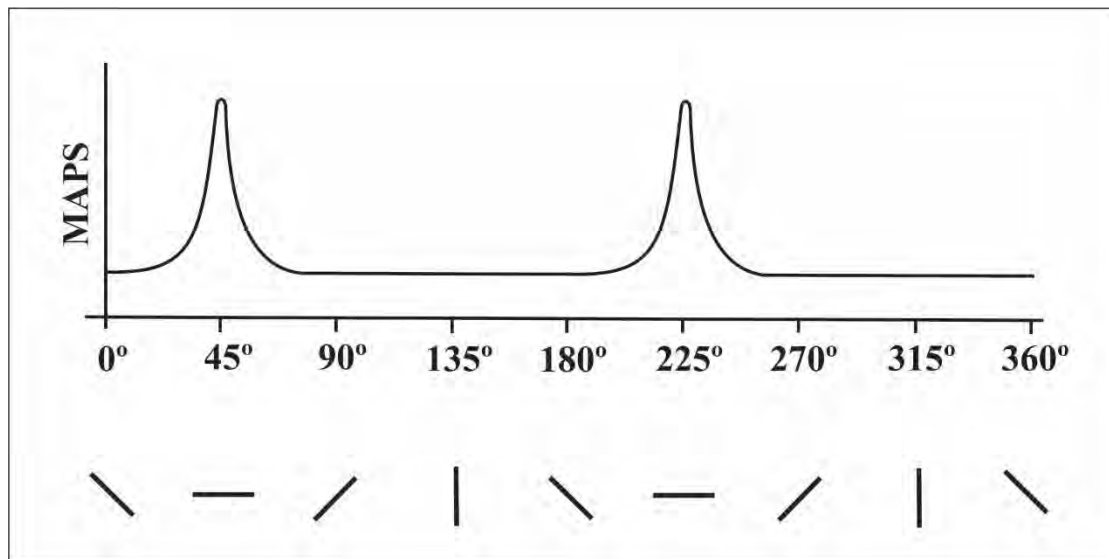


Figura 1: Esquema de un espectro *RIMAPS* de una línea rotada en sentido antihorario.

En comparación con el ejemplo anterior, las imágenes de las superficies de las ascosporas analizadas son muy complejas. En consecuencia, también se incrementa la complejidad de sus espectros *RIMAPS* asociados. No obstante, de modo análogo al espectro del segmento de línea, el espectro *RIMAPS* constituye una clave interpretativa. En el caso del análisis de superficies dicha clave se asocia con la topografía.

Aplicaciones

Fuentes & Favret (2002) desarrollaron la técnica *RIMAPS*, la cual fue aplicada en diversos campos. En metalografía para la detección de diferentes superficies, constituyendo una herramienta para la detección de daños incipientes en superficies metálicas (Favret & Fuentes, 2003).

Esta técnica, también, fue utilizada en arqueología para cuantificar los rastros de microdesgaste sobre artefactos líticos, con el fin de identificar su contexto de uso (Álvarez

et al., 2002). En estudios de suelo, se utilizó para la caracterización de superficies de fracturas y la determinación de los caminos principales del flujo de agua (Fuentes & Faybishenko, 2004).

Por otro lado, *RIMAPS* también se utilizó para el estudio de superficies foliares superhidrofóbicas (Favret *et al.*, 2006 y Favret & Molina, 2011); de la epidermis de las brácteas de tres especies de gramíneas (Favret *et al.*, 2008a) y para el desarrollo de raíces de cultivos hidropónicos de *Hordeum vulgare* (Favret *et al.*, 2008b).

Hipótesis

La técnica de análisis de imágenes *RIMAPS* constituiría una herramienta complementaria para el análisis morfológico de ascosporas.

Objetivos

Objetivo general

- Evaluar la aplicación de *RIMAPS* para el estudio morfológico de ascosporas.

Objetivos específicos

- Explorar la técnica *RIMAPS* para caracterizar la ornamentación de ascosporas.
- Evaluar el desempeño de *RIMAPS* para distinguir diferentes ornamentaciones de ascosporas.

MATERIALES Y MÉTODOS

Micrografías

Las micrografías se obtuvieron con un microscopio electrónico de barrido (MEB) Zeiss NTS Supra 40, en el Centro de Microscopías Avanzadas (CMA), FCEN-UBA. Los ascomas fragmentados se montaron sobre cinta de carbono para su posterior metalizado con oro a cargo del servicio de microscopía del CMA de la misma manera que se describió en el Capítulo I.

Análisis de imágenes

Se estudiaron imágenes obtenidas en el MEB con una magnificación de 25000x a 40000x, correspondientes a la superficie frontal del cuerpo de ascosporas de *Aspergillus* spp. Las micrografías y dibujos se digitalizaron mediante el uso de un scanner. Los análisis se realizaron con la técnica *RIMAPS*, con la cual se obtiene un promedio de espectros de potencia para cada posición angular. La rotación de la imagen y los valores máximos del espectro de potencia para cada ángulo se obtuvieron mediante el programa Mountain Maps Demo Versión 2.0 (1999). Para obtener el espectro *RIMAPS*, los valores máximos correspondientes se representaron gráficamente en función del ángulo de rotación de 0° a 180°, grado por grado dado que el espectro obtenido es simétrico para los siguientes 180°. Para calcular el área bajo las curvas se utilizó el programa Microcal™ Origin™, versión: 5,0 (Microscal Software Inc., Northampton, USA).

Estudio de imágenes reales y conceptualizadas de la superficie de una ascospora

A partir de una micrografía de *Aspergillus montevicensis* (Fig. 2.A), se utilizó el filtro estilizador del programa Adobe Photoshop 6.0 y se obtuvo una imagen estilizada de la ascospora (Fig. 2.B). También se realizaron dibujos, una copia de los bordes de la ornamentación (Fig. 2.C) y una abstracción construida con rectángulos (Fig. 2.D).

Caracterización del patrón de disposición de tubérculos en una ascospora

A partir de una micrografía de *Aspergillus shendawei* (Fig. 3.A) se realizaron tres dibujos a mano alzada: una copia de la ornamentación utilizando triángulos y círculos (Fig. 3.B) y dos imágenes adicionales que sirvieron como modelos de prueba; en la Fig. 3.C triángulos y círculos siguen un patrón en espiral, mientras que en la Fig. 3.D siguen un patrón de anillos concéntricos. El número de elementos de estas dos últimas imágenes fue exactamente el mismo y se mantuvo la disposición relativa de los elementos vecinos.

Diferenciación entre paredes de ascosporas con distintos tipos de ornamentación

Se analizaron micrografías de ascosporas reticuladas con barras anastomosadas de *A. tatenoi* y *A. fischeri* (Figs. 4.A y B), de ascosporas microtuberculadas, *A. shendawei* (Fig. 4.C) y de ascosporas con microtubérculos y pliegues radiales de *A. laciniosus* (Fig. 4.D).

RESULTADOS

Estudio de imágenes reales y conceptualizadas de la superficie de una ascospora

Los valores máximos obtenidos se graficaron en función del ángulo de rotación para obtener el espectro *RIMAPS* en coordenadas polares (Fig. 2.E-F).

La Fig. 2.E expone los espectros de *RIMAPS* de las Figs. 2.A y 2.B. Se observan máximos similares en ambos espectros que indican direcciones principales similares. Los valores son 30°-45° (varios picos), 60°, 75°-95° (varios picos), 105°-110° (dos picos), 120°, 140°-150° (varios picos), 160° para la Fig. 2.A y 35°, 45°, 80°, 107°, 120°, 135°-145° (varios picos) y 167° para la Fig. 2.B. El filtro estilizador identifica las áreas de la imagen con transiciones significativas y hace hincapié en los bordes, resultando útil para destacar los bordes del patrón de ornamentación.

La Fig. 2.F muestra los espectros de *RIMAPS* de las Figs. 2.C y D también en coordenadas polares. En este caso, encontramos nuevamente valores máximos similares. Los

valores son 5°, 35°, 50°, 70°, 85°, 105°, 122°, 134°, 152° y 167° para la Fig. 2.C; y 0°, 14°, 45°, 60°-80° (cuatro picos), 103°, 122°, 136°, 150°-160° (varios picos) para la Fig. 2.D.

Numerosos puntos máximos se obtuvieron en el espectro *RIMAPS* de la Fig. 2.A y eso se debió a la complejidad de la superficie de la ascospora. Esta complejidad puede reducirse utilizando la imagen estilizada y aún más si se introducen dibujos conceptualizados de la imagen original. Comparando los espectros *RIMAPS* de las cuatro imágenes, se determinan máximos en común, por ejemplo, 30°, 45°, 65°-80°, 107°, 120°, 135° y 160°. Se puede observar que 30° y 120°, 45° y 135°, 65°-80° y 160° son pares de ángulos complementarios que indican la presencia de rectángulos. Esta diferencia de 90° también ha sido observada por Fuentes & Favret (2002) tanto para imágenes geométricas simples (cuadrados) como para muestras de cobre con patrones cuadrilongos.

RIMAPS reconoció el concepto de ornamentación con barras en todos los puntos del trayecto de abstracción planteado, desde la imagen original (la más compleja) hasta la composición elemental con rectángulos.

Caracterización del patrón de disposición de tubérculos en una ascospora

En las Figs. 3.E-F se presentan los espectros *RIMAPS* obtenidos a partir de la imagen original (3.A) respecto del diseño en espiral (3.C) y respecto del diseño en anillos concéntricos (3.D). Se graficaron los valores máximos en función del ángulo de rotación de los primeros 180°.

La Fig. 3.E expone los espectros de las Figs. 3.A y C. Entre ambos espectros se observaron numerosas diferencias, los valores máximos en 75°-105° y 145°-165° resultaron particularmente relevantes.

La Fig. 3.F expone los espectros de *RIMAPS* de las Fig. 3.A y D. En este caso, los dos espectros resultaron prácticamente coincidentes en toda la gama angular, lo que significa que la distribución de espinas estaría asociada con un patrón de anillos concéntricos en lugar de uno en espiral.

RIMAPS se desempeñó eficientemente para asignar uno de los dos patrones de ornamentación propuestos para la topografía de la ascospora de *A. shendawei*.

Diferenciación entre paredes de ascosporas con distintos tipos de ornamentación

Los espectros *RIMAPS* obtenidos se presentan en las Fig. 5 y 6. Las curvas y sus integrales se utilizaron para describir la ornamentación de ascosporas. La Tabla 1 resume los resultados más relevantes obtenidos.

Tabla 1. Características de los espectros *RIMAPS* de las ascosporas de las especies analizadas

Especie	Tendencias ascendentes y descendentes de los espectros	Valor del área bajo la curva
<i>Aspergillus fischeri</i>	Buen acompañamiento de la curva de <i>A. tatenoi</i>	99,9
<i>Aspergillus tatenoi</i>	Buen acompañamiento de la curva de <i>A. fischeri</i>	104,1
<i>Aspergillus lacinosus</i>	Acompaña regularmente a las curvas de <i>A. fischeri</i> , <i>A. tatenoi</i> y <i>A. shendawei</i>	99,2
<i>Aspergillus shendawei</i>	No acompaña la curva de <i>A. fischeri</i> ni la de <i>A. tatenoi</i> , acompaña regularmente a la curva de <i>A. lacinosus</i>	76,2

El área bajo las curvas de *A. fischeri* y *A. tatenoi* es similar (Figs. 5.A y B). Por otra parte, las curvas que representan a estas especies se acompañan en su tendencia creciente en casi todo su recorrido (excepto entre 40° y 60° y otras). Estas características reflejarían que, aunque muy similares, los retículos de ambas especies presentan diferencias morfológicas sutiles. Por ejemplo, el retículo de *A. fischeri* se observa más laxo que el de *A. tatenoi* (Fig. 4.C y D). El área bajo la curva de *A. shendawei* es marcadamente menor que las áreas análogas descritas para *A. fischeri* y *A. tatenoi* (Tabla 1). Además, la curva de *A. shendawei* se observa prácticamente decreciente en los tramos donde los espectros de *A. fischeri* y *A. tatenoi* exhiben tendencias crecientes y viceversa (Fig. 6.A). Este comportamiento se explicaría sobre la base de las profundas diferencias entre las ornamentaciones comparadas (microtubérculos y retículos). El espectro de *A. lacinosus* se presentó como intermedio entre los de las especies con esporas reticuladas, *A. fischeri* y *A. tatenoi* (Fig. 6.B) y el de la especie

con microtubérculos (*A. shendawei*) tanto desde el punto de vista del valor del área bajo la curva como desde el análisis de las tendencias crecientes y decrecientes de los espectros. Esta característica se asociaría con la morfología de las ascosporas de *A. lacinosus* que ostentan microtubérculos y pliegues radiales angostos. Estos últimos, en sentido amplio, podrían considerarse como tramos de un retículo incompleto.

El análisis de imágenes biológicas se utilizó anteriormente con otras metodologías a fin de cuantificar alguna característica o disminuir los tiempos de análisis. Green *et al.* (1994) cuantificaron el desarrollo de micelio de micorrizas arbusculares. Paul & Thomas (1988) utilizaron el análisis de imágenes para la caracterización automática de micelio en muestras de fermentación. La espectroscopia FTIR (*Fourier transform infrared*) es generalmente empleada para determinar la composición química de los compuestos orgánicos; por otro lado, combinada con microscopía y técnicas de análisis de imágenes demostró utilidad en la detección de hongos de pudrición blanca en maderas (Naumann *et al.*, 2005). También se desarrollaron programas que permiten el recuento de colonias y clasificación, cuantificación de tumores, entre otros usos, a partir de imágenes digitales (Lamprecht *et al.*, 2007). El presente trabajo de Tesis ofrece los primeros estudios desarrollados en relación con el estudio topográfico de esporas fúngicas.

CONCLUSIONES

- ✓ La ornamentación de las ascosporas estudiadas se pudo caracterizar por un espectro *RIMAPS* a partir de sus imágenes.
- ✓ El análisis de los espectros *RIMAPS* contribuyó a sustentar la presencia de diferencias morfológicas entre ascosporas de especies estrechamente relacionadas.
- ✓ Los análisis efectuados con la técnica *RIMAPS* constituirían un recurso auxiliar en el ámbito de los estudios micológicos.

BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez, M., Fuentes, N. O., Favret, E. A., Dolce, M. V., & Forlano, A. (2012). Quantifying use-wear traces through *RIMAPS* and Variogram analyses. *Archaeological and Anthropological Sciences*, 4 (2), 91-101.
- Favret, E. A., & Fuentes, N. O. (2003). *RIMAPS* detection of incipient damage on metallic surfaces. *Materials characterization*, 49 (5), 387-393.
- Favret, E. A., & Molina, A. M. (2012). The Natural Patterns of Self-Cleaning Surfaces: *RIMAPS* Analysis of Superhydrophobic Leaves. *Microscopy Today*, 20, 01-36.
- Favret, E. A., Fuentes, N. O., & Molina, A. M. (2006). Quantitative study of *Xanthosoma violaceum* leaf surfaces using *RIMAPS* and variogram techniques. *Microscopy research and technique*, 69 (8), 684-688.
- Favret, E. A., Fuentes, N. O., Molina, A. M., & Setten, L. M. (2008a). Description and interpretation of the bracts epidermis of Gramineae (Poaceae) with rotated image with maximum average power spectrum (*RIMAPS*) technique. *Micron*, 39(7), 985-991.
- Favret, E. A., Fuentes, N. O., Molina, A. M., & Setten, L. M. (2008b). Description and interpretation of the bracts epidermis of Gramineae (Poaceae) with rotated image with maximum average power spectrum (*RIMAPS*) technique. *Micron*, 39 (7), 985-991.
- Fuentes, N. O., & Favret, E. A. (2002). A new surface characterization technique: *RIMAPS* (Rotated Image with Maximum Average Power Spectrum). *Journal of Microscopy*, 206 (1), 72-83.
- Fuentes, N. O., & Faybishenko, B. (2004). *RIMAPS* and Variogram characterization of water flow paths on a fracture surface. *Proceedings of the Second International Symposium on Dynamics of fluids in fractured rock*, 120.
- Lamprecht, M. R., Sabatini, D. M., & Carpenter, A. E. (2007). CellProfiler™: free, versatile software for automated biological image analysis. *Biotechniques*, 42 (1), 71.
- Naumann, A., Navarro-González, M., Peddireddi, S., Kües, U., & Polle, A. (2005). Fourier transform infrared microscopy and imaging: detection of fungi in wood. *Fungal Genetics and Biology*, 42 (10), 829-835.

- Paul, G. C., & Thomas, C. R. (1998). Characterisation of mycelial morphology using image analysis. In *Relation between Morphology and Process Performances* (pp. 1-59). Springer Berlin Heidelberg.
- Rosi, P. E. (2002). Caracterización de epidermis foliares autolimpiantes mediante técnicas *RIMAPS* y método de Variograma. Trabajo final de la Carrera de Especialización en Aplicaciones Tecnológicas de la Energía Nuclear. Universidad Nacional de Cuyo y Universidad de Buenos Aires.

Figuras

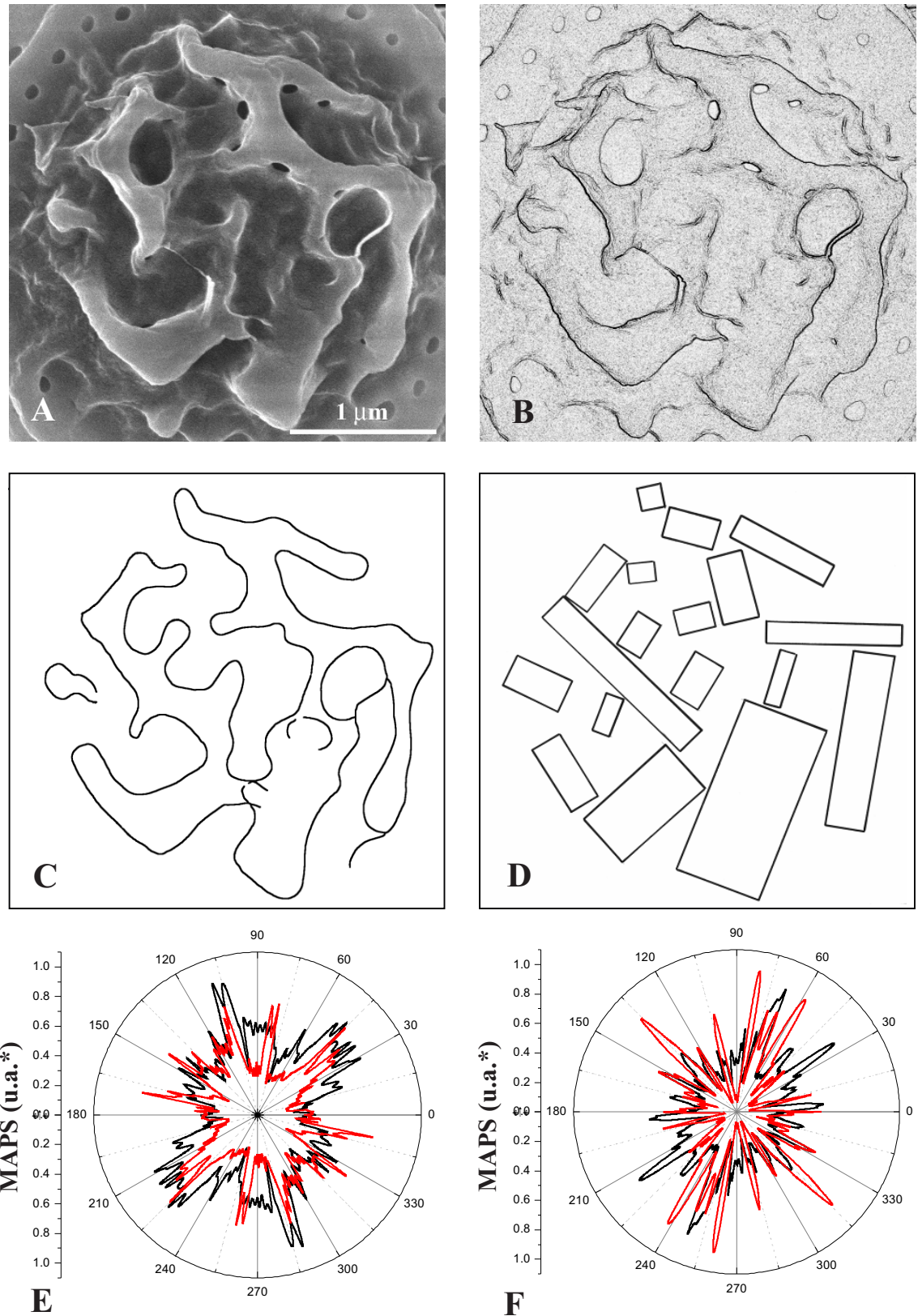


Figura 2. Estudio de imágenes reales y conceptualizadas de la superficie de una ascospora de *A. montevidensis*. **A.** Imagen recortada de una ascospora (MEB). **B.** Imagen estilizada de A. **C.** Dibujo esquemático que muestra las principales características de la ornamentación. **D.** Dibujo esquemático con la ornamentación simplificada con una distribución de rectángulos. **E-F.** Espectros RIMAPS. **E.** Fig. 2.A (línea negra) y Fig. 2.B (línea roja). **F.** Fig. 2.C (línea negra) y Fig. 2.D (línea roja). * a. u. = unidades arbitrarias.

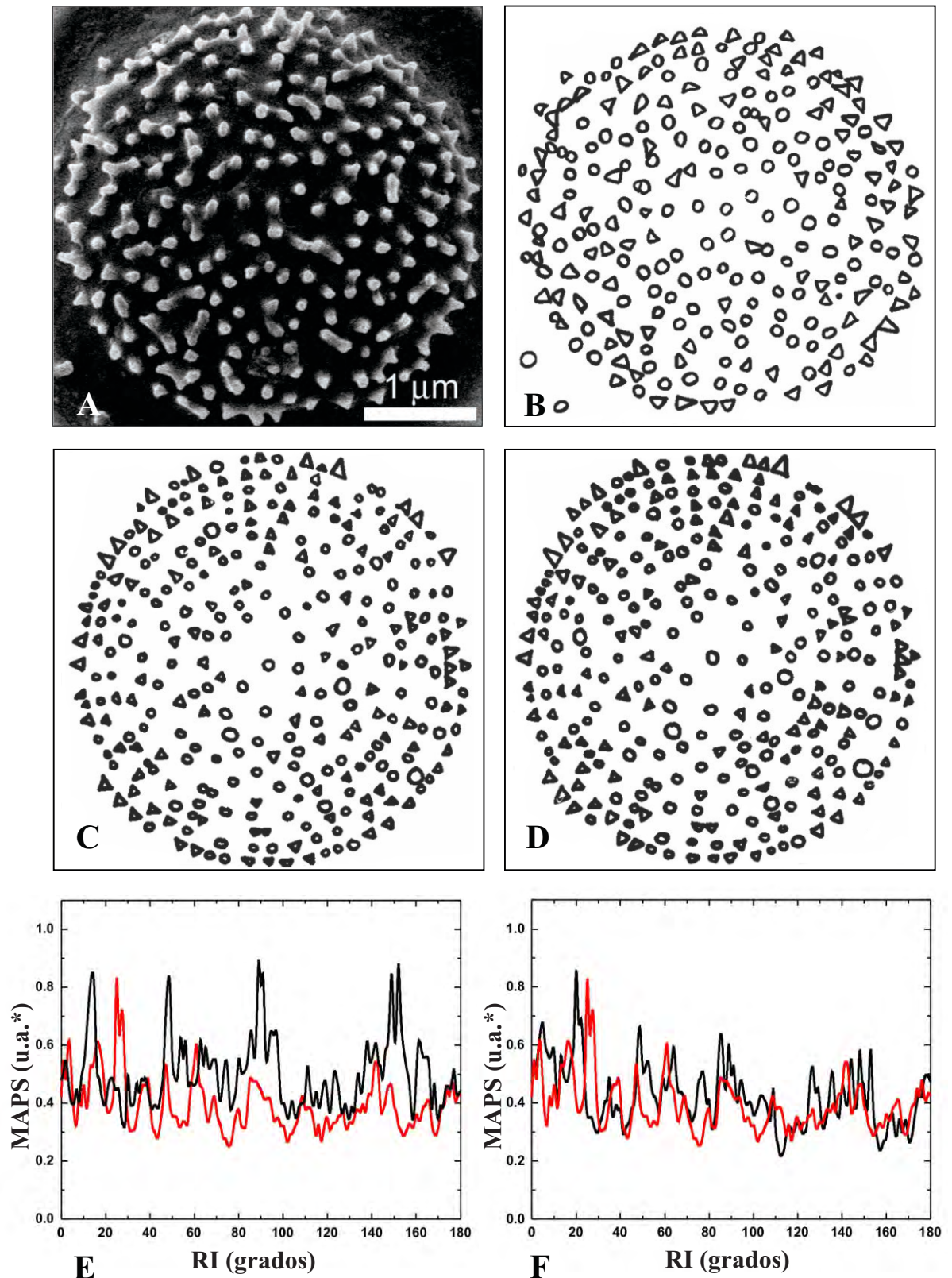


Figura 3. Caracterización del patrón de disposición de tubérculos en una ascospora. **A.** Imagen recortada de una ascospora de *Aspergillus shendawei* (MEB). **B.** Copia de la ornamentación de A utilizando triángulos y círculos. **C-D.** Modelos de prueba de la ornamentación de la ascospora. **C.** Diseño en espiral. **D.** Diseño en anillos concéntricos. **E-F.** Espectros de RIMAPS. **E.** Fig. A (línea roja) y C (línea negra). **F.** Fig. A (línea roja) y D (línea negra). * a.u. = unidades arbitrarias.

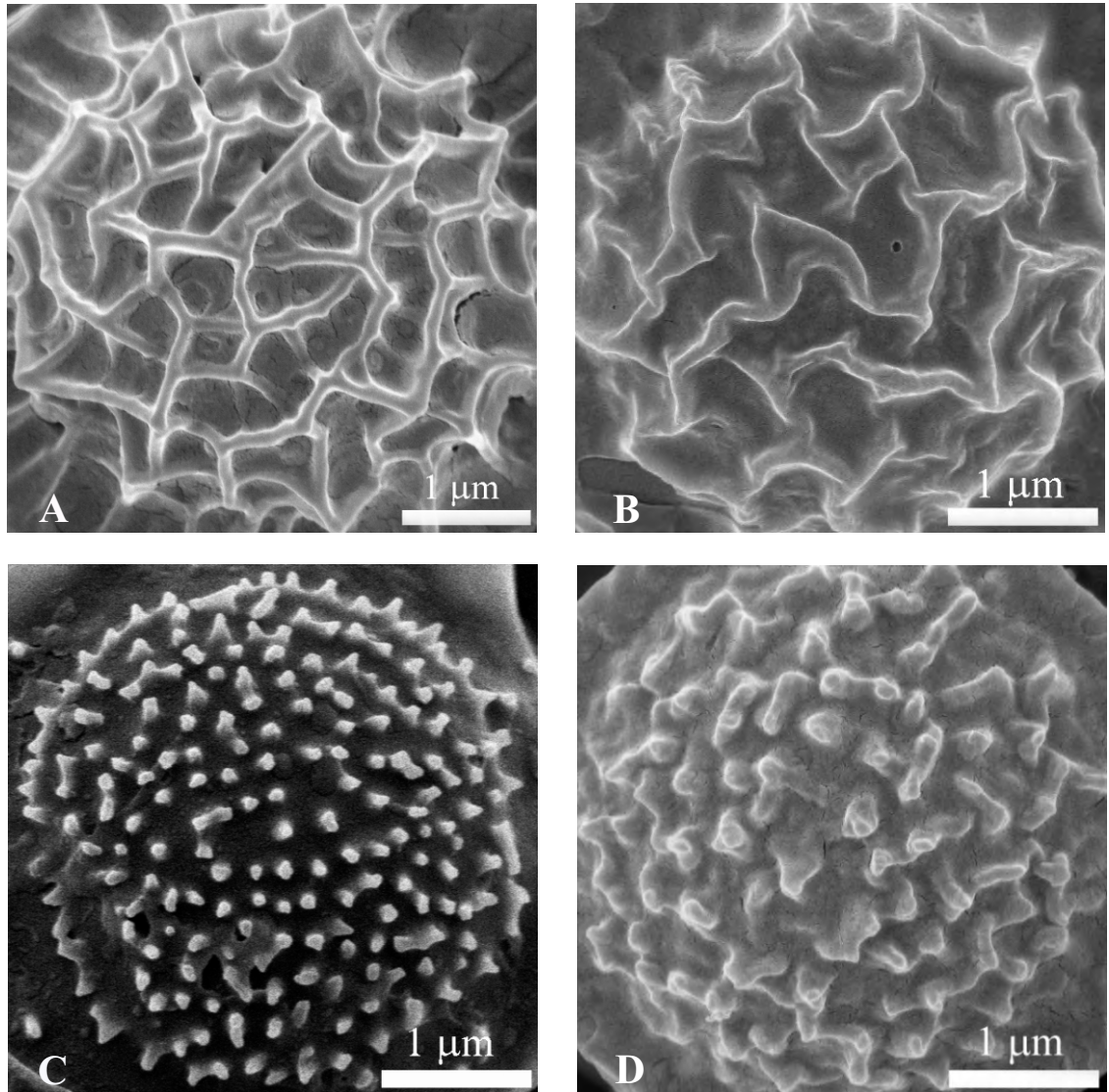


Figura 4. Imágenes de las ascosporas analizadas. **A-D.** Imágenes recortadas (MEB). **A.** *A. tatenoi*. **B.** *A. fischeri*. **C.** *Aspergillus shendawei*. **D.** *A. lacinosus*.

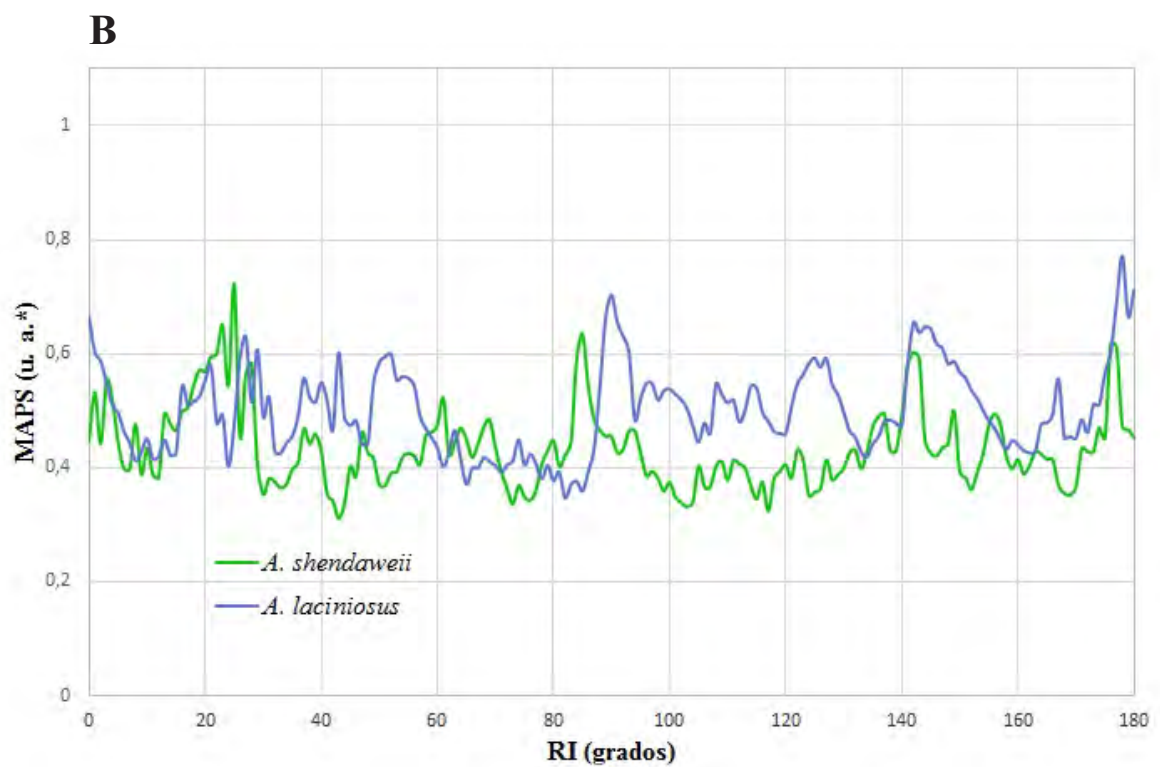
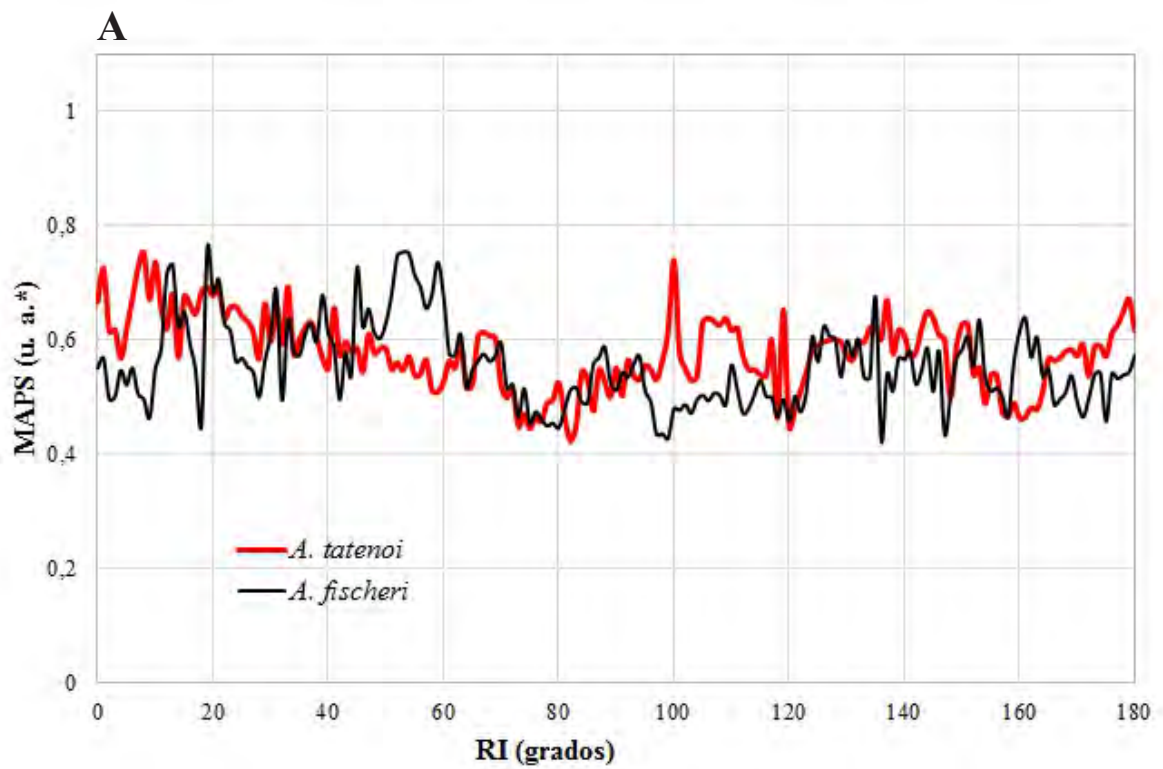


Figura 5. Espectros *RIMAPS* de ascosporas reticuladas y microtuberculadas. **A.** Ascosporas reticuladas, *A. fischeri* y *A. tatenoi*. **B.** Ascosporas microtuberculadas, *A. shendawei* y *A. laciniosus*. * a. u. = unidades arbitrarias.

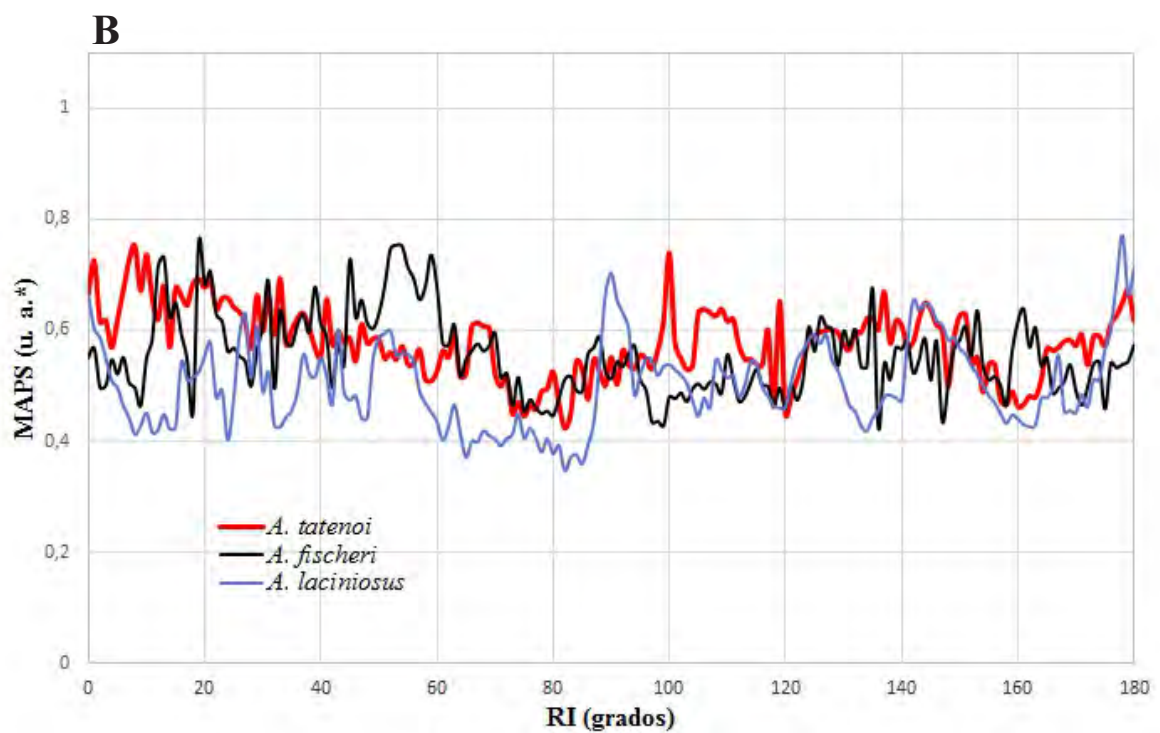
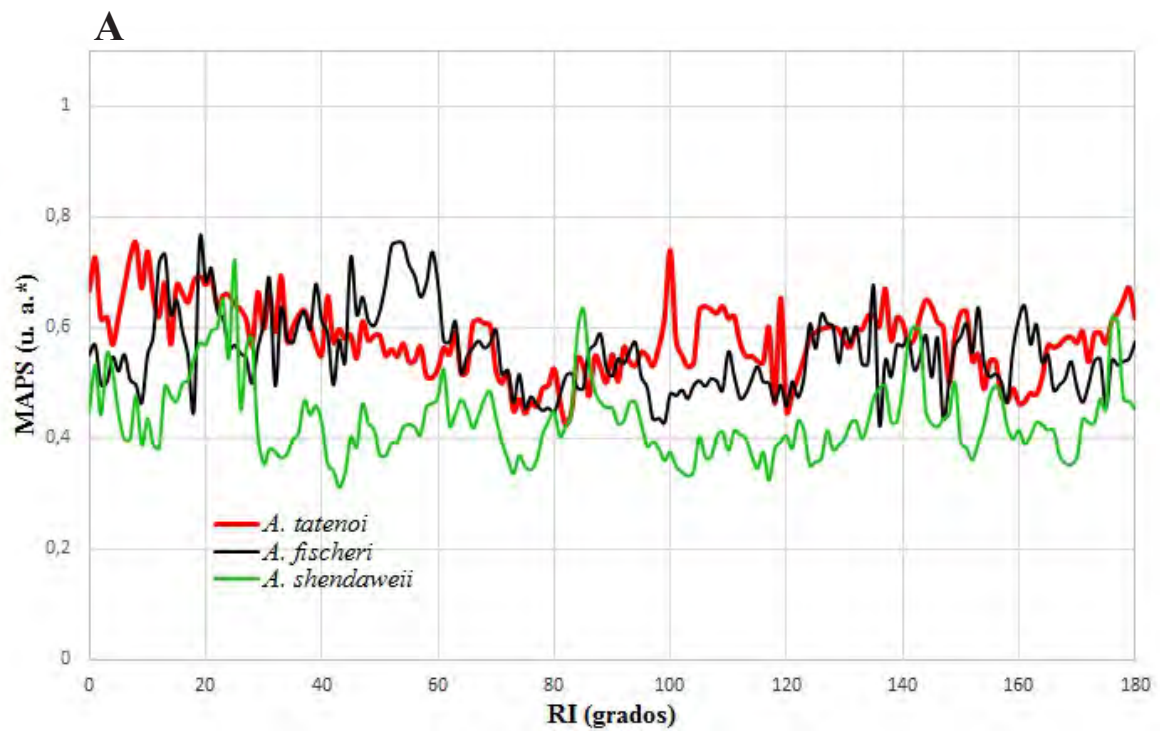


Figura 6. Comparación entre espectros *RIMAPS* de ascoporas reticuladas y microtuberculadas. **A.** Ascoporas reticuladas, *A. fischeri* y *A. tatenoi*, y *A. shendawei*. **B.** Ascoporas reticuladas y *A. laciniosus*. * a. u. = unidades arbitrarias.

APÉNDICES

APÉNDICE 1. Abreviaturas

ATCC: *American Type Culture Collection.*

bs: *bootstrap.*

CBS: *Centraalbureau voor Schimmelcultures.*

CCF: *Culture Collection of Fungi.*

CBM: *Natural History Museum and Institute.*

CI: *Índice de consistencia.*

CIM: *Concentración Inhibitoria Mínima.*

CFM: *concentración fungicida mínima.*

CLSI: *Clinical Laboratory Standard Institute.*

DMSO: *Dimetil sulfóxido.*

dNTPs: *Desoxirribonucleótidos trifosfato.*

ICPA: *International Commission of Penicillium and Aspergillus.*

IBT: *Culture Collection of Fungi, Mycology Group.*

IFM: *Research Center for Pathogenic Fungi and Microbial Toxicose.*

IMI: *International Mycological Institute.*

ITS: *Internal transcribed spacer.*

KACC: *Korean Agricultural Culture Collection.*

KUFC: *Kasetsart University Fungus Collection*

MEB: *Microscopía electrónica de barrido.*

MO: *Microscopía óptica.*

MP: *Máxima Parsimonia*

msnm: *metros sobre el nivel del mar.*

NCCLS: *National Committee for Clinical Laboratories Standards.*

NJ: *Neighbour Joining.*

NRRL: *Northern Regional Research Laboratory.*

PCR: *Polymerase chain reaction.*

RI: *Índice de retención.*

RIMAPS: *Rotated Image with Maximum Average Power Spectrum*

UFC: *Unidades formadoras de colonias.*

APÉNDICE 2: Composición de los medios de cultivo empleados

Todos los medios de cultivo se funden previamente a la esterilización en autoclave. La esterilización se realiza a 121 °C durante 15 min, a menos que se especifique otra combinación de tiempo y temperatura.

Agar Afrecho de Trigo, ATA (Comunicación personal Dra. Dora Barreto)

Afrecho trillado de trigo	40,0 g
Agar-agar	20,0 g
Agua destilada	1000 ml

Lavar el afrecho de trigo con agua corriente en un vaso de precipitados de 500 ml cubierto con gasa para eliminar el exceso de almidón. Enjuagar con agua destilada. Hervir el afrecho húmedo en 500 ml de agua destilada durante 1-2 h (revolver la mezcla). Filtrar a través de gasa, conservar el filtrado. Fundir el agar en 500 ml de agua destilada, mezclar el volumen de extracto filtrado con el volumen de agar fundido y llevar a 1000 ml. Esterilizar en autoclave nuevamente.

Agar Avena, OA (Samson *et al.*, 2010)

Avena no instantánea	30,0 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,005 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,01 g
Agar	20,0 g
Agua destilada	1000 ml

Autoclavar la avena a 121°C durante 15 min en 1000 ml de agua destilada. Filtrar a través de una gasa, agregar el agar y completar a 1000 ml. Fundir bien y autoclavar nuevamente. pH final 6,5 ± 0,2.

Agar Czapek Extracto de Levadura, CYA (CYA, Pitt 1979)

Concentrado Czapek	10 ml
K ₂ HPO ₄	1 g
Extracto de levadura (Difco)	5 g
Sacarosa	30 g

Agar	15 g
Agua destilada	1000 ml

Concentrado Czapek (con metales traza):

NaNO ₃	30 g
KCl	5 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,1 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,1 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,05 g
Agua destilada	100 ml

Agar Extracto de Malta, MEA (Samson *et al.*, 2002)

Agar extracto de malta en polvo

(Oxoid, CM0059)	50 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,005 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,01 g
Agua destilada	1000 ml

Autoclavar 115°C durante 10 min. pH final 5,4 ± 0,2.

Agar Extracto de Malta con 20% de sacarosa, M20 (Samson *et al.*, 2002)

Se prepara de igual manera que el MEA pero con 20% de sacarosa.

Agar Extracto de Malta con 40% de sacarosa, M40 (Samson *et al.*, 2002)

Se prepara de igual manera que el MEA pero con 40% de sacarosa.

Agar Extracto de Malta tipo Blakeslee, BMEA (Samson *et al.*, 2002)

Extracto de malta	20 g
Peptona (Oxoid)	1 g
Glucosa	20 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,005 g
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,01 g
Agar	20 g

Agua destilada	1000 ml
----------------	---------

pH final $5,3 \pm 0,2$.

Agar Nitrato Glicerol 25%, G25N (Pitt & Hocking, 2009)

Extracto de levadura	3,7 g
K ₂ HPO ₄	0,75 g
Glicerol, grado analítico	250 g
Czapek concentrado	7,5 ml
Agar	12 g
Agua destilada	750 ml

pH final 7.

Agar Papa Dextrosa, PDA (Pitt & Hocking, 1997)

Papas, infusión hecha con la masa detallada	250 g
Glucosa	20 g
Agar	15 g
Agua destilada	1000 ml

Agar Sacarosa Extracto De Levadura, YES (Samson *et al.*, 2002)

Extracto de levadura	20 g
Sacarosa	150 g
MgSO ₄	0,5 g
Agar	20 g
Agua destilada	1000 ml

Agar Sacarosa Creatina, CREA (Samson *et al.*, 2002)

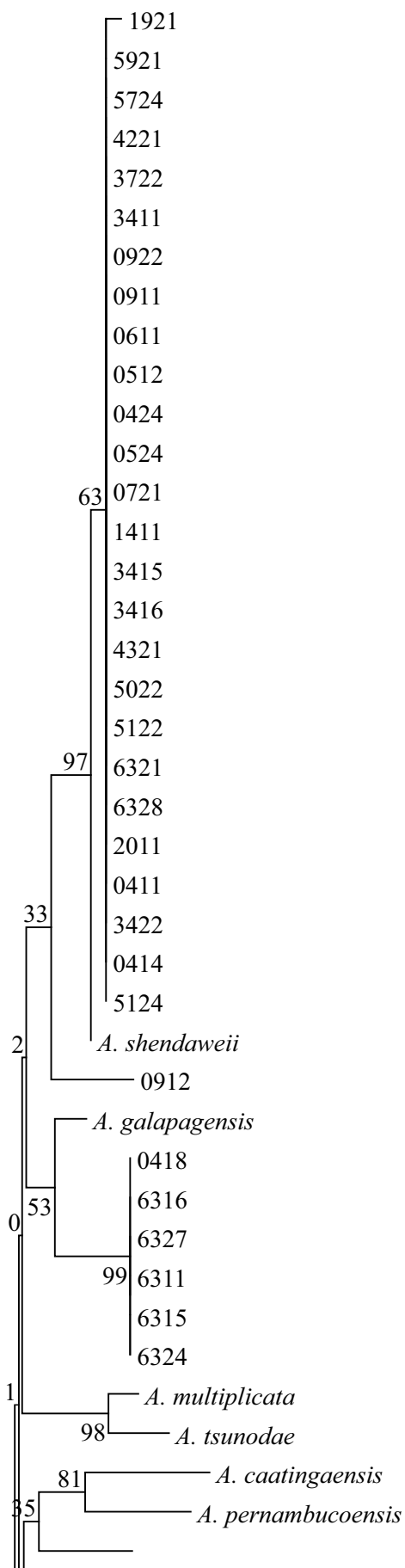
Sacarosa	30 g
Creatina	3 g
K ₃ PO ₄ .7H ₂ O	1,6 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,5 g
KCl	0,5 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01 g
CuSO ₄ .5H ₂ O	0,05 g

ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,01 g
Púrpura de bromocresol	0,05 g
Agar	20 g
Agua destilada	1000 ml
pH 8,0 ± 0,2	

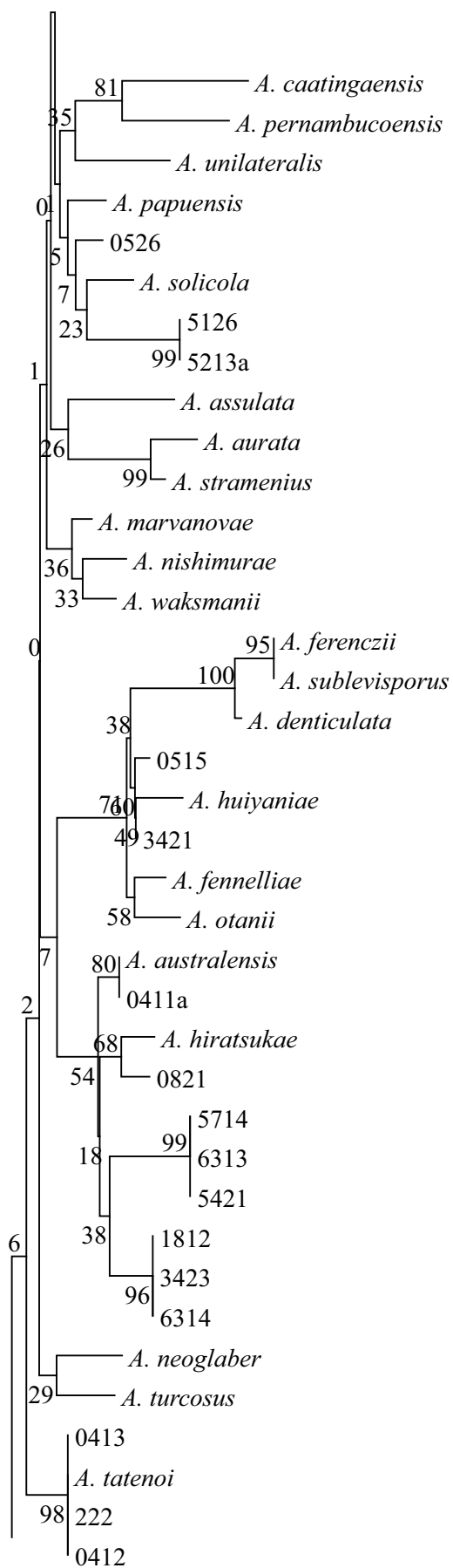
APÉNDICE 3: Secuencias de los cebadores utilizados

Locus	Cebador	Secuencia	Referencia
Actina (Act)	act-512F	5'-ATGTGC-AAG-GCC-GGT-TTC-GC-3'	Hong <i>et al.</i> , 2005
	ACT-783R	5'-TAC-GAG-TCC-TTC-TGG-CCC-AT-3'	Hong <i>et al.</i> , 2005
β -tubulina (BenA)	Bt2a	5' GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC 3'	Glass & Donaldson, 1995
	Bt2b	5' ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC 3'	Glass & Donaldson, 1995
Calmodulina (CaM)	CMD5	5'-CCG-AGT-ACA-AGG-AGG-CCT-TC-3'	Hong <i>et al.</i> , 2005
	CMD6	5'-CCG-ATA-GAG-GTC-ATA-ACG-TGG-3'	Hong <i>et al.</i> , 2005
<i>Internal Transcribed Spacer (ITS)</i>	ITS1	5' TCCGTAGGTGAACCTGCGG 3'	White <i>et al.</i> , 1990
	ITS4	5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'	White <i>et al.</i> , 1990

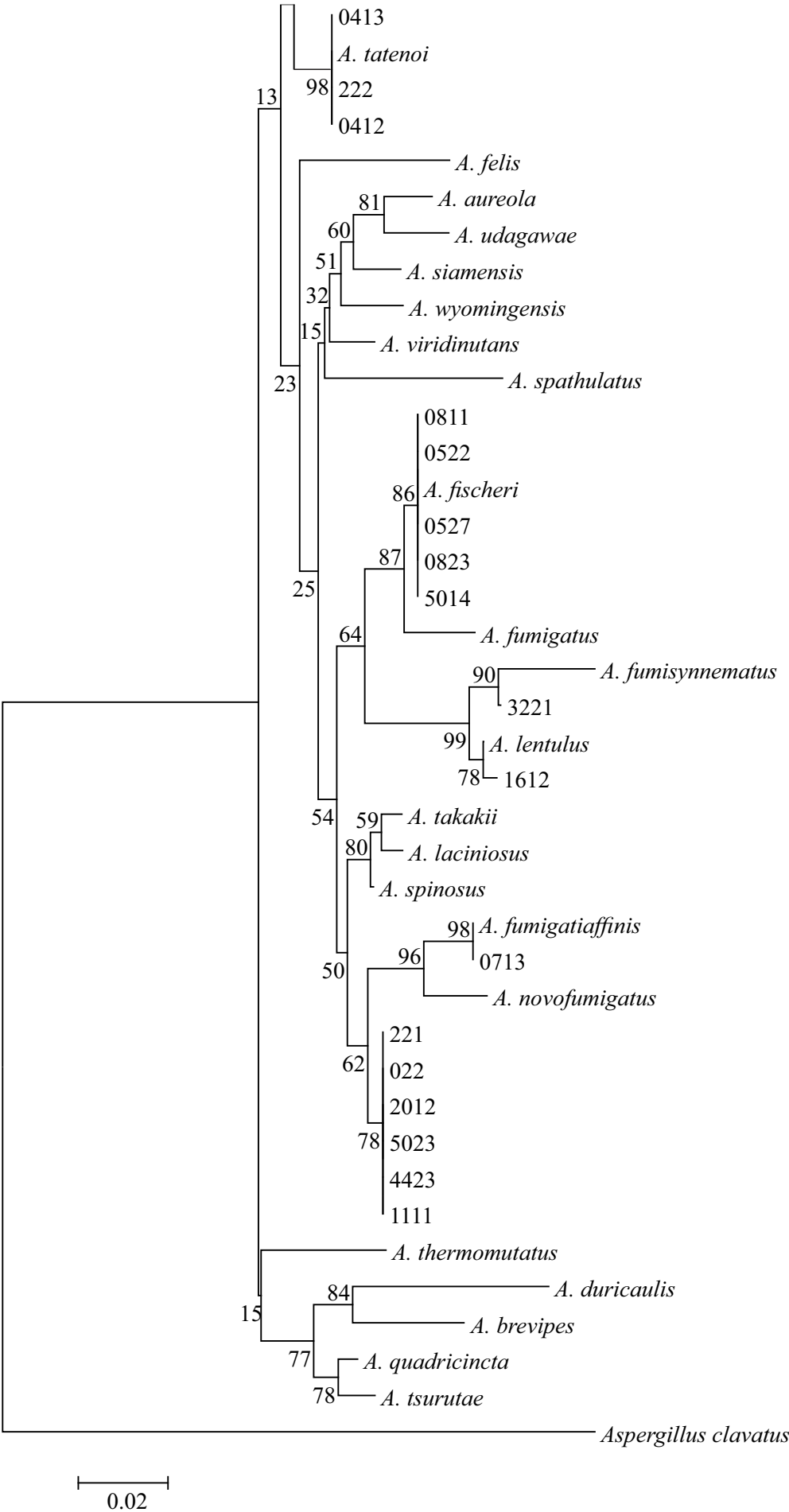
APÉNDICE 4: Árbol obtenido por *Neighbour Joining*, a partir de secuencias del gen BenA. Muestra las relaciones de los aislamientos argentinos con las especies de la Sec. *Fumigati*. Los aislamientos argentinos se muestran con números. Los números de GenBank de las secuencias de referencia se detallan en la Tabla 2 del Capítulo I. *Aspergillus clavatus* como outgroup, representante de la Sec. *Clavati*.



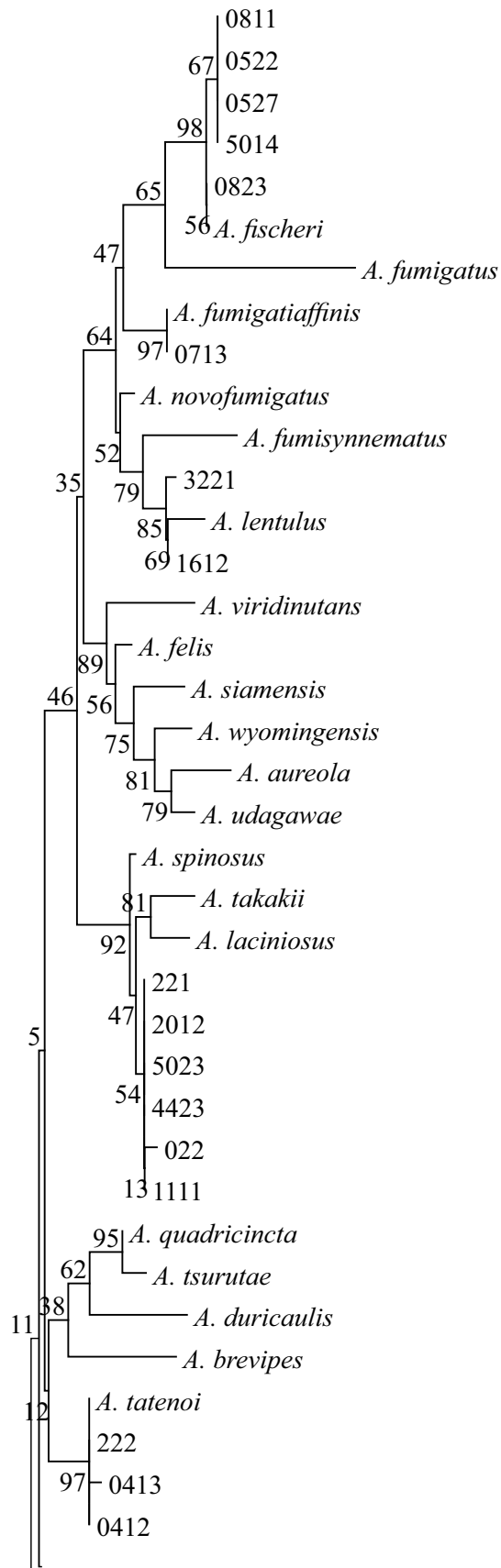
APÉNDICE 4 continuación.



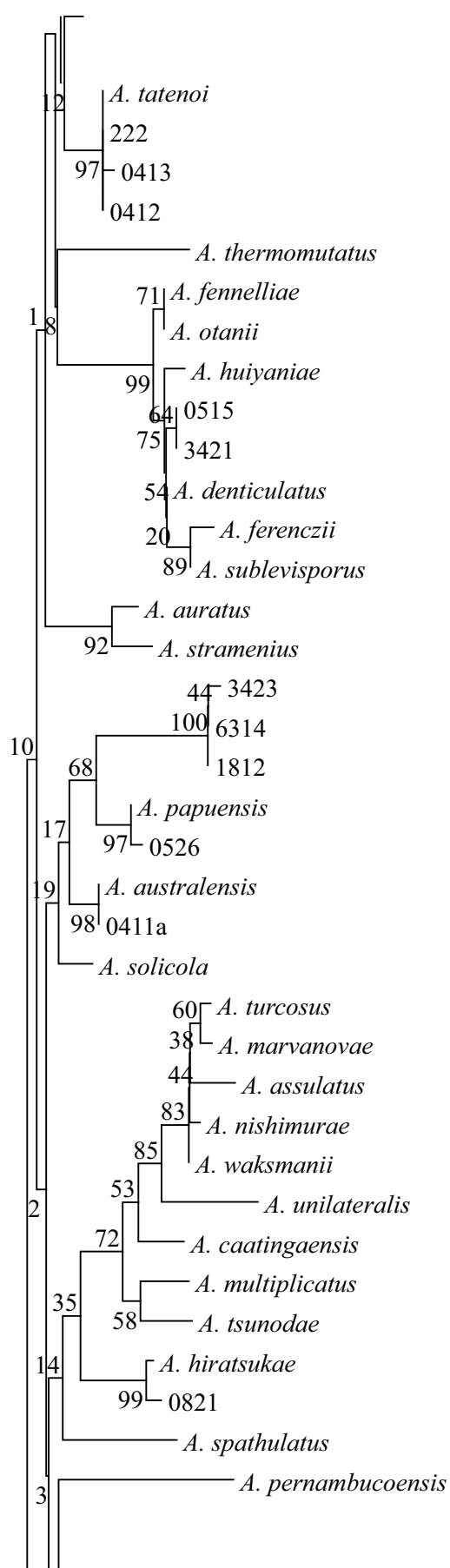
APÉNDICE 4 continuación.



APÉNDICE 5: Árbol obtenido por *Neighbour Joining*, a partir de secuencias del gen CaM. Muestra las relaciones de los aislamientos argentinos con las especies de la Sec. *Fumigati*. Los aislamientos argentinos se muestran con números. Los números de GenBank de las secuencias de referencia se detallan en la Tabla 2 del Capítulo I. *Aspergillus clavatus* como outgroup, representante de la Sec. *Clavati*.



APÉNDICE 5 continuación.



APÉNDICE 5 continuación.

