

# 14. Interacciones

## Antagonismo

La interferencia hifal se observa cuando los micelios entran en contacto o están a una distancia muy corta (menor que 50  $\mu\text{m}$ ). Muchos basidiomicetos actúan como antagonistas de otros hongos y entre sí. *Peniophora gigantea* se usa para controlar al patógeno *Heterobasidion annosum* en plantaciones forestales. Otros actúan como micoparásitos, tal es el caso de las especies de *Trichoderma* empleadas en el control de fitopatógenos.

Muchas esporas fúngicas son incapaces de germinar en el suelo porque los competidores microbianos los privan de nutrientes. Por su parte los hongos suelen producir sustancias antimicrobianas que afectan a bacterias y eucariotas, tales como antibióticos y micotoxinas (1).

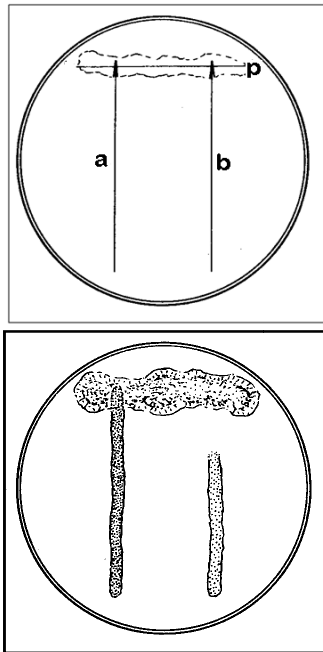


Figura 15-1. Demostración de la acción antibiótica (2).

Para comprobar la acción antibiótica de *Penicillium chrysogenum* y otras especies (3) se pueden emplear dos bacterias: *Serratia marcescens*, de color rojo brillante y no sensible a la penicilina, y *Micrococcus luteus*, de color amarillo y sensible. Se utiliza agar peptona y se incuba a temperatura ambiente para que *Serratia* produzca el color rojo. Se prepara una suspensión esporas del moho en agua con 0,05% de tween 80 y se siembra

haciendo una estría sobre la línea p-p (figura 15-1). Tres días más tarde se siembra, desplazando el asa hacia el moho, *Serratia* sobre la línea a y *Micrococcus* sobre la b. Luego de dos días, *Serratia* crecerá hasta el moho y aún sobre él, pero *Micrococcus* proliferará solamente fuera de la zona de difusión del antibiótico.

El papel de los hongos del suelo es complejo, pues por un lado constituyen el grupo principal de los fitopatógenos, pero por el otro participan en el ciclo de los nutrientes, estimulan el crecimiento de las plantas, descomponen los residuos vegetales, son antagonistas de patógenos o producen antibióticos. *Trichoderma* es un hongo antagónico de algunos fitopatógenos del suelo que suele colonizar la rizósfera y el rizoplaneo (4).

## Mutualismo

Los microorganismos que habitan en un ecosistema presentan varios tipos de asociaciones e interacciones entre las especies. A veces se asocian diferentes clases de organismos, como cianobacterias o mohos con algas constituyendo los líquenes, u hongos con plantas en el caso de las micorrizas. El mutualismo es la vida en común de dos o más organismos asociados en beneficio mutuo pero no implica necesariamente el contacto físico. En cambio, la simbiosis es una asociación específica entre dos tipos de organismos que están en contacto físico, donde generalmente el de menor tamaño (simbionte) vive dentro o está adherido a la superficie del mayor (hospedante), pero la simbiosis no siempre implica mutualismo (5).

Un organismo puede ser incapaz de multiplicarse en presencia de cierto sustrato, pero crecerá si coincide con un microbio capaz de degradarlo y producir moléculas útiles. Esta asociación recibe el nombre de comensalismo o vida en común de dos especies con beneficio para una de ellas y sin daño ni provecho para la otra, como ocurre cuando los organismos colonizan la superficie externa de una planta y obtienen energía metabolizando los exudados producidos por ésta.

En muchos casos, el crecimiento y la reproducción son más vigorosos en asociaciones favorables de dos tipos de microbios que en cultivos de una sola especie. *Chaetomium thermophile*, un hongo celulolítico, y *Humicola lanuginosa*, que no degrada la celulosa, aparecen durante toda la fase de calentamiento de un compost y el segundo aprovecha algunos productos de la degradación debida al primero (1).

*Aspergillus rugulosus* es un organismo autosuficiente en la producción de vitaminas y excreta biotina al medio. *Sordaria fimicola* es parcialmente deficiente en la formación de la misma y no forma los peritecios fértiles si se lo cultiva en un medio carente de la vitamina. Si se siembran estos hongos en los lados opuestos de una placa de medio sintético sin vitaminas, *Sordaria* fructificará solamente a lo largo de la unión de los micelios donde se encuentra la biotina provista por el *Aspergillus* (2).

Los hongos endotróficos residen dentro de las células, en el espacio intercelular o en el sistema vascular de la planta y provienen de la semilla o el ambiente circundante. Son detectados por cultivos después de la esterilización superficial del material vegetal. En las hojas y las semillas se encuentran en número variable, pero la fuente más importante es la rizósfera desde donde entran por fracturas en las raíces o degradación local de la celulosa (6).

En la rizósfera los microorganismos suelen originar sustancias que estimulan el desarrollo de las plantas en concentraciones muy bajas (auxinas, citoquininas, giberelinas). Entre los hongos formadores de citoquininas se hallan *Agaricus*, *Boletus*, *Coprinus*, *Rhizopus* y *Suillus*, y de auxinas, especies de *Aspergillus*, *Boletus*, *Penicillium* y *Rhizopus* (7).

Diferentes especies de hongos que están asociados la rizósfera y el rizoplano de plantas hortícolas, sintetizan giberelinas, entre ellos *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Penicillium aurantiogriseum*, *P. corylophilum*, *P. funiculosum* y *Rhizopus stolonifer*, además de patógenos como

*Fusarium oxysporum* y *Gibberella fujikuroi* (8).

## Simbiosis

Las plantas parecen totalmente autónomas pero la mayoría tienen en sus raíces hongos asociados formando micorrizas, cuya función más importante es absorber los elementos minerales menos móviles del suelo y transferirlos a la planta hospedante, mientras ésta proporciona compuestos carbonados al hongo. Hay dos tipos básicos de asociación: las ectomicorrizas y las endomicorrizas.

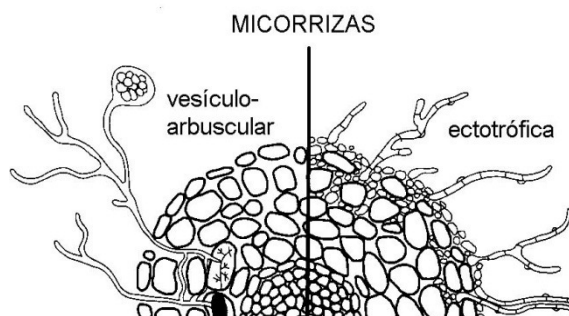


Figura 15-2. Esquema de micorrizas endo y ectotróficas (16).

## Endomicorrizas

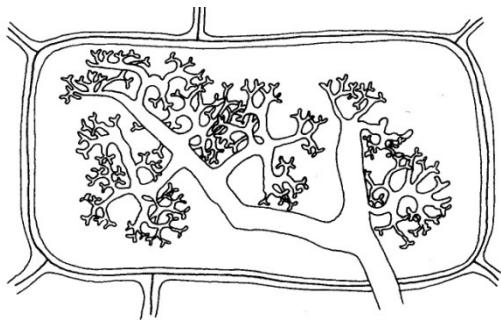
Esta asociación comprende tres tipos principales: arbuscular, orquídeas y ericoide. Cuando el hongo penetra en el interior de las células de la raíz formando minúsculas arborescencias y a veces vesículas que almacenan lípidos, se las llama endomicorrizas arbusculares y generalmente están presentes en la vegetación herbácea (9). Los simbiontes más comunes son micromicetos de los géneros *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Glomus* y otros, cuyo micelio aseptado forma una extensa red en el suelo alrededor de las raíces micorrizadas (10).

Las raíces se infectan con las hifas desarrolladas a partir de las esporas presentes en el suelo y la colonización es favorecida por algunas bacterias rizosféricas (11). Los hongos micorrícicos estimulan el crecimiento de los vegetales y algunos ayudan a regular el microambiente alrededor de las raíces y prevenir la infección de las plantas (12).

El hongo suministra nutrientes minerales al hospedante, especialmente compuestos

de fósforo. Las hifas extrarradicales captan el fosfato del suelo a través de un transportador y allí es condensado en polifosfato, el que luego es trasladado por la corriente citoplásmica a las hifas intrarradicales (13). Las bacterias diazotróficas proveen a las legumbres una fuente adicional de nitrógeno, pero requieren gran cantidad de energía y fósforo. Por tal motivo estas plantas se asocian con hongos endomicorrícicos que son eficientes proveedores de fosfatos (14).

Hay otros tipos de endomicorrizas como las que forman ovillos intracelulares en las orquideas, donde cada una de las diferentes especies del vegetal tiene una alta especificidad por un simbiote particular, por lo general un basidiomiceto. El grado de interdependencia entre los asociados es tal, que en muchos casos la planta no pueden ser cultivada sin el hongo (15).



**Figura 15-3.** Célula radical con un arbusculo fúngico (15).

#### Inoculación de endomicorrizas arbusculares

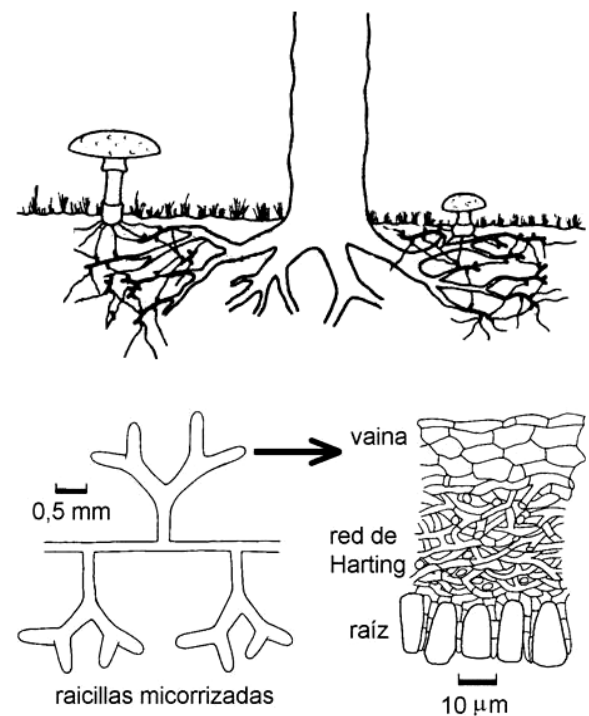
Para la obtención de las esporas de los hongos endótrofos mezclar 50 g de suelo con 1 L de agua, agitar intensamente, dejar decantar 30 segundos y pasar sucesivamente por una serie de tamices cuya malla tiene aberturas de 700, 250 y 100  $\mu\text{m}$ . En este último quedarán retenidas la mayoría de las esporas. Se resuspenden en poca cantidad de agua y se colocan en una maceta a unos 2-3 cm por debajo de las semillas, por ejemplo de *Allium cepa*. El sustrato es una mezcla de suelo y arena (2+1) de pH ligeramente ácido. Luego de 12-15 semanas se extraen las raíces colonizadas (16).

#### Observación de micorrizas arbusculares

Lavar la raíz con agua corriente. Cortar

en porciones de un centímetro de largo y colocarlos en solución de hidróxido de sodio o potasio al 10% p/v. Calentar a 90°C durante 30 minutos o más si es necesario. Cuando el material es obscuro sumergirlo en agua oxigenada de 10 volúmenes durante 15 minutos, sino omitir este paso. Lavar 4 veces con agua corriente. Poner los trozos en solución de ácido clorhídrico 0,1 N durante 10 minutos. Colorear con azul-lactofenol a 90°C por 5 minutos. Pasar a lactofenol. Colocar un trozo de la raíz tratada entre dos portaobjetos y aplastarla. Observar al microscopio entre porta y cubreobjetos (10).

#### Ectomicorrizas



**Figura 15-4.** Esquema de ectomicorrizas (15)

Los suelos de los bosques muestran una heterogeneidad espacial y temporal en la disponibilidad de nutrientes, particularmente de nitrógeno. Para acceder a ellos, los árboles han desarrollado esta estrategia simbiótica donde el micelio micorrícico se ensancha de tal manera que los hongos pueden explorar un volumen de suelo más grande que el accesible a la raíz. La ectomicorriza es por consiguiente ventajosa para la nutrición y el crecimiento de la planta (17). Las especies

fúngicas implicadas son macromicetos que solamente estando en simbiosis pueden formar basidiomas, por ejemplo *Amanita*, *Boletus*, *Lactarius*, *Pisolithus* y *Suillus*, o ascomas como *Tuber*. Es poca la especificidad de estas asociaciones (15).

La estructura de la asociación entre un árbol y un basidiomiceto tiene tres componentes: un manto o vaina que encierra a la raíz, una red intrarradical de hifas en los espacios intercelulares y un sistema exterior de filamentos que se extiende por el suelo y forma las conexiones esenciales con los cuerpos frutíferos del hongo. La penetración intercelular y la formación de una red llamada de Hartig inducen a un profundo cambio en la morfología y metabolismo de las hifas.

La vaina ectomicorrícica permite el almacenamiento de nutrientes y controla el intercambio de los mismos por hidratos de carbono debido el contacto íntimo con la superficie de la raíz. Este intercambio responde a los cambios ambientales, y elevados niveles de CO<sub>2</sub> aumentan el potencial de transferencia de la planta, mientras que un alto nivel de nitrógeno mineral acrecienta el del hongo. El micelio extrarradical que se extiende como hifas aisladas o largos cordones, conecta a la vaina con el suelo permitiendo por ejemplo, la incorporación de compuestos nitrogenados a considerables distancias del manto o movilizándolo desde el mantillo en un suelo forestal (16).

Algunos hongos micorrízicos estimulan el crecimiento de los vegetales o producen antibióticos, contribuyendo a regular el microambiente alrededor de las raíces y prevenir la infección de las plantas. Pero a pesar de los beneficios que ciertos hongos confieren a determinados hospedantes, pueden llegar a causar un daño considerable en otras plantas (15).

En general los hongos ectomicorrícicos deben incorporarse a las plántulas de árboles y plantas ornamentales, cuando se desarrollan en medios artificiales con vermiculita o arena. La falta de

micorrización acarrea problemas en el trasplante, excepto en los casos en que el suelo contenga especies fúngicas. Las primeras técnicas de inoculación consistían en el transporte de suelo desde la zona de origen de la plantación al vivero, pero se corría el riesgo de llevar también microorganismos patógenos. Para inocular con cultivos puros, el sustrato (suelo, turba) debe ser previamente pasteurizado o fumigado con el fin de disminuir la población fúngica nativa que podría competir con el inóculo.

Los hongos pueden ser incorporados al sustrato con pedazos de ascoma o basidioma, trozos de raíces micorrizadas, o micelio obtenido in vitro. El agregado de micelio es conveniente en el caso de hongos que se desarrollan bien en cultivo. El primer paso de toda inoculación consiste en la selección del hongo, los siguientes obtener el cultivo y multiplicarlo para añadirlo al suelo donde se coloca la plántula crecida en condiciones axénicas. Por ejemplo, la micorrización de pinos puede hacerse con especies comestibles de *Boletus* o *Lactarius*, pero *Pisolithus tinctorius* permite implantarlos en suelos muy erosionados, pobres en materia orgánica y nutrientes minerales (15).

#### Inoculación de ectomicorrizas

Cortar el basidioma con un instrumento previamente mojado en alcohol y encendido. Con un gancho o pinza estéril tomar porciones del interior del sombrero y depositarlas sobre la superficie de una placa de agar malta levadura. Incubar a 25-27°C, dos o más semanas en la obscuridad. Repicar en 50 ml de medio líquido de Melin Norkrins modificado en un matraz de Erlenmeyer de 250 mL e incubar a 25-27°C con una agitación de 100 rpm y en la obscuridad, el tiempo requerido para un buen crecimiento. Homogeneizar el cultivo, mezclar con el sustrato pasteurizado previamente con vapor de agua a 60°C durante 1 hora. Llenar unas macetas pequeñas y colocar los plantines. Llevarlos al invernáculo (16).

## Hongos endófitos

El término endófito describe al microorganismo que pasa toda su vida o parte de ella dentro del tejido vegetal sin causar signos visibles de infección. Los asociados a las plantas herbáceas causan grandes cambios en el crecimiento y composición química de las mismas, lo que afecta también a los organismos que las consumen, como es el caso de *Neotyphodium*.

Los hongos perjudiciales tienen un periodo endofítico muy corto, aunque algunos patógenos latentes suelen estar asintomáticos durante semanas o meses. Se han encontrado endófitos en cada

órgano vegetal, aunque la distribución dentro de la planta es heterogénea.

Los endófitos verdaderos son los que se transmiten verticalmente, vía las semillas, de una generación a otra. Éstos hongos nunca aparecen fuera de sus hospedantes. En contraste, hay una vasta mayoría de endófitos que infectan las plantas mediante las esporas llevadas por el aire y a este tipo de transmisión se la llama horizontal. El número de especies endofíticas verdaderas por planta individual es comúnmente bajo, aunque en los árboles tropicales la diversidad foliar de especies es grande (18).

**Cuadro 15-1.** Principales atributos de endófitos y micorrizas (18)

Atributos fúngicos	Endófitos verdaderos	Otros endófitos foliares	Micorrizas arbusculares	Ectomicorrizas
Grupo	<i>Ascomycota</i>	<i>Ascomycota</i>	<i>Glomeromycota</i>	<i>Basidiomycota</i>
Predominan en	Gramíneas	Otras hierbas, árboles	Gramíneas, otras hierbas	Árboles
Transmisión	Vía semillas	Esporas en el aire	Esporas en el aire y el suelo	Esporas en el aire y el suelo
Órganos ocupados	Tejido foliar	Tejido foliar	Raíces	Raíces
Es mutualista?	Sí	...	Sí	Sí
Principal efecto en hospedante	Inducción de defensas	...	Captación de P	Captación de N
Beneficio para el hongo	Nutrición, refugio	...	Recibe C	Recibe C

## Referencias

1. Deacon JW. 1993. Introducción a la Micología Moderna. Limusa - Noriega Editores, México, cap 11.
2. Dade HA, Gunnell J. 1969. Class work with fungi. 2ª ed. CAB, Kew, Surrey.
3. Laich F, Fierro F, Martín JF. 2002. Applied and Environmental Microbiology 68: 1211
4. Gomes NCM *et al.* 2003. Applied and Environmental Microbiology 69: 3758.
5. Madigan TM *et al.* 2003. Brock-Biology of Microorganisms. 10ª ed. Prentice Hall, Upper Saddle River, NJ, cap 19.
6. Seghers D *et al.* 2004. Applied and Environmental Microbiology 70: 1475
7. Arora DK *et al.*, eds. 1992. Handbook of Applied Mycology, vol. 4: Fungal Biotechnology. Marcel Dekker, New York, pp 574, 578, 708
8. Hasan HAH. 2002. Rostlinná Výroba 48:101
9. van Aarle IM, Olsson PA. 2003. Applied and Environmental Microbiology 69: 6762
10. Hall GS, editor. 1996. Methods for the Examination of Organismal Diversity in Soils and Sediments. CAB International, Wallingford, Oxon, cap. 12
11. Hildebrandt U *et al.* 2002. Applied and Environmental Microbiology 68: 1919
12. Green H *et al.* 1999. Applied and Environmental Microbiology 65: 1428
13. Solaiman MZ *et al.* 1999. Applied and Environmental Microbiology 65: 5604
14. Scheublin TR *et al.* 2004. Applied and Environmental Microbiology 70: 6240
15. Hudson HJ. 1986. Fungal Biology. Edward Arnold, London, cap 6, 7, 8.
16. Jackson RM, Masson PA. 1984. Mycorrhiza. Edward Arnold, London, cap. 2, 3, 6
17. Morel M *et al.* 2005. Applied and Environmental Microbiology 71: 382
18. Hartley SE, Gange AC. 2009. Annu. Rev. Entomol. 54: 323-342.