

Técnicas básicas de Microbiología Observación de hongos filamentosos

Belén Patiño Álvarez
Covadonga Vázquez Estévez

Departamento de Microbiología III. Facultad de Ciencias Biológicas.
Universidad Complutense de Madrid. c/ José Antonio Novais, 2. 28040 Madrid.
belenp@bio.ucm.es covi@bio.ucm.es

Resumen: En esta práctica se observan especies fúngicas pertenecientes a diferentes grupos de hongos. Se describen los métodos básicos para la observación macroscópica y microscópica de hongos filamentosos de interés en un laboratorio básico de microbiología, se hace referencia al cultivo, y a las características morfológicas empleadas para su observación.

Palabras clave: Hongos filamentosos. Conidios. Esporangiosporas. *Aspergillus*. *Rhizopus*. *Penicillium*.

INTRODUCCIÓN A LOS HONGOS FILAMENTOSOS.

La **micología** es la ciencia que estudia los hongos, estos organismos fueron durante mucho tiempo considerados miembros del reino de las plantas. Whitaker en 1969 propuso la clasificación de todos los organismos en cinco reinos, distribuyendo a todos los de estructura celular eucariota en cuatro reinos en función de criterios estructurales y nutricionales, los hongos por su estructura multicelular y su nutrición heterótrofa y absorptiva se agruparon en el reino de los hongos, esta clasificación ha sido ampliamente aceptada.

Recientemente nuevas aproximaciones moleculares y filogenéticas al estudio de los microorganismos, han puesto de manifiesto que la vida sobre la Tierra se puede agrupar en tres categorías o dominios, de los cuales dos tienen organización **procariota** (**dominio *Archaea*** y **dominio *Bacteria***) y el tercero agrupa a los organismos con estructura celular tipo **eucariota** (**dominio *Eukarya***), en este dominio los hongos son reconocidos como uno de los cinco reinos eucariotas, hongos, animales, plantas, cromistas y protozoos (Hawksworth, 1995).

Estructura celular

Los denominados microhongos son microorganismos cuyas colonias en la naturaleza son frecuentemente de dimensiones microscópicas y el estudio de sus

características, su fisiología y su ecología deben ser analizadas en detalle con métodos microbiológicos aislándolos del resto de los organismos y cultivándolos en cultivos puros.

En ambientes naturales, junto con las levaduras, están estrechamente asociados con las bacterias y compiten con ellas por los nutrientes. Los sencillos requerimientos para su cultivo convirtieron a algunas especies como *Neurospora crassa* y *Aspergillus nidulans* en modelos para estudios en otras ramas de la Ciencia como la Fisiología y la Genética.

Poseen organización celular eucariota y la característica más relevante es la presencia de **pared celular**, constituida en un 80-90 % de polisacáridos complejos, proteínas y glucoproteínas.

Entre los polisacáridos el elemento más representativo es la **quitina**, un polímero de **N-acetil-D-glucosamina**. Constituye el elemento central o parte interna configurando el esqueleto a modo de red de microfibrillas, prácticamente presente en todos los grupos con excepción de los **Oomicetos**, donde esta red microfibrilar está formada por **microfibrillas de celulosa**.

Rodeando a este esqueleto se encuentra una capa de polisacáridos formando una matriz cementante. Esta matriz presenta una gran diversidad en cuanto a los azúcares y a los tipos de enlaces que la configuran, se pueden encontrar homopolímeros, heteropolímeros o polisacáridos muy complejos. Dentro de estos polisacáridos predominan los **mananos** y **glucanos**, otros elementos como **lípidos**, **polifosfatos** e **iones** completan la composición de la pared celular. Tal es la complejidad de la pared que ha sido utilizada por algunos autores en quimiotaxonomía, llegando a establecer grupos basados en los componentes mayoritarios de la pared como son la quitina y los glucanos.

Además de estos componentes de naturaleza polisacarídica, muchos hongos filamentosos contienen en la pared pigmentos oscuros formados por polímeros ramificados derivados de compuestos fenólicos, conocidos como **melaninas**. A estos pigmentos se les han atribuido funciones de fotoprotección, resistencia a la lisis enzimática e incluso también funciones estructurales.

La membrana citoplasmática de la mayoría de los hongos contiene **ergosterol**. Este compuesto se utiliza como medida indirecta para valorar la biomasa fúngica. Con este mismo fin se pueden utilizar también otros componentes estructurales básicos de las células fúngicas, como es la valoración colorimétrica de **N-acetilglucosamina**, monómero de la quitina.

La gran mayoría de los hongos son organismos pluricelulares y, como ocurre en otros organismos, también aquí encontramos una división de funciones. El organismo está configurado por unas estructuras tubulares, denominadas **hifas**, cuya función es fundamentalmente la absorción de nutrientes; todo el conjunto de hifas configura el **micelio**.

A su vez, el **micelio** puede ser:

- **Aéreo**: porque se extiende por encima del sustrato y normalmente es la parte que soporta todas las estructuras reproductoras.
- **Micelio vegetativo**: constituido por una masa que penetra en los diferentes sustratos como puede ser el suelo, un hospedador, restos de madera o un medio de cultivo. Su función es obtener los nutrientes.

Las células que forman las hifas están separadas entre sí, en la mayoría de los casos, por tabiques o **septos**, que normalmente están perforados. Entre los septos de los diferentes grupos de hongos filamentosos hay diferencias interesantes. Así por ejemplo, en los Ascomicetos el septo es relativamente simple con un único poro central, en algunas especies de tamaño bastante grande de tal forma que permite el paso de orgánulos incluso del núcleo. En otros casos las perforaciones son pequeñas y abundantes y no permiten el paso de orgánulos como el núcleo o las mitocondrias pero sí se establece una continuidad entre los compartimentos de las hifas. El septo más complejo lo presentan algunos Basidiomicetos y se denomina **doliporo**. En muchas ocasiones cuando una célula de una hifa sufre algún daño, estos poros son sellados para evitar que el resto del organismo se vea afectado.

En el caso de los hongos pertenecientes a los Zygomycetos, se presentan hifas que carecen de septos entre las células, salvo cuando se tienen que delimitar las estructuras reproductoras. Estas hifas, no septadas, se denominan **cenocíticas**.

Cuando el micelio fúngico se reproduce, una pequeña porción se diferencia de forma **asexual** o mediante un proceso **sexual**. Las estructuras reproductoras poseen generalmente un gran valor taxonómico ya que presentan una gran diversidad en tamaños, formas, ornamentación y colores. En algunos organismos se forman estructuras macroscópicas complejas.

Interés de los hongos filamentosos

Los hongos, además de ser objetos básicos de interés para el conocimiento y la investigación, desempeñan un papel fundamental en la naturaleza participando activamente en el ciclo del carbono y contribuyendo a reciclar la materia orgánica. La mayoría de los hongos son saprófitos y obtienen sus nutrientes a partir de organismos muertos. Constituyen el principal grupo de organismos responsables del reciclaje de la materia viva y esta actividad es esencial para la continuación de la vida sobre la tierra.

La función más destacable es que son considerados organismos fundamentalmente degradadores.

El interés en estos organismos es múltiple. En algunas áreas destacan especies que tienen una gran importancia en la industria agroalimentaria con importantes repercusiones económicas, por ejemplo:

- En la producción de quesos como el camembert y el roquefort destacando las especies de *Penicillium camemberti* o *P. roqueforti*.
- En la producción de bebidas fermentadas como el sake o la salsa de soja obtenidos a partir de cultivos de *Aspergillus oryzae* y *A. soya*.
- También destacan en la industria farmacéutica por su interés para la producción de enzimas como celulasas, amilasas, peroxidasas y proteasas, ácidos orgánicos como el ácido cítrico utilizado en alimentos y como sustituto de polifosfatos en detergentes. La especie más importante utilizada es *Aspergillus niger*.
- También los hongos son explotados para la producción de proteínas para consumo humano como el “*quorn*”, a partir de micelio de *Fusarium graminearum*, con casi un 50% del peso seco de naturaleza proteica y una extremada versatilidad para transformarse en sucedáneos de una gran variedad de alimentos como carne de ternera, pollo, pescado, galletas o formando parte de sopas (Rennenberg, 2008).

La biomasa fúngica presenta numerosas ventajas como alimento por su alto contenido proteico y porque contiene, prácticamente, todos los aminoácidos esenciales para el hombre y los animales. Las paredes de quitina suponen una fuente de fibra y presentan bajo contenido en grasas. Otra característica sumamente importante es la ausencia de colesterol.

- Otro aspecto que merece ser destacado en la industria agroalimentaria es la implicación de los hongos en la alteración de los alimentos y las materias primas.

Estas alteraciones van desde la producción de podredumbres, fundamentalmente por organismos fitopatógenos durante el cultivo (la precosecha) o durante el almacenamiento (postcosecha), hasta la producción de compuestos tóxicos como las *micotoxinas*, producidas por hongos toxicogénicos que contaminan las materias primas y alimentos y producen estos metabolitos secundarios si las condiciones para su síntesis son favorables.

El consumo de estos alimentos o sus derivados produce intoxicaciones en el hombre y en los animales, conocidas como *micotoxicosis*.

Por último no podemos dejar de destacar los antibióticos, que marcaron el principio de una nueva era de lucha contra las enfermedades infecciosas. *Antibióticos*, como las *penicilinas* producidas inicialmente por *Penicillium notatum* y *Penicillium chrysogenum* y las *cefalosporinas* producidas por especies de *Cephalosporium*.

Otro aspecto que se debe destacar es su papel como *patógenos de vegetales*. Los hongos filamentosos son responsables de las enfermedades vegetales más graves e importantes. Algunas especies son capaces de producir estructuras muy especializadas para iniciar la colonización y en la mayoría de los casos una gran cantidad y diversidad de

enzimas (celulasas, pectinasas, xilanasas etc) para romper y colonizar las estructuras vegetales. Muchos producen también toxinas que se comportan, junto con las enzimas, como importantes factores de virulencia.

Finalmente, también pueden comportarse como [patógenos de animales y del hombre](#). Pueden producir:

- [Alergias](#) por inhalación de esporas (rinitis, asma, alveolitis).
- [Intoxicaciones](#) por la ingestión de alimentos contaminados con [micotoxinas](#).
- [Micosis](#), cuya importancia puede ir desde infecciones superficiales por afectar a tejidos como la piel o las uñas, convertirse en infecciones subcutáneas que se inician en la piel y se difunden a tejidos subcutáneos o transformarse en infecciones sistémicas por vía linfática y en estos casos pueden afectar a cualquier órgano.

Muchas especies normalmente saprófitas pueden verse implicadas en micosis oportunistas, especialmente en pacientes inmunocomprometidos, que pueden tener consecuencias fatales.

Se sugiere el trabajo con aislamientos de diferentes géneros ampliamente distribuidos, como *Penicillium*, *Aspergillus* y *Rhizopus*, que tienen interés como contaminantes habituales o como productores de compuestos con aplicaciones en diferentes industrias.

OBJETIVO

Observación macroscópica y microscópica de colonias de diferentes especies de hongos filamentosos sobre medios de cultivo y contaminando sustratos naturales (frutas, madera, semillas).

OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA

Se observará el crecimiento de diferentes especies de hongos filamentosos sobre medios de cultivos sintéticos en placas Petri (Fig. 1).

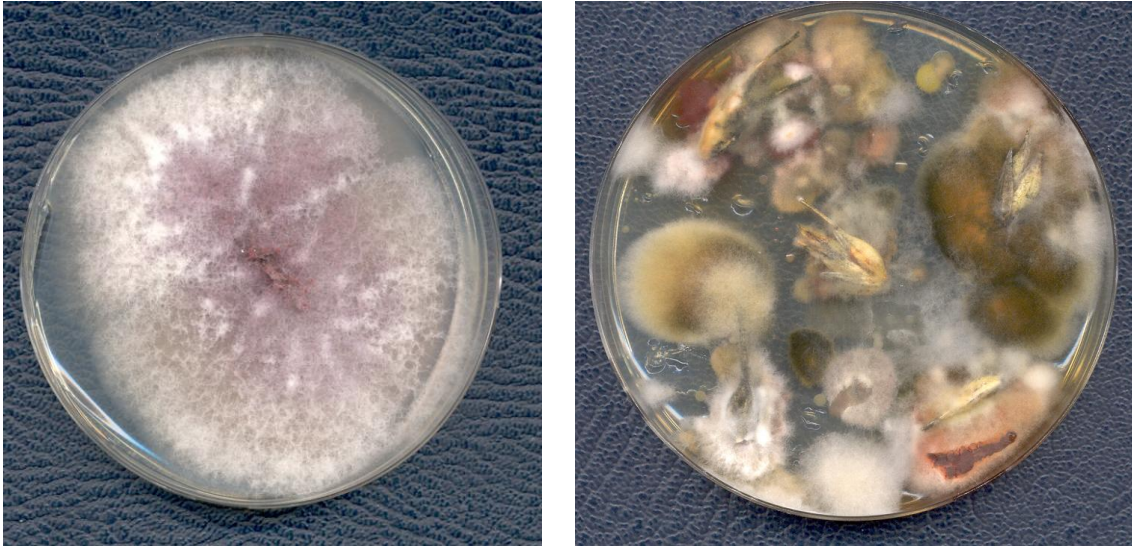


Figura 1. Crecimiento micelial de un hongo filamentosos del género *Fusarium* sobre agar patata dextrosa (PDA) (izquierda), y colonias fúngicas a partir de un muestreo de semillas de trigo (derecha).

Los medios seleccionados serán generales, como el [agar patata dextrosa](#) (PDA) o [agar sabouraud](#), o selectivos, como el [agar rosa de bengala cloranfenicol](#). Se observarán también hongos filamentosos sobre sustratos naturales (Fig. 2). En ambos casos, se observarán el micelio, el aspecto, el color de las colonias y la tasa de crecimiento.

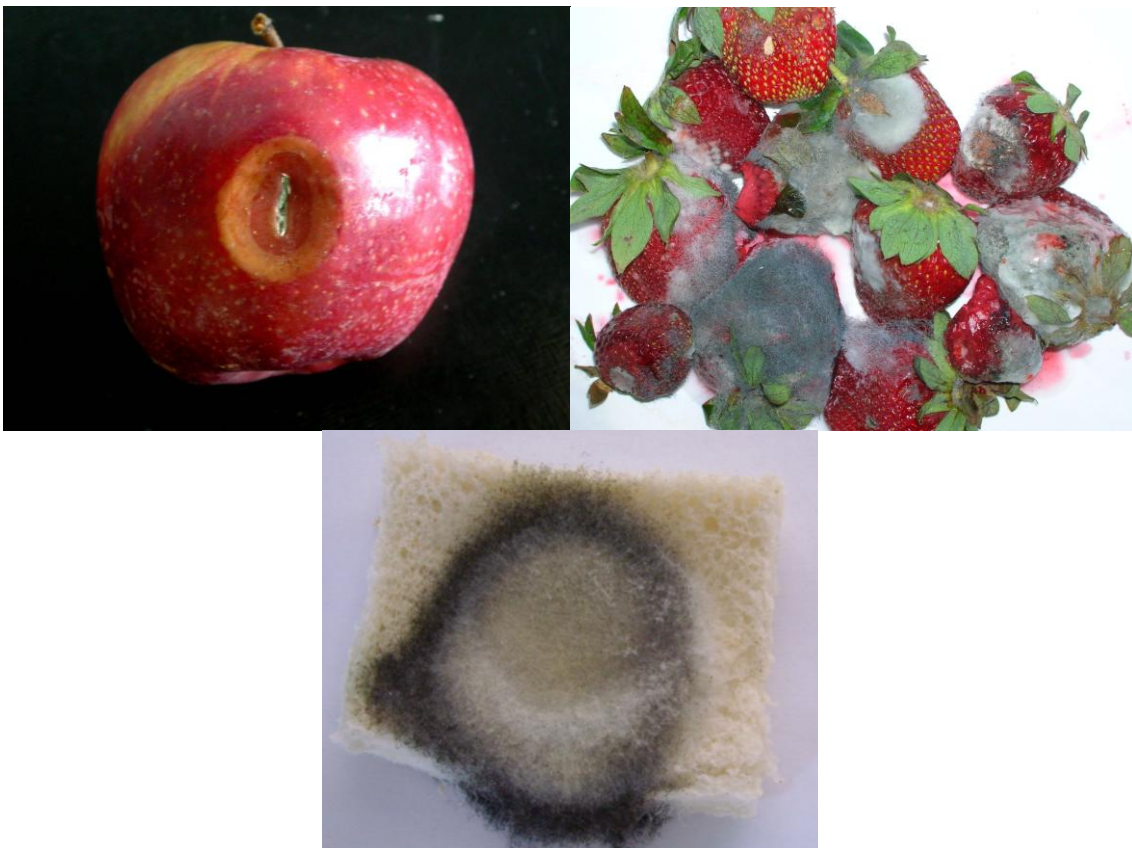


Figura 2. Deterioro de alimentos provocado por diferentes especies fúngicas.

A partir de cultivos en medios sintéticos, se harán observaciones “in vivo” y manipulación microscópica para su observación por microscopía óptica de: micelio, hifas, septos y estructuras reproductoras.

OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA

Rhizopus stolonifer, es un hongo representante de la División Zygomycotina y del Orden Mucorales, es uno de los miembros más comunes con una distribución mundial y se conoce como el **moho negro del pan**.

Estos hongos se caracterizan por presentar un micelio vegetativo bien desarrollado formando colonias algodonosas sobre la superficie de los sustratos (Fig. 3). Este micelio inicialmente no presenta septos y es multinucleado; posteriormente aparecen los tabiques para delimitar las estructuras reproductoras. Esta especie presenta, como elemento característico, abundantes **rizoides** ramificados.

Durante su ciclo de vida presentan dos fases:

- La **fase sexual** que culmina con la formación de la **zigospora** de color marrón oscuro, pared gruesa e irregular.
- La **fase asexual** que conduce a la formación de **esporangiosporas**, esporas inmóviles formadas en el interior de una especie de saco denominado **esporangio**. La mayoría de los esporangios están originados en ramas o pedúnculos especializados y producen varias **esporangiosporas** por esporangio.



Figura 3. Crecimiento de *Rhizopus stolonifer* en placa de PDA. Se puede observar la abundante masa micelial blanca y los esporangios maduros negros.

En algunas especies la base del **esporangióforo** se proyecta en el interior del esporangio, formando un engrosamiento a modo de vesícula hialina, **columela**, que se utiliza como criterio taxonómico (Fig. 4).

Los esporangióforos presentan una gran cantidad de respuestas sensoriales; dentro de ellas podemos señalar el fototropismo positivo, que puede observarse fácilmente en cultivos en placa Petri.

Algunos miembros, además de esporangiosporas, producen otro tipo de spora de reproducción asexual, **clamidosporas**, mediante la transformación de una célula vegetativa.

Estas esporas presentan paredes gruesas y pueden formarse en los extremos de las hifas o estar intercaladas a lo largo de ellas. Parece que están vinculadas a fenómenos de supervivencia en condiciones de falta de nutrientes, permaneciendo sobre los restos vegetales o el suelo hasta que las condiciones sean las apropiadas, Sin embargo, a las esporangiosporas se les atribuye una relación con la dispersión y colonización de nuevos nichos.

Las especies de este grupo son muy frecuentes y se aíslan fácilmente del suelo, aire o estiércol. Es característico su crecimiento extremadamente rápido, tanto en medios de cultivo como sobre sustratos naturales, lo que supone una ventaja importante para competir en el suelo. Es tan patente que en algunas ocasiones, para realizar estudios de contaminación fúngica, se requiere utilizar medios de cultivo que desfavorecen el crecimiento de estas especies.

Los miembros de esta división están presentes sobre una gran diversidad de sustratos y hay representantes saprófitos y parásitos de una gran variedad de hospedadores.

Algunas especies causan enfermedades en el hombre y en los animales, concretamente como patógenos del hombre se les considera oportunistas produciendo mucormicosis por inhalación, ingestión o inoculación, que son relevantes especialmente en pacientes inmunodeprimidos.

Algunas especies tienen interés como fitopatógenos, concretamente *R. stolonifer* produce podredumbres en frutos de muchos vegetales alcanzando pérdidas significativas por alteraciones en el período de postcosecha.

Finalmente, algunas especies estrechamente relacionadas con este hongo tienen interés en el campo de la biotecnología: *Rhizopus arrhizus* se utiliza para acortar el proceso de síntesis de cortisona; la síntesis de ácido fumárico es un proceso realizado por una especie de este género *Rhizopus nigricans*; y algunos alimentos orientales, como el tofu y la proteína de soja fermentada, se obtienen con especies de otros hongos de este grupo, como *Mucor sufu*.

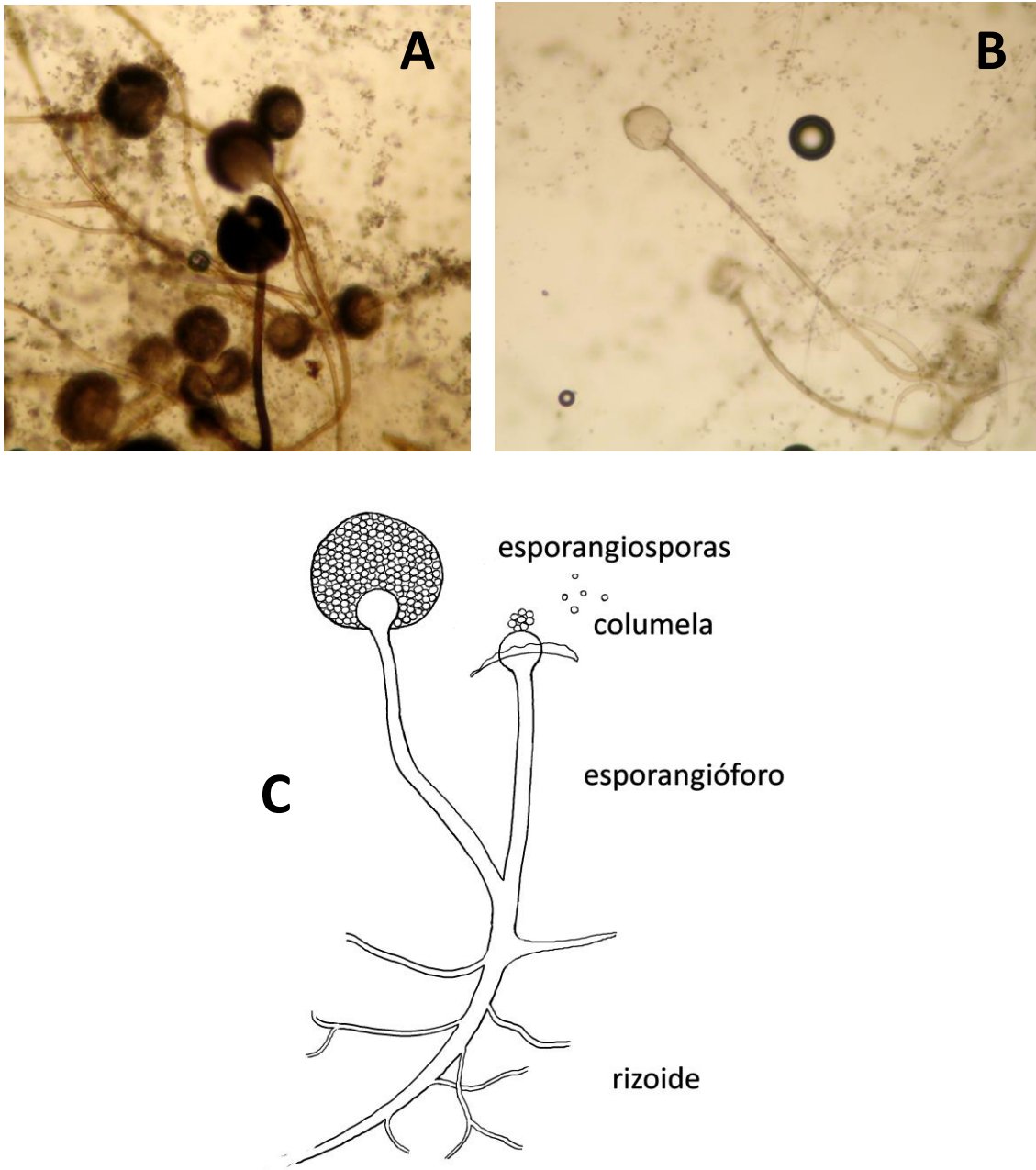


Figura 4. *Rhizopus stolonifer*. A. Hifas, esporangióforos de color negro y esporangiosporas. B. Columela y rizoides. Microscopía óptica de campo claro (10x). C. Dibujo esquemático.

Los **Ascomicetos** son un grupo de hongos caracterizados por presentar un proceso sexual mediante el cual se forman **ascosporas** haploides en el interior de una estructura o **asca**. Con frecuencia las ascas se forman en cuerpos fructíferos complejos denominados **ascocarpos**. Las especies que presentan esta fase sexual se conocen como **teleomorfo** o forma perfecta.

La mayoría de las especies presentan además un proceso de esporulación asexual; a esta forma se la conoce como **anamorfa** o imperfecta. Mediante este proceso se

forman **conidios**, que son un tipo de espora producidos en el extremo de hifas aéreas, los **conidióforos**.

Algunos representantes de los **Ascomicetos** son extremadamente abundantes y con una distribución mundial. Observaremos, como representantes de este grupo, dos géneros muy comunes, *Aspergillus* y *Penicillium*.

Aspergillus

El nombre de *Aspergillus* (Fig. 5) tiene su origen en el nombre latino “*aspergillum*” y hace referencia a la forma del conidióforo maduro, mecanismo de reproducción asexual del género parecido a un aspersor de agua bendita.

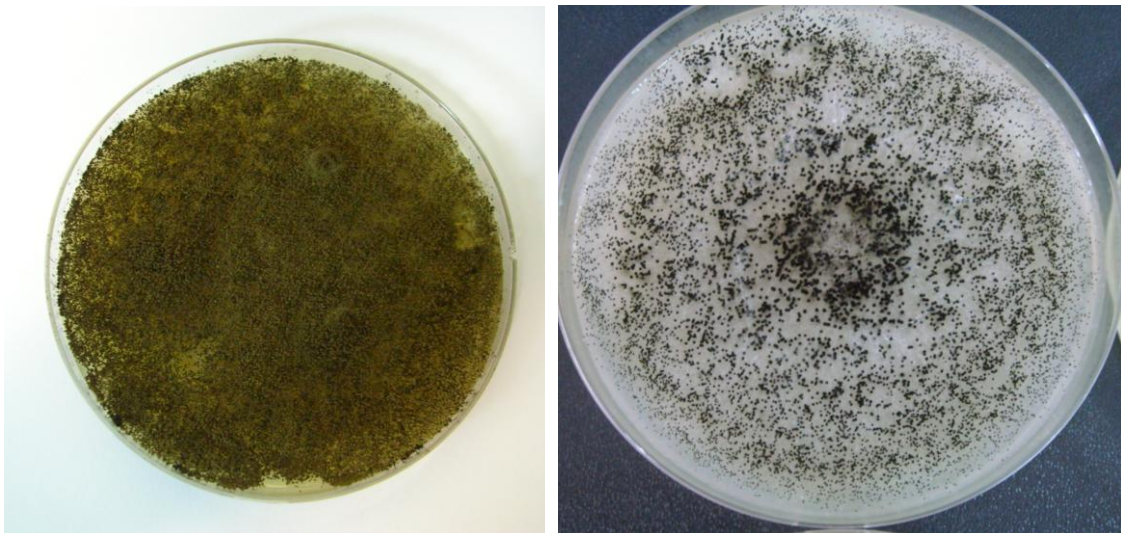


Figura 5. *Aspergillus niger* creciendo sobre placas de PDA. Se observa el micelio vegetativo y el micelio aéreo soportando los conidióforos y los conidios con una intensa coloración negra.

En el extremo del conidióforo se forma un ensanchamiento o vesícula; de esta vesícula parten una cantidad variable de hifas cortas, denominadas **fiálides**, que portan los conidios. En algunas especies las **fiálides** no se insertan directamente en la vesícula sino que se insertan a su vez en otras pequeñas hifas denominadas **métulas** (Fig. 6). La presencia o no de estas estructuras tiene interés taxonómico.

Los conidios no se liberan inmediatamente sino que permanecen unidos formando largas cadenas. La producción de numerosas cadenas de conidios insertados en la vesícula adquiere una forma de cabellera característica. Cuando los conidios están maduros se separan fácilmente y son dispersados por el aire.

Aspergillus puede desarrollarse con muy poca cantidad de agua por lo que es capaz de crecer sobre sustratos con potenciales osmóticos muy altos y es capaz de esporular en atmósferas con una humedad relativa muy baja.

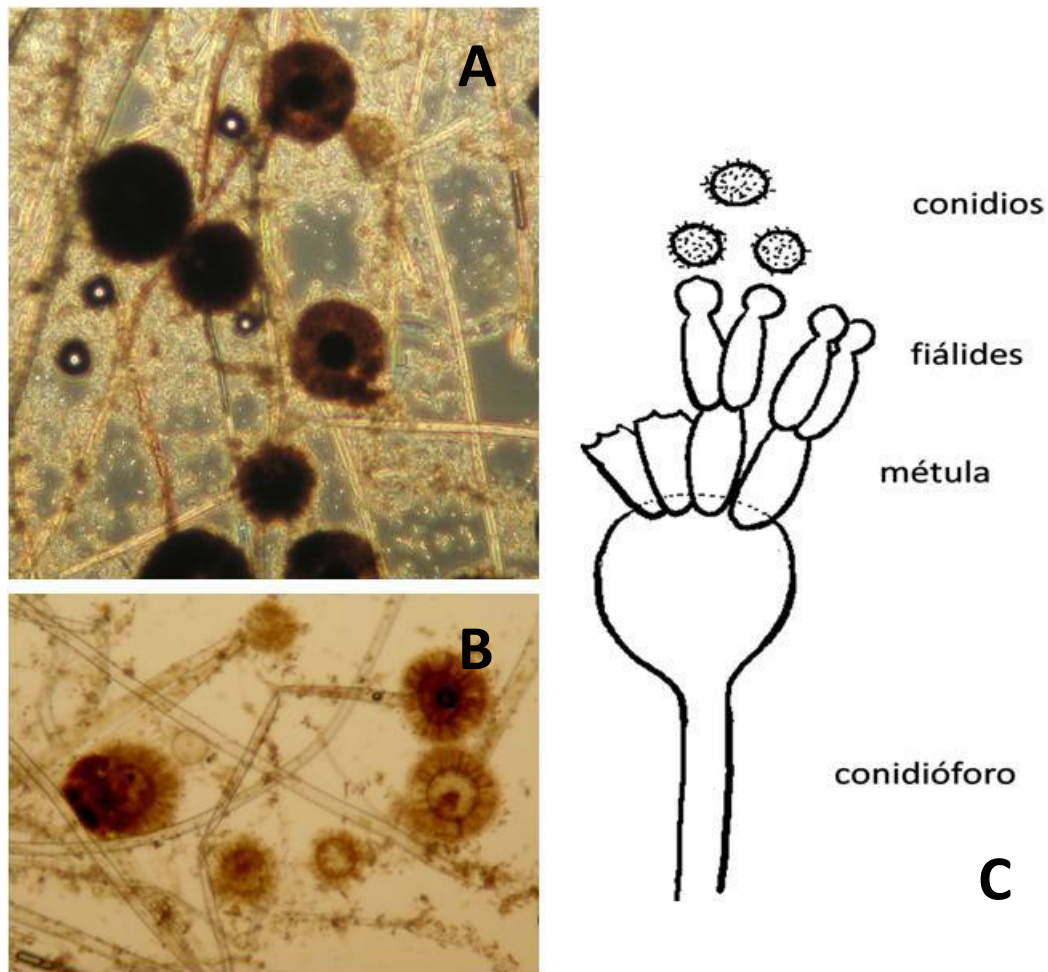


Figura 6. *Aspergillus niger*. A. Conidióforos y conidios, microscopía óptica de contraste de fases (10x). B. Conidióforos y conidios con microscopía óptica de campo claro (10x). C. Dibujo esquemático.

Las especies de *Aspergillus* son muy numerosas y están ampliamente distribuidas. Se agrupan en secciones que se denominan según la especie más representativa y mejor conocida dentro del grupo. La asignación de una especie a una sección es relativamente sencilla, mientras que la determinación precisa de la especie es algo mucho más complejo, requiere la experiencia de un experto y se basa. Frecuentemente, en características morfológicas y culturales. El desarrollo de herramientas moleculares hace más precisa, sencilla y fiable la identificación de especies de este género.

El interés de *Aspergillus* es múltiple.

- Algunas especies, como *A. nidulans*, han desempeñado un papel importante en el conocimiento de procesos básicos.
- En otras ocasiones es un interés aplicado, por ejemplo como productores de ácidos orgánicos, de enzimas, de bebidas o de alimentos fermentados orientales. Destaca la especie *A. niger*, productor de ácido cítrico.

- En otros casos su alta resistencia a las bajas actividades de agua hace que sean especialmente responsables de problemas de biodeterioro de diferentes materiales: alimentos, cereales, semillas, textiles, cueros, incluso sobre lentes y objetivos microscópicos donde se desarrollan a expensas de trazas de materia orgánica.
- Por otra parte, un gran número de organismos son responsables de la producción de **micotoxinas** que contaminan alimentos y producen **micotoxicosis** en animales y en el hombre. Las **aflatoxinas** producidas por *A. flavus* son las primeras descritas y las más conocidas.
- Finalmente, algunas especies se comportan como **patógenos**. La inhalación de polvo contaminado con esporas es la forma más frecuente de infección en los seres humanos, produciendo alergias o infecciones respiratorias.

Pueden ser responsables de infecciones graves para el hombre al colonizar el tejido pulmonar formando una masa o **aspergiloma**. Los pacientes inmunodeprimidos o sometidos a fármacos inmunosupresores son especialmente sensibles a estas infecciones.

La especie más relevante como patógeno es *A. fumigatus* y su presencia se analiza en todos los controles rutinarios de circuitos de ventilación, instalaciones quirúrgicas, etc.

Penicillium

El género *Penicillium* (Fig. 7) es también un organismo de gran importancia y amplia distribución. El nombre deriva del término latino "*penicillus*", en referencia a las ramificaciones que se producen en los extremos de los conidióforos dando lugar a una estructura semejante a un pincel.

La identificación de las especies, igual que ocurre en *Aspergillus* y otros muchos géneros de hongos filamentosos, requiere una gran experiencia y es una tarea difícil. Se basa fundamentalmente en características morfológicas de las estructuras reproductoras asexuales y en características culturales. La introducción de herramientas moleculares para la identificación de estas especies aporta rapidez y fiabilidad en el diagnóstico.

Los **conidios** se forman en **conidióforos** que pueden estar más o menos ramificados. En algunas especies las ramificaciones del conidióforo son simétricas y en otras irregulares (Fig. 8).



Figura 7. *Penicillium* cultivado en agar patata dextrosa (PDA) (izquierda) y en agar rosa de bengala cloranfenicol (derecha).

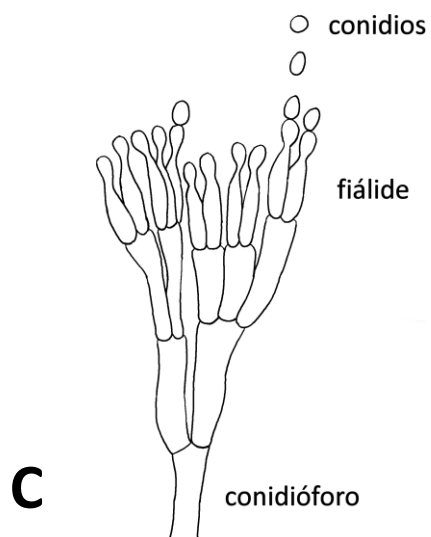
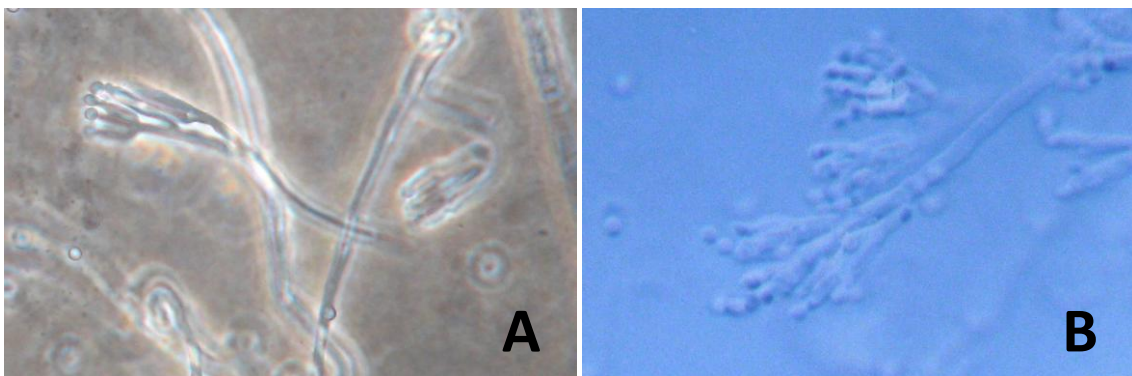


Figura 8. *Penicillium*. A. Conidióforos, fiálides y conidios, con microscopía óptica de contraste de fases (40x). B. Conidióforos, fiálides y conidios, con microscopía óptica de campo claro (40x). C. Dibujo esquemático.

Dentro de este género, encontramos representantes donde los conidios nacen de las fiálides, que se insertan directamente en el ápice del conidióforo. En otros casos las fiálides se insertan sobre métulas (Fig. 8). Los conidios, igual que en *Aspergillus*, son hidrofóbicos y se dispersan fácilmente por el aire.

Numerosas especies presentan un gran interés bajo diferentes puntos de vista.

- Algunas especies son importantes en biodeterioro, especialmente en aquellas situaciones con una humedad relativa baja, por ejemplo especies que alteran frutas almacenadas.

Así *Penicillium digitatum* es una especie que coloniza los cítricos siendo habitual la observación de masas de conidios verdes sobre limones y naranjas. *P. expansum* produce la podredumbre azul en manzanas y peras almacenadas, incluso en condiciones de frigoconservación. Se considera la enfermedad más importante a nivel mundial en manzanas. Además es la especie más importante productora de [patulina](#), una micotoxina que puede contaminar la fruta y sus derivados (zumos).

- Históricamente el papel más destacado para *Penicillium* es la producción de penicilina.

TÉCNICA

- Preparar diferentes cultivos en medios generales especiales para la observación de hongos filamentosos, como agar patata dextrosa (PDA) o agar Sabouraud. Incubar a 26-28 °C.
- Observar el aspecto de las colonias, el crecimiento y la coloración.
- Para la observación microscópica se suele hacer una preparación en fresco. Por la naturaleza hidrofóbica de los conidios, es conveniente preparar [tween 20](#) al 0.02% en agua. Colocar una gota sobre un portaobjetos. También se puede utilizar [azul de lactofenol](#).
- Tomar una pequeña porción de micelio de un cultivo joven con una aguja de siembra estéril y colocarla sobre la gota de tween. Cubrir con un cubreobjetos.

Es importante que la toma de muestra no se limite a una toma superficial de la colonia, lo que haría que sólo observásemos las esporas y no las estructuras donde ellas se insertan.

- Observar la preparación con objetivos de 10x y 40x. Observar el tamaño de las hifas, la presencia o no de septos y las estructuras reproductoras. La utilización de microscopia de contraste de fases es de gran utilidad.

- Observar los detalles de la ornamentación de las esporas y el color, utilizar un objetivo de inmersión 100x. A menudo se rompen las delicadas estructuras reproductoras lo que dificulta la observación precisa de las disposiciones de las esporas.

AGRADECIMIENTOS

A la Dra. Ana García Moreno, por la ayuda prestada en la realización de los dibujos de estructuras reproductoras.

BIBLIOGRAFÍA

Hawksworth, D.L.; Kirk, P.M.; Sutton, B.C. y Pegler, D.N. 1995. *Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi*. 8th ed. Wallingford: CAB International. 616 pp.

BIBLIOGRAFÍA DE CONSULTA

Carlile, M. J; Watkinson, S. C. y Gooday, G. W. 2001. *The Fungi*. Academic Press. 588 pp.

Deacon, J. 2005. *Fungal Biology*, 4th Ed. Wiley-Blackwell. 372 pp.

Dugan, F.M. 2006. *The identification of Fungi. An illustrated Introduction with Keys, Glossary, and Guide to Literature*. APS Press. 176 pp.

Gamazo, C.; López-Goñi, I. y Díaz, R. 2005. *Manual Práctico de Microbiología*. Masson S. A. Barcelona. 230 pp

Kavanagh, K. (Ed). 2005. *Fungi: Biology and Applications*. Wiley-Blackwell. 280 pp.

Renneberg, R. 2008. *Bioteología para principiantes*. Editorial Reverté. pp 300.

RECURSOS ELECTRÓNICOS

The Official Website of the Mycoses Study Group

<http://doctorfungus.org>

The UCMP Web Server of the University of California Museum of Paleontology

<http://www.ucmp.berkeley.edu/fungi/fungi.html>

UW-Madison. Department of Botany.

http://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi

Recibido: 29 mayo 2009.

Aceptado: 31 mayo 2009.