

COMUNIDAD ESTACIONAL DE MICROHONGOS EN LA LITERA DE CONIFERAS DEL N.E. ARGENTINO: ENFASIS EN TAXA DE POTENCIAL INTERES MEDICO

(Seasonal microfungal community of coniferous litter of Argentine N.E: emphasis on potential medical interest taxa)

Eduardo Piontelli*, Gustavo Giusiano** & Dunny Casanova ***

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

**Universidad del Nordeste, Inst. Med. Reg. Dep. Micología
Av. Las Heras 727, 3500 Resistencia (Chaco), Argentina

*** Universidad de Valparaíso Esc. de Medicina, Departamento de Salud Pública

Palabras clave: Microhongos oportunistas, litera de coníferas, salud pública.

Key words: Opportunist microfungi, coniferous litter, public health.

RESUMEN

Se analizó la colonización in vitro de microhongos filamentosos de rápido crecimiento en la litera de coníferas (*Pinus elliottii*) en el N.E argentino, mediante muestras estacionales de acículas senescentes de 4 localidades con semejanzas climáticas, edáficas y vegetacionales. Veinte muestras (5 de cada lugar) se sembraron en agar papa dextrosa y agar agua (ambos adicionados con dichlorán) durante 21 días a 1° ambiente, para enumerar la presencia relativa de su micota. Se contabilizó un total de 63 géneros fúngicos y 117 especies, representadas mayoritariamente por anamorfos de Ascomycota (85%), Ascomycota (9,9%) y Zygomycota (4,1%). Los hongos dematiáceos fueron dominantes (81,9%) y los 5 géneros mas frecuentes y constantes en las 4 estaciones y localidades, presentaron un variado comportamiento estacional, tales como: *Cladosporium* (31,8%), *Alternaria* (13,5%), *Epicoccum* (8,8%), *Trichoderma* (5,7%) y *Fusarium* (4,9%), con el 65% de la presencia total. Los géneros con mayor variedad de especies fueron: *Curvularia* (7), *Fusarium* (6), *Phoma* (6), *Trichoderma* (5) y *Cladosporium* (4). Las especies de interés médico fueron 52, con una presencia del 73,3% de la micota total. Las frecuencias más altas fueron: *A.alternata*, *A.tenuissima*, *Bipolaris cynodontis*, *C.cladosporiodes*, *C.oxysporum*, *Curvularia lunata*, *E. nigrum*, *F.semitectum*, *Nigrospora sphaerica*, *T.harzianum* y *T.viride*.

INTRODUCCION

A partir de uno de los pioneros trabajos de Kendrick & Burges (1962), las comunidades de microhongos en

ABSTRACT

The in vitro colonization of fast growth filamentous microfungi in the coniferous litter (*Pinus elliottii*) in northern-eastern Argentina was analysed by using seasonal samples of senescent acicules from four localities showing similar climatic, edaphic and vegetational characteristics. Twenty samples (five from each site) were cultured in dextrose potato agar and water agar (both dichloran added) for 21 days at room temperature in order to assess the relative presence of their mycota. A total sixty three fungal genera and 117 strains were detected, most of them being anamorphs of Ascomycota (85%), Ascomycota (9.9%) and Zygomycota (4.1%). Dematiaceous fungi were dominant (81.9%) whereas the five genera most frequent and constant in the four stations and localities showed a varied seasonal behaviour such as: *Cladosporium* (31.8), *Alternaria* (13.5%), *Epicoccum* (8.8%), *Trichoderma* (5.7%) and *Fusarium* (4.9%) with 65% of the entire presence. Genera bearing a higher variety of species were: *Curvularia* (7), *Fusarium* (6), *Phoma* (6), *Trichoderma* (5) and *Cladosporium* (4). Species showing medical interest were 52, with a 73.3% presence of the total mycota. The highest frequencies were: *A.alternata*, *A.tenuissima*, *Bipolaris cynodontis*, *C.cladosporiodes*, *C.oxysporum*, *Curvularia lunata*, *E. nigrum*, *F.semitectum*, *Nigrospora sphaerica*, *T.harzianum* and *T.viride*.

acículas de coníferas senescentes se han estudiado desde varios puntos de vista en muchos continentes, principalmente analizando sus roles ecológicos, su sucesión, la variación de su distribución geográfica y la presencia de fitopatógenos (Groubière, 1974; Miller, 1974; Black & Dix,

1977; Minter, 1981; Takayuki & Tokumasu, 1995; Tokumasu, 1998; Groubier & Debouzie, 2003).

Se han observado grandes diferencias en la constancia y abundancia de los hongos dominantes en acículas senescentes al caer estas en la litera, principalmente por la competencia de muchos saprófitos del suelo de rápido o lento crecimiento (Horizonte O), que imponen a la comunidad varios estados en la sucesión de especies (Tokumasu & Aoiki, 2002; Jones & Hyde, 2002).

Las acículas de coníferas constituyen una pequeña unidad de recursos y sus poblaciones fúngicas solo pueden cuantificarse acorde a la proporción de unidades que originan cuerpos fructíferos (Rayner, 1994; Zak & Rabatin, 1997). Los problemas en la caracterización de especies en los ecosistemas terrestres radican principalmente en determinar su número sobre un determinado sustrato, debido a que mientras algunas se presentan como un único cuerpo fructífero, otras lo hacen sobre gran parte del sustrato creando problemas en la enumeración y cuantificación en los modelos estadísticos (Jones & Hyde, 2002).

La colonización de la litera de coníferas soporta una micota saprofítica característica que muestra ciertas diferencias poblacionales si se compara con la presente en las angiospermas (Hudson 1968; Black & Dix, 1976). La presencia de fenoles y ácidos ferúlicos en el sustrato, ejercen indudablemente un efecto estimulante o inhibidor para el crecimiento de algunos hongos del suelo o epífitos de la filósfera, especialmente en la colonización de los tejidos internos (Black & Dix, 1976).

Para su análisis se han usado varias metodologías que van desde la observación directa bajo el microscopio, incubación en cámara húmeda, lavado, siembra en medios de cultivos diversos, la impresión directa de las hojas en el medio de cultivo, la microscopía electrónica (Scanner) y la esterilización superficial (endófito), entre otras (Parkinson, 1982; Andrews & Hirano, 1991; Bills & Polishook, 1994).

No hemos encontrado aparentemente en la literatura trabajos relacionados con la micota de la litera de coníferas (*Pinus elliottii*) en el nordeste Argentino y nuestro interés se centró básicamente en un análisis estacional de la diversidad de especies de rápido crecimiento y dispersión aérea desde este sustrato, con la finalidad de enumerar la presencia relativa de aquellos taxa de interés clínico (oportunistas), capaces de causar morbilidad y hasta mortalidad en pacientes con previas enfermedades graves o con compromiso de sus defensas. El espectro de las capacidades patogénicas fúngicas continúa evolucionando en el tiempo (hongos emergentes), en especial en el aumento de las poblaciones de hospedadores con compromiso inmune, enfermedades crónicas o expuestos a ciertas condiciones ambientales (espacios internos y externos), donde la inhalación, el contacto con tejidos dañados o el trauma directo, son la puerta de entrada de estos

microorganismos con gran capacidad de dispersión aérea. Nuestros objetivos fueron:

1) Establecer la dominancia y constancia de especies fúngicas capaces de esporular en acículas senescentes de la litera mediante el empleo de 2 técnicas de cultivo en un muestreo estacional en bosques de coníferas en el nordeste argentino.

2) Determinar en la estructura de la comunidad la frecuencia de presencia de especies consideradas potencialmente patógenas o alergénicas para el hombre.

MATERIALES Y METODOS

1.- Datos geográficos. El área estudiada se encuentra ubicada en la zona de Misiones, entre los paralelos 25° 28' y 28° 10' Latitud Sur y los meridianos 53° 38' y 56° 03' Longitud Oeste de la región nordeste de la República Argentina, atravesada por varios ríos y constituyéndose en una de las provincias más húmedas del país. Tiene un clima subtropical húmedo, sin períodos secos con lluvias constantes y regulares durante todo el año (1800 mm), pero principalmente en primavera y verano. Por su cercanía al trópico de Capricornio, presenta veranos muy húmedos y calurosos e inviernos templados con temperaturas medias anuales de 20°C y mayores de 30°C en la época estival. (Área de zona de muestreo en Fig. 1).

2.- Recolección de las muestras. La recolección del material se efectuó 4 veces en el año, uno en la mitad de cada estación iniciándose en el otoño del año 2003 hasta la primavera del 2004.

Se recolectaron en cada estación sólo acículas enteras de tonalidades de color café, ubicadas principalmente en la superficie de la litera y desde 4 puntos de recolección diferentes, distanciados unos 30 km uno del otro. En cada una de las 4 áreas se calculó una extensión aproximada de 1000m² donde se marcaron al azar entre los pinos (en los límites de estas y en el centro) 5 diferentes sub áreas delimitadas con estacas en una superficie de aproximadamente 30 m², para que todos los muestreos fueran en el tiempo, siempre en los mismos lugares. De esta manera, las 5 muestras de las 4 áreas geográficas analizadas en cada estación incluyeron 20 muestras que constituyeron el total de cada período de recolección. Debe especificarse que no se compararon entre sí las 4 áreas de muestreo debido a la uniformidad climática, edáfica y de su flora en los puntos muestreados y por ser un solo muestreo por estación. En bolsas de polietileno estériles se transportó el sustrato a cultivar (aproximadamente unas 60-90 acículas por muestra). Después de la colecta, éstas se mantuvieron refrigeradas en el laboratorio (4-6°C) hasta su procesamiento.

3.- Medios de cultivos usados y técnica de siembra. Se em-



Figura 1. Área de muestreo y localización geográfica

plearon dos técnicas de cultivo: **a)** cultivo directo en placa de las acículas en agar papa-zanahoria (PZ) + 0,0025g/L de Dichloran, para restringir el crecimiento de las colonias fúngicas y 250mg Cloranfenicol /L ; **b)** cultivo directo en placas de las acículas en agar agua con Dichloran (como cámara húmeda). Cada siembra se preparó de la siguiente manera: considerando el largo de las acículas, éstas se cortaron a un tamaño de unos 3-5cm y luego se lavaron 3 veces en matraces de vidrio vertiendo sobre estas agua estéril. Los matraces se ocluyeron en su parte superior con una malla metálica para dejar fluir el exceso de agua sin que escurrieran las acículas. Luego se secaron a 35°C durante 3-4 horas colocándolas lo más separado posible en placas de vidrio estériles. Con estos procedimientos se eliminó en parte, las impurezas superficiales como tierra y propágulos libres para dejar principalmente las estructuras fúngicas adheridas o que colonizaban el sustrato.

En cada medio de cultivo se colocaron 8 acículas tomadas al azar disponiéndose en forma más o menos paralela y equidistantes en la superficie de ambos medios para facilitar la detección y enumeración de los taxa.

La frecuencia de presencia de las fructificaciones de cada taxa se contabilizó en ambos medios de cultivo sólo una vez por acícula no importando que éste se repitiese más veces en la misma. De esta manera cada taxa en una placa de cultivo se enumeró del 0 al 8, patrón que se empleó en la suma en las 20 muestras por estación.

Todos los cultivos (en todas las estaciones) se incubaron a temperatura ambiente entre 18-25°C durante 21 días y la presencia y determinación de los taxa en las acículas fue mediante la lupa estereoscópica (20-40x) y

preparaciones teñidas con lactofenol y azul de algodón. La literatura de apoyo se basó principalmente en los textos de Ellis 1970-1976, Domsh *et al*, 1983, Ellis & Ellis 1985, Sutton 1980, Naj-Rag, 1993, Sivanesan, 1987. La determinación de las especies de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Penicillium* y *Trichoderma* se efectuaron en medios de cultivos específicos acorde a sus monografías (Klich, 2002, Nelson *et al*, 1983; Pitt, 2000; Gams & Bisset, 1998).

4.- Análisis estadístico. En nuestro estudio se emplearon los siguientes análisis estadísticos: Diversidad de Shannon Winner, el índice de similitud de Jaccard, el índice de asociación X^2 y pruebas de significación para asociaciones entre grupos de taxa.

RESULTADOS

1.- Micota total. La composición total de la comunidad fúngica en ambos medios de cultivo y su presencia relativa en todas las estaciones, arrojó un $n = 4985$, con un 58,8% ($n = 2931$) en agar PZ y un 41,2% ($n = 2054$) en agar agua (Tabla 1). Se contabilizó un total de 63 géneros fúngicos y 117 especies, de las cuales 64 se presentaron en ambos medios, 37 crecieron sólo en agar papa zanahoria, y en agar agua sólo lo hicieron 16 (Tabla 1). La presencia fúngica en agar agua en las 4 estaciones fue menor en invierno subiendo progresivamente desde invierno a otoño, mientras en agar PZ fue menor en otoño y verano subiendo en invierno y primavera (Tabla 1, Figura 2). Los grupos taxonómicos fueron representados mayoritariamente por taxa anamorfos de *Ascomycota* con conidios exógenos sobre conidióforos (71%), siguiendo en importancia los anamorfos de *Ascomycota* con conidióforos en cuerpos fructíferos (picnidios o acérvulos) (14 %), *Ascomycota* (9,9%) y *Zygomycota* (4,1%) (Tabla 1).

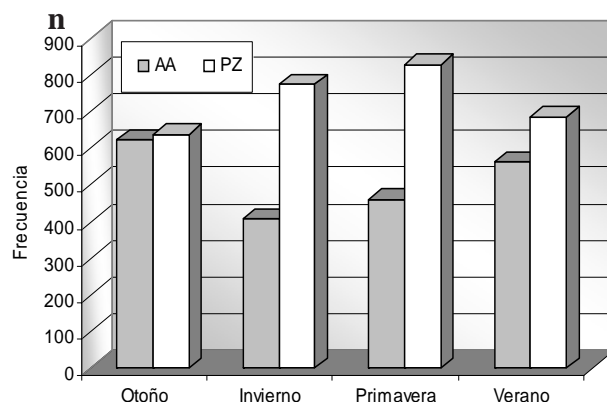


Fig. 2. Frecuencia estacional total de hongos en ambos medios de cultivo.

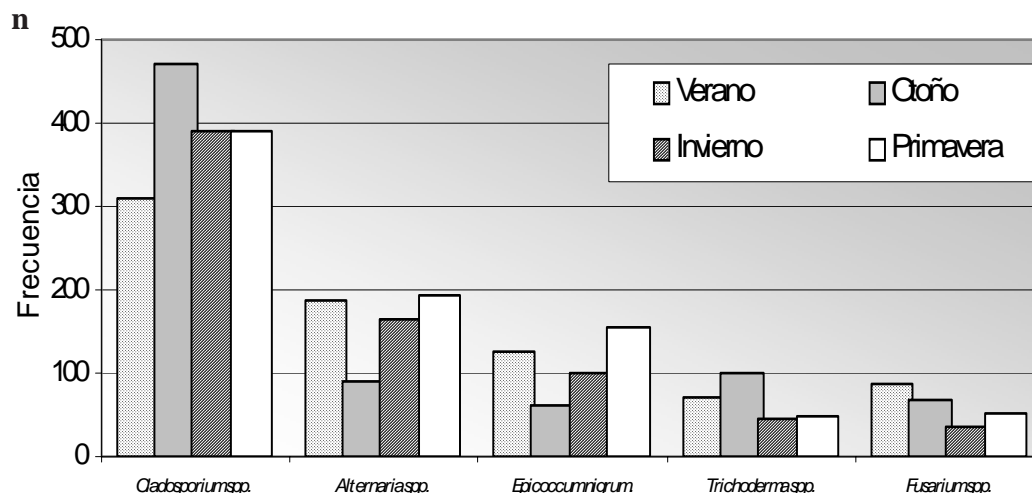


Figura.3 Taxas más frecuentes (%) en ambos medios según estación

Los anamorfos de **Ascomycota** presentaron mayoritariamente 3 modalidades de ontogenia conidial; de éstos, los taxa con mayor presencia numérica (48,7%), fueron los que presentaron una conidiogénesis blástica y conidios secos (21,5% de los taxa), siendo los más representativos del grupo (80,8%), destacándose las especies de *Cladosporium*. Los géneros con conidiogénesis fialídica con o sin conidiomas fueron mayoritarios (46,2%), de los cuales un 21,4% presentó conidios secos (5,4% de presencia en el total de taxa) y un 78,6% con conidios húmedos (24,1% del total de presencia), destacándose *Trichoderma* y *Fusarium*. Siguen en importancia los taxa con conidiogénesis trética (poroconidios) con una presencia del 17,3% en la micota, representados principalmente por *Alternaria*, *Curvularia* y *Bipolaris*.

Un total de 26 géneros fueron constantes en su presencia en las 4 estaciones, mientras 43 fueron esporádicos o poco comunes, presentándose una sola vez en el tiempo (Tabla 1).

Los géneros con mayor variedad de especies fueron: *Curvularia* (7), *Fusarium* (6), *Phoma* (6), *Trichoderma* (5) y *Cladosporium* (4). Los hongos dematiáceos dominaron ampliamente sobre los hialinos con un 81,9% del total de presencia y los 5 géneros más frecuentes detectados en las 4 estaciones en ambos medios fueron: *Cladosporium* (31,8%), *Alternaria* (13,5%), *Epicoccum* (8,8%), *Trichoderma* (5,7%) y *Fusarium* (4,9%), los cuales presentaron prácticamente el 65% de la presencia fúngica total (Tabla 1, Figura 3). Los integrantes del género *Alternaria* y *Epicoccum nigrum* tienen perfiles temporales similares (no significativamente diferentes al 1%), presentándose ambos con un peak en primavera (Fig. 5). Por el contrario, los perfiles de las especies de *Fusarium* y *Trichoderma*, que presentan peak en otoño y verano (el primero más en otoño y el segundo más en verano). Final-

mente, los integrantes de *Cladosporium*, se parecen más a estos dos últimos, especialmente al último, pues presenta también un peak en otoño (Fig. 5).

Los restantes taxa fueron mayoritariamente esporádicos salvo 10 de ellos que tuvieron porcentajes de frecuencias menores del 5% pero superiores al 1%, tales como: *Pestalotiopsis maculans*, *Phoma* spp., *Nigrospora* spp., *Lophodermium pinastri*, *Harzia* spp., *Aureobasidium pullulans*, *Pithomyces chartarum*, *Clonostachys rosea*, *Curvularia* spp. y *Bipolaris cynodontis* (Tabla 1). Los taxa más constantes (presentes en todas las estaciones) corresponden a los mismos que obtuvieron porcentajes de presencia superiores al 1%, (destacados en fondo gris en Tabla 1), los con porcentajes menores de presencia fueron más constantes sólo en agar PZ.

2.- Micota de interés clínico. La presencia total de hongos considerados de interés clínico según la literatura

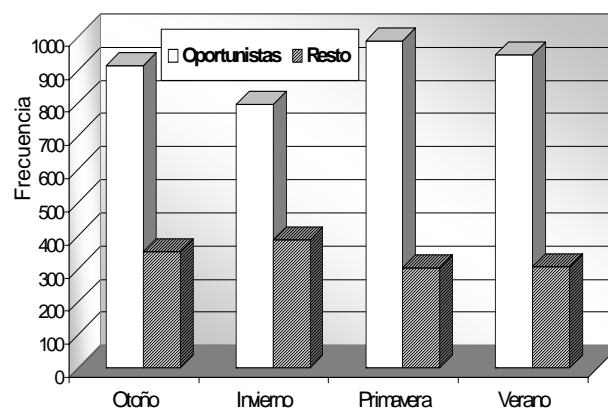


Fig. 4. Frecuencia estacional total de hongos considerados de interés clínico, en ambos medios de cultivo

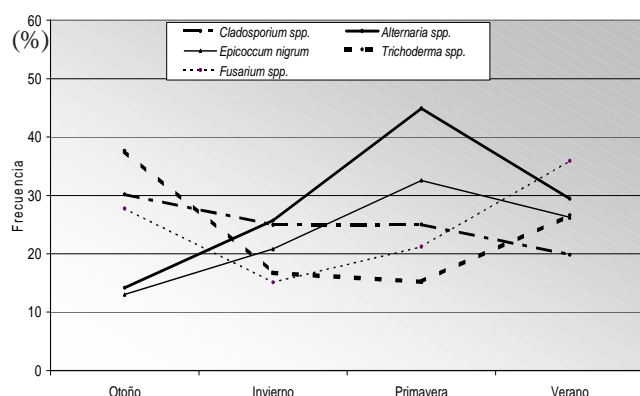


Figura 5.- Frecuencia relativa (%) de los 5 principales taxa fúngicos según estación en ambos medios

(n= 3702) fue de un 74,3% con respecto al resto de la micota presente, siendo en general los mismos con mayor constancia en Tabla 1. El 68% de ellos fructifican mediante la producción de mitosporas secas de dispersión anemófila. La frecuencia estacional de éstos en ambos medios de cultivo fue siempre mayor en agar papa zanahoria, con leve disminución en invierno, mientras en agar agua tuvo un comportamiento muy similar en todas las estaciones, pero levemente mayor en invierno.

La mayor dominancia de taxa en ambos medios y

estaciones, estuvo también representada por integrantes de los géneros *Cladosporium*, *Alternaria*, *Epicoccum*, *Trichoderma* y *Fusarium* (Tabla 1). El comportamiento estacional de los principales taxa se aprecia en Figura 4, donde *Alternaria* spp. y *Epicoccum nigrum*, presentan una misma curva de comportamiento estacional con su mayor presencia en primavera, al igual que *Fusarium* spp. y *Trichoderma* spp. en otoño y verano, disminuyendo en invierno y primavera. Debe destacarse que *F. semitectum* fue constante todo el año y su alta presencia en otoño se ve aumentada por la presencia de otras especies. *Cladosporium* spp., presenta un comportamiento más estable, sin grandes variaciones estacionales, con una aparente mayor presencia en otoño que decrece lentamente hasta el verano.

En primavera y verano hay un menor número de especies, pero con una mejor representatividad relativa de estas que en otoño e invierno (ver diversidades Tabla 3). Las estaciones más similares en cuanto a la coincidencia de especies, son primavera y verano y las menos similares, son otoño y verano (ver similitudes Tabla 3). Las estaciones que más se parecen en cuanto al perfil de densidades de los géneros más importantes, son invierno, primavera, verano. Otoño por su parte, se

Tabla 1. Frecuencia relativa (%) del total de los taxa aislados según estación y cultivo (PZ y AA) . Los taxa en fondo gris representan los considerados de interés clínico

Taxa Fúngicos	Otoño		Invierno		Primavera		Verano		n	%FR
	PZ	AA	PZ	AA	PZ	AA	PZ	AA		
<i>Acremonium breve</i> (Sukap. & Thirum) W.Gams							2		2	0,04
<i>Acremonium</i> sp.	1	1			1	1			4	0,08
<i>Acremonium strictum</i> W.Gams	0			2			2		4,04	0,08
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissler complex	32	34	58	32	99	58	87	62	462	9,27
<i>Alternaria</i> sp.	4	3	5	2	7	5	8	7	41	0,82
<i>Alternaria tenuissima</i> (Kunze ex Pers.) Wilts.	12	12	64	9	24	14	22	16	173	3,47
<i>Arthrotrrys cladodes</i> Drechsler var. <i>cladodes</i>		1							1	0,02
<i>Aspergillus niger</i>	3		1						4	0,08
<i>Aspergillus sidowii</i>	1								1	0,02
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) Arn.var. <i>pullulans</i>	2	12			1	1			16	0,32
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) Arn.var. <i>melanigenum</i> H.Nij.	37	12	16	4	8	3	4	3	87	1,75
<i>Bipolaris cynodontis</i> (Marignoni) Shoemaker.		3	8		20	7	5	10	53	1,06
<i>Bipolaris ellisii</i> (Dinquah) Alcorn	1								1	0,02
<i>Botrytis cinerea</i> Pers. ex Nocca & Balb.					2				2	0,04
<i>Chaetomium bostrychodes</i> Zopf			1						1	0,02
<i>Chaetomium</i> sp.							1		1	0,02
<i>Chalara hughesii</i> Nag Raj & Kendrick			4	1					5	0,10
<i>Chalara</i> sp.								2	2	0,04
<i>Chaetopsina fulva</i> Rambelli	2	6	3	5		3	1	4	24	0,48
<i>Choanephora cucurbitarum</i> (Berkeley & Ravenel) Thaxter		1	13						14	0,28

Continuación Tabla 1

<i>Cladorrhinum anam. Cercospora samala</i> Undagawa & Muroi							2		2	0,04
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fres.) de Vries	116	132	136	72	133	67	98	81	835	16,75
<i>Cladosporium oxysporum</i> Berk. & Curt.	88	114	117	44	112	60	66	50	651	13,06
<i>Cladosporium</i> sp.	2	3	4	1	3	2	4	2	21	0,42
<i>Cladosporium sphaerospermum</i> Penz.	10	12	14	7	13	6	8	7	77	1,54
<i>Clonostachys compactiuscula</i> (Sacc.) Hawksworth & W.Gams	9	6	2		1				18	0,36
<i>Clonostachys rhizophaga</i> (Theon & Jacobs) Schoers				2					2	0,04
<i>Clonostachys rogersoniana</i> Schroers (similis)?	1								1	0,02
<i>Clonostachys rosea</i> (Link: Fr.) Schroers et al.	20	26	5	6	2		1	3	63	1,26
<i>Codinea britannica</i> M.B.Ellis	5		14	13	2	9		2	45	0,90
<i>Codinea fertilis</i> Hughes & Kendrick								1	1	0,02
<i>Curvularia clavata</i> Jain	4	23	1				2		30	0,60
<i>Curvularia eragrostidis</i> (Tsuda & Ueyama) Sivanesan							4	4	8	0,16
<i>Curvularia lunata</i> (Wakker) Boedijn	1		4	4	26	4	19	24	82	1,65
<i>Curvularia lunata</i> (Wakker) Boedijn var. <i>aerea</i> M.B.Ellis					2	1	3		6	0,12
<i>Curvularia pallescens</i> (Tsuda & Ueyama) Sivanesan			1						1	0,02
<i>Curvularia senegalensis</i> (Speg.) Subarm.			2						2	0,04
<i>Curvularia verruculosa</i> Tandom & Bilgrami ex M.B.Ellis			3						3	0,06
<i>Cytospora chrysosperma</i> Pers.:Fr.							1		1	0,02
<i>Dactylaria</i> sp.					1				1	0,02
<i>Epicoccum nigrum</i> Link	39	23	63	36	103	52	60	65	441	8,85
<i>Exserohilum rostratum</i> (Drechsler) Leonard & Suggs			1						1	0,02
<i>Fusarium chlamydosporum</i> Wollenw. & Reinking		2							2	0,04
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht.:Fr.	9	2							11	0,22
<i>Fusarium semitectum</i> sensu Wollenw.	19	23	16	17	45	7	66	22	215	4,31
<i>Fusarium solani</i> (Mart.) Sacc.	3	4		2					9	0,18
<i>Fusarium</i> sp.	5								5	0,10
<i>Fusarium verticillioides</i> (Sacc.) Niremb.	1			2					3	0,06
<i>Gelasinospora novoguineensis</i> Tukada					4				4	0,08
<i>Glomerella cingulata</i> (Stonem.) Spauld. & Schrenk	3	2	1						6	0,12
<i>Harzia velata</i> (Onions & D.Jones) Hol.-Jech.			1	5	42		33	16	97	1,95
<i>Harzia verrucosa</i> (Togn.) Hol.-Jech.			5	5					10	0,20
<i>Hormonema dematioides</i> Lagerberg & Melin			4					1	5	0,10
<i>Leptosphaeria</i> sp. 2								2	2	0,04
<i>Leptosphaeria</i> sp. 1			4						4	0,08
<i>Leptosphaerulina chartarum</i> Roux.							1		1	0,02
<i>Lophodermium pinastri</i> (Schröd.:Hook) Chev.	41	54	21	23	13	20	4	9	185	3,71
<i>Metarrhizium anisopliae</i> (Metschn.) Sorok.					1				1	0,02
Micelio sin fructificar	22		5	12	5	12		19	75	1,50
<i>Micosphaerella</i> sp.								7	7	0,14
<i>Microsphaeropsis olivacea</i> (Bonord.) Höhn.	1		3	2				2	8	0,16
<i>Microsphaeropsis</i> sp.					1				1	0,02
<i>Monacrosporium</i> sp.				2					2	0,04
<i>Mortierella parvispora</i> Linnemann			2						2	0,04
<i>Mucor hiemalis</i> Wehmer f. <i>hiemalis</i>		4	2	1	1		5	1	14	0,28
<i>Myrothecium graminum</i> Lib.			1	4	4		4	6	19	0,38
<i>Myrothecium indicum</i> Rama Rao							1		1	0,02
<i>Myrothecium jollymannii</i> Preston							1		1	0,02
<i>Myrothecium roridum</i> Tode : Steudel	1	2			14	1	12	2	32	0,64
<i>Myrothecium verrucaria</i> (Alb. & Schw.) Ditm.:Fr.				2	2				4	0,08

Continuación Tabla 1

<i>Nigrospora</i> anamorph of <i>Khuskia oryzae</i> Hudson					5				5	0,10
<i>Nigrospora panici</i> Zimm.							2		2	0,04
<i>Nigrospora sacchari</i> (Speg.) Mason			16	6	3				25	0,50
<i>Nigrospora sphaerica</i> (Sacc.) Mason	37	8	11	2	28	24	23	24	157	3,15
<i>Nodulisporium</i> sp.		4							4	0,08
<i>Ochroconis constricta</i> (Abbott) de Hoog								2	2	0,04
<i>Ochroconis tshawytschae</i> (Doty & Slater) Kirilenko & Al-Achmed			2	4	5	6		6	23	0,46
<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson							1	4	5	0,10
<i>Paecilomyces variotii</i> Bain.	1								1	0,02
<i>Penicillium citrinum</i> Thom	1								1	0,02
<i>Penicillium glabrum</i> (Wehmer) Westling	2				1			1	4	0,08
<i>Penicillium herquei</i> Bain. & Sart.	2								2	0,04
<i>Penicillium purpurogenum</i> Stoll							5	4	9	0,18
<i>Penicillium</i> spp.	8	2	5					3	18	0,36
<i>Periconia byssoides</i> Pers.:Mérat			2				1	1	4	0,08
<i>Periconia cookei</i> Mason & M.B.Ellis					1			2	3	0,06
<i>Pestalotiopsis maculans</i> (Corda) Nag Raj	17	19	38	42	27	28	32	25	228	4,57
<i>Pestalotiopsis</i> sp.			1						1	0,02
<i>Phoma eupirena</i> Sacc.		5							5	0,10
<i>Phoma glomerata</i> (Corda) Wollenw. & Hochapfel		3							3	0,06
<i>Phoma herbarum</i> Westend.	1	6	4		15	2	12	3	43	0,86
<i>Phoma leveillei</i> Boerema & Bollen			4				2		6	0,12
<i>Phoma medicaginis</i> Malbr. & Roum var. <i>medicaginis</i>	1		15	4	4	5	2	3	34	0,68
<i>Phoma</i> sp.	1	2	4	7	5	3	1	7	30	0,60
<i>Pithomyces chartarum</i> (Berk. & Curt.) M.B.Ellis	7	3	11	2	2	5	14	25	69	1,38
<i>Podospira anserina</i> (Ces.) Niessl								1	1	0,02
<i>Polyscytatum fecundissimum</i> Riess			2						2	0,04
<i>Pullospora macrospora</i> Nag Raj		1	9						10	0,20
<i>Ramichloridium schulzeri</i>								1	1	0,02
<i>Rhinochlaia spinifera</i> (Nielsen & Conant) de Hoog					1				1	0,02
<i>Rhizopus oryzae</i> Went & Prinsen Geerligs							5		5	0,10
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.:Fr.) Vuill.			2				4		6	0,12
<i>Sarcopodium macalpinei</i> (Agnothothrudu & Barua) Sutton	1								1	0,02
<i>Sordaria fimicola</i> (Rob.) Ces. & de Notaris			4				3	1	8	0,16
<i>Sphaeropsis sapinea</i> (Fr.) Dyko & Sutton	3	2	3		4	7	3		22	0,44
<i>Sporormiella minima</i> Auersw., Ahmed & Cain		4							4	0,08
<i>Stauronema cruciferum</i> (Ell.)H. P.Syd. & Butler						1			1	0,02
<i>Thielavia</i> sp.		1		1					2	0,04
<i>Thozetella tocklaiensis</i> (Agnothothrudu) Pirozynski & Hodges								4	4	0,08
<i>Torula herbarum</i> Pers.:Gray					1			3	4	0,08
<i>Trybliopycnis pinastri</i> Höhn.					2	6			8	0,16
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	32	26	4	2	4		12	11	91	1,83
<i>Trichoderma koningii</i> Oudemans	24	16			6	9	14	4	73	1,46
<i>Trichoderma longibrachiatum</i> Rifai			17	7	18	13	12	16	83	1,67
<i>Trichoderma</i> spp.	5	3	5	3			10		26	0,52
<i>Trichoderma viride</i> Pers.:Fr.	1		8	6			1		16	0,32
<i>Trichotecium roseum</i> (Per.) Link:Gray		1	3	4	5		1		14	0,28
<i>Ulocladium atrum</i> Preuss						1	1		2	0,04
TOTALES	639	623	775	407	829	443	688	581	4984	
Totales taxas potencialmente patógenos	451	466	557	256	668	336	540	428	3702	

Tabla 2.-Relaciones entre perfiles temporales de los 5 grupos de taxa más frecuentes (A.- *Alternaria*, B.- *Cladosporium*, C.- *E.nigrum*, D.- *Fusarium*, E.- *Trichoderma*)

	B	C	D	E
A	107,4 p<,001	2,5 (NS)	55,2 p<,001	103,0 p<,001
B		58,9 p<,001	35,3 p<,001	24,9 p<,001
C			32,9 p<,001	67,0 p<,001
D				9,9 (NS)

Tabla 3.- Diversidad de Shannon Winner, similitud de Jaccard y relaciones entre estaciones

	Num. Divers. (H)			Simil. (Jacc.)			Relación (X ²)		
	spp.	Absol.	Relat	Inv.	Pri.	Ver.	Inv.	Pri.	Ver.
Otoñ.	30	2,23	7,4%	0,5	0,5	0,44	65,6	166,9	96,2
Invi.	28	2,34	8,4%		0,53	0,5		26,8	39,1
Prim.	14	2,32	16,6%			0,64			38,6
Ver.	14	2,11	15,1%						

manifiesta con el perfil de densidades más alejado de las otras tres estaciones (ver relaciones Tabla 3).

Las otras especies de interés clínico que presentaron frecuencias de presencia superiores al 1% fueron, *Bipolaris* y *Curvularia*, con la mayor presencia en verano y primavera de *B.cynodontis* y *C.lunata*. *Nigrospora sphaerica* sólo disminuyó en invierno, mientras *Phoma herbarum* fue bastante estable en los meses de primavera y verano, disminuyendo hacia el invierno (Tabla 1).

DISCUSION

Los 2 medios de cultivo empleados en metodología, permitieron detectar la presencia de un alto número de taxa, en especial en agar papa zanahoria por el aporte de sustancias simples de fácil asimilación para la mayoría de las especies fúngicas. Al ser un medio pobre que de por sí reduce el tamaño de las colonias, la inclusión de Dichloran, disminuyó más aún su tamaño y la cantidad de micelio, facilitando los recuentos sobre las acículas. Además permitió una buena y rápida esporulación en la mayoría de los taxa, atenuando en cierta medida el efecto inhibitor en algunos taxa de los compuestos fenólicos presente en las acículas. La mayor lentitud en el crecimiento de las colonias sobre el substrato en agar agua con Dichloran, permitió detectar algunos taxa substratos específicos, sin una gran disminución en la presencia de los principales géneros más frecuentes. Blak & Dix (1976), comentan que *Trichoderma viride*, *Mucor hiemalis* y las especies de *Penicillium*, parecen estimularse frente a los compuestos fenólicos, sin embargo, esta situación sólo se observó en *T. viride*, debido a que *Penicillium* y los *Mucorales* fueron escasamente representados.

La zona muestreada, subtropical húmeda, no pre-

senta grandes variaciones climáticas, permitiendo detectar con un solo muestreo estacional una considerable diversidad en la composición de especies, a pesar del corto período de incubación (3 semanas), con un listado de éstas seguramente incompleto y representado mayoritariamente por organismos de rápida esporulación y con altas capacidades saprofíticas competitivas interespecíficas. La composición de esta comunidad muestra un buen equilibrio, muchas especies esporádicas y un reducido número de especies dominantes en sus primeros estadios de la colonización como: *Cladosporium*, *Alternaria*, *Epicoccum*, *Trichoderma* y *Fusarium*. La mayoría de las especies que integraron estos géneros, se presentan también en la filósfera de otros vegetales y sus roles saprofíticos competitivos en las hojas caídas se ha detectado en varios tipos de literas ricas en fuentes de energía aprovechable como carbohidratos y hemicelulosa, (Kendrick & Burges, 1962; Tubaki, 1973; Blak & Dix, 1976-1977; Cabral, 1985; Takayuki & Tokumasu, 1995; Osono & Takeda, 2002; Takashi Osono, 2002).

El método empleado y la corta incubación no permitió diferenciar, salvo excepciones (*Lophodermium pinastri*) el rol de epífita o endófitos de algunos taxa, muchas especies pueden colonizar ambas partes de este heterogéneo substrato en el tiempo, comportándose como saprófitos primarios o débiles parásitos, tal es el caso de las principales especies con las mayores tasas de presencia y constancia en el tiempo: *Cladosporium cladosporioides*, *C.oxysporum*, *Alternaria alternata*, *Epicoccum nigrum*, *Pestalotiopsis maculans*, *Fusarium semitectum*, *Lophodermium pinastri*, *Nigrospora sphaerica*, *Trichoderma harzianum*, *Aureobasidium pullulans* var. *melanigenum*, *Curvularia lunata* y *Pithomyces chartarum*, muchos de ellos comunes también en la litera herbácea (Bisset & Parkinson 1980; Takashi, 2002). Son los colonizadores primarios, pero posteriormente reemplazados en el tiempo por un largo número de especies saprófitas secundarias que colonizan la litera después de la caída de las hojas, acorde a factores climáticos e interacciones específicas, sin descartar que varias especies dominantes pueden encontrarse en las sucesiones en el horizonte 0 de la litera de las coníferas en un único sitio geográfico (Tokumasu & Aoiki, 2002). Los factores determinantes en la composición de especies epífitas son generalmente la humedad y temperatura, ambos fluctúan según la estación y pluviosidad. *Alternaria*, *Epicoccum*, *Fusarium* y *Rhizopus* tienen correlación positiva frente a la temperatura y negativa con humedad, mientras *Cladosporium* parece no tener ninguna correlación con ambos parámetros y *Phoma* no se correlaciona con la temperatura. Estas situaciones coinciden con el trabajo de la composición taxonómica de hongos anemófilos relacionados con factores climáticos de Marchisio et al. (1997), a

pesar de las diferencias geográficas. *C.cladosporioides* y *C. oxysporum* fueron las 2 especies con mayor presencia en todas las estaciones (dominantes), el primero, es la especie tipo de la nueva sección **Hormodendropsis** de *Cladosporium* (David, 1997). Es un taxa extremadamente ubicuo, prevalente como saprófito en el suelo, litera y la superficie foliar de las plantas, productos manufacturados, así como uno de los más comunes hongos anemófilos en todas las latitudes (Domsch *et al.*, 1980; Al-Doory, 1984; Aira *et al.*, 2005). Su presencia constante junto a las otras 2 especies en todas las estaciones del año, sugiere que no guarda una estrecha relación con la mayor pluviosidad en primavera-verano ni con las menores temperaturas invernales. Además su capacidad de crecer sobre sustratos de diversa naturaleza y ser un colonizador primario tolerante al estrés, le confieren gran capacidad saprofítica competitiva, cualidades que comparte en buena medida con las especies de *Alternaria*, en especial las integrantes del complex *Alternaria alternata* (Pereira *et al.* 2002).

C.oxysporum, pertenece al subgénero **Cladosporium** y a la sección **Cladosporium**, considerada una especie final dentro de *C.herbarum* aggr. (David, 1997), ampliamente disperso en regiones tropicales y subtropicales, generalmente como saprófito (más raramente como patógeno) en sustratos herbáceos y leñosos diversos (Mckemy & Morgan-Jones, 1991).

En nuestro trabajo pudimos observar cierta relación entre el clima y la composición de la micota solo en la distribución de especies más frecuentes o dominantes, sin embargo, se confirma que la distribución y la riqueza de especies observada guarda cierta relación con la mayor temperatura y humedad (alta pluviosidad) en los meses de verano y primavera de la zona muestreada. No se incluyeron en el análisis a otros taxa comunes en coníferas con un comportamiento similar en algunas estaciones como *Lophodermium pinastri* y *Pestalotiopsis maculans* que a pesar de que sus frecuencias, fueron en conjunto superiores al 8%, no se dispersan por el viento y no tienen un interés clínico.

Los hongos filamentosos, en sus formas anamorfas cumplen roles saprotrofos mayoritariamente en ambientes de vida exógena, integrando las comunidades fúngicas más frecuentes en los suelos y la cobertura vegetal asociada. Muchos de ellos presentan grandes capacidades competitivas y antagónicas en la colonización y descomposición de una amplia variedad de sustratos en todos los climas y latitudes. La condición de tolerantes al estrés cualidad común para los principales taxa aislados, les permiten sobrevivir y dispersarse con rapidez en sustratos simples o complejos y cuando las condiciones ambientales son favorables algunos adquieren dominancia, pudiendo

afectar no sólo a la agricultura (fitopatógenos), sino a la industria, los procesos biotecnológicos, las prácticas agrícolas y forestales y la salud humana y animal (Scholtz, 2003).

Nuestro análisis de la micota de interés clínico en la litera vegetal de coníferas, es un buen ejemplo de las capacidades de algunos grupos fúngicos en la competencia por un sustrato difícil de descomponer, donde los integrantes de sólo 5 taxa comunes ejercieron dominancia estacional, representando cuantitativamente los 2/3 de toda la comunidad total. Sin embargo, algunos de estos colonizadores primarios, tienen un genoma que bajo ciertas circunstancias puede adaptarse al oportunismo o a la patogenicidad en animales de sangre caliente. Ambas cualidades necesitan un set de sutiles grados de patogenicidad, tipos de formas celulares, colonización y rutas de invasión fúngica, que en conjunto sean capaces de causar leves o severas micosis cuando el sistema inmune de los vertebrados está debilitado, pero raramente en un hospedador inmunocompetente. El potencial patológico es complejo, muchas veces específico de un determinado organismo y es imposible aún llegar a conclusiones generales especialmente en sus atributos moleculares (Odds, *et al.*, 2001; Van Burik & Magee, 2001; Naglik *et al.*, 2003).

En los 2 últimos decenios, muchos hongos dematiáceos e hialinos saprofíticos o con cierto grado de interés fitopatológico, han sido la causa de enfermedades en el hombre con presentaciones clínicas poco comunes (de Hoog *et al.*, 2000).

Los hongos filamentosos dematiáceos, un heterogéneo grupo de organismos ampliamente dispersos en la naturaleza, poseen en común la producción de pigmentos de melanina y en la actualidad se han hecho frecuentes (más del 30% de las micosis) como causa de enfermedad en el hombre (de Hoog *et al.*, 1992, 2001; Fothergill, 1996; Norton *et al.*, 1996; Groll & Walsh, 2001). Las micosis causadas por estos hongos son llamadas comunmente faeohifomicosis (Ajello, 1975), pero se consideran también las cromoblastomycosis y los micetomas eumicóticos. Los taxa fúngicos de interés clínico fueron en su mayoría dematiáceos (61,5%) representando además la mayor presencia del grupo en el sustrato (84,6%). Entre los más frecuentes oportunistas patógenos detectados en nuestra investigación se incluyen las especies de: *Alternaria*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Epicoccum*, *Nigrospora* y *Phoma*, organismos ampliamente dispersos en el ambiente, suelo, madera y restos de material vegetal diverso en descomposición. Las infecciones cutáneas, subcutáneas, hiatrogénicas, trasplantes de órganos, alérgicas y de córnea, entre otras, se presentan en todo el mundo, pero comunmente en los países tropicales y subtropicales, mediante implantación traumática o inhalación, pero no siempre en los individuos con algún

grado de compromiso inmune. Estos hongos han sido la causa de sinusitis alérgica o invasivas pero, en la actualidad, las micosis diseminadas a varios órganos van en aumento en la literatura (Ebright *et al.*, 1999; De Hoog *et al.*, 2001; Lyke, *et al.*, 2001; García-Díaz & Baumgarten, 2002; Brandt & Warnock, 2003; Everett *et al.*, 2003).

Debemos destacar en los individuos atópicos, que en el ambiente de bosques de coníferas, es posible la sensibilización *in situ* con propágulos fúngicos de la litera dispersos en el aire en ciertas épocas estacionales, especialmente en personal forestal, o habitantes de regiones cercanas. Es cada vez más frecuente encontrar en la literatura (niños y adultos), no solo casos de alergia por hongos dematiáceos de los géneros *Alternaria*, *Bipolaris*, *Cladosporium*, *Curvularia*, *Epicoccum*, *Phoma* y *Nigrospora*; sino cuadros clínicos más complejos asociados a la dispersión a distancia de sus mitosporas, capaces de la invasión de los senos nasales, paranasales, córnea, trasplantes de órganos o aún infecciones del sistema nervioso central, en pacientes con o a veces sin compromiso inmune (Muralidhar & Sulthana, 1997; Chakrabarti & Sharma, 2000; Arshad *et al.*, 2001; Mezzari, *et al.*, 2003; Tessari *et al.*, 2003; Carter & Boudreaux, 2004; Taj-Aldeen *et al.*, 2004).

Varios autores han purificado y caracterizado los principales alérgenos en *Curvularia lunata* y *Epicoccum nigrum*, tales como glicoproteínas, serino proteasas y proteínas de diferentes kDa y la gruesa reactividad con otros hongos dematiáceos y hialinos aeroalérgenos, todos ellos frecuentes en nuestro trabajo (Bisht *et al.*, 2002-2004; Gupta *et al.*, 2004).

Los hongos filamentosos oportunistas hialinos, son también un grupo heterogéneo ampliamente disperso en la naturaleza que se consideran clínicamente como comunes alérgenos, toxicogénicos o productores de hialohifomicosis (de Hoog *et al.*, 2000; Samson *et al.*, 2004). En nuestro ambiente no fueron mayoritarios, destacándose sólo las especies de *Fusarium* y *Trichoderma*, mientras las especies de *Aspergillus*, *Penicillium* y *Paecilomyces* tuvieron una escasa presencia al igual que los *Mucorales*. Dentro del género *Fusarium* debe destacarse la alta presencia de *F. semitectum* (= *F. incarnatum*) en todas las estaciones y en especial las más cálidas, sobrepasando ampliamente a todos los demás integrantes presentes del género. Esta situación puede asociarse a su amplia distribución ecológica en zonas cálidas y tropicales. Existen pocas referencias en la literatura sobre su rol patogénico en humanos, salvo en casos de queratitis, lesiones en piel quemada, endocarditis, cáncer hematológico y su habilidad de producir micotoxinas citotóxicas (de Hoog *et al.*, 2000; Nucci *et al.*, 2003; Naiker & Odhav, 2004). Su oportunismo es también escaso en

animales y se ha detectado en hospedadores muy diversos, como bovinos (enfisema pulmonar agudo) y tortugas (invadiendo la queratina de su caparazón) (Linnabary & Tarrier, 1988; Rose *et al.*, 2001). Altomare *et al.* (2000), pudieron aislar 2 tipos de alfa pironas desde cultivos de arroz contaminado con *F. semitectum*, que mostraron una considerable actividad antifúngica frente a hongos fitopatogénicos micotoxigénicos (*Alternaria alternata*, *Ascochyta rabiei*, *Aspergillus flavus*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cucumerinum*, *Phoma tracheiphila* y *Penicillium verrucosum*), pero no con levaduras y bacterias encontradas en esta Poacea. Mostraron también buena actividad inhibitoria hacia los agentes de micosis humanas (*Aspergillus* y algunas *Candida* spp.). La producción de estos compuestos en las acículas por *F. semitectum* puede considerarse como un factor de competitividad y antagonismo *in situ* en la litera, con seguridad de efecto limitante para algunos integrantes de la comunidad, que junto con la producción de mesoconidios secos, le permite una fácil dispersión anemófila y colonización de otros substratos, involucrándose en un rol alérgico no despreciable. *F. semitectum*, tuvo baja constancia y abundancia en acículas de pino senescentes en una región oceánica subtropical en Japón (Tokumasu & Aoiki, 2002).

Las especies de *Fusarium* son generalmente hongos del suelo de distribución mundial, grandes fitopatogénicos y productores de diversas micotoxinas en cereales, de gran importancia en salud humana y animal por su acción cancerígena a largo plazo. *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. verticillioides*, se reconocen como patógenos de mamíferos capaces de causar, queratitis, onicomicosis, infecciones en trasplantes diversos y hialohifomicosis especialmente en personas con quemaduras (Guarro & Gené, 1995; Hennequin *et al.*, 1997; de Hoog *et al.*, 2000). A pesar que la mayoría de las especies de *Fusarium* colonizan rápidamente diversos substratos con buena humedad, la presencia escasa de *F. oxysporum*, *F. solani* y *F. chlamydosporum* puede ser debida al tipo de substrato o la alta competencia.

Las especies de *Trichoderma*, de amplia distribución cosmopolita en suelos forestales y agrícolas, tuvieron una presencia casi constante en todas las estaciones, con 4 integrantes del género. Los integrantes de este taxa, fueron considerados en la literatura como microorganismos saprófitos con baja patogenicidad, pero en los últimos 2 decenios se ha reportado un aumento de varios tipos de infecciones causadas principalmente por *T. longibrachiatum* en pacientes con compromiso inmune, siendo responsables de cuadros clínicos hematológicos malignos, en peritonitis asociadas a diálisis peritoneal, trasplantes de órganos e infecciones pulmonares y cerebrales diseminadas (de Hoog *et al.*, 2000; Groll & Walsh, 2001; De Miguel *et al.*, 2005). *T. longibrachiatum*, *T. har-*

zianum, *T. koningii*, *T. viride* y *T. pseudokoningii* son las especies aisladas en diferentes cuadros clínicos (de Hoog *et al.*, 2000). Las especies de *Trichoderma*, son conocidas por su uso potencial para el control biológico en hongos fitopatógenos ya sea por su micoparasitismo y producción de sustancias antagónicas y celulasas de importancia biotecnológica (Samuels, 1996). Debido a la importancia clínica de este género y la capacidad de varias especies de crecer a 37°C en especial *T.longibrachiatum*, que crece bien a temperaturas de 40°C, se han estudiado sus capacidades proteolíticas extracelulares en los aislamientos clínicos de esta cepa, determinándose que varias de sus isoenzimas, pueden estar asociadas en su rol de patógenos humanos facultativos (Kredics *et al.*, 2004).

CONCLUSIONES

Se aislaron un total de 63 géneros fúngicos y 117 especies, mayoritariamente dematiáceos (81,9%) y anamorfos de *Ascomycota*, con una mayor presencia en agar papa zanahoria que en agar agua.

Los taxa más frecuentes en ambos medios y esta-

ción fueron en orden decreciente: *Cladosporium* spp., *Alternaria* spp., *Epicoccum nigrum*, *Trichoderma* spp. y *Fusarium* spp., representando el 65% de la presencia total.

Las especie consideradas como oportunistas presentaron más el 80% del total de la comunidad de las acículas de pino senescentes, predominando los taxa con varios tipos de conidiogénesis blástica (> 80%), en especial las especies dematiáceas de *Alternaria*, *Cladosporium*, *Epicoccum*, *Nigrospora*, *Curvularia* y *Bipolaris*, las 3 primeras con dominancia y una buena constancia estacional en especial *Alternaria* spp. y *Epicoccum nigrum*. Las especies con conidiogénesis fialídica como *Fusarium* y *Trichoderma*, también tuvieron frecuencias relativas altas, destacando *Fusarium semitectum* y *T.longibrachiatum*, el primero por su alta presencia y el segundo por ser el más común en diversos cuadros clínicos.

La constante dispersión anemófila de los conidios de estos taxa dominantes, reportados como alergénicos o con capacidades patogénicas, son de potencial interés médico para los habitantes de estas zonas boscosas que presenten algún grado de compromiso inmune.

REFERENCIAS

- Ajello, L. (1975). Phaeohyphomycosis: definition and etiology. Pan American Health Organization Sci. Publ. 304:126-133
- Aira, M.J.; Jato, V.; Iglesias, I.; Rodríguez, F.J.; Méndez, J.; Albelda, Y.; Herves, M.; Piontelli, E.; Stchigel, A.M. (2005). Calidad del Aire, Polen y esporas en la comunidad Gallega. Xunta de Galicia.
- Al-Doory, Y. (1984). Airborne fungi. In: Y. Al-Doory & J.F. Domson (eds.) Mould allergy. Lea & Fibiger, Philadelphia. pp.27-40
- Altomare, C.; Perrone, G.; Zonno, M.C.; Evidente, A.; Pengue, R.; Fanti, F.; Polonelli, L. (2000). Biological characterization of fusapyrone and deoxyfusapyrone, two bioactive secondary metabolites of *Fusarium semitectum*. J Nat Prod. 63:1131-1135
- Andrews, J.H. & Hirano, S.S. (1991). Microbial ecology of leaves. Springer-Verlag, N.Y.
- Arshad, S.H.; Tariq, S.M.; Matthews, S. & Hakim, E. (2001). Sensitization to common allergens and its association with allergic disorders at age 4 years: a whole population birth cohort study. Pediatrics 80:33-39
- Bills, G.F. & Polishook, J.D. (1994). Abundance and diversity of microfungi in leaf litter of a lowland rain forest in Costa Rica. Mycologia 86:187-198
- Bisht, V.; Arora, N. Singh, B.P.; Gaur, S.N.; Sridhara, S. (2002). Antigenic and allergenic cross-reactivity of *Epicoccum nigrum* with other fungi. Ann. Allergy Asthma Immunol. 89:285-291
- Bisht, V.; Arora, N.; Singh, B.P.; Gaur, S.N.; Sridhara, S. (2004). Purification and characterization of a major cross-reactive allergen from *Epicoccum purpurascens*. Int. Arch. Allergy Immunol. 133:217-224
- Bisset, J. & Parkinson, D. (1980). Long-term effects of fire on the composition and activity of the soil microflora of a subalpine, coniferous forest Can.J.Bot. 58:1704-1721
- Black, R.L.B. & Dix, N.J. (1976). Utilization of ferulic acid by microfungi from litter and soil. Trans. Br. mycol. Soc. 66:313-317
- Black, R.L.B. & Dix, N.J. (1977). Colonization of Scots pine litter by soil fungi. Trans. Br. mycol. Soc. 68:284-287
- Brandt, M.E. & Warnock, D.W. (2003). Epidemiology, clinical manifestations, and therapy of infections caused by dematiaceous fungi. J. Chemother. 15 (Suppl 2):S36-47
- Cabral, D. (1985). Phyllosphere of *Eucalyptus viminalis*: Dynamics of fungal populations. Trans. Br. mycol. Soc. 85:501-511
- Carter, E. & Boudreaux, C. (2004). Fatal cerebral phaeohyphomycosis due to *Curvularia lunata* in a immunocompetent patient. J. Clin. Microbiol. 42:5419-5423
- Chakrabarti, A. & Sharma, S.C. (2000). Paranasal sinus mycoses. Indian J. Chest. Dis. Allied Sci. 42:293-304
- David, J.C. (1997). A contribution to the systematics of *Clados-*

porium. Revision of the fungi previously referred to *Heterosporium*. Mycological Papers 172.CAB International.

DeMiguel, D.; Gomez, P.; Gonzalez, R.; García-Suarez, J. Cuadros, J.A.; Banas, M.H.; Romanyk, J.; Burgaleta, C. (2005). Non fatal pulmonary *Trichoderma viride* infection in an adult patient with acute myeloid leukemia: Report of one case and review of literature. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.* (PubMed) PMID :15994049

Domsch, K.H.; Gams, W. & Anderson, T.H. (1980). Compendium of soil fungi,Vols. 1-2. Academic Press, London.

Ebright, J.R.; Chandrasekar, P.H.; Marks, S.; Fairfax, M.R.; Anezicoro, A.; McGinnis,M. (1999). Invasive sinusitis and cerebritis due to *Curvularia clavata* in a immunocompetent adult. *Cl.Inf. Dis.* 28:687-689

Ellis, M.B.(1971).Dematiaceous Hyphomycetes. CMI, Kew, Surrey, England

Ellis, M.B.(1976). More Dematiaceous Hyphomycetes. CMI, Kew, Surrey. England

Ellis, M.B. & Ellis, J.P. (1985). Microfungi on Land Plants. An identification Handbook. Croom Helm, London & Sydney

Everett, J.E.; Busick,N.P.; Sielaff, T.; Wahoff, D.C.; Dunn, D.L. (2003). A Deeply invasive *Phoma* species infections in a renal transplant recipient. *Transplant. Proc.* 35:1387-1389

Fothergill, A.W. (1996). Identification of dematiaceous fungi and their role in human disease. *Cl. Inf. Dis.* 22(Suppl 2):S179-184

Gams,W. & Bisset, J. (1998). Morphology and identification of *Trichoderma*. In: C.P. Kubicek & Harma, D.E.(Ed.). *Trichoderma* and *Gliocladium*. Basic biology, taxonomy and genetics, Vol.1. Bristol Pennsylvania, Taylor & Francis Inc. pp.3-34

García-Díaz, J.B. & Baumgarten, K. (2002). Phaeohyphomycotic infections in solid organ transplant patient. *Semin. Respir. Infect.*17:303-309

Groll, H.A. & Walsh, T.J. (2001). Uncommon opportunistic fungi: New nosocomial threats. *Cl. Microbiol. Inf. Dis.* 7 (Suppl. 2):S8-24

Groubière,F. (1974). Les champignon microscopiques liés aux aiguilles de sapin (*Abies alba* Mill.).2. Variation saisonnières de la microflore des aiguilles tombantes. *Bulletin de la Societé mycologique de France.* 90:325-333

Groubière,F. &Debouzie,D. (2003). Local variation in micro-fungal population on *Pinus sylvestris* needles. *Micol. Res.* 107:1221-1230

Grupta,R.; Sharma,V.; Sridhara,S.; Singh, B.P.; Arora, N. (2004).Identificationof serine protease as a major allergen of *Curvularia lunata*. *Allergy* 59:421-427

Guarro, J. & Gené, J. (1995). Opportunistic Fusarial Infections in humans. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect.* 14:741-754

Hennequin,C.; Lavarde, V.; Poirot, J.L.; Rabodonirina,M.; Datry, A.; Aractingi, S.; Dupoy-Camet, J. et al.(1997). Invasive *Fusarium* infections:a retrospective survey of 37 cases. *J. Med. & Veter. Mycol.* 35:107-114

Hoog,G.S.de.; Tan,G.S.; Stalpers, J.A. & Stegehuis,G. (1992). The spectrum of opportunistic filamentous fungi present in the CBS culture collection. *Mycoses* 35:209-214

Hoog, G.S.de.; Guarro,J.; Gené, J. & Figueras, M. (2000). Atlas of clinical fungi 2nd. edition. CBS,Utrecht,Netherland - Univ. Rovira i Virgili, Reus, Spain

Hudson, H.J. (1968). The ecology of fungi on plant remains above the soil. *New Phytologist* 67:837-874

Jones,E.B.G. & Hyde, K.D. (2002). Succession: were do we go from here?. In: *Fungal Succession* (Eds. K.H.Hyde & E.B.G.Jones) *Fungal Diversity* 10:241-253

Kendrick, W.B. & Burges, A. (1962). Biological aspects of the decay of *Pinus silvestris* leaf litter. *Nova Hedwigia* 4:313-342

Klich,M.A.(2002). Identification of common *Aspergillus* species. CBS, Utrecht, The Nederland.

Kredics, L.; Antal, Z.; Scekeres, A.; Maczinger, L.; Doczi, I. Kevei, F.; Nagy, E. (2004). Production of extracellular proteases by human pathogenic *Trichoderma longibrachiatum* strains. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* 51:283-295

Like, K.E.; Miller, N.S.; Towne, L. & Merz. W.G. (2001). A cutaneous ulcerative alternariosis: rare associationwith diabetes mellitus and unusual failure of itraconazol treatment. *Clin. Infect. Dis.* 32:1178-1187

Linnabary, R.D. & Tarrier, M.P. (1988). Acute bovine pulmonary emphysema caused by the fungus *Fusarium semitectum*. *Vet. Hum. Toxicol.* 30:255-256

Mckemy,J.M. & Morgan-Jones,G. (1991). Studies in the genus *Cladosporium sensu lato*.IV. Concerning *Cladosporium oxysporum*, a plurivorous, predominantly saprophytic species in warm climates. *Mycotaxon* 41:397-405

Marchisio,V.P.; Airaudi,D & Barchi,C. (1997).One-year monitoring of the airborne fungal community in a suburb of Turin (Italy) and assesment of its functional relations with the environment. *Micol. Res.* 101:821-828

Mezzari, A.; Perin, C.; Alves, S.; Guerra, L.A.B. Di Gesu, G.(2003). Os fungos anemófilos e sensibilizacão em indivíduos atópicos em Porto Alegre, RS. *Rev. Assoc. Med. Bras.* 49:270-273

Minter,D.W. (1981). Microfungi on needles, Twig and cones of pines in Czechoslovakia. *Ceska Mycologie* 35:90-101

Muller, C.S. (1974). Decomposition of coniferous leaf litter. In: *Biology of Plant Litter Decomposition* Vol.1., C.H.Dickinson & G.J.F.Pugh (eds.), Academic Press, London, UK. pp.105-128

Muralidhar,S. & Sukthana, M. (1997). *Nigrospora* causing corneal ulcer: A case report. *Indian J.Pathol. Microbiol.* 40:549-551

Nag-Raj,T.R.(1993). Coelomycetous anamorphs with appendage-bearing conidia.Mycologue Publication,Waterloo, Ontario, Canadá.

Naglik,J.R.; Challacombe, S .J. & Hube, B. (2003). *Candida albicans* secreted aspartil proteinase in virulence and pathogenesis.

Microbiol and Mol. Biol.Reviews 67:400-428

Naiker, S. & Odhav, B. (2004). Mycotic keratitis: profile of *Fusarium* species and their mycotoxins. *Mycoses*:47:50-56

Nelson, P.E.; Toussoun, T.A. & Marasas, W.F.O. (1983). *Fusarium* species. An illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press. University Park and London.

Norton R.S.; Cernoch P.L & Daves J.R. (1996). Dematiaceous fungi are an increasing cause of human disease. *Clin Inf. Dis.* 22:73-80

Nucci, M.; Anaissie, E.J.; Queiroz-Telles, F.; Martins, C.A.; Trabasso, P., Solza, C.; Mangini, C. et al. (2003). Outcome predictors of 84 patients with hematologic malignancies and *Fusarium* infection. *American Cancer Soc.* 98:315-320

Odds,F.C.; Gow,N.A.R.& Brown, A.J.P. (2001). Fungal virulence studies come of age. *Genome Biology* 2:review 1009.1-1009.4

Osono,T & Takeda,H. (2002). Comparison of litter decomposing ability among diverse fungi in a cool temperate deciduous forest in Japan. *Mycologia* 94:421-427

Parkinson,D. (1982). Procedures for the isolation, cultivation and identification of fungi. In : *Experimental Microbial Ecology*, R.C.Burns & J.H.Salter (ed.), Blackwell Scientific Publications. Oxford, U.K. pp.22-30

Pereira, P.T.; DE Carvalho, M.M.; Gírio,F.M.; Roseiro, J.M.; Amaral-Collaco, M.T. (2002). Diversity of microfungi in the phylloplane of plant growing in a Mediterranean ecosystem. *J. Basic. Microbiol.* 42:396-407

Pitt, J.I. (2000). A laboratory guide to common *Penicillium* species. Food Science Australia.

Rainer,A.D.M. (1994). Pattern-generating processes in fungal communities. In: *Beyond the Biomass* (K.Ritz; J.Dighton & K.E. Giller, eds.). John Wiley & Sons.Chichester. pp.247-258

Rose,F.L.; Koke, J.; Koehn, R. & Smith, D. (2001). Identification of the etiological agent for necrotizing scute disease in the Texas tortoise. *J.Wildlife Diseases* 37:223-228

Samson, R.A.; Hoekstra, E.S & Frisvald, J.C. (2004). Introduction to food and airborne fungi. Seventh ed. CBS Utrecht.

Samuels, G.J.(1996). *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. *Mycol.Res.* 100:923-935

Scholthof, K-B.G. (2003). One stop in the furrow: Linkage between agriculture, plant pathology, and public health. *Annu. Rev. Public Health* 24:153-174

Sivanesan, A. (1987). Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their Teleomorph. *Mycol. Pap.* 158. CAB International Mycological Institute

Sutton, B.C.(1980). The Coelomycetes. Fungi imperfecti with Pycnidia Acervuli and Stromata. CMI, Kew, Surrey, England.

Takashi O. (2002).Phyllosphere fungi on leaf litter of *Fagus crenata*: Occurrence, colonización and succession. *Can.J.Bot.* 80:460-469

Takayuki,A.& Tokumasu,S.(1995). Dominance and diversity of the fungal communities on fir needles. *Mycol. Res.* 99:1439-1449

Taj-Aldeen, S.J.; Hilal, A.A. & Schell, W.A. (2004). Allergic fungal rhinosinusitis: A report of 8 cases, *Am.J. Otorlaryngol.* 25:213-218

Tessari,G.; Forni, A.; Ferretto, R.; Solbiati, M.; Faggian, G.; Mazzucco,A.; Barba, A. (2003). Lethal systemic dissemination from cutaneous infection due to *Curvularia lunata* in a heart transplant recipient. *J. Eur.Acad. Dermatol. Venereol.* 17:440-442

Tokumasu, S. (1998). Fungal succession on pine needles fallen at different seasons:The succession of surface colonizer. *Mycoscience* 39:417-423

Tokumasu, S. & Aoiki,T. (2002). A new approach to studying microfungus succession on decaying pine needles in an oceanic subtropical region in Japan. In: *Fungal Succession* (Eds. K.H.Hyde & E.B.G.Jones) *Fungal Diversity* 10:167-183

Tubaki,K.(1973).Successive fungal flora on sterilized leaves in the litter of forest. II IFO Res. Commun. 6:27-49

Van Burik, J-A.H & Magee, P.T. (2001). Aspects of fungal pathogenesis in humans. *Annu. Rev. Microbiol.* 55:743-772

Zak,J.C. & Rabatin, S.C (1997). Organization and description of fungal communities. In: *The Mycota,IV. Environmental and Microbial Relationship* (D.T.Wicklow & B.Södeström, eds.). Springer-Verlag, Berlin. pp.33-46