

EL ENTORNO HUMANO Y LA RELEVANCIA BIOLÓGICA DE LAS ESPECIES DE *Neurospora*: CONSIDERACIONES EN MICOLOGÍA MÉDICA

(*Human surroundings and the biological relevance of *Neurospora* species: considerations in medical mycology*)

*Eduardo Piontelli L. & **Maria Cristina Díaz J.

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

**Universidad de Chile, Facultad de Medicina, ICBM Programa de Microbiología y Micología, Independencia 1027, Santiago, Chile.

Palabras clave: Especies de *Neurospora*, *N. intermedia*, ecología, taxonomía, genética, patología humana.
Key words: *Neurospora* species, *N. intermedia*, ecology, taxonomy, genetic, human pathology.

RESUMEN

A propósito de un caso clínico de peritonitis causado por el anamorfo de *Neurospora intermedia* (tipo de apareamiento A) en un paciente con antecedentes de insuficiencia renal crónica en peritoneodiálisis, se hace necesario comentar para el micólogo médico algunos alcances de la biología de los integrantes de este interesante género de ascomicete filamentoso. Se describen los aspectos históricos, ecológicos, morfológicos, taxonómicos, genéticos, filogenéticos y patológicos más relevantes de *Neurospora*, debido a su enorme contribución como modelo de organismo en el desarrollo de la genética y la biología molecular.

INTRODUCCION

El ambiente reúne un conjunto de condiciones naturales, físicas, químicas y biológicas que se presentan en el interior de un espacio definido donde se desarrolla la vida de los organismos. La palabra ambiente deriva del latín *ambire* (= circundar), que significa lo que está alrededor de un cuerpo o en su entorno, mientras el estudio de las relaciones de los seres vivos con su ambiente orgánico e inorgánico es lo que denominamos ecología. Los estudios ecológicos relacionados con la biodiversidad, son de primordial importancia en muchas disciplinas científicas y entre ellas las diversas áreas relacionadas con la micología médica, donde el micólogo clínico debe analizar como un todo la triada: agente, hospedador y ambiente.

ABSTRACT

Considering a peritonitis clinic case caused by the anamorph of *Neurospora intermedia* (mating type A) in a patient diagnosed of a chronic renal insufficiency under peritoneodialysis, it is necessary to inform the medical mycologist about some biological features of the members belonging to this interesting genus of filamentous ascomycete. The most relevant historical, ecological, morphological, taxonomic, genetic, phylogenetic and pathological characteristics of *Neurospora* are herein described due to its great contribution as a model organism in the development of genetics and molecular biology.

La creciente importancia de las micosis oportunistas en el hombre por hongos considerados como saprófitos, tiene alcances multifacéticos. Las mitosporas (o conidios) de los hongos denominados anamórficos o asexuales, son de fácil dispersión en el ambiente aéreo y terrestre, representando un problema en la contaminación de variados productos industriales, laboratorios de microbiología, deterioro de alimentos o cualquier otro material biológico en proceso de descomposición. Debido a su diversidad y capacidades adaptativas frente a las fluctuaciones ambientales, los hongos se presentan en ambientes ecológicos naturales o extremos, ya sea en hábitat restringidos o en amplias áreas geográficas, donde la evolución y la selección natural han permitido en algunos, presentar bajo ciertas condiciones un comportamiento dual como patógenos o patógenos oportunistas en un hospedador

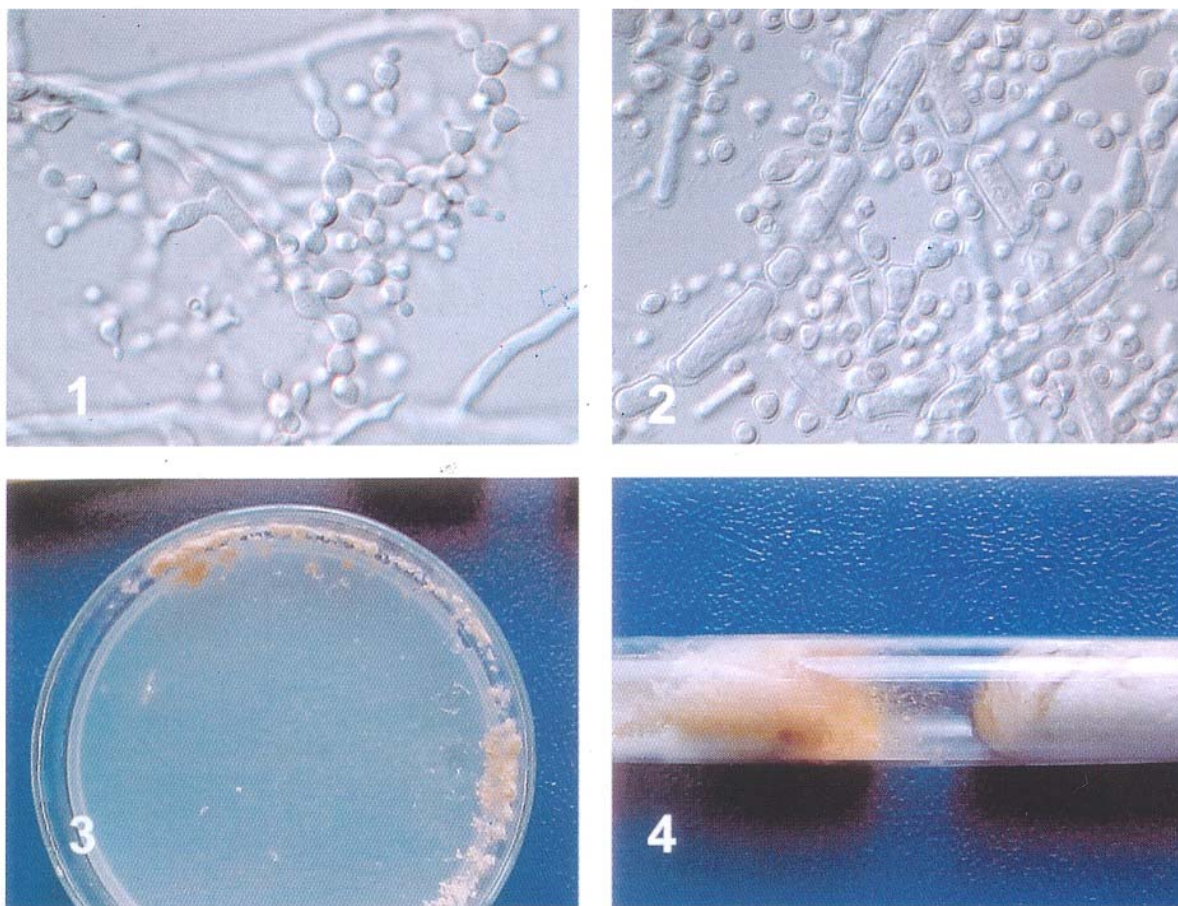


Figura 1-4 Anamorfo de *Neurospora intermedia* (*Chrysonilia intermedia*) 1.- Conidiofóros y arthroconidios 400 x; 2.- Arthroconidios 1000 x; 3 y 4.- Crecimiento en Papa dextrosa agar, con las características masas conidiales de color naranja en la periferia de los cultivos.

debilitado, principalmente en los vegetales pero también en menor escala en los animales (De Hoog *et al.*, 2000).

En salud pública, en los últimos 20-30 años ha aumentado y se ha diversificado el número de infecciones fúngicas por estos hongos, especialmente debido al incremento de enfermedades debilitantes de variada índole (pacientes con compromiso inmune) y los procedimientos clínicos y quirúrgicos modernos que conllevan a factores de riesgo de colonización e invasión. Estos nuevos oportunistas (De Hoog *et al.*, 2000), siguen sumándose a los más tradicionales y recientemente en Chile se ha reportado un caso clínico de peritonitis en paciente en peritoneodiálisis (Alburquenque *et al.* 2004), cuyo agente involucrado fue clasificado tentativamente en nuestro laboratorio como el anamorfo de *Neurospora sitophila*, un hongo considerado seguro para usos comerciales y académicos (Perkins & Davis, 2000). Este nuevo hallazgo se suma a otros agentes oportunistas recibidos este año para

su diagnóstico (*Fusarium, solani, Fusarium, oxysporum, Fusarium verticillioides, Trichoderma longibrachiatum* (Aroca *et al.*, 2004) y un raro caso de *Penicillium piceum* desde Argentina (Santos *et al.*, 2004) entre otros.

La micología médica se ha adaptado paulatinamente en el reconocimiento de nuevos agentes potencialmente patógenos, asimilando al mismo tiempo la unificación de su nomenclatura y compleja clasificación artificial, cada vez más cuestionada en los tiempos actuales (Seifert & Samuels, 2000; Cannon & Kirk, 2000; Seifert & Gams, 2001; Kirk *et al.*, 2001). En general, los micólogos médicos conocen mejor la parte asexual del ciclo de vida fúngico por ser la primera en expresarse en sus cultivos y carecen generalmente (salvos en los grandes centros de referencia internacionales), de completa información de sus ciclos sexuales correspondientes, así como de sus aspectos ecológicos y de distribución, los cuales deben obtenerse mediante bibliografía científica dispersa (Guarro *et al.*, 1999).

En base a estos antecedentes, se aportan comentarios generales relacionados con algunos aspectos taxonómicos, ecológicos, genéticos y clínicos de algunas especies del género *Neurospora*, un conjunto de taxa fúngicos que desde la primera mitad del siglo XX hasta los tiempos actuales, han aportado enormes contribuciones como modelos de organismos para el desarrollo de la genética y la biología molecular (Dodge, 1927; Perkins, 1992; Galagan *et al.*, 2003; Mannhaupt *et al.*, 2003).

Posición taxonómica del género *Neurospora*

Según el "Dictionary of the fungi" (Kirk *et al.*, 2001), el género *Neurospora* Shear & B.O.Dodge, pertenece a la División (Phylum) **Ascomycota**, Orden **Sordariales** Chadeff. Ex D.Hawksworth & O.E.Eriksson, Familia **Sordariaceae** G.Winter. Eriksson *et al.* (2001), parafíamente ubican los **Sordariales** en la Clase **Sordariomycetes** (Phylum **Ascomycota**), Subphylum **Pezizomycotina**.

El Orden **Sordariales**, uno de los más comunes grupos taxonómicos de microhongos dentro de los **Ascomycota**, contiene especies incluidas en unos 115 géneros que pertenecen tradicionalmente a 7 familias. Recientemente, basándose en los clásicos conceptos ontogénicos de sus ascomas y en la biología molecular, las familias han aumentado a 14 (Huhundorf *et al.*, 2004). La parafilética familia **Lasiosphaeriaceae** (complex lasiosphaeriaceo) es la más numerosa y diversificada del orden y contiene según los datos más relevantes bibliográficos entre 33 y 53 géneros (Kirk *et al.*, 2001; Eriksson & Hawksworth, 1998; Huhundorf *et al.*, 2004), mientras la familia **Sordariaceae** es la más estudiada morfológicamente (Lundqvist, 1972). El orden presenta generalmente ascomas raramente estromáticos, peritecioides o cleistotecioides, negros a oliváceos, de paredes finas o gruesas, a menudo pilosas, generalmente superficiales. Presentan paráfisis ya sea escasamente formadas, mezcladas entre los ascos, finas y evanescentes, más anchas en la base que en sus ápices o simplemente ausentes. Ascosporas cilíndricas o clavadas, persistentes o evanescentes no fissitunicadas (bitunicadas), cuando son persistentes presentan un pequeño anillo apical negativo al yodo. Ascosporas generalmente con por lo menos una célula negra, con poro germinal, a menudo con una vaina mucilaginoso o apéndices. Anamorfo usualmente ausentes o en espermacios. Saprófitos, la mayoría celulolíticos en madera en descomposición, pastos o suelo, pero también coprófilos o parasitando otros hongos.

La familia **Sordariaceae**, incluye 6 géneros de los cuales los más comunes son *Neurospora*, *Gelasinospora*, *Sordaria* y *Podospora* (los 3 primeros muy relacionados entre si). Presentan ascomata oscuros no estromáticos, a menudo de paredes gruesas, usualmente ostiolados con

perífisis. Paráfisis presentes, anchas y de paredes delgadas, a veces inconspicuas y evanescentes. Ascosporas cilíndricas, de paredes suavemente finas, no fissitunicadas, raramente evanescentes, usualmente con un pequeño anillo apical negativo al yodo (J-). Ascosporas típicamente café unicelulares, raramente septadas, elipsoidales o cilíndricas, muchas con paredes ornamentadas y/o con una cápsula mucilaginoso, pero carecen de cauda. Contiene principalmente especies terrícolas y coprófilas.

Muchos de los anamorfo de los **Sordariales** producen conidióforos dematiáceos fialídicos con ameroconidios mucoides. Un buen número de ellos se presentan como monotípicos, pequeños y difíciles de clasificar, especialmente los asociados con *Chaetosphaeria*, debido a que en algunos los estudios moleculares no reflejan relaciones filogenéticas, lo que ha llevado a una reducción en su número (Réblová & Gams, 1999; Samuels & Blackwell, 2001).

No todos los anamorfo asociados a la familia **Sordariaceae** son fialídicos, (Lundqvist, 1972; Lodha, 1987), en *Neurospora*, la ontogenia de su anamorfo (*Chrysonilia* von Arx, 1982), es holoblástica, de profusa esporulación especialmente en las especies heterotálicas. En muchos textos aún se mantiene el antiguo nombre de *Monilia*, un género considerado un patógeno vegetal que causa pudrición café blanda en frutos de carozo y no está estrechamente relacionado con *Chrysonilia*.

Determinación de especies.

Los medios de cultivo y los procedimientos estandarizados para el manejo de las cepas y cultivos de *Neurospora* se describen detalladamente en varios trabajos, en especial se recomiendan los de Perkins *et al.*, 1976; Perkins & Turner, 1988; Turner *et al.*, 2001. En general debe determinarse en forma prioritaria que los cultivos sean puros mediante subcultivos repetidos desde un solo conidio y libre de ácaros y sus huevos (el material colectado se refrigera a -20°C durante 24 horas). El criterio que emplean estos autores en la identidad de las especies son los cruzamientos fértiles que producen 50% o más de ascosporas negras con una cepa estandar de prueba (Turner *et al.*, 2001). Los únicos cultivos que son bastantes similares y fáciles de confundir en su comportamiento de cruzamientos son *N. crassa* y *N. intermedia*, porque presentan el desarrollo de grandes y normales peritecios., pero producen entre ellas pocas ascosporas viables (<10%). Los cultivos putativos de *N. intermedia* deben ser cruzados con el estandar apropiado de esta especie (Taiwan FGSC 1766, P 13A y FGSC 1767, P 17a) o los descendientes de estas cepas. *N. intermedia* presenta 2 ecotipos: el mayoritario de color naranja, es indistinguible en apariencia de los que presentan típicamente *N. crassa* y *N. sitophila*, mientras el segundo tiene color amarillo dorado (azafrán),

el cual presenta grandes conidios con más núcleos y ascosporas más redondeadas (Turner, 1987). Este último ecotipo se encuentra comúnmente en substratos no quemados como las mazorcas desechadas de maíz, principalmente en el hemisferio oriental, mientras el primero, en ambos hemisferios y principalmente en substratos quemados. La identificación de especies no debe basarse solamente en el color debido a que algunas especies de *N. discreta* son amarillas, como algunos mutantes de *N. crassa*. Además el ecotipo amarillo de *N. intermedia* no presenta la misma tonalidad observada en las otras especies y se necesita experiencia y la posibilidad de comparación con otras cepas.

La identificación de *N. sitophila* requiere el uso de cuidadosas pruebas, en especial los cruzamientos deben ser en medios de cultivo que tengan papel filtro como fuente de carbono, el uso de sucrosa en los medios arroja cultivos estériles aunque se crucen ambos polos parentales.

Algunas cepas de *N. tetrasperma* aisladas en el campo son autofértiles y producen peritecios en los cultivos originales o los medio mínimos, con ascos de 4 esporas, solo un 2% de las cepas obtenidas fueron de un único tipo parental. Si los cultivos de *N. tetrasperma* contienen mezclas de *N. crassa* y *N. intermedia*, los cruzamientos arrojan presencia de ascos con 4 y 8 ascosporas. Esta es una situación que obliga a purificar las cepas. No todas las cepas de *N. tetrasperma* son interfértiles, las obtenidas de lugares geográficos cercanos son las más fértiles entre sí.

N. discreta es una especie o quizás un conjunto de especies más difíciles de manejar, porque requieren cruzamientos muy precisos, debido a un factor genético aún no identificado. Aún en medios sintéticos con papel filtro como fuente de carbono se presentan altos niveles de inviabilidad de ascosporas a pesar de cruzamientos entre especies relacionadas (Taylor *et al.*, 1986).

Resumiendo, la habilidad de cruzamiento es la más conveniente y a menudo el único camino práctico para determinar una especie en este género, donde se reconoce que las diferencias morfológicas entre los individuos de diferentes especies son muy tenues y la variación intraespecífica entre las ascosporas y la morfología vegetativa puede ser tan grande como aquellas entre especies (Turner *et al.*, 2001).

Morfología del género *Neurospora* (*N. sitophila* Shear & Dodge, como ejemplo)

Ascomata peritecioides, ostiolados, únicos, superficiales, ocasionalmente gregarios y parcialmente inmersos en el substrato. Peritecios globosos a obpiriformes, de color café oscuro, glabros o con algunas hifas dispersas en su peridio. Cuello ostiolar papilado a elongado, delineado en su interior con perífisis. Pared peritecial compuesta de varias capas de células gruesas,

las exteriores angulares, café y translúcidas, las interiores aplanadas, hialinas a subhialinas. *Centrum* con paráfisis (sólo antes de la madurez), con ascos unitunicados, cilíndricos, truncados en el ápice, de paredes finas, hasta 160 x 14 µm, con un anillo no amilóide muy refractivo, estipitado. Ascosporas en número de 4 a 8, unicelulares, elipsoidales, uniseriadas, café oscuras, con estriaciones longitudinales en su superficie y 2 poros germinales inconspicuos, 23-26 x 10-14 µm.

Anamorfo, *Chrysonilia sitophila* von Arx.

Produce colonias de crecimiento muy rápido cercanas a los 4 mm por hora (Perkins & Pollard, 1986). En cultivos a 25°C produce colonias de crecimiento rápido con un diámetro de unos 25 mm en un día, inicialmente hialinas, posteriormente en presencia de luz se tornan rosadas a naranja. Hifas conidiógenas postradas o ascendentes, de paredes lisas, septadas, generalmente reunidas en los bordes periféricos de las colonias, formando masas de aspecto algodonoso, que dan origen a largas cadenas ramificadas de conidios secos, de paredes lisas, formados mediante procesos holotáticos, de colores claros o brillantes (amarillo o naranja), de diversas formas; elipsoidales, cilíndricos, globosos a subglobosos, a veces de formas irregulares, que tienden a desarticularse rápidamente en el tiempo 10-15 x 5-10 µm. Estas mitosporas que se producen por brotación, presentan la estructura más joven ubicada en la punta de la cadena (proceso acropétalo) (Fig 1-1).

Clave de las especies de *Neurospora* con anamorfos presentes

- 1.- Ascosporas con 8 esporas con estriaciones longitudinales o dentadas con concavidades 2
Ascosporas con 4 esporas *Neurospora tetrasperma*
- 2.- Anamorfo ausente (Especies homotáticas, no incluidas)
Anamorfo presente, especies heterotáticas 3
- 3.- Ascosporas 12.-17 µm de ancho 4
Ascosporas 21-24 µm de ancho con estriaciones dentadas con numerosas concavidades (pits)
..... *Neurospora discreta*
- 4.- Colonias usualmente amarillo dorado o naranja, ascosporas 19-27 x 12-17 µm (típicamente 27 x 17 µm y visiblemente más redondeadas que las otras especies). Las cepas amarillo doradas presentan conidios grandes >11-12 µm de diám., que siempre corresponden a
..... *Neurospora intermedia*
(Muchas cepas de *N. intermedia* son de color naranja y tienen conidios más pequeños e indistinguibles en

aparición de los típicos de *N. crassa* y *N. sitophila*, lo que no permite una buena identificación morfológica de la especie y debe recurrirse a los cruzamientos (ver Turner *et al.*, 2001).

Colonias casi siempre de color naranja 5

5.- Ascosporas 27-36 x 14-16 μm , más en punta que *N. intermedia*. Conidios 6-8 μm de diámetro.....

..... *Neurospora crassa*
(Anamorfo *Chrysonilia crassa*)

Ascosporas 23-26 x 10-14 μm , más en punta que *N. intermedia*. Conidios 10-11 μm de diámetro

..... *Neurospora sitophila*
(Anamorfo *Chrysonilia sitophila*)

Importante: La sola presencia de conidios no permite un buen reconocimiento taxonómico de esta cepa)

Ecología y distribución

Las especies de *Neurospora* tienen ciclos de vida adaptados a los eventos relacionados con el fuego y muchos de sus aislados se han obtenido de restos de variada vegetación quemada. La importancia del fuego se basa en que este elemento produce un ambiente estéril, rico en nutrientes a partir de los tejidos vegetales muertos, que constituyen un sustrato necesario para la germinación de las ascosporas (Perkins & Turner, 1988; Jacobson *et al.*, 2004). La tolerancia termal y la fotoinducción de los carotenoides de *Neurospora* spp. fue estudiada ya en el pasado por Payen (1848, 1859) y otros autores, incluyendo Pasteur (en Perkins 1991), quienes comprobaron que sus conidios naranja sobrevivían los 100°C por 1 hora, pero no los 140°C. Además cuando estos hongos se cultivaban en la oscuridad por más de 8 días permanecían blancos, pero en presencia de 2 h de luz, sus conidios adquirían tonalidades naranja rápidamente. Posteriormente hubo otros investigadores que estudiaron su termotolerancia, demostrando que las ascosporas podían soportar temperaturas de hasta 67°C por 200 min y los conidios superiores a los 100°C (Fahey *et al.*, 1978). Es por esto, que a pesar de que el fuego quema las capas externas de la corteza de los árboles y los tejidos subyacentes causando la muerte de éstos, las ascosporas y los conidios subsisten. La colonización de la vegetación puede asociarse a la dispersión aérea especialmente por sus conidios pero también debe considerarse la microfauna como otro factor. Jacobson *et al.* (2004), comentan el posible reservorio de las esporas o micelios en los hábitat examinados cuando el fuego no se ha presentado por años o décadas y concluyen que debe ser el suelo su reservorio básico, una opinión compartida por otros autores (Pandit & Maheshwari, 1996). Se mantiene la duda del rol de la colonización primaria por las ascosporas, al conocerse que generalmente son los conidios los más empleados en la dispersión. Si la coloni-

zación primaria del sustrato se debe a las ascosporas, no se conoce como éstas puedan ubicarse a profundidades seguras en el suelo que les permitan sobrevivir al fuego de los incendios. Al parecer, la microfauna que frente a los inicios de un incendio tiende a buscar refugio a profundidades mayores en el suelo, puede ser de gran ayuda en el transporte de ascosporas y conidios, además de las fuerzas de dispersión de las corrientes de aire que se producen por la acción calórica del fuego.

Según los registros globales en las poblaciones naturales del género (Perkins & Turner, 1988; Turner *et al.* 2001), *Neurospora crassa* se encuentra regularmente en sitios quemados en Africa, India y el hemisferio oeste (Caribe, norte de Brasil y el sudeste de USA y Mexico). *N. intermedia*, la especie más común (aproximadamente el 65 % del total de las 5 especies biológicas reconocidas) tiene el mismo rango que *N. crassa* y además se ha registrado en el sur de Asia, Australia e islas del Pacífico, el sur de Brasil y actualmente en Chile (aislamiento enviado por el primer autor y registrado en la colección del Dr Perkins; comunicación personal del Dr. Jacobson, Dep. Biol. Sci. Stanford University Stanford Ca.). *N. discreta*, se restringe a zonas subtropicales en especial las costas de marfil, mientras *N. sitophila* y *N. tetrasperma* es abundante en las Américas, Tahiti y el oeste de Africa, pero al parecer su presencia en ambientes quemados se ha registrado en muchas otras localidades geográficas, en especial *N. tetrasperma* que posiblemente puede tolerar grandes rangos de temperatura y humedad más que las otras especies.

Muchas de las poblaciones naturales de *Neurospora* se han obtenido de diversos sustratos no relacionados con el fuego (aire, alimentos importados, polen de abejas, filtros de refinerías de azúcar, madera tratada al vapor, ensilaje de maíz, etc. (sin excluir las panaderías). Su presencia fuera de su ambiente natural puede representar un problema ecológico no resuelto, quizás nos olvidamos del poder de adaptación de los hongos y la capacidad de dispersión vegetativa por largos periodos y su alto rango de crecimiento lineal que oscila entre 3 a 5 mm por hora (Perkins & Pollard, 1986), pero si se analiza en forma global y con datos más precisos se concluye que su presencia guarda siempre relación con las localizaciones geográficas donde las poblaciones se presentan en sustratos quemados. (Turner *et al.*, 2001).

Las especies de *Neurospora* se presentan principalmente en suelos de regiones húmedas tropicales y subtropicales, pero las poblaciones difieren de región en región, sin embargo se observó que actualmente son colonizadores comunes primarios de árboles y arbustos quemados, madera chamuscada en zonas forestales (Perkins & Turner, 1988; Turner *et al.*, 2001). Unos de los primeros reportes de *Neurospora* en bosques de pino quemados fue en Tokio en el año 1923 (Kitazima, 1925). Jacobson *et*

al. (2004), obtuvieron muchos aislados en el oeste de América del Norte en regiones forestales a menudo frías y secas, sin encontrar una especificidad de hospedador. El 95% de las especies correspondieron a *N. discreta*, un 4% a *N. sitiophila* (en Nuevo Mexico) y menos del 1% a *N. crassa*. Recientemente, en Europa debido a los grandes incendios que afectaron Portugal se ha motivado la búsqueda de cepas de *Neurospora* en la vegetación quemada; mientras su presencia usualmente se encuentra bajo la corteza, muchas de las cepas fueron observadas creciendo fuera de la madera y sin una especificidad de hospedadores vegetales (Videira, 2003). El suelo es al parecer el mayor reservorio de micelios y esporas ya sea en áreas quemadas o no y si la recuperación de sus especies desde este ambiente sugiere un reservorio de sus ascosporas, el crecimiento que se observa en el campo es casi siempre enteramente asexual con abundante producción de micelio y mitosporas pero no ascosporas. No obstante, éstas se obtienen mediante cruzamientos en el laboratorio, lo que indica la existencia de variadas poblaciones recombinantes. La germinación de ascosporas podría producirse en el ambiente en forma primaria y ser seguida de una rápida producción de conidios como una extensiva colonización secundaria (Jacobson *et al.* 2004). Los anamorfos de las especies de *N. crassa*, *N. sitiophila*, *N. intermedia*, *N. tetrasperma* y *N. discreta*, son muy visibles en la naturaleza por presentar generalmente un distintivo color naranja, rápido crecimiento y profusa producción de conidios polvorientos.

Powel *et al.* (2003), comentan la diversidad en la composición de especies de *Neurospora* y la variación genética entre especies individuales en ambientes reducidos, encontrando hasta 3 especies y 6 diferentes haplotipos en un mismo tallo de caña de azúcar tostada por el fuego; a menudo con la presencia de varios individuos ocupando la misma posición. Esta situación que se ha observado en otras especies fúngicas, no parece concordar con los estudios posteriores en amplias zonas forestales mencionados anteriormente (Jacobson *et al.*, 2004). La presencia de varias especies con idénticos requerimientos ecológicos parece no limitar la exclusión competitiva de las especies de *Neurospora* en ambientes inestables.

Neurospora y sus anamorfos, se asocian desde hace mucho tiempo con las labores humanas, por su presencia cosmopolita en madera, industrias de contrachapado, en maderas tratadas al vapor, en pastos quemados a lo largo de ferrovías y caminos, en rastrojo quemado de caña de azúcar, en tortillas de soya y maní (inoculados con sus conidios) en los mercados orientales de Java, para el aporte de nutrientes y el sabor característico a moho (Perkins, 1992; Perkins & Davis, 2000). Cuando los filtros de fango de las refinerías de azúcar se emplean para fertilizar los campos, se produce gran cantidad de crecimiento y fructi-

ficación de este hongo en muchas hectáreas a la redonda (Shaw, 1990). Los primeros estudios científicos sobre el taxon en el ambiente datan de 1843, al contaminar, en un caluroso y húmedo verano, el pan de panaderías del ejército en Francia y reportados como "Champignons rouges du pain", (Payen, 1843, en: Perkins, 1992). Una revisión actual y extensa de la presencia de las especies de *Neurospora* en las panaderías (el llamado actualmente moho rojo del pan), puede obtenerse del trabajo de Yassin & Wheals (1992). Sus formas vegetativas se denominaron antes de 1927, en forma sucesiva como: *Oidium aurantiacum*, *Penicillium sitiophilum* y *Monilia sitiophila* (Perkins, 1992).

La llamada mancha del corcho, representa uno de los más desagradables sabores que estropean el vino en botellas. Los compuestos asociados con las manchas se deben generalmente a metabolitos microbianos producidos por la microbiota asociada a esta corteza durante los largos procesos de almacenamiento y transporte del corcho y su subsecuente filtrado al vino (Lee & Simpson, 1993). Muchos de los hongos aislados del corcho después de la cosecha y desde el aire de las industrias que producen taponés, pertenecen a diversos géneros de hongos filamentosos y levaduriformes, principalmente *Penicillium*, *Cladosporium*, *Chrysonilia*, *Paecilomyces*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Candida* y *Rhodotorula*.

Chrysonilia sitiophila, es uno de los hongos más predominantes ya sea en los procesos de manufactura, como en el corcho verde o normal, contribuyendo decididamente en las reportadas alteraciones del vino. Sin embargo, este hongo juega un rol importante en los procesos de maduración del corcho en la naturaleza (Danesh *et al.*, 1997). Más aún, *C. sitiophila* puede ser explotada por los productores de corcho por su capacidad de inhibir el desarrollo de otros hongos y no producir los compuestos responsables de su tinción aún en presencia de clorofenoles (Silva *et al.*, 2000).

Las enzimas producidas por *C. sitiophila*, parecen tener aún muchas aplicaciones diversas ya sea en la degradación de la lignina de maderas duras chilenas (Mansilla *et al.*, 1997), como en la ganadería transformando el inútil bagazo de caña en insumo para la producción de pienso, gracias a que las enzimas que produce, son capaces de romper la estructura química del substrato (Capobianco, 2000).

Aspectos históricos

Neurospora sitiophila, fue primeramente reportada en 1843 como contaminante en panaderías en París y estudiada como un organismo experimental cuando Shear & Dodge (1927), del departamento de Agricultura (USA, Washington D.C) descubren sus estructuras sexuales, y aplicaron una nueva nomenclatura a 3 especies del grupo "*Monilia sitiophila*". Las cepas de *Neurospora* con 8

esporas por asco y autoestériles (heterotálicas) se denominaron como *Neurospora sitophila* y *N. crassa* y las de 4 esporas por asco como autofértiles (pseudohomotáticas) como *N. tetrasperma*. El término pseudohomotático se aplica a las especies que contienen ascosporas con núcleos de ambos tipos recombinantes (+ y -), al contrario de las especies heterotálicas que poseen un solo tipo de núcleo (+ o -). Los posteriores sucesos de Bernard O. Dodge, quien reconoció la importancia de *Neurospora* como un organismo extremadamente manejable genéticamente, permitió nuevos aportes de otros genetistas, hasta que Beadle y Tatum (1941), delinearon el campo de la genética moderna demostrando claramente la relación entre genes y proteínas, formulando su famosa hipótesis: "un gen una enzima". En la última mitad del siglo pasado, *Neurospora* contribuyó a comprender los fundamentos de los sistemas de defensas del genoma, la metilación del DNA, la importancia de las proteínas mitocondriales, el ritmo circadiano, la diferenciación celular y muchos otros aspectos de la biología de los eucariontes.

Interesantes detalles y eventos históricos se encuentran en el trabajo de Perkins (1992), uno de los mayores biólogos dedicado al estudio de *Neurospora*. Recientemente, Galagan *et al.* (2003), en *Nature*, presentaron la lista completa de genes del genoma de *Neurospora* con sus aproximadamente 40 Megapares de bases con unos 10.000 genes que codifican proteínas (un 25% menos que los encontrados en *Drosophila melanogaster*). Los análisis de sus set de genes han permitido conocer aspectos desconocidos de sus biología, tales como la producción de metabolitos secundarios, diferencias importantes en las señales de Ca^{2+} al compararlas con las plantas y animales, un amplio conjunto de mecanismos de defensa del genoma típico de los organismos eucariontes e incluso un proceso único en los hongos llamado RIP ("Repeat-induced point mutation"), cuyo impacto en las secuencias del genoma provee una herramienta para estudiar la evolución en un organismo que no puede desarrollar nuevos genes por la duplicación de éstos durante el ciclo sexual en *Neurospora*. Esta situación, constituye un mecanismo de defensa para destruir DNA foráneo, como el de los virus invasores.

Aspectos genéticos

N. sitophila y *N. intermedia*, al igual que la familiar especie parental *N. crassa*, son heterotálicas y con 8 esporas en el asco: en estas especies la especificidad de apareamiento es determinada por un único locus con 2 tipos de apareamiento *A* y *a*. Cuando se cruzan 2 cepas compatibles (*A+a*) se producen peritecios que contienen ascos con 8 ascosporas viables de color negro dispuestas en forma lineal (vea Raju 1992, para el ciclo de vida y desarrollo del asco en *N. crassa*).

Turner & Perkins (1979), fueron los primeros en

observar que las ascosporas de *N. sitophila* o *N. intermedia*, mueren en ciertos cruzamientos como resultado de la acción de un factor abortivo causado por la acción de elementos cromosómicos (un complejo de genes) llamado asesino de esporas ("spore killer (*Sk*)"). La muerte ocurre cuando uno de los progenitores contiene los elementos *killer* (*Sk^k*) y el otro la contraparte sensitiva (*Sk^s*). Al parecer, sólo en cepas aisladas desde la naturaleza y en presencia de cruzamientos heterocigotos (*Sk^k + Sk^s*), los ascos contienen 4 ascosporas viables de tamaño normal y 4 ascosporas que son muy pequeñas e inviables. El factor *killer* se expresa en los productos post meióticos, causando la muerte de las ascosporas que no reciben el elemento *killer*. Raju (1994), discute en forma amplia el significado de las esporas fúngicas asesinas en organismos individuales y poblaciones. Turner (2001), comenta la distribución geográfica de las cepas asesinas de *Neurospora* y las resistentes; posteriormente el mismo autor (2003), analiza 2 locus adicionales en *N. crassa* relacionados con el sistema 'meiotic drive' (*Sk2*). Las esporas *killer* no solo se conocen en *Neurospora*, sino se han encontrado en otros hongos relacionados, como *Podospora anserina*, *Gibberella fujikuroi* y en *Cochliobolus heterostrophus*.

La incompatibilidad del heterocarion

Saupe (2000), resume lo que se considera como un heterocarion y su posible significado biológico, considerado un fenómeno ampliamente disperso entre los hongos filamentosos, donde existen dos sistemas de reconocimiento: el sexual y el vegetativo. El reconocimiento sexual es controlado por un tipo de locus de apareamiento, mientras el reconocimiento vegetativo es controlado por el sistema de incompatibilidad vegetativa (o heterocarion). El reconocimiento vegetativo idéntico/no idéntico, es crítico en estos organismos, debido a que ellos sufren espontáneamente eventos de fusión vegetativa dentro de las células pero también entre individuos. Esta fusión de células o anastomosis, conduce a una mezcla de citoplasma y a la formación de un heterocarion vegetativo o células que contienen tipos de núcleos de origen diferente. La viabilidad de estos heterocarion es genéticamente controlada por locus específicos llamados *het* (=heterocarion incompatibilidad) o *vic* (= incompatibilidad vegetativa). Un locus *het*, puede ser definido como un locus donde el heterotalismo no puede ser tolerado en un heterocarion y cuando 2 individuos fúngicos que difieren genéticamente en un locus *het* se fusionan (con alelos *het s* y *het S*), las resultantes células heterocarióticas son rápidamente destruidas o severamente inhibidas en su crecimiento, en dependencia del locus *het* implicado. En este caso las hifas periféricas de las colonias se fusionan (pero mueren), las hifas que las rodean no se pigmentan y la línea de células muertas entre las 2 colonias actúa como una barrera para

que las colonias puedan crecer juntas. Un único aminoácido de diferencia entre *het-s* y *het-S*, es suficiente para producir una incompatibilidad (Deleu, *et al.*, 1993; Wickner, 1997).

Un nuevo prion que controla la incompatibilidad de la fusión de la célula fúngica.

N.crassa, guarda estrecha relación con *Podospora*, otro género de *Ascomycete* filamentoso. Una de sus especie *P.anserina*, es considerada un elemento importante para el análisis de los genes *het-s* especialmente porque la mayoría de sus ascos tienen 4 ascosporas. Dos fenómenos se asocian con el polimorfismo en el locus *het-s* de esta especie: incompatibilidad vegetativa y aborto de las ascosporas. Las cepas que son genotípicamente *het-s* se presentan en 2 clases fenotípicas [Het-s] y [Het-s*]. [Het-s] es un fraticida prion proteico fúngico recientemente descubierto (Constou *et al.* 1997), relacionado con un controlado programa genético de muerte celular en la incompatibilidad del heterocarion. De la misma manera que el [PIN+] descubierto en levaduras (Derkatch *et al.* 2001), estos priones se basan en la autopropagación de la forma amiloide de la proteína infectante codificada cromosómicamente. Cuando las hifas infectadas con el prion [Het-s] se fusionan con las hifas [Het-S], las resultantes células heterocarióticas sufren necrosis. Sin embargo las cepas [Het-s] y [Het-S] son sexualmente compatibles, pero cuando una hembra [Het-s] se cruza con [Het-S], un porcentaje significativo de esporas *het-S* sufren aborto, en una manera similar a la muerte de esporas en *Neurospora* y *Podospora* (Para mayor información consultar: Constou *et al.*, 1997; Saupé, 2000; Maddelein *et al.*, 2002; Perkins, 2003; Balguerie *et al.*, 2003).

Concepto filogenético de especie en *Neurospora*

El concepto de especie en los hongos, ha sido y es aún un tema de muchas controversias, especialmente en los tiempos actuales donde los caracteres fenotípicos (especie morfológica) y el aislamiento reproductivo (especie biológica), ampara múltiples clades genéticamente diferenciadas (especie filogenética). Los resultados de estas diferencias empíricas en las metodologías para el reconocimiento de especies, no sólo se ha demostrado en los hongos (Taylor *et al.*, 2000; Harrington *et al.*, 2002, en Dettman *et al.*, 2003), sino en otros organismos (van Open *et al.*, 2000 en Dettman *et al.*, 2003a). El reconocimiento de una especie filogenética, se ha basado principalmente en el estudio de la genealogía de un único gen, la cual no necesariamente representa la filogenia de un determinado organismo por no tener la habilidad de detectar la reticulación que se espera dentro de una especie recombinante (Dettman *et al.*, 2003^b). El uso de la genealogía de múltiples

genes para reconocer los límites de una especie se ha aplicado en un pequeño número de especies fúngicas (Kasuga *et al.*, 1999; Taylor *et al.*, 2000; Kroken & Taylor, 2001; Dettman *et al.*, 2003^a). En el ascomycete género *Neurospora*, el reconocimiento de la especie biológica, ha sido el más aplicado entre los hongos, con más de 4500 aislamientos estudiados en la colección del Fungal Genetic Stock Center (<http://www.fgsc.net>), mediante cruzamientos con las especies de prueba (Turner *et al.*, 2001). Sin embargo, para *N. crassa* y *N.intermedia*, se necesita más de un par de cepas de control para identificar los nuevos aislamientos, debido a que no todos los miembros de cada especie se cruzan con un solo par de prueba. Y en el caso de *N.intermedia*, la población asociados a alimentos y representada por aislamientos con grandes conidios amarillos, a pesar que presentan éxito en ciertos cruzamientos con sus pares de *N.intermedia* (el ecotipo amarillo muestra una reducida fertilidad cuando se cruza con el ecotipo naranja), es posible que éstos estén aislados genéticamente en la naturaleza y las pruebas de cruzamiento no puedan distinguir el actual flujo potencial de genes. Por lo tanto podemos definir una especie que encierra más de un grupo genéticamente aislado (Taylor *et al.*, 2000). Esto se ha demostrado claramente estudiando los 5 tipos de *Neurospora* heterotálicas (capaces de cruzarse con sus pares parentales) mediante el estudio de varios locus independientes del núcleo, identificando grupos genealógicos monofiléticos confirmados en concordancia por la mayoría de estos locus o aceptados por lo menos en un locus, pero sin que se contradigan con los otros. Con este estudio se reconocieron un total de 8 especies filogenéticas, cinco de las cuales corresponden a las especies biológicas tradicionales y 3 a especies crípticas filogenéticas nuevas. Con esto se demuestra que el criterio filogenético presenta ventajas frente al criterio tradicional de la compatibilidad reproductiva en *Neurospora*, un modelo de organismo que permitirá en el futuro no sólo el reconocimiento de sus especies, sino los eventos de especiación y la genética del aislamiento reproductivo en este género y en otros donde no es posible un reconocimiento de especie biológica (para más información ver Dettman *et al.*, 2003^{a b}). Agregando otro ejemplo, anteriormente a los trabajos de Kasuga *et al.* (1999), se pensaba que *H. capsulatum* comprendía 3 variedades (*dubosii*, *capsulatum* y *farciminosum*). Las reacciones de cruzamiento entre los individuos de estas 3 variedades se consideraron una especie única. Los trabajos previos en *H. capsulatum* var. *capsulatum*, con el grupo de Kobayashi's, descubrieron clases de aislamientos que presentaban diferentes grados de patogenicidad y variación en sus ácidos nucleicos, sin considerar la situación de múltiples especies. Sin embargo, Kasuga *et al.* (1999), al usar 4 genealogías de genes pudieron identificar 6 taxa genéticos aislados entre los 46 aislamientos que

representan todas las variedades y clases. Una de las especies filogenéticas fue idéntica a *H.capsulatum* var. *dubosii*, 5 de las especies filogenéticas correspondieron a *H. capsulatum* var. *capsulatum* y algunas de ellas eran idénticas a las clases ya mencionadas. Los aislados de *H.capsulatum* var. *farciminosum* no forman una especie filogenética. Originalmente todos los aislamientos tienen el mismo genotipo y este cae dentro una de las 2 especies Sudamericanas de *H.capsulatum* var. *capsulatum*. Aparentemente, este genotipo tiene la habilidad de causar enfermedad en la piel y ha pasado clonalmente de animal a animal. Estas situaciones orientan claramente que la concordancia genealógica e en el reconocimiento de especie filogenética se desempeña mejor que el reconocimiento de especie biológica y morfológica (Taylor *et al.*, 2000).

Aspectos patológicos

Neurospora no se considera como un fitopatógeno, a pesar de que la vegetación tostada por el fuego es su substrato natural, no se ha visto invadir tejidos vegetales vivos o causarles algún tipo de enfermedad. Perkins & Davis (2000), en sus antecedentes bibliográficos, comentan que las especies de *Neurospora* son aparentemente incapaces de causar enfermedades en los mamíferos debido a que poseen características especiales que no permiten causar efectos adversos en los animales, especialmente por ser aerobios obligados, incapaces de crecer en el intestino, vejiga, tejidos o sistémicamente. La asociación de especies de *Neurospora* con el entorno humano ya ha sido descrita anteriormente en el punto ecología y distribución y a pesar de las muchas oportunidades de exposición de sus propágulos de dispersión aérea, no parece que los integrantes de este género puedan constituirse en un problema de salud pública en la población sana. Más aún cuando sus propiedades fisiológicas se han usado ya sea: como alimento directo en un producto altamente nutritivo a base de soya que se vende en los supermercados y tiendas en Java (llamado "Chom"), en alimentos orientales como el Koji, en bebidas fermentadas en Brasil, como alimento en Borneo desde campos quemados después de la cosecha de arroz y en su presencia regular en la preparación del queso Roquefort en el sur de Francia (en Perkins & Davis, 2000). Incluso los textos de micología médica mencionan esporádicamente algún efecto patógeno, principalmente como alérgenos (Kwon-Chung & Bennet, 1992; Sutton *et al.*, 1998; De Hoog *et al.*, 2000).

La literatura médica parece concordar con su aparente escasa relación en clínica humana. Theodore *et al.* (1961), reportan un caso de endoftalmítis por *C. sitophila*, Tarlo *et al.* (1996), comunican casos de asma ocupacional inducido por *C. sitophila* en una industria de maderas. Remko *et al.* (1998), revisan la literatura internacional en la alergia ocupacional respiratoria en trabajadores de

panadería y encuentran una clara relación entre exposición y respuesta de algunos alérgenos presentes (entre ellos el anamorfo de *N.sitophila*), mientras Wink *et al.* (2004), encontraron que en los trabajadores asociados a la industria del corcho, el asma ocupacional no guarda relación con la sensibilidad a los hongos en su ambiente de trabajo (*C.sitophila*, *Penicillium glabrum* y *Trichoderma longibrachiatum*). A pesar de ciertas controversias, las tablas de los mayores inductores de asma ocupacional, describen entre sus agentes biológicos a *Neurospora* en los trabajadores de maderas prensadas.

Como contaminante exógeno en los laboratorios de microbiología se ha ganado cierto prestigio, por su rápida dispersión en el ambiente y en ese sentido hemos tenido algunas experiencias al trabajar con algunas de sus aislados, sin embargo, no es un problema cuando se mantiene un buen aseo y esterilización de las placas desechadas. La literatura actual comunica un caso de peritonitis causada por *C. sitophila* en un paciente bajo diálisis peritoneal (Raiz *et al.* 1996). También se ha encontrado como contaminante en botellas de líquido de diálisis peritoneal en un examen de rutina en un hospital de Brasil (Febre *et al.*, 1999), una situación que sugiere un control constante de estos fluidos que puede ser la causa de peritonitis descritas con anterioridad por otros hongos filamentosos, como es el caso clínico detectado por primera vez en nuestro país. En nuestros tiempos las personas con compromiso inmune, en especial con HIV se han visto asociadas a una variedad cada vez mayor de micosis oportunistas de origen exógeno, donde se ha descrito también un caso de infección pulmonar por *Neurospora sitophila* en un paciente masculino de 48 años (Hood & Moore, 1997; Stephen & Caroline, 2004).

REFERENCIAS

- Albuquerque, C.; Villagra, A.; Benadof, D.; Olivares, R.; Díaz, M.C.; Piontelli, E. (2004). Peritonitis por *Chrysonilia sitophila* en pacientes en peritoneodiálisis. XII Congreso Chileno de Tecnología Médica. Octubre 2004, Santiago
- Aroca, T.S.; Piontelli, L.E. & Cruz, Ch.R (2004). Case report: *Trichoderma longibrachiatum* infections in a pediatric patient with peritoneal dialysis. Boletín Micológico 19:13-17
- Arx, J.A.von (1982). On *Monilia sitophila* and some families of Ascomycetes. Sydowia 34:13-29
- Balguerie, A.; Dos Reis, S.; Ritter, C.; Chaignepain, S.; Coulyar-Salin.; Forge, V Bathany, K *et al.* (2003). Domain organization and structure-function relationship of the Het-s prion protein of *Podospora anserina*. The Embo Journal 22:2071-2081
- Beadle, G.W. & Tatum, E. L. (1941). Genetic control of biochemical reactions in *Neurospora*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 27:499-506

- Cannon, P.F. & Kirk, P.M.** (2000). The philosophy and practicalities of amalgating anamorph and teleomorph concepts. *Studies in Mycology* 45:19-25
- Capobianco, P.J.** (2000). La llave para el siglo XXI.: Los hongos ayudan a producir pienso. Universidad de Brasilia (tomado de una nota en Internet).
- Coustou, V.; Deleu, C.; Saupe, S. & Bégueret, J.** (1997). The protein product of the *het-s* heterocaryon incompatibility gene of the fungus *Podospora anserina* behave as a prion analog. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:9773-9778
- Danesh, P.; Velez, C.F.M.; Figueiredo, M.J.J. & San Romao, M.V.** (1997). Mycobiota in Portuguese normal and green cork throughout the manufacturing process of stopper. *J. Appl. Microbiol.* 82:689-694
- De Hoog, G.s.; Guarro, J.; Gené, J.; Figueras, M.J.** (2000). Atlas of clinical fungi. 2nd Ed. CBS, Neder., Univ. Rovira i Virgili, Reus, Spain
- Deleu, C.; Clave, C. & Begueret, J.** (1993). A Single Amino Acid Difference Is Sufficient to Elicit Vegetative Incompatibility in the Fungus *Podospora anserina*. *Genetic* 135:45-52
- Derkatch, I.L.; Bradley, M.E.; Hong, J.Y.; Liebman, S.B.** (2001). Prions affect the appearance of other prions: The story of (PIN+). *Cell* 106:171-182
- Dettman, J.M.; Jacobson, D.J. & Taylor, J.W.** (2003a). A multilocus genealogical approach to phylogenetic species recognition in the model Eukaryote *Neurospora*. *Evolution* 57:2703-2720
- Dettman, J.M.; Jacobson, D.J.; Turner, E.; Pringle, A.; Taylor, J.W.** (2003b). Reproductive isolation and phylogenetic divergence in *Neurospora*: Comparing methods of species recognition in a model Eukaryote. *Evolution* 57:2721-2741
- Dodge, B.O.** (1927). Nuclear phenomena associated with heterothallism and homothallism in the ascomycete *Neurospora*. *J. Agric. Res.* 35:289-305
- Eriksson, O.E. & Hawksworth, D.L.** (1998) Outline of Ascomycetes. -1998 Systema Ascomycetum 16:83-296
- Eriksson, O.E.; Baral, H.-O.; Currah, R.S.; Hansen, K.; Kurtzman, C.P.; Rambold, G.; Laessle, T.** (Eds.) (2001). Outline of Ascomycota -2001. *Myconet* 7:1-88
- Fahey, R.C.; Mikolajczyk, S.D. & Brody, S.** (1978). Correlation tu enzymatic activity and thermal resistance with hydration state in ungerminated *Neurospora* conidia. *J. Bacteriol.* 135:868-875
- Febre, N.; Silva, V.; Madeiros, E.; Godoy, P.; Reyes, E.; Halker, E.; Fischman, O.** (1999). Contamination of peritoneal dialysis fluid by filamentous fungi. *Rev. Iberoam Micol.* 16:238-239
- Galagan, J.E.; Calvo, S.E.; Borkovich, K.A.; Selker, E.U.; Read, N.D. et al.** (2003) The genome sequence of the filamentous fungus *Neurospora crassa*. *Nature* 422:859-868
- Guarro, J.; Gené, J. & Stchigel, M.** (1999). Development in fungal taxonomy. *Clin. Microbiol. Rev.* 12:454-500
- Hood, S. & Moore, C.** (1997). *Neurospora sitophila* pulmonary infection in a patient with AIDS. *AIDS Patient Care & STDs.* 11:223-227
- Huhendorf, S.; Miller, A.N. & Fernández, F.A.** (2004). Molecular systematics of Sordariales: the order and the family Lasiosphaeriaceae redefined. *Mycologia* 96:368-387
- Jacobson, D.J.; Powel, A.J.; Dettman, J.R.; Saenz, G.S.; Barton, M.M.; Hiltz, M.D.; Dvoracek, W.H. Jr. et al.** (2004). *Neurospora* in temperate forest of western North America. *Mycologia* 96:66-74
- Kasuga, T.; Taylor, J.W. & White, T.J.** (1999). Phylogenetic relationship of varieties and geographical groups of the human pathogenic fungus *Histoplasma capsulatum* Darling. *J. Clin. Microbiol.* 37:953-663
- Kirk, P.M.; Cannon, P.F.; David, J.C. & Stalpers, J.A.** (2001). Dictionary of the fungi. 9th. Edition CAB International.
- Kitazima, K.** (1925). On the fungus luxuriantly grown on the bark of the trees injured by the great fire of Tokyo on September 1, 1923. *Nihon Skokubusto Byori Gakkai Ho* (Ann. Phytopathol. Soc. Jpn.) 1:15-19
- Kroken, S. & Taylor, J.W.** (2001). A gene genealogical approach to recognize phylogenetic species boundaries in the likenized fungus *Letharia*. *Mycologia* 93:38-53
- Kwon-Chung, K.J. & Bennet, J.E.** (1992). Medical micology. Lea & Febiger, Malvern, Pa.
- Lee, T.H. & Simpson, R.F.** (1993). Microbiology and chemistry of cork taints in wine. In: Fleet, G.H. (Ed.), Wine microbiology and biotechnology. Chur, Switzerland; G. Harwood Academic Publishers. pp. 353-372
- Lodha, B.C.** (1987). Pleomorphy in Sordariales. In: Sugiyama, J. (Ed.). Pleomorphic fungi: The diversity and its taxonomic implications. Kodansha, Tokyo. pp.57-77
- Lundqvist, N.** (1972). Nordic Sordariaceae *s.lat.* *Symb. Bot. Ups.* 20:1-374
- Maddelain, M.-L.; Dos Reis, S.; Duvezin-Caubet, S.; Couly-Salin, B.; Saupe, S.J.** (2002). Amyloid aggregates of the Het-s prion protein are infectious. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 99:7402-7407
- Mansilla, H.D.; Rodriguez, J.; Ferraz, A.; Duran, N.** (1997). Biodegradation of acidolysis lignins from Chilean hardwoods by the ascomycete *Chrysonilia sitophila*. *World J. Microbiol. & Biotechnol.* 13: 545-548
- Mannhaupt, G.; Montrone, G.; Hasse, D.; Mewes, H.W.; Aign, V. et al.** (2003). What's in the genome of a filamentous fungus? Analysis of the *Neurospora* genome sequence. *Nucleic Acid Res.* 31:1944-1954
- Pandit, A. & Maheshwari, R.** (1996). Life history of *Neurospora intermedia* in a sugar cane field. *J. Biosci.* 21:57-79
- Perkins, D.D.; Turner, B.C. & Barry, E.G.** (1976). Strains of *Neurospora* collected from nature. *Evolution* 30:281-313
- Perkins, D.D.** (1991). The first published scientific study of *Neurospora*, including a description of photoinductions of

- Perkins, D.D. (1992). *Neurospora*: The organism behind the molecular revolution. *Genetics* 130:687-701
- Perkins, D.D. (2003). A fratricidal fungal prion. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 100:6292-6294
- Perkins, D.D. & Pollard, V.C. (1986). Liner growth rates of strains representing 10 *Neurospora* species. *Fungal Genet. Newsl.* 33:41-43
- Perkins, D.D. & Davis, R.H. (2000). Guest Commentary. Evidence for safety of *Neurospora* species for academic and commercial uses. *Applied and Environmental Microbiology* 60:5107-5109
- Perkins, D.D. & Turner, B.C. (1988). *Neurospora* from natural populations: toward the population biology of a haploid eukaryote. *Exp. Mycol.* 12:91-131
- Powel, A. J.; Jacobson, D.J.; Salter, L. & Natvig, D.O. (2003). Variation among natural isolates of *Neurospora* in small spatial scales. *Mycologia* 95:809-819
- Raiz, A.; Bieluch, V. & Graeber, C. (1996). Peritonitis causada por *Neurospora sitophila* en un paciente con diálisis. *J. Artif. Organs* 19:218-220
- Raju, N.B. (1992). Genetic control of the sexual cycle in *Neurospora*. *Mycol. Res.* 96:241-262
- Raju, N.B. (1994). Ascomycete spore killers: Chromosomal elements that distort genetic ratios among the products of meiosis. *Mycologia* 86:461-473
- Réblová, M. & Gams, W. (1999). Teleomorph-anamorph connection in Ascomycetes. I. *Cylindrotrichum* and *Cacumisporium* anamorphs of *Chaetosphaeria*. *Sydowia* 51:1-39
- Remko, H.; Doekes, G. & Heederik, D. (1998). Occupational respiratory allergy in bakery worker: A review of the literature. *Am. J. Ind. Med.* 34:529-546
- Samuels, G.J. & Blackwell, M. (2001). Pyrenomycetes-Fungi with perithecia. In: *The Mycota VII Part A Systematic and Evolution*, McLaughlin - McLaughlin- Lemke (Eds.). Springer Verlag, Berlin Heidelberg pp. 221-255
- Santos P.E., Piontelli, E.; Rosenzweig, S.; Zelazko M.; Galuzo L.; Bares C. (2004) *Penicillium piceum*: Patógeno emergente en un paciente pediátrico con enfermedad granulomatosa. XVII Congreso Latinoamericano de Microbiología. Octubre, B. Aires (Abstract).
- Saupe, S.J. (2000). Molecular genetics of heterocaryon incompatibility in filamentous Ascomycetes. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 64:489-502
- Seifert, K.A. & Gams, W. (2001). The taxonomy of anamorphic fungi. In: *The Mycota VII Part A Systematic and Evolution*, McLaughlin - McLaughlin- Lemke (Eds.). Springer Verlag, Berlin Heidelberg pp. 307-347
- Seifert, K. & Samuels, G.J. (2000). How should we look at anamorphs? *Studies in Mycology* 45:5-18
- Shaw, D.E. (1990). Blooms of *Neurospora* in Australia. *Mycologist* 4:5-13
- Shear, C.L. & Dodge, B.O. (1927). Life histories and heterothallism of the bread-mold fungi of the *Monilia sitophila* group. *J. Agric. Res.* 34:1019-1042
- Silva, C.P.; Pires, A.; Valle, M. J.; Boas, L.V.; Figueiredo, M.J.J.; Romão, M.V. (2000). Role of *Chrysonilia sitophila* in the quality of cork stoppers for sealing wine bottles. *J. Ind. Microbiol. & Biotechnol.* 24:256-261
- Stephen, V.H. & Caroline B. (2004). *Neurospora sitophila* pulmonary infection in a patient with AIDS. *AIDS Patient Care & STDs*. 11:223-227
- Sutton, D.A.; Fothergill, A.W. & Rinaldi, M.G. (1998). Guide to clinically significant fungi. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- Tarlo, S.M.; Wai, Y.; Dalovich, J. & Summerbell, R. (1996). Occupational asthma induced by *Chrysonilia sitophila* in the log industry. *J. Allergy Clin. Immunol.* 97:1469-1413
- Taylor, J.W.; Smolich, B.D. & May, G. (1986). Evolution and mitochondrial DNA in *Neurospora crassa*. *Evolution* 40:716-739
- Taylor, J.W.; Jacobson, D.J.; Kroken, J.; Kasuga, T.; Geiser, D.M.; Hibbett, D.S.; Fisher, M.C. (2000). Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. *Fung. Gen. Biol.* 31:21-32
- Theodore, F.H.; Litman, M.N. & Almeida, E. (1961). The diagnosis and management of fungal endophthalmitis following cataract extraction. *Arch. Ophthalmol.* 66:39-51
- Turner, B.C. & Perkins, D.D. (1979). Spore killer, a chromosomal factor in *Neurospora* that kills meiotic products not containing it. *Genetic* 93:587-606
- Turner, B.C.; Perkins, D.D. & Fairfield, A. (2001). *Neurospora* from natural populations: a global study. *Fungal Gen. Biol.* 32:67-92
- Turner, B.C. (1987). Two ecotypes of *Neurospora intermedia*. *Mycologia* 79:425-432
- Turner, B.C. (2001). Geographic distribution of *Neurospora* spore killer strains and resistance to killing. *Fung. Gen. Biol.* 32:93-104
- Turner, B.C. (2003). Analysis of two additional loci in *Neurospora crassa* related to S killer-2. *Fungal Genet. Biol.* 39:142-150
- Vieira, A. (2003). The fires and the fungus: searching from European *Neurospora*. *IBMC News*, September, pp 4
- Wickner, R.B. (1997). Commentary. A new prion controls fungal cell fusion incompatibility. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94:10012-10014
- Winck, J.C.; Delgado, L.; Murta, R.; Vanzeller, M.; Marques, J.A.Q. (2004). Cork workers' occupational asthma: lack of association with allergic sensitisation to fungi of the work environment. *I. Arch. Occup. Environ. Health.* 77:296-300
- Yassin, S. & Wheals, A. (1992). *Neurospora* species in bakeries. *J. Appl. Bacteriol.* 72:237-380