





# ELS FONGS INVISIBLES DEL NOSTRE ENTORN



## ESTUDI DE LA BIODIVERSITAT FÚNGICA DE L'INSTITUT SALVADOR VILASECA



Maria Repollés de Dalmau

Tutora: María Victoria Dopazo Quiñones

Seminari de Biologia

2n BAT B

INS Salvador Vilaseca

Curs 2014-2015

## **AGRAÏMENTS**

En primer lloc, voldria expressar el meu agraïment a les següents persones, sense l'ajuda de les quals hauria estat impossible la realització del present treball.

A la Prof. María Victoria Dopazo Quiñones, tutora d'aquest treball, per guiar-me i orientar-me durant el temps que s'ha estat realitzant i pel seu temps i dedicació.

A la Prof. Montse Plans Roqueta, per la primera direcció d'aquest treball i per l'il·lusió i empeny que m'ha transmès durant els primers mesos.

A la Dra. Josepa Gené Díaz, gran especialista en micologia, per ajudar-me a realitzar la part pràctica d'aquest treball, per ensenyar-me bona part dels coneixements que he après i innumbrables coneixements pràctics, els quals, en moltes ocasions són difícils d'adquirir a través d'un llibre.

Al laboratori d'investigació de la Facultat de Medicina de Reus, per permetre'm realitzar la part pràctica i facilitar-me tots els recursos que he necessitat en qualsevol moment.

Als meus pares i a la meva germana, per donar-me suport durant aquests 8 mesos en que he realitzat el treball, per ajudar-me i per la paciència que han tingut en tots els moments en que ho he necessitat, així com també a tota la meva família que han fet possible, d'alguna manera, una millor realització del treball.



## ÍNDIX

Pròleg .....	4
1. Part teòrica .....	5
1.1. Introducció .....	5
1.2. Els fongs, què són? .....	6
1.2.1 Característiques generals .....	6
1.2.2 Ascomicets .....	13
1.2.3 Zigomicets (Mucorals) .....	14
1.3. Informació general sobre els diferents gèneres de fongs trobats al Institut Salvador Vilaseca.....	16
1.3.1 <i>Acremonium</i> .....	16
1.3.2 <i>Alternaria</i> .....	17
1.3.3 <i>Aspergillus</i> .....	18
1.3.4 <i>Aureobasidium</i> .....	19
1.3.5 <i>Bipolaris</i> .....	20
1.3.6 <i>Botryotrichum</i> .....	21
1.3.7 <i>Cladosporium</i> .....	22
1.3.8 <i>Clonostachys</i> .....	23
1.3.9 <i>Epicoccum</i> .....	24
1.3.10 <i>Fusarium</i> .....	26
1.3.11 <i>Humicola</i> .....	27
1.3.12 <i>Mucor</i> .....	28
1.3.13 <i>Paecilomyces</i> .....	29
1.3.14 <i>Penicillium</i> .....	31
1.3.15 <i>Phoma</i> .....	32
1.3.16 <i>Pithomyces</i> .....	33
1.3.17 <i>Scedosporium</i> .....	34
1.3.18 <i>Stemphylium</i> .....	36
1.3.19 <i>Trichoderma</i> .....	37
1.3.20 <i>Wardomyces</i> .....	38
2. Part experimental .....	40
2.1 Origen i tipus de mostres estudiades .....	40
2.2 Recollida i activació de les mostres .....	40
2.2.1 Sòl .....	40
2.2.2 Aire .....	41



2.3	Cultiu de les mostres .....	43
2.3.1	Sòl .....	44
2.3.2	Aire .....	45
2.4	Observació dels fongs desenvolupats .....	46
2.5	Aïllament i obtenció de cultius purs .....	47
2.6	Resultats .....	48
3.	Conclusions .....	51
4.	Epíleg .....	51
5.	Glossari .....	52
6.	Bibliografia .....	55
7.	Webgrafia .....	55



## PRÒLEG

El motiu que m'ha impulsat a la realització d'aquest treball és l'admiració vers la natura i tots els éssers que la componen.

Quan passegem pel bosc, especialment a la tardor o durant la primavera quan hi ha molta humitat perquè ha plogut molt, tot sovint ensopeguem amb algun bolet que altre. Alguns d'aquests bolets fins i tot els arrepleguem i ens els mengem perquè són deliciosos, com ara els rovellons o les mucoses. Aquests bolets són fongs de mida gran, que es veuen a simple vista i que genèricament se'ls anomena macromicets. Però en realitat no són els únics fongs que hi ha en el bosc, ni als jardins de la nostra ciutat, ni al jardí del institut ... Hi ha tot un món de bolets de mida molt petita, els micromicets, que ens rodegen sempre. Són per tant, aquests fongs, que no es veuen a simple vista, els protagonistes del meu treball i per això l'he titulat "els fongs invisibles del nostre entorn". Com que no cal anar gaire lluny per recollir-los, ni tampoc cal esperar que plogui per a que surtin, els fongs invisibles que he estudiat són els del nostre institut, que provenen del l'aire que respirem i de mostres dels parterres del nostre claustre, recollides durant el mes de juliol. Hauria pogut agafar mostres d'altres punts com parets, fulles dels arbres o les plantes de jardí ... però, com veureu, n'hi ha tants de fongs microscòpics diferents que si hagués agafat mostres de tots aquests llocs hores d'ara encara estaria estudiant-los i intentant esbrinar quin és el seu nom. Cal destacar que els fongs microscòpics són molt importants a nivell ecològic, però també són importants perquè d'ells s'extreuen productes que s'utilitzen com a fàrmacs o a la indústria alimentària per a transformar els aliments, fins i tot n'hi ha que provoquen malalties a plantes, animals i també a l'home.

Tot seguit anem a explicar què són els fongs i a veure quin paper desenvolupen en el nostre entorn.

## 1. PART TEÒRICA



## **1.1 INTRODUCCIÓ**

Aquest treball de recerca tractarà, com ja s'ha esmentat en el pròleg, del coneixement de la diversitat biològica fúngica en el recinte del Institut Salvador Vilaseca de Reus. En l'estudi ens agradaria poder arribar a establir connexions tals que la relació que hi ha entre els fongs presents en el sòl del claustre i els fongs que es troben en l'aire del mateix recinte, si els gèneres en els dos espais són coincidents, quin és el gènere de fong que abunda més... En primer lloc s'explicaran les característiques generals dels fongs i dels diferents grups en que es troben dividits, seguit d'una detallada explicació dels diferents gèneres fúngics que hem trobat en aquest estudi. L'explicació dels gèneres consistirà en destacar la importància o les característiques pròpies de cadascun d'ells i una breu descripció de la seva estructura microscòpica perquè així, quan els treballarem posteriorment en la part pràctica, sapiguem ja com són. Posteriorment, es passarà a explicar els procediments duts a terme en la realització de la part pràctica com ara: les diferents mostres emprades, la metodologia per la recollida i el processament de les mostres, l'estudi de les mateixes i l'establiment de conclusions a partir dels resultats obtinguts.

## **1.2 ELS FONGS, QUÈ SÓN?**



### 1.2.1 Característiques generals

Els fongs són entesos com organismes eucariotes, heteròtrofs, unicel·lulars o pluricel·lulars (tal·lòfits <sup>[47]</sup>), amb cèl·lules rodejades per una paret formada principalment per quitina <sup>[44]</sup>. Els fongs unicel·lulars també se'ls coneix amb el nom de llevats, mentre que els pluricel·lulars se'ls anomena fongs filamentosos o miceliars. Els nom d'aquests últims es deu a que el seu tal·lus <sup>[48]</sup> està format per filaments que reben el nom d'hifes, i el conjunt d'hifes es denomina miceli. Ambdós tipus de fongs es poden reproduir tant asexualment com sexualment i sovint formen espores.

Vers la seva nutrició, com organismes heteròtrofs s'alimenten de matèria orgànica a partir d'una digestió externa, és a dir, secreten una gran quantitat d'enzims que degraden els substrats orgànics i els converteixen en productes més senzills, els quals són posteriorment absorbits per la cèl·lula fúngica. Aquest sistema de nutrició comporta que precisin de llocs on hi hagi molta matèria orgànica i també aigua, per això sovint es troben en ambients humits i sense necessitat de llum. Segons el tipus de matèria orgànica de la qual s'alimenten es diferencien tres tipus:

- ❖ Sapròfits: Es nodreixen de matèria orgànica en descomposició [Fig. 1].
- ❖ Paràsits: S'alimenten de la matèria orgànica d'organismes vius. Poden produir malalties, plagues o infeccions [Fig. 2].
- ❖ Simbionts: Es nodreixen de la matèria orgànica produïda per altres organismes vius als quals viuen associats beneficiant-se mútuament [Fig. 3].



Fig. 1: Fong sapròfit. P.ex. Xampinyó.



Fig. 2: Fong paràsit. P.ex. Peu d'atleta.



Fig. 3: Fong simbiònt. P.ex. Lliquen.

Són organismes que sobreviuen en ambients amb intervals de pH molt amples (entre 2 i 9) i amb amples rangs de temperatures. També són molt resistents a canvis de pressió osmòtica <sup>[43]</sup>.

Pel que fa a l'estructura, com hem dit abans, la part vegetativa del cos de la majoria de fongs està formada per filaments llargs, cilíndrics i ramificats, les hifes. Segons la forma de les hifes, se les pot dividir en:

- ❖ Cenocítiques o sifonades: No presenten divisions o septes. Són plurinucleades. [Fig. 8]
- ❖ Septades o dividides: Individualitzen les cèl·lules mitjançant septes o parets transversals. [Fig. 8]

Les hifes únicament creixen per l'extrem apical <sup>[5]</sup>, de manera que en general, el creixement miceliar és de tipus radial, prenent formes discoïdals <sup>[17]</sup> o anulars <sup>[3]</sup>.

En relació a la reproducció, les cèl·lules dels fongs són haploides, és a dir, contenen un sol joc de cromosomes. Els fongs unicel·lulars es reproduïxen asexualment. Depenent del tipus de reproducció, se'n diferencien:

Gemmació: Estructura annexa que creix de l'organisme original i que finalment se separa [Fig. 4].





Fig. 4: Reproducció asexual mitjançant la gemmació.

Fragmentació: Trencament o divisió d'una hifa o del miceli [Fig. 5].



Fig.5: Reproducció asexual mitjançant la fragmentació a partir de la comparació amb l'estrella de mar.

Els fongs pluricel·lulars es poden reproduir tant asexualment com sexualment. Parlem de reproducció asexual quan té lloc mitjançant mitòspores <sup>[36]</sup> ( $2n$ ) – generalment anomenades conidis <sup>[11]</sup> – formades en el conidiòfor <sup>[12]</sup>, la part reproductora d'unes hifes especialitzades, les quals són genèticament idèntiques al seu progenitor [Fig. 6].

Per altra banda, en quant a la reproducció sexual, es diferencien dos processos principals: la singàmia i la meiosi <sup>[32]</sup>. La singàmia o fecundació es pot donar entre dues cèl·lules, entre dos gametangis <sup>[26]</sup> o entre dues hifes. Comporta dos processos que, depenent del fong, es donen simultàniament o bé, es troben molt separats en el temps, fet que dóna lloc a la creació d'hifes constituïdes per cèl·lules amb dos nuclis (cèl·lules dicariòtiques) [Fig. 8]. Aquests dos processos són la plasmogàmia, que es basa en la fusió dels citoplasmes i, en la cariogàmia, que és la fusió dels nuclis.



Tot seguit i després de la cariogàmia, es dóna lloc la meiosi, de la qual sorgeixen les meïospores <sup>[33]</sup> ( $n$ ) formades en els gametangis [Fig. 7]. Aquestes meïospores són genèticament diferents al progenitor i diferents entre si.

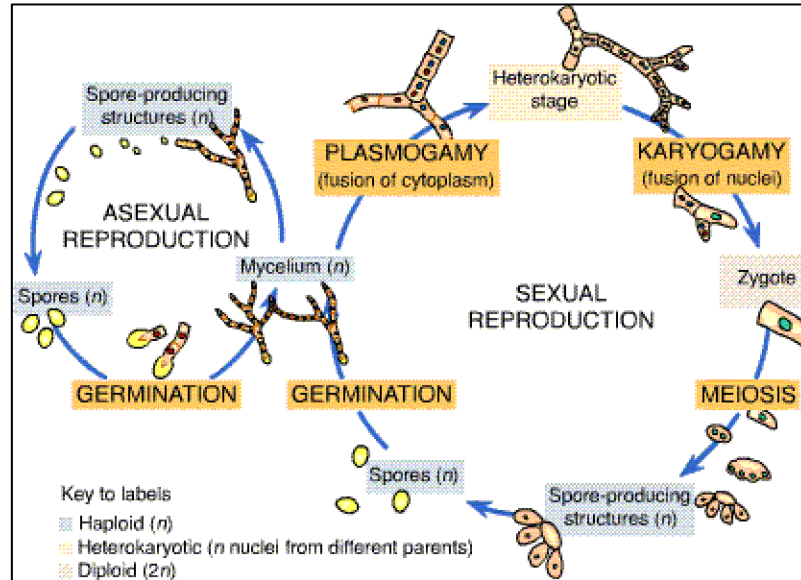


Fig. 6: Cicle de reproducció asexual i sexual.

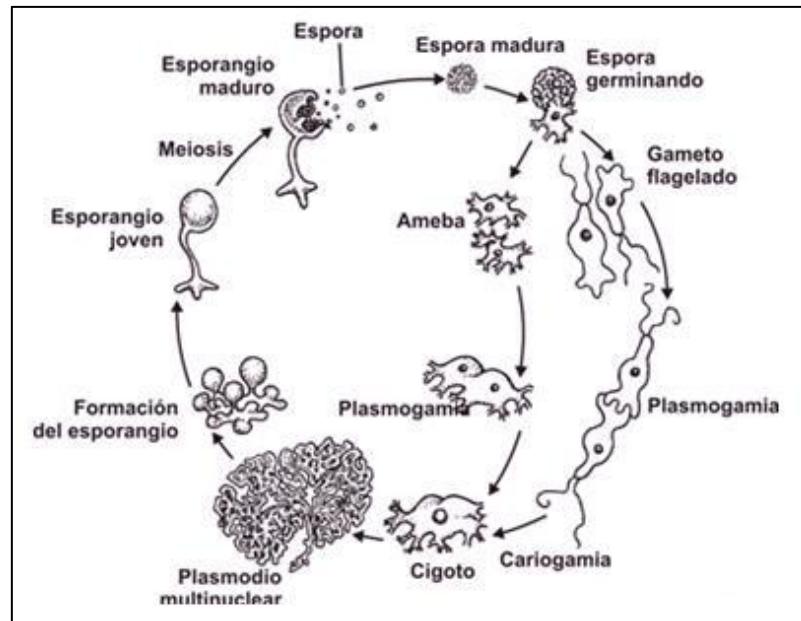


Fig. 7: Cicle de reproducció sexual.

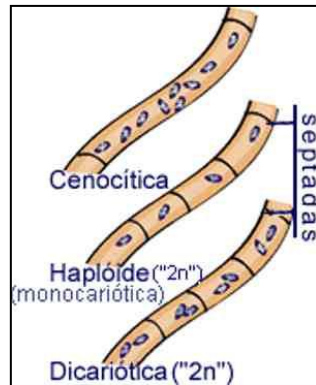


Fig. 8: Diferència entre el tipus d'hifes.

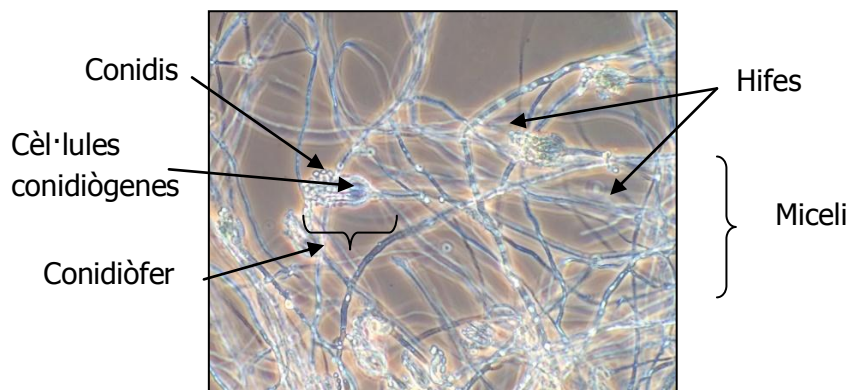


Fig. 9: Estructura microscòpia d'un fong micelià.

Durant molts anys, tots els eucariotes amb les característiques que hem esmentat abans, se'ls va considerar que formaven un únic regne, el Regne Fungi, ben diferenciat dels Regnes dels animals i les plantes, respectivament. Tot i això, recentment, gràcies a la biologia molecular i a l'estudi de l'ADN, en concret l'estudi comparatiu dels gens que codifiquen els ARN ribosòmics, es va veure que el Regne dels Fongs incloïa organismes molt diferents evolutivament. Per exemple, els oomicets <sup>[40]</sup>, considerats i classificats fins a mitjans del segle passat dins del Regne dels Fongs, en l'actualitat se'ls inclou en un altre regne, el Regne Chromistes <sup>[45]</sup>. Arran d'aquestes estudis, es va veure fins i tot que els fongs veritables estan evolutivament més propers als animals que no pas al Regne de les plantes. Realment una paradoxa si pensem que els fongs sempre s'han estudiat com una especialitat de la botànica. [Fig. 10]

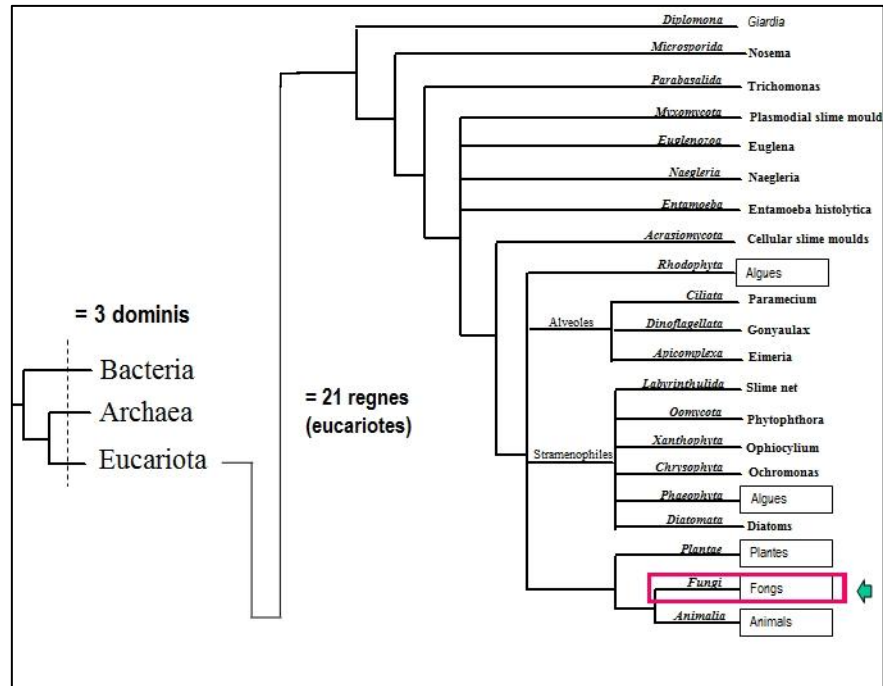


Fig. 10: Modif. a partir de: Adl, Sina M. et al. 2005. The New Higher Level Classification of Eukaryotes with Emphasis on the Taxonomy of Protists. Journal of Eukaryotic Microbiology. 52(5): 399-451.

A partir doncs de l'estudi comparatiu de l'ADN fúngic, en l'actualitat el Regne dels Fongs es divideix en dos subregnes: Dikarya i el dels fongs basals. Els primers són els que tenen el miceli vegetatiu septat i inclou el grup dels ascomicets (*Ascomycota*) i dels basidiomicets (*Basidiomycota*), els quals comparteixen un avantpassat comú [Fig. 11]. Els fongs basals són aquells que tenen el miceli vegetatiu sense septes, antigament anomenats zigomicets (*Zygomycota*), i formats per fongs evolutivament molt poc relacionats entre ells.

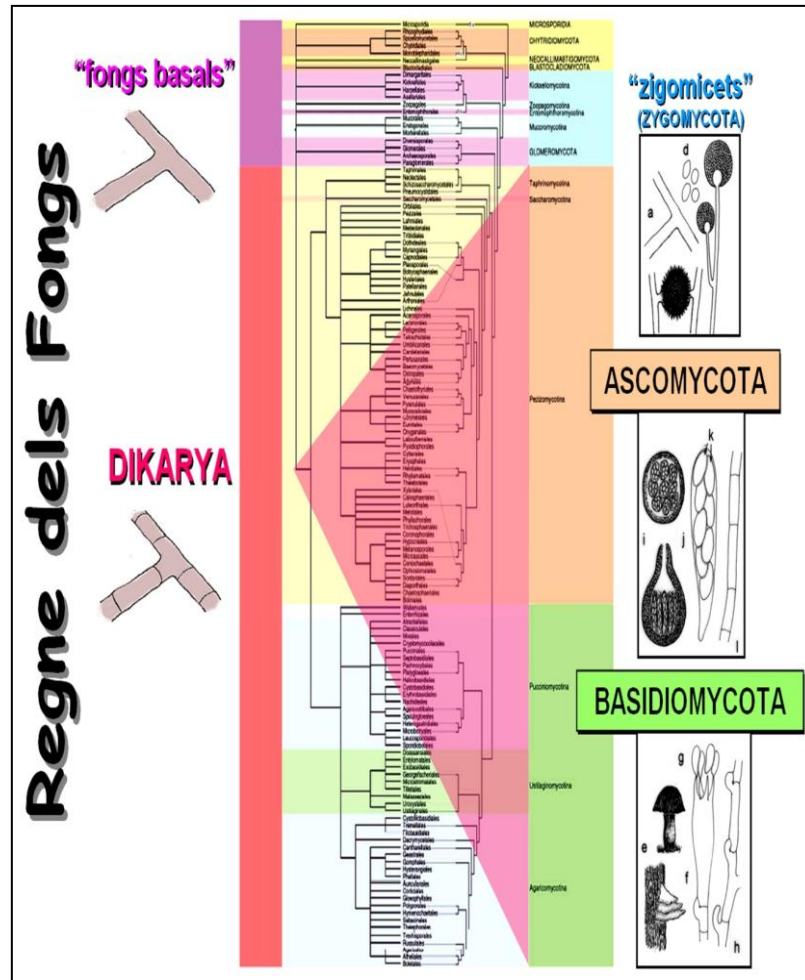


Fig. 11: Arbre filogenètic del regne dels fongs modificat de McLaughlin i cols (Trends in Microbiology 17: 488, 2009).

A partir d'aquest punt del treball es tractaran amb més detall els fongs pertanyents als grups d'ascomicets, concretament les seves formes asexuals, també anomenats deuteromicets, i un petit grup de fongs basals, els coneguts com a mucorals (*Mucoromycotina*), ja que són els que es treballaran en la part pràctica.



### 1.2.2 Ascomicets

És el grup més ampli i diversificat de fongs. Les estimacions més recents (l'any 1988) n'accepten unes 30.000 espècies (el 45% dels fongs coneguts). El seu miceli està format per hifes molt ramificades, septades i formades de quitina. És multinucleat i ramificat. La seva reproducció sexual dóna lloc a ascòspores (espores sexuals o meiòspores); la reproducció asexual dóna lloc als conidis (espores asexuals o mitòspores) formats a partir de les cèl·lules conidiògenes [7], en els extrems dels conidiòfors [Fig. 9]. Normalment, parlem de deuteromicets per referir-nos als fongs d'aquest grup que solament es reproduïxen asexualment, ja sigui perquè la seva reproducció sexual es desconeix o bé no existeix. La majoria d'ells són sapròfits, però també hi ha un considerable nombre d'espècies patògenes de plantes i animals. Tenen una gran importància per l'home ja que són els fongs que engloben més patògens humans, però també són molt importants en el camp de la indústria, la biotecnologia o la medicina. Exemples destacats són: el *Tolypocladium inflatum* productor de la ciclosporina, un fàrmac que es prescriu en pacients transplantats per evitar el rebuig d'òrgans, el *Penicillium notatum* com a formador de la penicil·lina, l'*Aspergillus* o *Alternaria* per a la descomposició d'aliments o causants d'infeccions, o el *Epidermophyton floccosum* com a agent causal de la infecció anomenada "peu d'atleta".

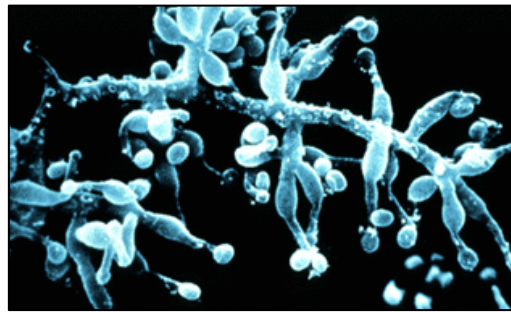


Fig. 12: Imatge de *Tolypocladium inflatum* a través d'un microscopi electrònic d'escandellatge (SEM).

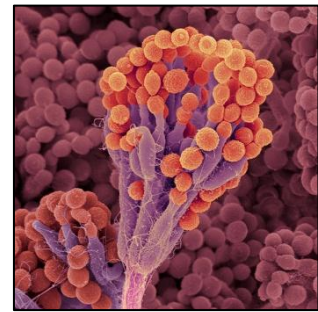


Fig. 13: Imatge de *Penicillium Notatum* gràcies al SEM.



### 1.2.3 Zigomicets (Mucorals)

Els mucorals formen el grup més complex i ampli dels fongs basals, comprenent unes 60 espècies. Aquests fongs presenten gairebé sempre un miceli filamentós i ramificat i, amb paret quitinosa. Es diu que els mucorals, dins del grup al qual pertanyen, presenten un caràcter primitiu, el miceli sifonat, és a dir, sense septes transversals en les hifes vegetatives –tot i que és normal que se'n formin per a la delimitació dels òrgans reproductors–. Dels mucorals, se'n coneix tan la reproducció sexual com la reproducció asexual. La reproducció sexual es basa en la fusió o conjugació de dos gametangis iguals o desiguals, que dóna lloc a una zigòspora <sup>[52]</sup>, tancada a l'interior d'un zigosporangi <sup>[53]</sup>, de paret gruixuda i sovint ornamentada. Al passar un període de temps determinat, germina i produeix un esporangi <sup>[20]</sup> de germinació, sobre un peu. La reproducció asexual està ben adaptada a la dispersió per l'aire, i es realitza típicament per esporangiòspores <sup>[21]</sup>, originades a l'interior d'esporangis [Fig. 14]. La gran majoria són sapròfits, viuen sobre matèria orgànica en descomposició, però també hi ha paràsits facultatius de plantes i, fins i tot, paràsits força especialitzats d'animals i d'altres fongs.

Econòmicament, la seva activitat química és molt important per la seva diversificació, ja que ha permès que moltes espècies hagin estat seleccionades per a la producció i fermentació de certs enzims, àcids orgànics, etc. En canvi, algunes espècies sapròfites tenen una activa participació en la degradació de molts aliments i, n'hi ha que poden causar malalties a l'home. Els trobem molt difosos al sòl, als fons, en matèria orgànica en descomposició de tota mena, o sobre altres bolets.

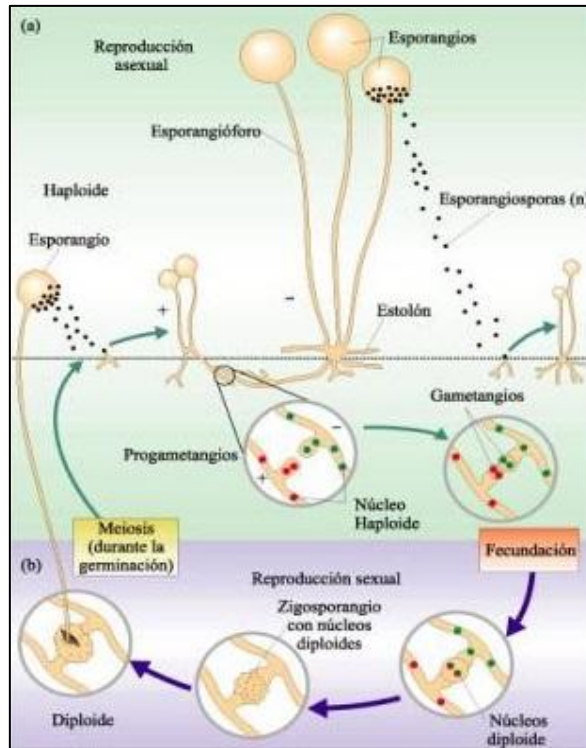


Fig. 14: Cicle de reproducció sexual i asexual dels mucorals.

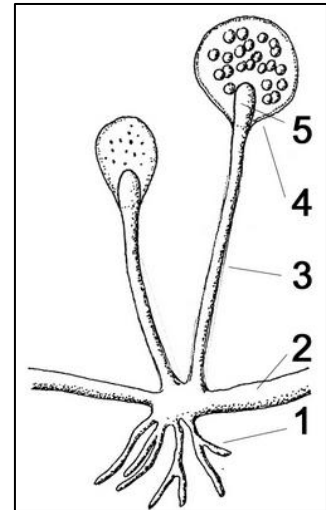


Fig. 15: Estructura d'un fong basal:  
1) Hifas rizoïdals; 2) Hifas de l'estoló;  
3) Esporangiófor; 4) Esporangi;  
5) Columela.

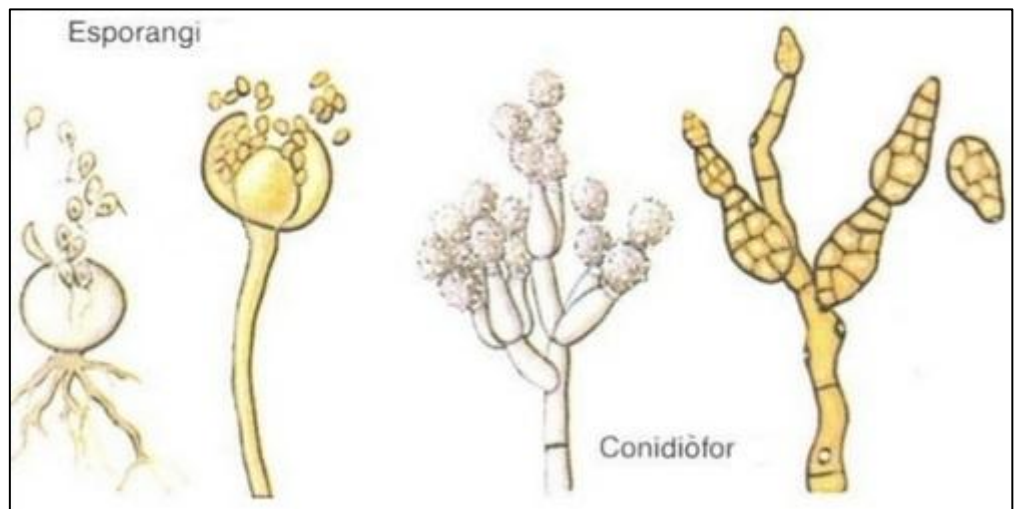


Fig. 16: Diferència entre les parts sexuals dels mucorals (esporangi) i dels ascomicets (conidiòfor).





## 1.3 INFORMACIÓ GENERAL SOBRE ELS DIFERENTS GÈNERES DE FONGS TROBATS A L'INSTITUT SALVADOR VILASECA

### 1.3.1 *Acremonium*, 1821

**Informació:** Antigament anomenat *Cephalosporium*. El gènere *Acremonium* engloba al voltant de 100 espècies de fongs miceliars, la majoria dels quals són sapròfits. Es poden trobar aïllats en matèria vegetal morta, en bolets podrits i en el terra; ens espais interiors resten sobre papers pintats, plàstics, materials de construcció o fusta. Generalment en espais molt humits, amb gran afinitat amb l'aigua. Moltes espècies també són reconegudes com a patògens oportunistes de l'home i dels animals, els quals poden causar artritis, pneumònia, encefalitis i infeccions subcutànies entre altres.

**Descripció:** Les colònies d'*Acremonium* són de creixement generalment lent. Arriben a un diàmetre inferior a 25 mm en 10 dies. Al principi són compactes i humides però amb el temps es tornen pols, vellutades o amb flocs. Poden ser de color blanc, gris, rosa o taronja [Fig. 18]. Les hifes són de parets fines i hialines [27]. Formen simples fiàlids [24] erectes en forma de punxó sobre les cèl·lules conidiògenes. Els conidis, en general, són d'una sola cèl·lula (ameroconidia), hialins o pigmentats; poden adquirir formes des de cilíndriques fins a globoses. Normalment es troben en els extrems dels fiàlids formant cadenes [Fig. 17 i 19].

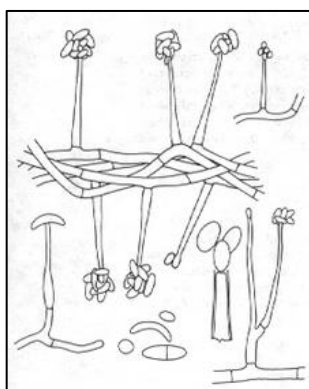


Fig. 17: Esquema comú de l'estructura microscòpia d'*Acremonium*.



Fig. 18: Placa de PDA [41] amb colònia d'*Acremonium*.

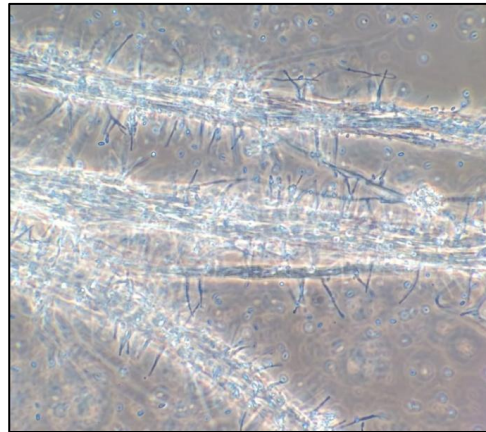


Fig. 19: Estructura microscòpia del fong *Acremonium*. (1000x).

### 1.3.2 *Alternaria*, 1816

**Informació:** El gènere *Alternaria* és un fong miceliar que inclou al voltant de 50 espècies diferents, distribuïdes principalment per regions temperades. A la natura s'acostumen a trobar creixent com a organismes saprobits sobre material vegetal en descomposició, tot i que algunes espècies són patògens de plantes i causen importants pèrdues econòmiques a l'agricultura. És un dels fongs demaciàcis <sup>[15]</sup>, és a dir, les seves hifes vegetatives contenen melanina.

**Descripció:** Les colònies d'*Alternaria* creixen ràpidament i la mida acostuma a assolir un diàmetre de 3-9 cm. La colònia normalment és plana coberta d'un color grisós i forma hifes aèries amb el temps.

La superfície és blanca grisosa al principi i més tard s'enfosqueix i es torna verda, marró, negra o verd oliva. El revers acostuma a ser de color marró tirant a negre degut a la producció de pigments [Fig. 20]. Els conidis són molt característics i es formen en l'extrem de les cèl·lules conidiògenes. Els podem trobar tan en suspensió en l'aire, en el terra, sobre els objectes i en l'aigua. La mida és de 10-50 x 5-14  $\mu\text{m}$  i freqüentment presenten un apèndix simple o dividit, de forma el·líptica o ovoide, normalment amb septes transversals i longitudinals, típicament oblics; tenen parets gruixudes, amb la superfície llisa o rugosa, de color marró pàl·lid o fosc i sovint amb una petita cicatriu conidial <sup>[9]</sup> a la base [Fig. 21].

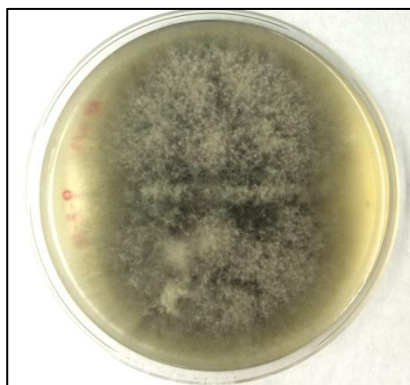


Fig. 20: Placa de PDA amb colònia d'*Alternaria*.



Fig. 21: Conidis d'*Alternaria* procedents d'una colònia. (400x)

### 1.3.3 *Aspergillus*, 1809

**Informació:** El gènere *Aspergillus* engloba una sèrie de fongs micelians hialins que inclouen 170 espècies diferents. És molt freqüent en l'aire d'espais interiors i exteriors, en el terra i en restes vegetals durant tot l'any i arreu del món. Pot créixer en un rang de temperatures de 20-50°C. És conegut per ser un agent causant comú de les infeccions oportunistes en l'home.

**Descripció:** En cultiu, segons l'espècie, les colònies assoleixen els 1-9 cm de diàmetre ràpidament. Acostumen a tenir una superfície amb tacte borralut, a ser de color verd fosc, marró, negre, marró daurat, groc o blanc. El revers acostuma a ser groc pàl·lid o bé incolor [Fig. 23]. A vista del microscopi, els conidiòfors on s'originen les espores, no són septats, es troben tensos sobre el miceli, de parets més gruixudes les quals acaben amb un engrandiment o vesícula<sup>[50]</sup> que pot ser globosa, subglobosa, en forma de bastó o hemisfèrica [Fig. 24], envoltada d'unes cèl·lules suport anomenades mètules<sup>[37]</sup>. Les espores es formen en cadenes basípètes<sup>[6]</sup>, en els extrems de les cèl·lules conidiògenes, que tenen forma d'ampolla, anomenades fiàlids [Fig. 22]. Els conidis de 3-7 µm de diàmetre, són unicel·lulars, esfèrics, hialins o amb color i llises o amb ornamentacions.

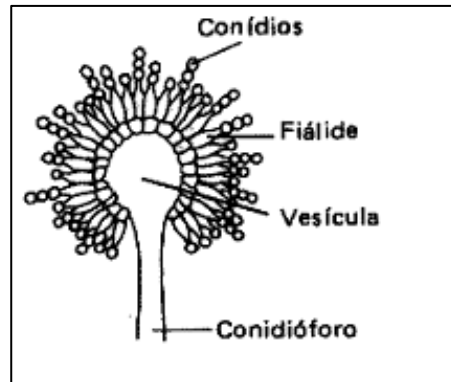


Fig. 22: Estructura microscòpica del fong *Aspergillus*.

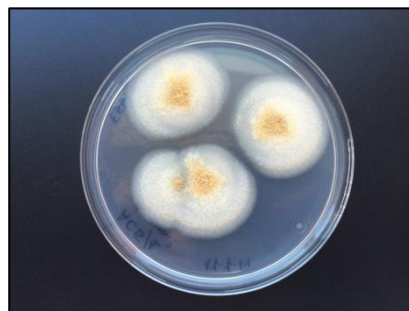


Fig. 23: Placa de PDA amb colònies d'*Aspergillus*.



Fig. 24: Cap conidial d' *Aspergillus* (400x).

#### 1.3.4 *Aureobasidium*, 1891

**Informació:** El gènere *Aureobasidium* és un fong miceliar demaciaci que inclou unes 14 espècies diverses. És comunament trobat en restes vegetals, al terra, en fusta, en teixits i en l'ambient d'aires interiors. És un fong dimòrfic, és a dir, quan envaeix un organisme, es comporta com un llevat.

**Descripció:** Les seves colònies creixen moderadament ràpid. El diàmetre de la colònia acostuma a ser de entre 1-3 cm. La superfície de la colònia és plana, llisa i humida. Normalment de color blanc, rosa pàl·lid o bé groga al principi i posteriorment es torna en marró o negre vellutat amb una capa grisosa a causa de l'envelliment. El revers pot ser pàl·lid o negre [Fig. 26]. Al microscopi únicament es veuen les hifes quan la colònia és madura. Normalment les cèl·lules conidiògenes es troben intercalades en les hifes o en punts terminals de les mateixes. Els conidis mesuren entre 3-6  $\mu\text{m}$ , són unicel·lulars, hialins i de forma cilíndrica o ovala [Fig. 27].



A vegades, les hifes madures fan unes agrupacions anomenades coremis, que formen parets estructurals [Fig. 25].

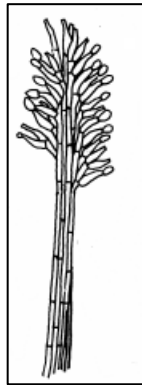


Fig. 25: Agrupació d'hifes en el fong *Aureobasidium*.

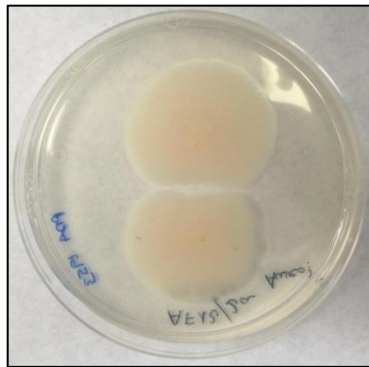


Fig. 26: Placa de PDA amb colònia d'*Aureobasidium*.

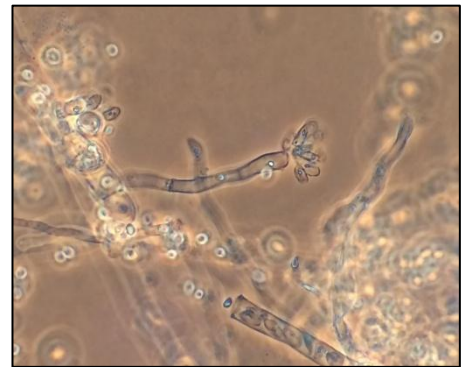


Fig. 27: Estructura microscòpia del fong *Aureobasidium*. (400x)

### 1.3.5 ***Bipolaris*, 1959**

**Informació:** *Bipolaris* és un gènere de fongs demaciàcis que inclou més d'un centenar d'espècies. Moltes d'elles s'acostumen a trobar colonitzant material vegetal en descomposició, però algunes es coneixen com a importants fongs fitopatògens <sup>[25]</sup> que provoquen grans pèrdues econòmiques a l'agricultura, principalment en cultius de canya de sucre i cereals. Algunes també s'han descrit com agents causals d'infeccions oportunistes en l'home especialment afectant les vies respiratòries.



**Descripció:** Les colònies de *Bipolaris* acostumen a créixer ràpidament arribant a assolir entre 3-9 cm de diàmetre. La superfície té una textura vellutada, primerament de color blanc i posteriorment marró grisós, i a mesura que madura més, es torna en color verd oliva i negre amb una perifèria grisosa [Fig. 28]. Les hifes que es formen són septades i marrons. Els conidiòfors de color marró, poden ser tan simples com ramificats, i són flexibles en els punts d'on sorgeixen els conidis. Aquests, també anomenats poroconidiums, mesuren entre 30-35  $\mu\text{m}$  de llargada i 11-13  $\mu\text{m}$  d'amplada. Varien de marró clar a fosc i segueixen un patró de creixement [Fig. 29].

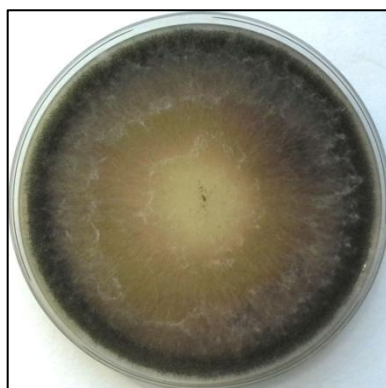


Fig. 28: Placa de PDA amb colònia de *Bipolaris*.



Fig. 29: Conidis procedents d'una colònia de *Bipolaris*. (400x)

### 1.3.6 *Botryotrichum*, 1885

**Informació:** El gènere *Botryotrichum* engloba un total de 10 espècies diferents aproximadament de fongs filamentosos. Majoritàriament són fitopatògens, és a dir, causants de malalties a les plantes, tot i que també se les pot trobar en productes de cel·lulosa, en aigües residuals, excrements d'animals, etc. Algunes espècies es troben parasitant ous de nemàtodes.

**Descripció:** Les colònies són denses i blanques primerament i, al cap del temps es van tornant fosques. El revers habitualment és de color taronja. Són de creixement lent al desenvolupar-se només 2 o 4 cm [Fig. 32]. Els conidis són hialins, tenen forma globular, de tacte aspre i mesuren uns 200  $\mu\text{m}$ . Es poden trobar lliures pel citoplasma o bé, en grup formant cadenes [Fig. 30 i 33]. Presenta esporodoquis <sup>[22]</sup> [Fig. 31].

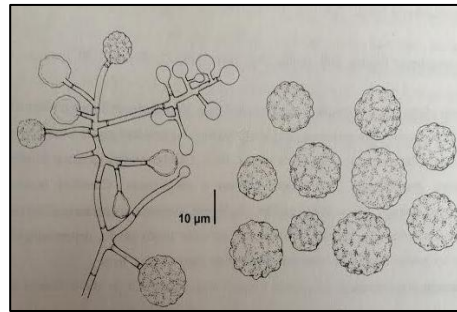


Fig. 30: Conidiòfors i conidis del fong *Botryotrichum*.

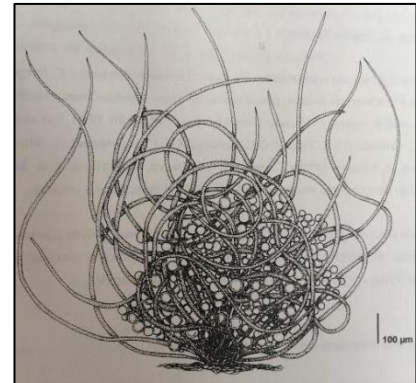


Fig. 31: Esporodocui.



Fig. 32: Placa de PDA amb colònia de *Botryotrichum*.



Fig. 33: Conidis del fong *Botryotrichum* (x400).

### 1.3.7 *Cladosporium*, 1995

**Informació:** Els fongs pertanyents al gènere *Cladosporium* es troben freqüentment a les zones temperades, de muntanya boreal. Es pot localitzar tan en aigües (rius, llacs tan nets com contaminats), hidrocarburs, matèries vegetals en descomposició, nius i plomes d'aus diverses, murals i frescos, pintures de cavallet, dispersat per l'aire atmosfèric, productes alimentaris (llavors, cereals, etc.), terres (cultivades o no), tèxtils (seda, cotó, etc.), etc. Pot arribar a ser tòxic per a l'ésser humà causant al·lèrgies respiratòries. És un dels fongs més comuns transportats per l'aire. Se'n coneixen unes 500 espècies diferents, totes elles demaciàcies.

**Descripció:** Les colònies són de creixement més aviat lent. Acostumen a ser vellutades, de color olivaci marró a marró negre tot i que a vegades també és de color gris.



Amb freqüència es trona pols a causa de l'abundant producció de conidis [Fig. 34]. Les hifes vegetatives, els conidiòfors i els conidis estan pigmentats de la mateixa manera. Els conidiòfors es troben erectes sobre les hifes, poden ser lineals o flexibles i no ramificat o ramificat únicament en les zones apicals. Els conidis mesuren entre 1-4  $\mu\text{m}$ , són unicel·lulars, llisos i es produeixen en un ramificat de cadena acròpeta <sup>[1]</sup>, és a dir, en la cadena de conidis, l'espore més jove es troba en l'extrem més distanciat de l'inici de la cadena [Fig. 35].

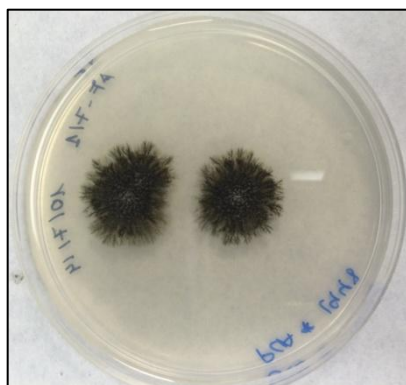


Fig. 34: Placa de PDA amb colònies de *Cladosporium*.



Fig. 35: Imatge on es pot observar les cadenes de conidis. (400x)

### 1.3.8 *Clonostachys*, 1839

**Informació:** El gènere *Clonostachys* conté tres espècies diferents. Normalment són conegudes per la seva capacitat de control biològic a causa de la producció de substàncies volàtils tòxiques per a fongs, bacteris o insectes, els quals podrien ser agents de plagues. Aquestes emissions volàtils es diu que són semblants al diesel, per tant és un possible potencial de biocombustible. També s'ha d'esmentar el comportament sapròfit. A vegades colonitzen plantes vives com un endòfit <sup>[19]</sup>, establint relacions d'antibiosi o bé actuant com un paràsit en altres fongs.

**Descripció:** Les colònies de *Clonostachys* acostumen a créixer ràpidament tot i que no assoleixen gaire amplada –no superen els dos centímetres–. Prenen un color hialí, amb textura granulosa [Fig. 37].

Microscòpicament, es poden diferenciar dos conidiòfors diferents, ambdós amb fiàlids, [Fig. 36] a través dels quals sorgeixen uns conidis amb formes el·lipsoïdals [Fig. 38].



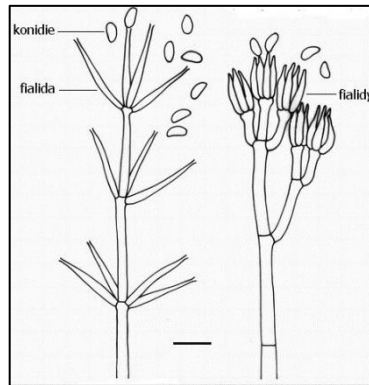


Fig. 36: Esquema de l'estructura microscòpica del fong *Clonostachys*.



Fig. 37: Placa de PDA amb colònia de *Clonostachys*.

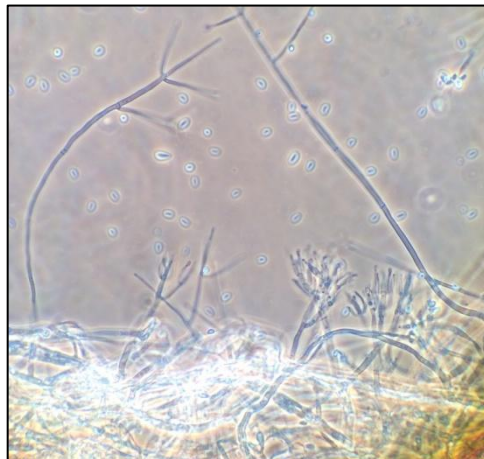


Fig. 38: Imatge on es poden observar els dos tipus de conidiòfors, un curt a la part inferior dreta i l'altre, a la part superior esquerra. (400x)

### 1.3.9 *Epicoccum*, 1824

**Informació:** Els fongs pertanyents al gènere *Epicoccum* es troben àmpliament distribuïts arreu del món i comunament aïllats en l'aire, en el sòl actuant com a sapròfit de plantes i en aliments, tot i que també es poden trobar en animals i tèxtils. Tot i que no es considerat com un patògen humà, es creu que és un dels causants d'al·lèrgies respiratòries.

No s'acostuma a trobar en aïllaments d'aire interior, i és generalment més abundant en ambients secs i ventosos. Només se'n coneixen dues espècies diferents, ambdós demaciàcis.



**Descripció:** Les colònies d'*Epicoccum* creixen ràpidament, amb tendència a expandir-se i amb una forta pigmentació groga inicialment i una posterior de color taronja - marró. Poden tenir un tacte llanós, cotonós o esponjós [Fig. 40]. Els conidiòfors, són curts i agrupats en forma de raïms. El conjunt d'aquests s'anomena esporodòquis. Les espores són de color marró fosc, globosos, rugosos i, quan són madurs, amb septes interns. Els conidis degut a la seva gran mida (15-25  $\mu\text{m}$ ), es poden distingir com a petits punts negres [Fig. 41].

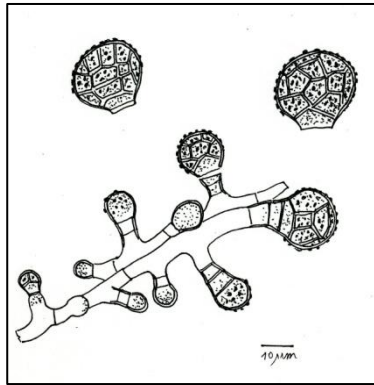


Fig. 39: Forma dels conidis del fong d'*Epicoccum*. *Epicoccum*.

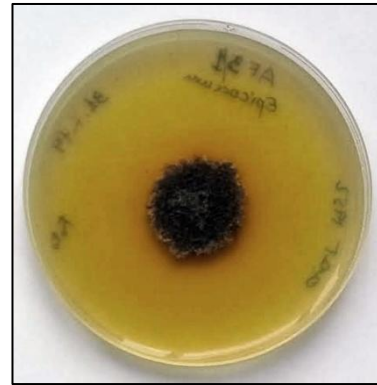


Fig. 40: Placa de OAT <sup>[39]</sup> amb colònia d'*Epicoccum*.

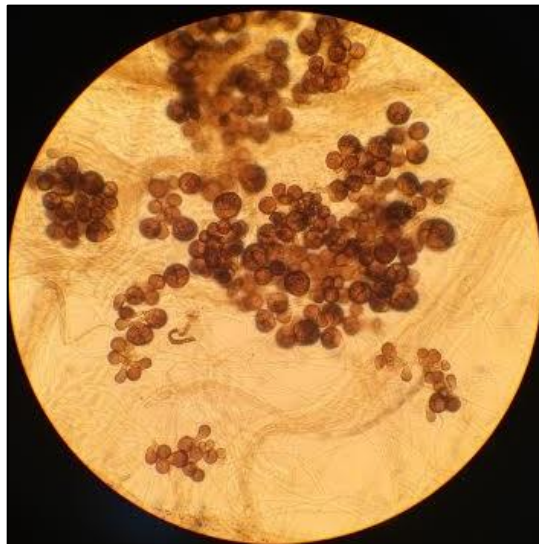


Fig. 41: Imatge microscòpica de *Epicoccum* on es poden veure els conidis, tan joves com madurs, i els conidiòfors a la part inferior de la imatge. (400x).



### 1.3.10 *Fusarium*, 1821

**Informació:** El gènere *Fusarium* conté entre 50 i 70 espècies diferents que es troben extensament distribuïdes en les plantes, generalment en la microflora normal de productes bàsics com ara l'arròs, la civada, el blat de moro i l'avena i, en el sòl. Tot i que són més comunes trobar-les en àrees tropicals i subtropicals, algunes habiten en el sòl de climes freds. És molt conegut per ser causant de contaminacions i com a patògen en vegetals. També pot causar diverses infeccions en humans.

**Descripció:** Les colònies generalment creixen ràpidament. Depenent de l'espècie adopten colors pàl·lids o brillants. Algunes d'elles poden tenir un miceli aeri cotonós. El color del tal·lus pot variar des de tons blanquinosos i grocs fins a marrons, roses, vermells o tons liles [Fig. 43]. Els conidiòfors s'agrupen en esporodòquis amb fiàlids relativament allargats produint macroconidis i microconidis. Els macroconidis són hialins, de dos a varies cel·les, en forma de falç i en la seva majoria amb una cel·lula apical allargada a l'extrem inferior.

Els microconidis són d'una a dues cel·lules, hialins i adquirint diverses formes (piriforme, fusiforme o ovoide, recta o corba) [Fig. 44].

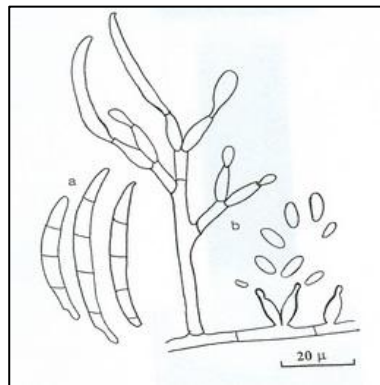


Fig. 42: Representació dels diversos tipus de conidis. (a: macroconidis; b: microconidis).

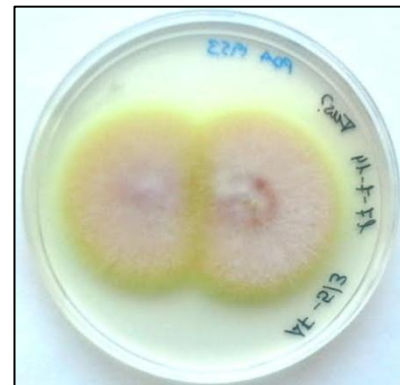


Fig. 43: Placa de PDA amb colònia de *Fusarium*.

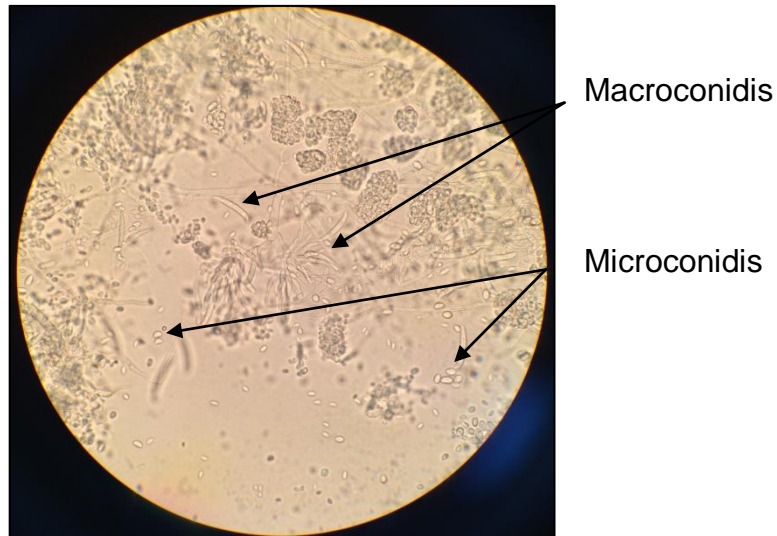


Fig. 44: Visió microscòpica dels microconidis i macroconidis de *Fusarium*. (400x)

### 1.3.11 *Humicola*, 1914

**Informació:** El gènere *humicola* conté 20 espècies diferents. És un fong cosmopolita <sup>[14]</sup>. Normalment es troba aïllat del sòl i de la matèria vegetal.

**Descripció:** Les colònies del fong *humicola* tenen una taxa de creixement lent. La textura de la colònia és cotonosa, normalment d'un color fosc [Fig. 46]. Microscòpicament, podem veure els conidis que neixen directament de les hifes vegetatives o conidiòfors. Els conidis són grans i globosos [Fig. 45 i 47].

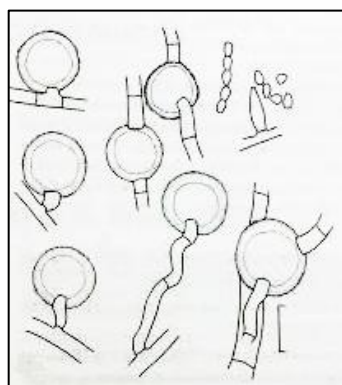


Fig. 45: Esquema de les hifes i conidis del fong *Humicola*.

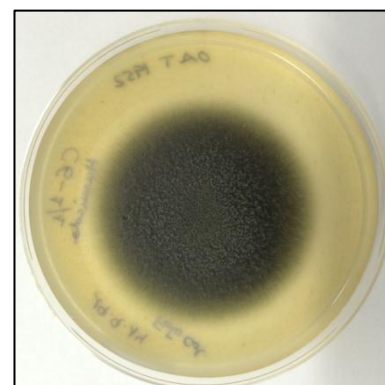


Fig. 46: Placa d'OAT amb una colònia d'*Humicola*.

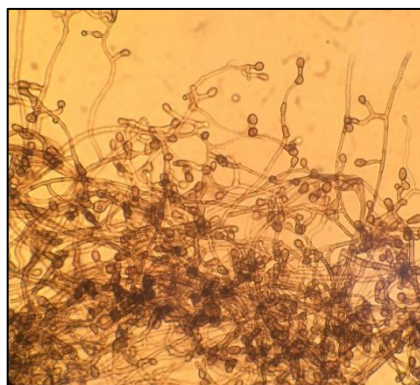


Fig. 47: Visió microscòpica on es poden les hifes vegetatives i els conidis. (400x)

### 1.3.12 *Mucor*, 1821

**Informació:** El gènere *Mucor* conté més de 50 espècies reconegudes que es troben principalment en el sòl, plantes, fruites i plantes en descomposició. A més de ser ubic <sup>[49]</sup> en la naturalesa i un contaminant comú en els cultius fúngics dels laboratoris, algunes de les seves espècies són de gran importància econòmica.

A causa de la seva termotolerància, poques espècies poden causar infeccions en l'home –la seva activitat als 36°C és molt limitada–, tot i això, és possible trobar-lo causant infeccions en el bestiar. És l'únic fong d'aquest treball que no pertany a la família dels ascomicets, sinó que pertany als fongs basals.

**Descripció:** Les colònies de *Mucor* creixen i s'expandeixen per la placa molt ràpidament en temperatures al voltant de 25-30°C. Té una aparença esponjosa amb una altura de diversos centímetres. La superfície és de color blanc inicialment i amb el temps es converteix en marró grisós [Fig. 49]. Microscòpicament, es troben hifes no septades o escassament, amples –entre 6 i 15 µm–; els esporangiòfors curts, erectes i estrets en els extrems; les columel·les són hialines i gairebé invisibles si l'esporangi no s'ha trencat. Els esporangis són rodons –de entre 50 i 300 µm de diàmetre–, de color gris o negre i plens d'esporangiospores [Fig. 50]. Quan els esporangis es trenquen per alliberar les espores, queden disperses les parets cel·lulars que els formaven anomenades collaretes <sup>[10]</sup>. Les esporangiospores, són rodones o lleugerament allargades amb un diàmetre de 8 µm aproximadament.

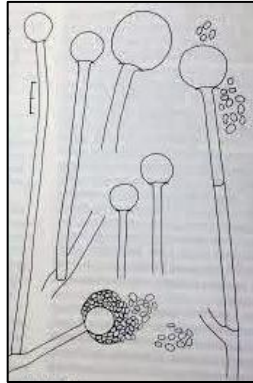


Fig. 48: Estructura microscòpica del fong *Mucor*.

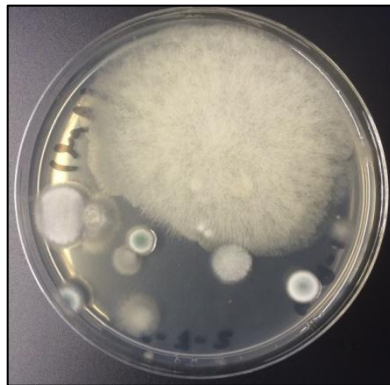


Fig. 49: Placa de PDA amb colònia de *Muco* - la que té més extensió -.

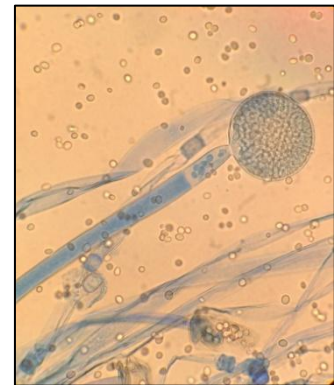


Fig. 50: Imatge on es pot veure la hifa no septada amb l'esporgi ple d'espores. (400x)

### 1.3.13 *Paecilomyces*, 1909

**Informació:** És pot dir que el fong *Paecilomyces* és omnipresent ja que es pot trobar tant en l'aire, com en plantes, com en el sòl, com en aliments... A vegades també es pot aïllar en insectes. És considerat com a agent contaminant, però poc freqüentment com a causant d'infeccions en l'home. Se'n diferencien més de 80 espècies diferents.

**Descripció:** Les colònies de *Paecilomyces* creixen molt ràpid i maduren amb tres dies aproximadament. Normalment es desenvolupen a temperatures al voltant dels 30°C, tot i què n'hi ha de termòfiles que creixen a temperatures entre 50°C i 60°C. Són planes, polsoses i amb textura vellutada.



El color inicialment és blanc i posteriorment es transforma en groc, groc-verd, groc-marró, rosa o violeta, depenent de les espècies. El revers és blanc brut, ant o marró [Fig. 52]. Les hifes són septades i hialines. Els conidiòfors mesuren entre 3-4  $\mu\text{m}$  d'amplada i 400-600  $\mu\text{m}$  de longitud sovint estan ramificats, portant fiàlids en les seves puntes. Aquests estan inflats en les seves bases i s'estrenyen cap als seus àpex <sup>[4]</sup>. Normalment es troben agrupats en parelles o bé en forma de gotims de raïm. Els conidis, formats en les puntes dels fiàlids, són unicel·lulars, i tant el color, hialins o foscos, com la textura, suaus o rugosos, i com la forma, oval o formant llargues cadenes, depenent de les diferents espècies [Fig. 53]. L'estructura microscòpica és semblant al fong *Penicillium*, tot i que es diferencia per la forma de les cadenes i el color verdós dels conidis propi del fong *Paecilomyces* [Fig. 50].

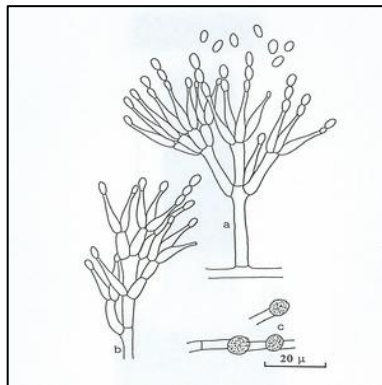


Fig. 50: Esquema estructura microscòpica del fong *Paecilomyces*.



Fig. 52: Colònia en PDA del fong *Paecilomyces*.



Fig. 53: Visió al microscopi del fong *Paecilomyces*. (400x)



### 1.3.14 *Penicillium*, 1909

**Informació:** El gènere avarca més de 200 espècies diferents, sent un dels més abundants en el sòl. Els llocs més comuns on es pot trobar és als aliments, en teixits –sobretot en el cuir–, en restes vegetals en descomposició, en materials de construcció malmesos per l'aigua, en l'aire... Algunes espècies produeixen toxines, tot i això, moltes espècies de *Penicillium* són beneficiosos per l'ésser humà, com per exemple, gràcies a elles és possible l'ús de l'antibiòtic penicil·lina ja que es sintetitza a partir d'una substància que secreten de forma natural, o bé la fabricació de formatges com ara el Rocafort o el Camembert, els quals són absolutament segurs de menjar. Sense esporulació, és quasi bé indistingible amb el gènere *Aspergillus*.

**Descripció:** Les colònies de *Penicillium* són de creixement ràpid, filamentós i llanós o cotonós. Són inicialment blanques i posteriorment es tornen verdes blavoses, grises verdoses, gris oliva, grogueses o rosades amb el temps. El revers de la colònia és pàl·lid o grogós [Fig. 56]. Les hifes són septades i hialines, amb conidiòfors simples o ramificats, mètules –ramificacions secundàries que es formen sobre els conidis–, fiàlids i conidis. L'organització dels fiàlids en les puntes dels conidiòfors és típica per la semblança a un pinzell. Els conidis de 2,5–5  $\mu\text{m}$  són rodons, unicel·lulars i agrupades en cadenes no ramificades en els extrems dels fiàlids [Fig. 57]. En algunes espècies, grups d'èrectes conidiòfors que han perdut la seva individualitat, s'agrupen formant unes estructures anomenades sinema <sup>[46]</sup> [Fig. 55]. Macroscòpicament es poden veure ja que són petites esferes negres.

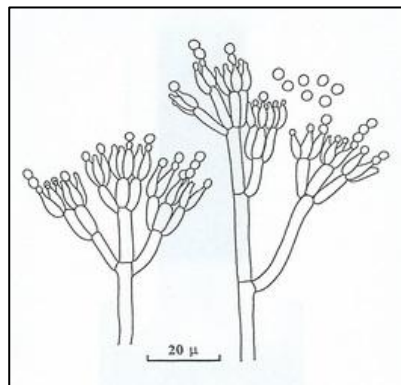


Fig. 54: Estructura microscòpica del fong *Penicillium*.

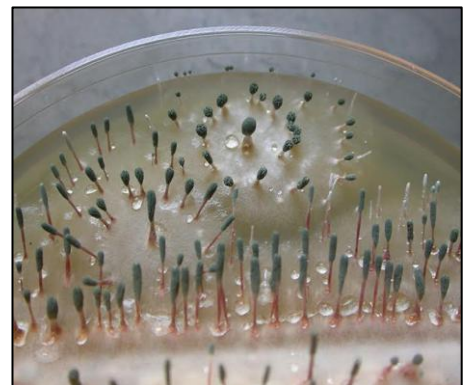


Fig. 55: Sinema.





Fig. 56: Placa de PDA amb tres colònies de *Penicillium*.

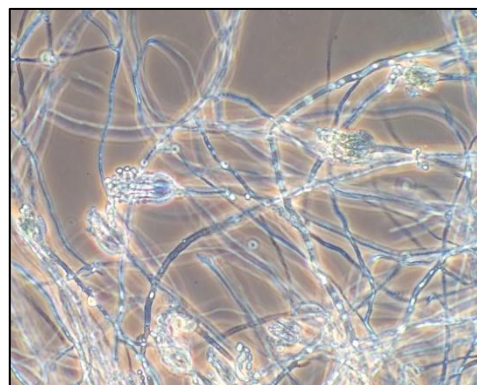


Fig. 57: Imatge de l'organització microscòpica. (400x).

### 1.3.15 *Phoma*, 1880

**Informació:** Els fongs pertanyents al gènere *Phoma* estan molt distribuïts arreu del món. És un dels gèneres més grans de tots, tenint en si 2000 espècies diferents; fet que dificulta la seva identificació taxonòmica sovint. Com a fong habitual, es pot trobar en el sòl, en matèria vegetal en descomposició o actuant com a patògen de les plantes. Varies espècies de *Phoma* s'adapten fàcilment en els paràmetres ambientals interiors i prosperen en els materials de construcció, com ara la fusta. També és comú trobar-lo en paper, tèxtils –com la llana o el cuir–, o els aliments que contenen grasses vegetals i animals.

La prevalença d'espores en l'aire exterior acostuma a ser baix, ja que són més comuns i abundants en la superfície de fulles. Algunes de les espècies produeixen importants micotoxines [38]. Normalment no estan associats en malalties humanes.

**Descripció:** Les colònies de *Phoma* s'estenen amb un color marró grisos, de tacte polsoses o vellutades. [Fig. 60] Ràpidament es formen els picnidis [42] grans ( de 150 a 300  $\mu\text{m}$ ), els quals són els cossos fructífers del fong, on dins seu, hi trobem les cèl·lules conidiògenes. Els conidis, que són petits –menys de 15  $\mu\text{m}$ –, unicel·lulars, transparents i globulosos o cilíndrics, s'acumulen a l'interior del picnidi [Fig. 59]; quan aquest està ple, els conidis surten al exterior a través de l'orifici del propi picnidi [Fig. 61].

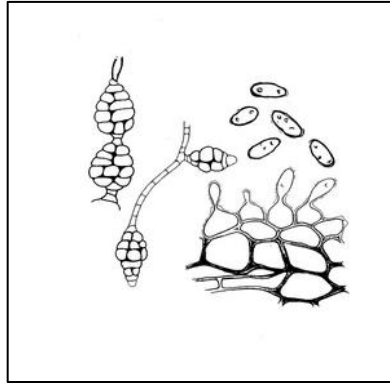


Fig. 58: Esquema estructural microscòpica del fong *Phoma*.

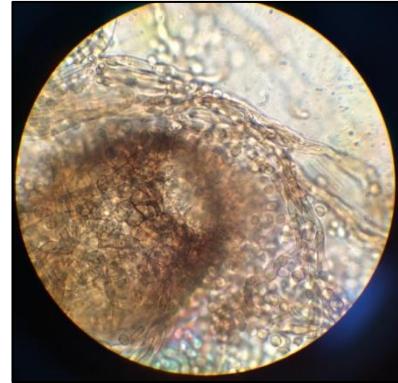


Fig. 59: Picnidi amb els conidis a l'exterior. (400x)

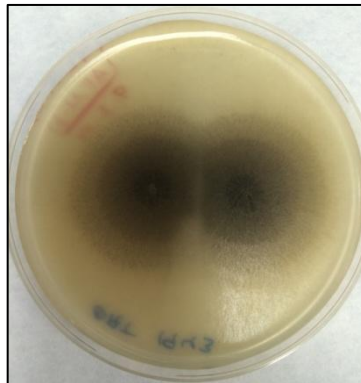


Fig. 60: Placa de PDA amb colònia de *Phoma*.

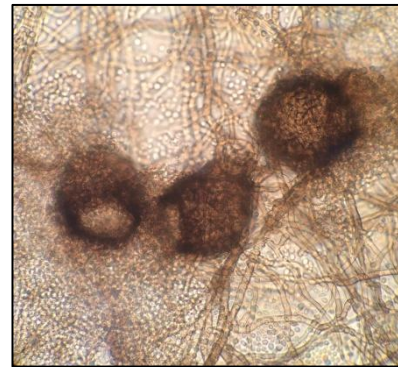


Fig. 61: Visió microscòpica del fong *Phoma*. (200x)

### 1.3.16 *Pithomyces*, 1973

**Informació:** Els fongs pertanyents al gènere *Pithomyces* es pot dir que són cosmopolites en la naturalesa. Existeixen més de 40 espècies diferents dins d'aquest gènere, totes elles demaciàcies. Els llocs més freqüents on es pot trobar actuant com a fong sapròfit són en les fulles mortes d'algunes plantes, en el sòl i en els camps de pastura; rarament es troba en espais interiors, tot i que en condicions adequades es pot trobar en el paper, en les teulades i en catifes. Tot i que actualment no es coneix com a patògen humà, està en estudi com a possible agent al·lèrgic.

**Descripció:** Les colònies de *Pithomyces* són de creixement ràpid. El color de la superfície de la colònia pot variar des de tonalitats clares fins a fosques com ara el marró fosc; el revers acostuma a ser de color marró fosc. Tenen una textura cotonosa. L'esperulació de les colònies és lenta [Fig. 63].



Els conidis són multicel·lulars i pigmentats. Mesuren entre 20 i 30  $\mu\text{m}$ . Presenten septes transversals i longitudinals i la forma pot evolucionar des de forma de barril, a el·lipse o bé en forma de cub [Fig. 65].

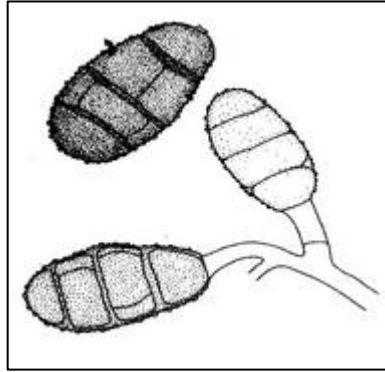


Fig. 62: Esquema estructura microscòpica del fong *Pithomyces*.



Fig. 63: Placa de PDA amb colònies de *Pithomyces*.



Fig. 64: Estructura microscòpica on es pot observar la formació de conidis, tintats de color blau.

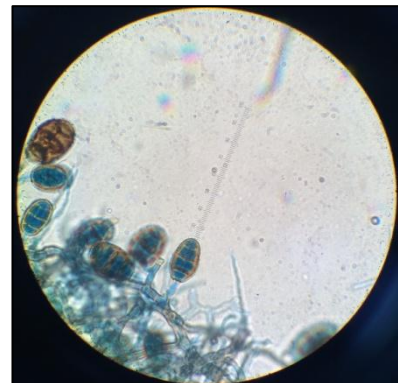


Fig. 65: Conidis ja madurs de *Pithomyces*.

### 1.3.17 *Scedosporium*, 1919

**Informació:** En el gènere *Scedosporium* es diferencien tres espècies diferents. Les tres espècies, demaciàcies, es poden trobar comunament en mostres de sòl i afectant a pacients immunocompetents<sup>[28]</sup> i immunodeprimits<sup>[30]</sup>, tan humans com animals. Són resistents a la majoria dels fàrmacs antifúngics, el que comporta que la infecció sigui sovint mortal.



**Descripció:** Les colònies de *Scedosporium* acostumen a créixer i madurar amb rapidesa. La textura és cotonosa i humida al principi, com si fos un llevat, i posteriorment es transforma en una textura plana amb fines, curtes i petites tires de miceli. El color de la colònia minva de gris clar a negre a mesura que va madurant. El revers és de color gris o negre [Fig. 68]. En la visió microscòpica veiem que té unes hifes septades hialines; unes cèl·lules conidiògenes, anomenades annèlides, [Fig. 67] que poden sorgir directament de les hifes o bé formar-se en les puntes dels conidiòfors, tenen forma d'ampolla i tenen la base inflada amb un coll allargat; els conidis, que mesuren entre 3 i 13  $\mu\text{m}$  són unicel·lulars, de forma ovalada i de color oliva tirant a marró [Fig. 69]. Es formen en els raïms en l'àpex de les annèlides. Alguns ceps poden produir conidis rodons, de parets gruixudes que deriven directament de les hifes.

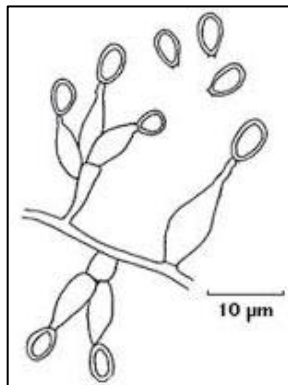


Fig. 66: Esquema de l'estructura microscòpica del fong *Scedosporium*.

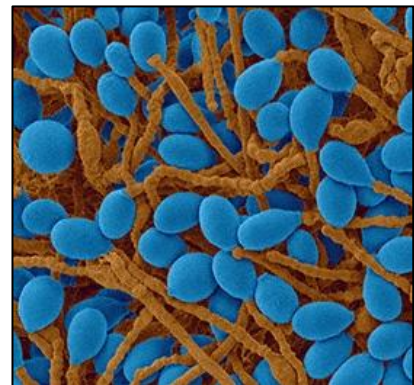


Fig. 67: Visió microscòpica de les hifes (marró) i les annèlides (blau) observada a través d'un microscopi electrònic d'escandellatge.



Fig. 68: Placa de PDA amb una colònia del fong *Scedosporium*.

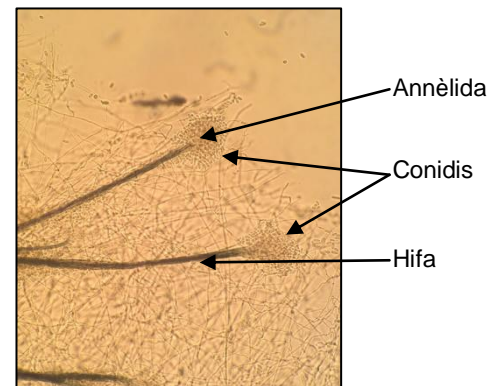


Fig. 69: Estructura microscòpica del fong *Scedosporium*. (400x)



### 1.3.18 *Stemphylium*, 1833

**Informació:** El gènere *Stemphylium* conté més de 20 espècies demaciàcies diferents, les quals estan distribuïdes principalment en matèria vegetal, tan viva com en descomposició, provocant plagues en plantes. També es poden trobar, tot i que en menys freqüència, associats a la degradació i destrucció de llana, cotó, lli i cuir, entre altres productes d'origen animal. Ocasionalment, també se'ls pot trobar en espais interiors, com en les pintures i plàstics, si les condicions de humitat són òptimes. Algunes d'elles poden produir micotoxines.

El fong *Stemphylium* pot ser el causant de reaccions al·lèrgiques en humans. No confondre amb *Ulocladium* ja que l'estructura microscòpica és molt semblant.

**Descripció:** Les colònies de *Stemphylium* creixen i maduren ràpidament. Tenen una textura que pot variar des de vellutada fins a cotonosa. Adopten un color gris, marró o bé marró-negre. El revers és negre [Fig. 71]. Microscòpicament, es poden observar les hifes septades de color marró clar; els conidiòfors— que poden ser simples o ramificats— presenten una protuberància produïdes fàcilment per l'envelliment; i les cèl·lules conidiògenes que estan situades en l'extrem de les protuberàncies. Els conidis, que mesuren entre 12-25 µm, són solitaris, de color marró fosc o negre, i de parets llises o rugoses [Fig. 72]. Poden adquirir formes tals com oblongues o rodones. Tenen septes transversals i verticals; en la base tenen una cicatriu.

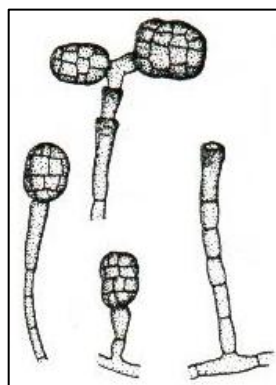


Fig. 70: Esquema de l'organització interna del fong *Stemphylium*.

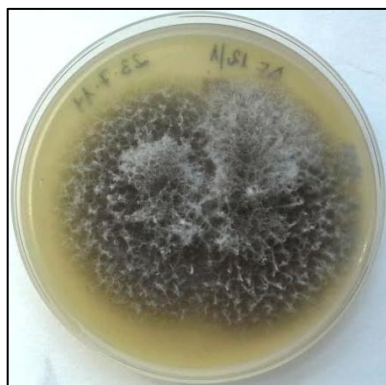


Fig. 71: Placa de PDA amb colònia d'*Stemphylium*.



Fig. 72: Conidis d'*Stemphylium* procedents d'una colònia, on es poden observar les protuberàncies. (1000x)

### 1.3.19 *Trichoderma*, 1801

**Informació:** El gènere *Trichoderma* recull una vintena d'espècies diferents. Els fongs pertanyents a aquest gènere són sapròfits cosmopolites ubics en el medi ambient, especialment en el sòl i la fusta en descomposició. Són contaminants habituals en cultius fúngics. Se'ls coneix per ser causants d'al·lèrgies i, en pacients immunocompromesos <sup>[29]</sup>, causants d'infeccions fúngiques. Algunes espècies produeixen metabòlits antifúngics i moltes micotoxines. Aquests fongs tenen un gran interès per a la indústria alimentària per a la producció de cel·lulasa <sup>[8]</sup> i aromes. Algunes espècies també s'empren per al control biològic per a la protecció d'arbres i plantes de cultiu contra l'atac de patògens de les plantes.

**Descripció:** Les colònies de *Trichoderma* creixen i maduren ràpidament. Les colònies tenen una textura cotonosa que es torna compacta amb el temps. Al principi són de color blanquinós i a mesura que es van formant els conidis, les zones en que hi són present, es tornen de color blau-verd o groc-verd. A vegades, aquestes parts acolorides poden formar anells concèntrics. El revers és pàl·lid o grogós [Fig. 74]. En l'estructura interna es poden apreciar les hifes septades hialines, els conidiòfors hialins, ramificats i en ocasions presentant una disposició piramidal, els fiàlids hialins en forma d'ampolla i inflats en la base, que poden ser solitaris o agrupats en gotims de raïm i els conidis, de 3 µm de diàmetre aproximadament, unicel·lulars, amb parets suaus o rugoses i rodons o el·lipsoïdals. Es troben agrupats en els caps enganxosos de les puntes dels fiàlids. Normalment són de color verd [Fig. 75].



Sovint, en les preparacions microscòpiques, l'estructura queda malmesa i es fa difícil de veure.

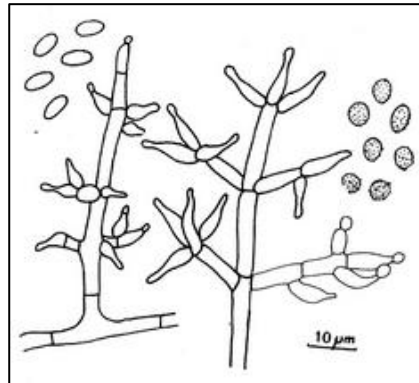


Fig. 73: Esquema de l'estructura microscòpica del fong *Trichoderma*.

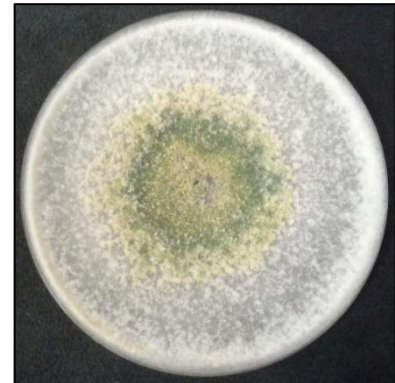


Fig. 74: Placa de PDA amb colònia del fong *Trichoderma*. Es poden observar els anells concèntrics que formen els conidis.

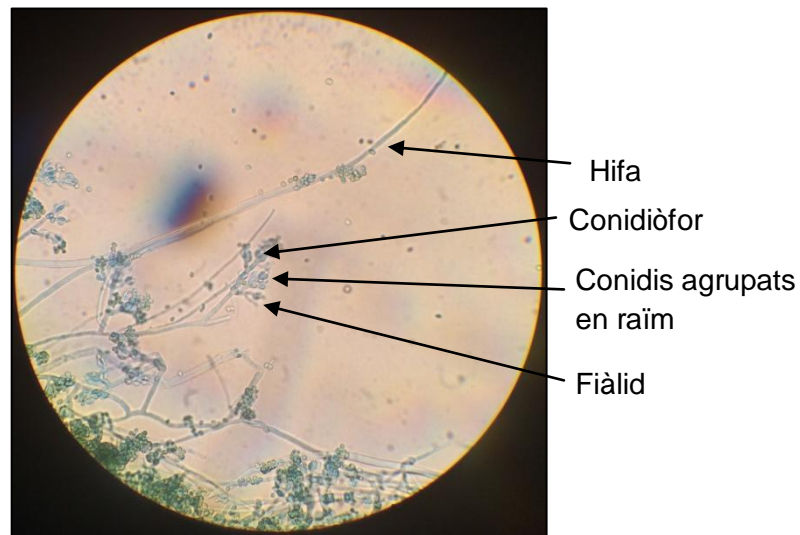


Fig. 75: Estructura microscòpica del fong *Trichoderma*. (400x)

### 1.3.20 **Wardomyopsis, 1978**

**Informació:** El gènere *Wardomyopsis* consta actualment de tres espècies, totes elles sempre aïllades del sòl. Es desconeix però, el paper biològic d'aquests fongs en l'esmentat substrat.

**Descripció:** Les colònies d'aquest fong tenen un creixement restringit. Són de color fosc –grises o negres– [Fig. 77]. Els conidiòfors són simples o ramificats i hialins o de colors pàl·lids [Fig. 76].



Les cèl·lules conidiògenes són terminals o laterals, cilíndriques i subgloboses. Els conidis, que mesuren entre 3 i 5  $\mu\text{m}$ , formen curtes cadenes basípètes, unicel·lulars, globosos o el·lipsoïdals, de color oliva, negrosos si es troben en massa i amb una marcada línia germinal en posició longitudinal al madurar [Fig. 78].

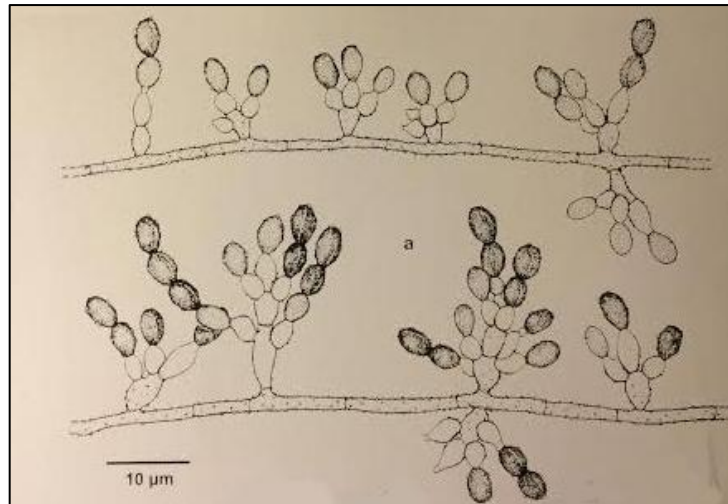


Fig. 76: Conidiòfors i conidis del fong *Wardomyces*.



Fig. 77: Placa d'OAT amb colònies de *Wardomyces*.

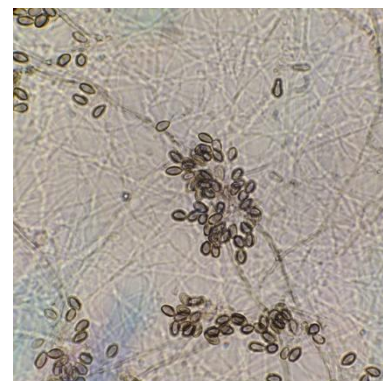


Fig. 78: Conidis pertanyents a una colònia de *Wardomyces*





## **2. PART EXPERIMENTAL**

### **2.1 ORIGEN I TIPUS DE MOSTRES ESTUDIADES**

Per dur a terme la part pràctica d'aquest treball de recerca i un posterior estudi, els principals tipus de mostres estudiats han estat el sòl i l'aire.

Tot el material estudiat procedeix, exclusivament, de l'Institut Salvador Vilaseca de Reus. Els parterres emprats han sigut agafats del claustre de l'institut –en uns punts de mostreigs concrets– i, les mostres d'aire s'han agafat, des de les finestres, del mateix claustre, del pati exterior, i del Carrer Balmes.

### **2.2 RECOLLIDA I ACTIVACIÓ DE LES MOSTRES**

La recollida de les mostres es va dur a terme el dia 27 de juny de 2014.

Per a les dues mostres diferents, les tècniques emprades van ser les següents:

#### **2.2.1 Sòl**

Les mostres del terra es van recollir amb l'ajuda d'una pala jardinera, el més asèpticament possible. Primerament es va netejar la superfície d'on s'havia d'agafar la mostra de manera que no s'agafés ni matèria vegetal, ni la capa més superficial de la terra per pervenir qualsevol organisme puntual. Es va trossejar la terra per no agafar cap pedra ni petites branques, a més intentant que quedés de manera més solta i manipulable per els següents processos [Fig. 78]. Cada mostra, d'uns 50 grams, es van introduir en una bossa de plàstic estèril i, aquesta, es va tancar hermèticament amb la finalitat de preservar al màxim, la humitat inicial. En la part externa de la bossa es va anotar el codi d'identificació i, simultàniament, s'apuntava en una llibreta les següents dades: data de recollida i punt de mostreig del qual provenia la mostra –basant-se en el plànol–. Posteriorment, al laboratori d'investigació de la Facultat de Medicina de Reus, les mostres es van guardar, en el mateix envàs de recollida, a una temperatura de 4°C durant 10 dies fins al seu processat [Fig. 79].



Fig. 78: Recollint les mostres dels parterres del claustre.



Fig. 79: Guardant les mostres recollides en una cambra frigorífica.

### 2.2.2 Aire

En el cas de les mostres d'aire es van emprar plaques de Petri PDA.

Primerament, repetint el procés igual que en les mostres de sòl, es van numerar les plaques amb el seu codi d'identificació i, en la llibreta, es van apuntar les diferents dades: localització de la mostra –**AF** si es tractava d'una mostra del pati exterior o del Carrer Balmes o **AC** si es tractava d'una mostra del claustre–; número de la placa corresponent en cada finestra seguint l'ordre en que s'havien col·locat; data de la recollida i component del medi de cultiu de les plaques.



Per fer-ho es van col·locar dues plaques en cadascuna de les finestres, marcades en el plànol, tan de dins del claustre com del pati exterior i del Carrer Balmes [Fig. 80 i 81]. Van romandre obertes durant una hora i, tot seguit acabat aquest, es van recollir amb el mateix ordre que es van posar [Fig. 82]. Tot seguit, les plaques van ser traslladades al laboratori d'investigació de la Facultat de Medicina de Reus on es van posar a incubar a 25°C durant 10 dies, revisant-les periòdicament cada tres dies [Fig. 83].



Fig. 80: Plaques obertes col·locades en una finestra del claustre de l'institut. .

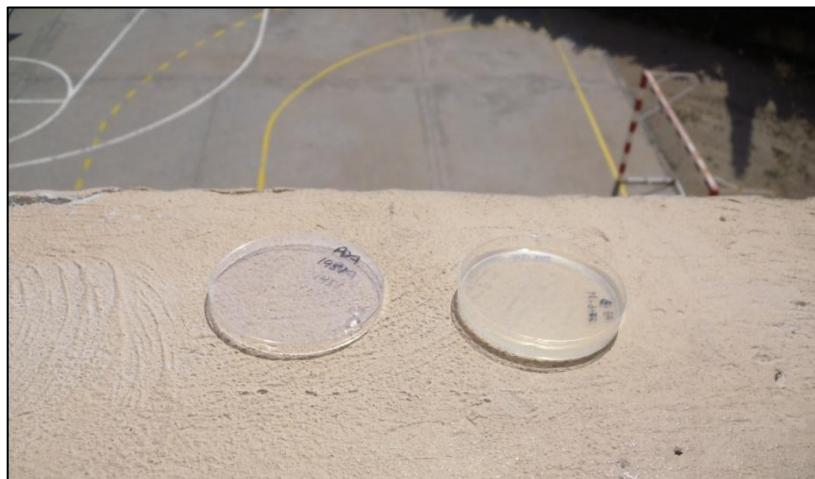


Fig. 81: Placa oberta col·locada en la finestra del pati exterior.



Fig. 82: Recollint la placa després d'haver transcorregut el temps òptim.

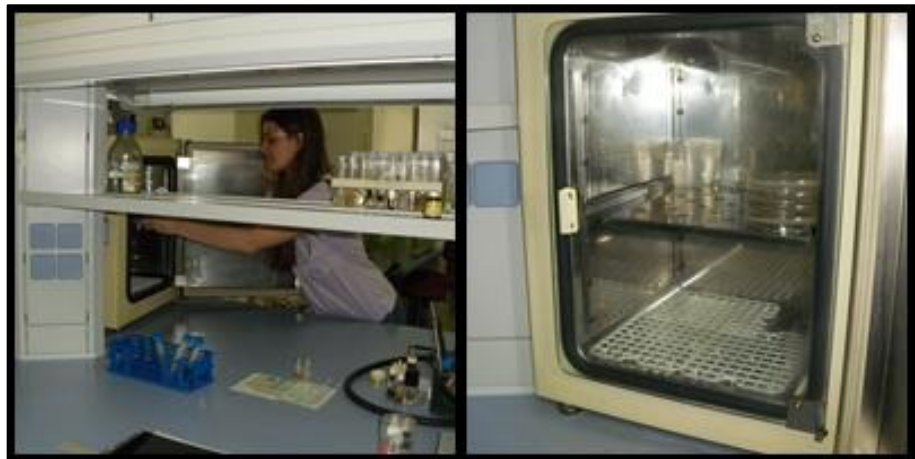


Fig. 83: Introduint les mostres en l'estufa a 25°C durant 10 dies.

## 2.3 CULTIU DE LES MOSTRES

El processat de les mostres va ser diferent depenent de la seva procedència.

Durant el processat, sempre es va tenir encès un cremador Bunsen, intentant treballar dins del seu radi estèril –uns 15 cm aproximadament– amb el fi que la mostra no es contaminés amb altres microorganismes.



### 2.3.1 Sòl

Per a l'obtenció de colònies fúngiques, a partir de les mostres de terra recollides anteriorment, es va dur a terme una tècnica de dilució amb aigua estèril.

Per dur-la a terme, es van seguir els següents passos:

En un tub que contenia 10 ml d'aigua estèril, prèviament numerat amb el lloc de parterre que li corresponia, s'hi va introduir una quantitat aproximada d'un gram de sòl [Fig. 84]. Amb l'ajuda d'una pipeta estèril (canviant la punta en cada transferència) es van realitzar dilucions progressives amb un factor de dilució 1:10 en tubs de 9 ml d'aigua estèril [Fig. 85]. Abans de fer cada dilució, les mostres es barrejaven amb l'ajuda de la màquina Vòrtex<sup>[51]</sup> per a que tota la mostra tingués les mateixes partícules. De la dilució 1:100, es va sembrar 0,5 ml de la superfície en una placa de Petri amb medi de cultiu – nomenada amb la part del sòl que corresponia, la data de sembra i el factor de dilució– i, amb l'ajuda de la nansa de Digralsky<sup>[16]</sup> es va estendre per tota la superfície i es va deixar assecar [Fig. 86]. Posteriorment es van incubar les plaques a 25°C aproximadament durant uns 10 dies. Aquest procés es va dur a terme amb cadascuna de les mostres agafades prèviament.

Els primers cultius que es van fer, és van sembrar en plaques de PDA més cloramfenicol (antibiòtic) i de DRBC<sup>[18]</sup> [Fig. 87]. Al veure que els cultius no es desenvolupaven prou bé en les plaques de Petri amb el medi de cultiu DRBC, es va optar per suprimir-lo i, fer la rèplica del cultiu amb una altra placa de PDA [Fig. 88]. També s'ha de dir que, en els primers cultius es van sembrar dilucions amb factor de dilució 1:100, 1:1000 i 1:10000. Com que els resultats no van ser esperats ja que en les dilucions 1:1000 i 1:10000 el creixement fúngic era molt pobre, es va optar per sembrar únicament, dues plaques amb factor de dilució 1:100.

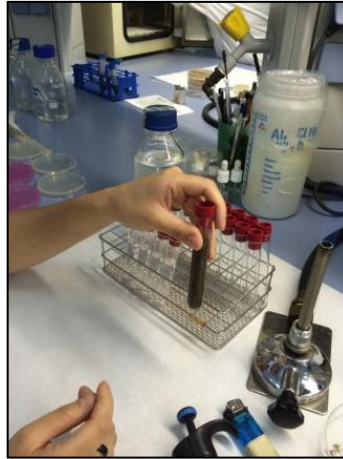


Fig. 84: Preparant les dilucions mare.



Fig. 85: Diluint la mostra obtinguda.



Fig. 86: Sembrant l'última dilució obtinguda.

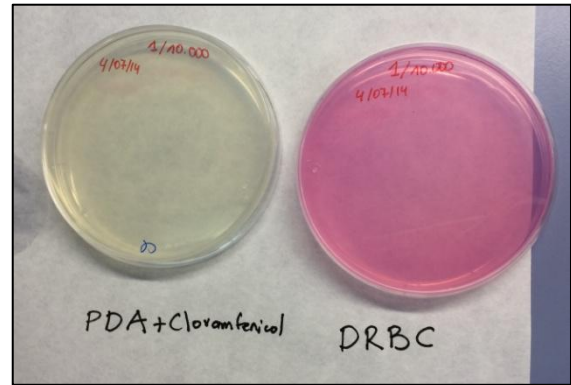


Fig. 87: Plaques emprades en el banc de dilucions.

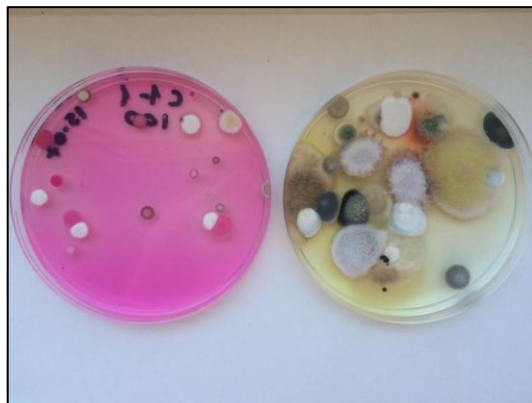


Fig. 88: Diferència en el creixement fúngic entre les plaques de DRBC (rosa) i PDA amb cloramfenicol (blanca).

### 2.3.2 Aire

Les mostres recollides de l'aire no es van sotmetre a cap processat específic perquè ja es trobaven en plaques de Petri amb medi de cultiu òptim.



## 2.4 OBSERVACIÓ DELS FONGS DESENVOLUPATS

Els fongs que es van desenvolupar en qualsevol de les mostres, es van localitzar i examinar prèviament amb un microscopi estereoscòpic –*Cambridge Instruments*– [34] [Fig. 89]. Seguidament i per a la seva identificació es feia el següent: amb l’ajuda d’una agulla hipodèrmica [2], s’extreia una petita porció de la colònia i es dipositava sobre un portaobjectes, on prèviament s’havia posat una gota de lactofenol–blau cotó [31], com a medi de muntatge [Fig. 90]. Es cobria amb un cobreobjectes i s’examinava amb el microscopi òptic –*Olympus BH-2*–. Cadascun dels diferents gèneres observats era sotmès a un aïllament per poder obtenir un cultiu pur.

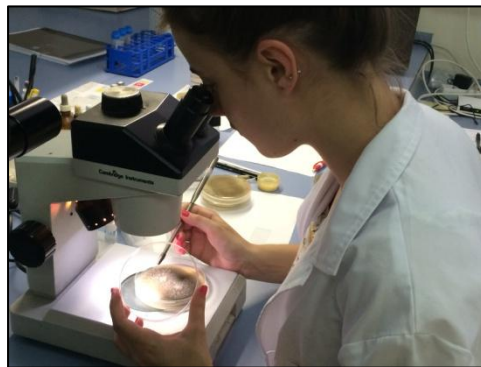


Fig. 89: Obtenint una petita mostra de la colònia.

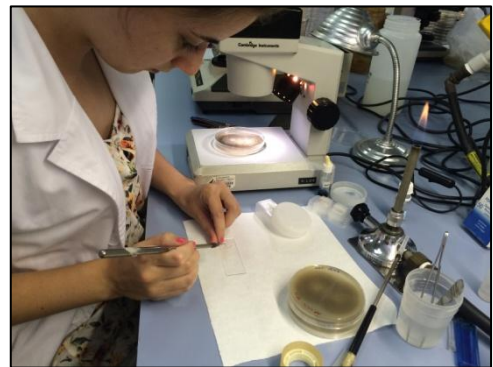


Fig. 90: Dipositant la colònia en la preparació microscòpica.

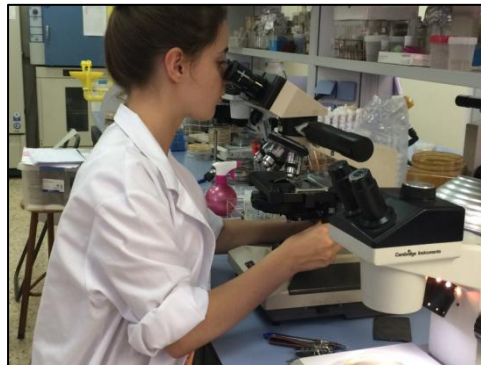


Fig. 91: Observant l'estructura microscòpica.



## 2.5 AILLAMENT I OBTENCIÓ DE CULTIUS PURS

Per a l'aïllament i preparació de cultius purs es va agafar lleugerament, amb una agulla hipodèrmica, l'apex de les estructures esporulades per a obtenir uns pocs conidis del fong desitjat [Fig. 92]. Aquests es van sembrar a una placa de Petri, que contenia el medi de cultiu PDA, fent unes interseccions dins del medi [Fig. 93]. Les plaques es van numerar correctament i es van incubar en una estufa de cultiu a uns 25°C. Quan es va observar la presència de conidis, es va comprovar, mitjançant una preparació microscòpica, si era realment el fong que s'esperava aïllar. Si el fong era el desitjat, i la placa no presentava cap mostra de contaminació, tan per part d'altres fongs com per àcars, es prosseguia a obtenir els cultius purs.

Per a obtenir els cultius purs, el procediment és semblant al fet anteriorment: amb l'ajuda d'una agulla hipodèrmica, es va agafar una petita part de la colònia que presentava major esporulació i es va sembrar en una placa de Petri –amb medi de cultiu PDA o OAT dependent del gènere– fent-hi dues o tres incisions, equidistants entre elles i els marges de la placa, per a facilitar el creixement de la colònia i evitar així, qualsevol possible contaminació [Fig. 93]. Posteriorment, es posaven en una estufa de cultiu a una temperatura de 25°C, en posició invertida evitant que les gotes de condensació es dipositessin sobre les superfícies de les colònies en desenvolupament. Al cap d'un 7 dies i dependent de la velocitat de creixement del fong, es va dur a terme un examen macro i microscòpic per la seva identificació.

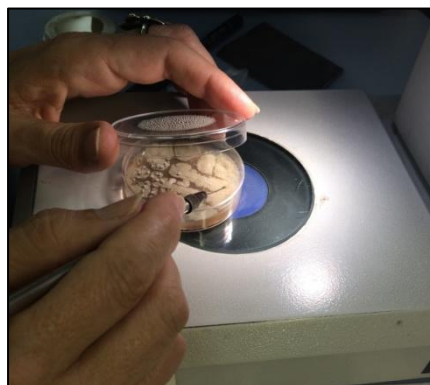


Fig. 92: Obtenció dels conidis del fong desitjat.

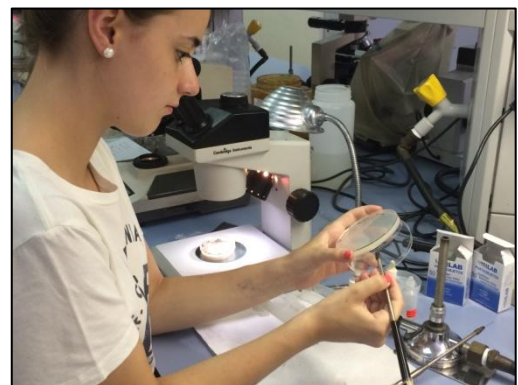


Fig. 93: Sembrant els conidis per a obtenir el cultiu pur.





## 2.6 RESULTATS

A continuació es mostraran unes taules comparatives entre la diversitat de gèneres en els diferents espais on s'ha dut a terme l'experiment.

Taula 1: Relació entre els gèneres de fongs treballats i les colònies trobades de cadascun d'ells en el sòl.

Diversitat fúngica trobada en les diferents mostres del sòl	
Gènere	Núm. colònies
<i>Acremonium</i>	2
<i>Alternaria</i>	0
<i>Aspergillus</i>	22
<i>Aureobasidium</i>	8
<i>Bipolaris</i>	0
<i>Botryotrichum</i>	0
<i>Cladosporium</i>	29
<i>Clonostachys</i>	3
<i>Epicoccum</i>	0
<i>Fusarium</i>	39
<i>Humicola</i>	8
<i>Mucor</i>	5
<i>Paecilomyces</i>	3
<i>Penicillium</i>	102
<i>Phoma</i>	4
<i>Pithomyces</i>	0
<i>Scedosporium</i>	5
<i>Stemphylium</i>	0
<i>Trichoderma</i>	2
<i>Wardomycesopsis</i>	1

Taula 2: Relació entre els gèneres de fongs treballats i les colònies trobades de cadascun d'ells en els dos ambients diferents.

Diversitat fúngica trobada en les diferents mostres de l'aire		
Gènere	AF	AC
	Núm. Colònies	
<i>Acremonium</i>	1	5
<i>Alternaria</i>	179	161
<i>Aspergillus</i>	1	1
<i>Aureobasidium</i>	2	11
<i>Bipolaris</i>	1	1
<i>Botryotrichum</i>	0	1
<i>Cladosporium</i>	395	384
<i>Clonostachys</i>	0	0
<i>Epicoccum</i>	1	0
<i>Fusarium</i>	2	1
<i>Humicola</i>	0	0
<i>Mucor</i>	0	0
<i>Paecilomyces</i>	1	0
<i>Penicillium</i>	0	2
<i>Phoma</i>	2	0
<i>Pithomyces</i>	1	0
<i>Scedosporium</i>	0	0
<i>Stemphylium</i>	4	1
<i>Trichoderma</i>	0	1
<i>Wardomycesopsis</i>	0	0

Com es pot observar comparant les taules 1 i 2, els gèneres de fongs predominants en cada tipus de mostra, no coincideixen. Aquest fet suposem que és degut a que els diferents gèneres de fongs es desenvolupen millor en unes condicions d'humitat i temperatura diferents entre ells i, que no són iguals entre els dos medis emprats.

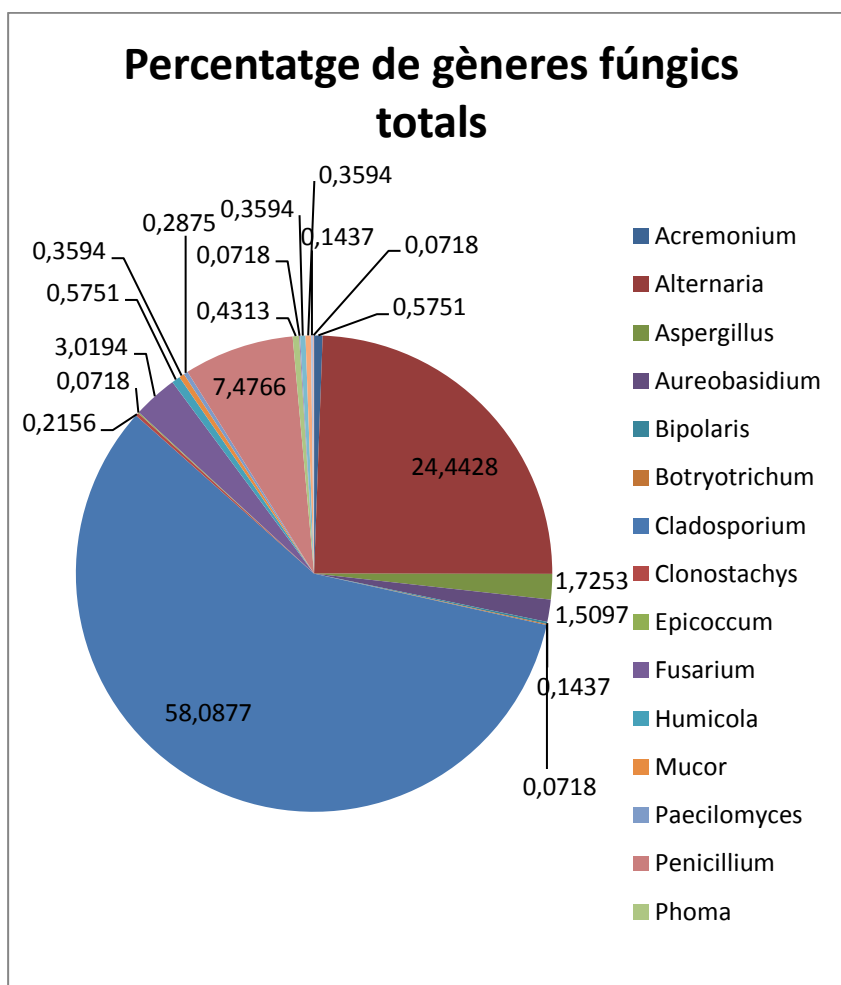


## Els fongs invisibles del nostre entorn.

Referint-nos als gèneres de fongs més abundants en cadascun dels medis, podem dir que els gèneres *Alternaria* i *Cladosporium* –majoritaris en les mostres recollides de l'aire– són presents en gran número d'atmosferes del medi exterior, sobretot en zones temperades i, són les que abunden en quantitat, per això és normal que destaquin en el nostre estudi. Per altra banda, el gènere predominant en els fongs recollits del sòl del claustre, és el *Penicillium*, principal descomponedor de matèria orgànica. Per aquest motiu, creiem que és lògic que hi sigui més abundant en els parterres, ja que és on hi ha la major part de matèria orgànica, que no pas en l'aire.

També podem afirmar, que la concentració de microorganismes en l'aire interior del claustre i, l'aire exterior del pati i del Carrer Balmes és gairebé la mateixa. Per tant la part edificada que separa els dos ambients no influeix en la diferència i quantitat de fongs miceliars.

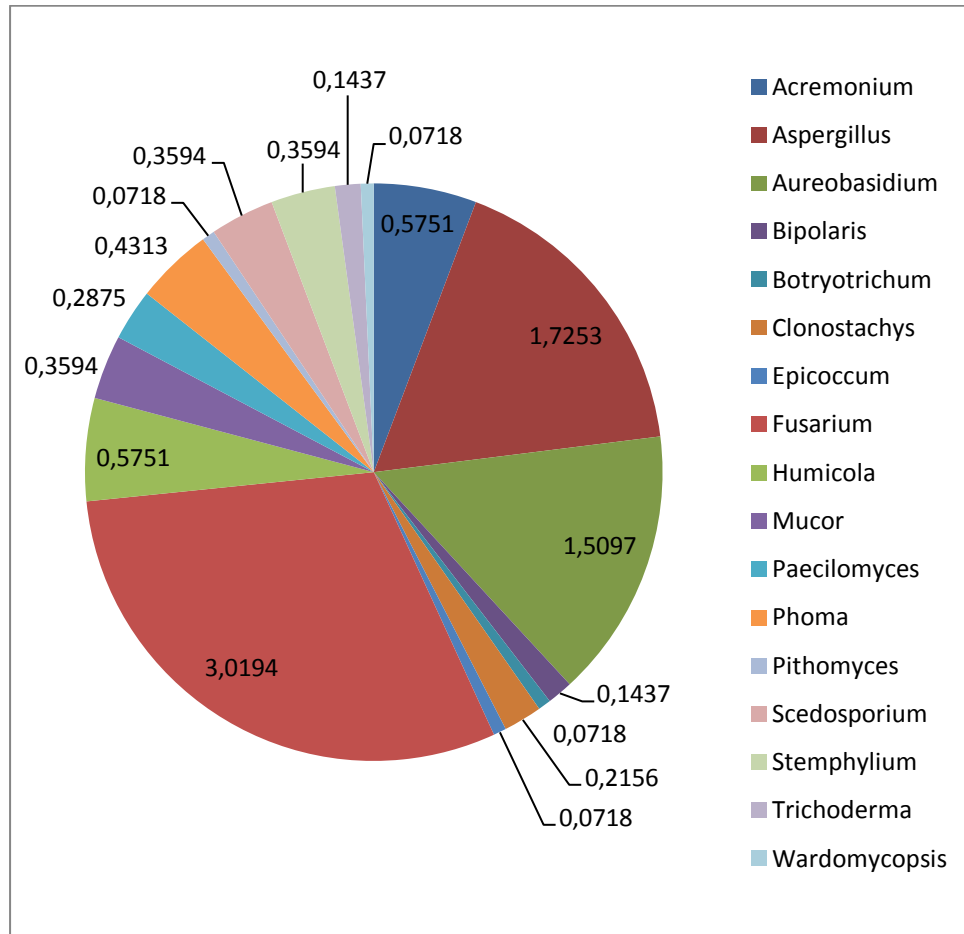
Gràfic 1: Percentatge dels fongs totals





Com hem dit anteriorment, els fongs més destacats, respecte del número de colònies, en el nostre treball són el *Cladosporium* amb un 58,0877%; l'*Alternaria* amb un 24,4428%; el *Penicillium* amb un 7,4766%; el *Fusarium* amb un 3,0194%; l'*Aspergillus* amb un 1,7253% i l'*Aureobasidium* amb un 1,5097%. Els altres gèneres de fongs, no arriben al 1% cadascun en les mostres obtingudes [Gràfic 1].

Gràfic 2: Percentatge de la presència del 9,9929% dels fongs.



Podem observar de manera més precisa en el gràfic 2, els fongs amb més presència tan en l'aire com en el sòl. En aquest gràfic circular no apareixen els gèneres *Cladosporium*, *Alternaria* i *Penicillium* ja que al ser tan abundants, no permetien la clara comparació entre els gèneres minoritaris. Està calculada sobre el 9,9929% dels fongs, ja que l'altre 90,0071% el formen els gèneres prèviament esmentats. Segons l'estudi, els fongs més representatius –després del *Cladosporium*, l'*Alternaria* i el *Penicillium*– són el *Fusarium* i l'*Aspergillus*. Creiem que aquest fet és degut a que ambdós fongs es desenvolupen en uns rangs de temperatures molt amplis i en hàbitats molt diferents, per tant, s'adapten millor a les condicions del medi.



### 3. CONCLUSIONS

1. Del estudi d'un total de 1.392 colònies trobades, considerem que el gènere *Cladosporium* és el més abundant en l'aire atmosfèric, tant en l'aire del claustre, com en l'aire exterior del pati i del Carrer Balmes, fet que ens permet dir que aquest gènere de fongs és el majoritari tant en l'aire de l'interior del claustre com en el de l'exterior.
2. Segons les dades obtingudes a partir del nostre estudi, considerem que el gènere *Penicillium* és el més abundant en els terrenys de sòl distribuïts pel claustre i, que ho és de manera homogènia ja que el nombre de colònies en cadascuna de les plaques de Petri resultats, eren molt similars entre elles.
3. Durant el procés d'identificació, hem pogut observar que els gèneres, tan de sòl com de l'aire, que presenten una major diversitat d'espècies són *Cladosporium* i *Alternaria*.
4. Podem establir la relació que la majoria de fongs trobats en l'aire atmosfèric –i en el sòl tot i que en menys quantitat– són uns dels principals causants d'al·lèrgies respiratòries en les persones actualment.

### 4. EPÍLEG

Considero interessant que aquest treball s'hagi pogut realitzar pel fet que m'ha permès adonar-me que vivim envoltats d'una gran quantitat de partícules microscòpiques, invisibles per a nosaltres, les quals tot i que a vegades ens poden perjudicar, la nostra vida sense elles seria molt més difícil o fins i tot, impossible.

Aquest treball de recerca m'ha permès endinsar-me en un camp d'estudi que fins ara no coneixia amb profunditat i que ha resultat ser apassionant i motivador per a continuar investigant en futures recerques.

I, finalment, aquest treball m'ha permès conèixer d'aprop l'estructura i el funcionament de l'àmbit de la recerca i m'ha ajudat a decidir cap on enfocar el meu futur relacionat en el camp de la investigació.



## 5. GLOSSARI

- [1] **Acròpeta:** Condició d'una cadena de conidis, en la qual el conidi més jove es troba en l'àpex i el més vell en la base.
- [2] **Agulla hipodèrmica:** Agulla buida normalment emprada amb una xeringa per injectar substàncies al cos. També pot ser usada per a prendre mostres.
- [3] **Anular:** Que té forma d'anell.
- [4] **Àpex:** Extrem superior, cim, punta d'alguna cosa.
- [5] **Apical:** Extrem superior o punta de la planta o d'un òrgan vegetal. Semblant a **Àpex** [4].
- [6] **Basípeta:** Condició d'una cadena de conidis la qual el conidi més jove es troba a la base.
- [7] **Cèl·lula conidiògena:** Cèl·lula que genera conidis.
- [8] **Cel·lulasa:** Enzim que provoca específicament la hidròlisi dels enllaços  $\beta$ -1,4-glucosídics de la cel·lulosa.
- [9] **Cicatriu conidial:** Porció de la cèl·lula conidiògena resultat de la secció del conidi. També porció de la paret de la cèl·lula conidiògena que, després de la secessió, constitueix la base del conidi.
- [10] **Collarete:** Estructura en forma de copa sobre l'àpex d'alguns fiàlids, originada a partir de la paret del primer conidi.
- [11] **Conidi:** Espora asexual, immòbil, que sol separar-se de la cèl·lula que el produeix.
- [12] **Conidiòfor:** Hifa simple o ramificada que o bé suporta a cèl·lules conidiògenes o bé produeix directament els conidis actuant com una cèl·lula conidiògena.
- [13] **Conidiogen:** Que produeix conidis.
- [14] **Cosmopolita:** Que es troba a tot arreu del món.
- [15] **Demaciaci:** Referent al miceli, conidis o conidiòfors de color més o menys fosc, generalment per la presència de melanina.
- [16] **Digralsky:** Nansa utilitzada per a l'extensió de microorganismes sobre la superfície d'un medi de cultiu en una placa de Petri.
- [17] **Discoïdal:** Que té la forma d'un disc, semblant a un disc.
- [18] **DRBC:** Agar dicloran rosa-bengala cloramfenicol.
- [19] **Endòfit:** Que viu o es desenvolupa dins una planta.
- [20] **Esporangí:** Cèl·lula o òrgan pluricel·lular dins el qual es produeixen una o més espores.
- [21] **Esporangiospores:** Espores asexuals típiques dels fongs inferiors (micromicets).



- [22] **Esporodoqui:** Masa compacta de conidiòfors en forma de coixí, sovint diferenciats sobre un **estroma** [23].
- [23] **Estroma:** Massa o matriu d'hifes vegetatives sobre les quals poden diferenciar-se conidiòfors o cèl·lules conidiògenes.
- [24] **Fiàlid:** Tipus de cèl·lula conidiògena allargada o en forma d'ampolla, que pot presentar un o varis punts on es genera el conidi.
- [25] **Fitopatogen:** Agent que causa malaltia a les plantes.
- [26] **Gametangi:** Cèl·lula o òrgan pluricel·lular dintre la qual es formen els gàmetes.
- [27] **Hialí:** Transparent, no pigmentat o almenys de color clar.
- [28] **Immunocompetens:** Pacients amb manca de desenvolupar reaccions d'immunitat sota una estimulació apropiada, per mitjà de les quals l'organisme adquireix la capacitat de reconèixer bioquímicament les substàncies alienes a ell.
- [29] **Immunocompromesos:** Que pateix d'immunodeficiència.
- [30] **Immunodeprimits:** Pacients, l'organisme dels quals, inhibeix la resposta immunitària.
- [31] **Lactofenol-blau cotó:** Medi de preparació comú ja que permet destruir la flora acompanyant del fong, conservar les estructures fúngiques i permet apreciar l'organització microscòpica gràcies a la capacitat d'adherir-se a la quitina present en les hifes i conidis.
- [32] **Meiosi:** Procés de divisió cel·lular consistent en dues divisions nuclears successives per tal de formar gàmetes o espores sexuals que tenen la meitat de material genètic que la cèl·lula original.
- [33] **Meiòspores:** Espora formada mitjançant la **meiosi** [32].
- [34] **Microscopi estereoscòpic:** Lupa binocular.
- [35] **Mitosi:** Procés de divisió de les cèl·lules somàtiques dels eucariotes, que consisteix en una divisió longitudinal dels cromosomes i en una divisió del citoplasma, i que origina dues cèl·lules filles genèticament iguals.
- [36] **Mitòspores:** Espora formada mitjançant divisions mitòtiques.
- [37] **Mètula:** Ramificació del conidiòfor sobre la que es posen els fiàlids.
- [38] **Micotoxines:** Toxina produïda per un fong, activa sobre l'home o els animals.
- [39] **OAT:** Agar farina de civada.
- [40] **Oomicet:** Classe de pseudofongs, aquàtics, saprotròfics o paràsits de peixos, o bé paràsit de plantes vasculars, que formen oòspores.
- [41] **PDA:** Agar patata dextrosa.
- [42] **Picnidi:** Conidiòfor més o menys globular format per teixit fúngic i amb la superfície interior coberta de cèl·lules conidiògenes.



- [43] **Pressió osmòtica:** Diferència de pressions que hi ha entre els dos costats d'una membrana semipermeable que separa dues dissolucions de concentracions diferents quan el sistema assoleix l'equilibri.
- [44] **Quitina:** Polímer lineal que és el principal constituent de les parets cel·lulars de molts organismes i de l'exosquelet dels insectes i dels crustacis.
- [45] **Regne dels Chromistes:** Conjunt d'organismes amb mitocondris de crestes tubulars i amb flagels típics, que comprèn els pseudofongs i grups d'algues.
- [46] **Sinema:** Grup més o menys compacte de conidiòfors o hifes erectes, que produeixen conidis en l'àpex o també als costats.
- [47] **Tal·lòfit:** Vegetal amb **tal·lus** <sup>[45]</sup>.
- [48] **Tal·lus:** Aparell vegetatiu d'organització relativament simple, pluricel·lular, amb parts poc o molt diferenciades morfològicament i funcionament, propi de la majoria de les algues pluricel·lulars i dels fongs.
- [49] **Ubic:** Fet d'ésser present pertot.
- [50] **Vesícula:** Àpex inflat del conidiòfor.
- [51] **Vòrtex:** Dispositiu simple que s'empra comunament en els laboratoris per barrejar petits recipients amb líquids.
- [52] **Zigòspora:** Zigot encistat, especialment el de les zinematofícies o dels zigomicets.
- [53] **Zigosporangi:** Cos fructífer delimitat per una capa de cèl·lules que són estèrils. Forma les zigòspores.



## 6. BIBLIOGRAFIA

- DOMSCH, Klaus H; GAMS, Walter; ANDERSON, Traute-Heidi. *Compendium of soil fungi*. Segona edició. IHW-Verlag Eching. Berchtesgaden. 2007.
- CROUS, Pedro W. *i altres. Fungal Biodiversity*. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Center. Utrecht, The Netherlands. 2009.
- FOLCH I GUILLEM, Ramon. *Història natural dels Països Catalans. Fongs i líquens*. Enciclopèdia Catalana. Barcelona. 1991.
- GENÉ DÍAZ, Josepa. *Estudio sobre la taxonomía y la actividad antimicrobiana de los deuteromicetos de origen coprófilo y geófilo en España*. Bellaterra. 1994.
- TORRES-RODRÍGUEZ, Josep M. *Hongos y alergias*. Bilbao. 2010.

## 7. WEBGRAFIA

- CORTÉS SÁNCHEZ, Víctor. *Generalidades de Micología*.  
<<http://es.slideshare.net/TraviesoCarmesi/1-generalidades-de-micologa-10491857>>  
[7 de desembre de 2011]
- *La Reproducció*.  
<<http://botanica.bio.ub.es/botanica/6.reproduccio.htm>>
- *El Reino Fungi*.  
<<http://www.micomania.rizoazul.com/micologia%20el%20reino%20fungi.html>>
- *Els Fongs*. <<http://botanica.bio.ub.es/botanica/7.fongs.htm>>
- *Difference Between Mitospores and Meiospores*.  
<<http://www.majordifferences.com/2013/02/difference-between-mitospores-and.html#.VJ6pfsAKA>>
- *Hongos imperfectos*.  
<[http://es.wikipedia.org/wiki/Hongos\\_imperfectos](http://es.wikipedia.org/wiki/Hongos_imperfectos)> [7 de setembre de 2014].
- DUFRESNE, Philippe. *Identification des champignons d'importance médicale*.  
<[http://www.inspq.qc.ca/lspq/fichesPDF/identification\\_champignons\\_importance\\_medicale.pdf](http://www.inspq.qc.ca/lspq/fichesPDF/identification_champignons_importance_medicale.pdf)> [Març de 2014]





- ATKINSON, Ann. *Fungal Taxonomy*.  
<<https://www.emlab.com/s/sampling/env-report-05-2007.html#taxonomy>> [Maig de 2007]
- ELLIS, David. *Dematiaceous Hyphomycetes*.  
<[http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_%28dematiaceous%29/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_%28dematiaceous%29/)> [9 de gener de 2014]
- *Reino Fungi*. <<http://es.slideshare.net/LFP1977/unidad-vi-reino-fungi>> [19 de gener de 2012]
- *Caracteres generales de los hongos anamorfos. Diversidad morfológica de sus estructuras*.  
<[http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/126\\_RisquesMoisissuresMilieuInterieur.pdf](http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/126_RisquesMoisissuresMilieuInterieur.pdf)>
- *Agulla hipodèrmica*.  
<[http://www.wikilingua.net/ca/articles/a/g/u/Aguja\\_hipod%C3%A9rmica.html](http://www.wikilingua.net/ca/articles/a/g/u/Aguja_hipod%C3%A9rmica.html)>
- LÓPEZ-JÁCOME, Luis *i altres*. *Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología*.  
<<http://www.medigraphic.com/pdfs/invis/ir-2014/ir141b.pdf>>  
[3 de juny de 2013]
- *La Reproducció II*.  
<<http://www.slideshare.net/ciencias.mon.contemporani/la-reproducci-ii>> [6 d'abril de 2011]
- TORMO MOLINA, Rafael. *Plantas y hongos*.  
<<http://www.plantasyhongos.es/index.htm>> [29 d'agost de 2014]
- D'HALEWYN, Marie-Alix *i altres*. *Les risques à la santé associés à la présence de moisissures en milieu intérieur*.  
<<http://www.plantasyhongos.es/index.htm>> [Novembre de 2002]
- *Esporangiosporas*. <[http://ocwus.us.es/produccion-vegetal/sanidad-vegetal/Sanidad\\_vegetal/Tema%2023\\_HTML/page\\_07.htm/](http://ocwus.us.es/produccion-vegetal/sanidad-vegetal/Sanidad_vegetal/Tema%2023_HTML/page_07.htm/)> [2007]
- GENÉ, J. *i altres*. *Acremonium Species: New Emerging Fungal Opportunists – In Vitro Antifungal Susceptibilities and Review*.  
<<http://cid.oxfordjournals.org/content/25/5/1222.full.pdf>> [ 21 d'abril de 1997]
- KUNG'U, Jackson. *Acremonium*.  
<<http://www.moldbacteria.com/mold/acremonium.html>>
- *Molds and other Microorganisms*.  
<<http://www.phadia.com/es/5/Productos/ImmunoCAP-Allergens/Molds-and-other-Microorganisms/>> [2012]



- *Fiches sur les moisissures.* <<http://www.inspq.gc.ca/compendium-moisissures/moisissures>> [2001-2014]
- *Taxon Passport. Cladosporium sp.*  
<<http://www.straininfo.net/taxa/9019>>
- *Catalogue of Life.*  
<<http://www.catalogueoflife.org/col/browse/tree/id/20264162>> [22 de desembre de 2012]
- *MYCOTA. Fungal contaminations of cultural heritage.* <<http://mycota-crcc.mnhn.fr/site/genre.php?lang=eng>>
- *Viticulture & Enology. Yeast & Mold.*  
<<http://wineserver.ucdavis.edu/industry/enology/winemicro/wineyeast/index.html>> [13 d'agost de 2014]
- TANGARIFE CASTAÑO, Verónica. *Acremonium spp.*  
<<http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/mod/resource/view.php?inpopup=true&id=100831>> [2011]
- *An index of some commonly encountered fungal genera.*  
<<https://www.emlab.com/app/fungi/Fungi.po>> [18 de desembre de 2013]
- HUIGUITA GUTIÉRREZ, Felipe; TANGARIFE CASTAÑO, Verónica. *Dermatomycosis y onicomycosis por hongos ambientales.*  
<<http://aprendeenlinea.udea.edu.co/lms/moodle/course/view.php?id=743&topic=6>> [2012]
- ELLIS, David. *Identification of Medically Important Fungi.*  
<[http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/)> [9 de gener de 2014]
- *Fungal names and synonymus.*  
<<http://www.doctorfungus.org/imageban/help.php>>
- *ALL-RUSSIAN COLLECTION OF MICROORGANISMS – VKM. Fungal Diversity in Culture collections (FungalIDC).*  
<<http://www.vkm.ru/fungalDC.htm>>
- *Manual básico de microbiología.*  
<<http://es.scribd.com/doc/8614571/Manual-de-Medios-de-Cultivo#scribd>> [Novembre de 2002]
- ELLIS, David. *Glossary of Mycological Terms.*  
<<http://www.mycology.adelaide.edu.au/virtual/glossary/>> [9 de gener de 2014]
- *Fungal Glossary.* <[http://www.dehs.umn.edu/iaq\\_fib\\_fg\\_gloss.htm](http://www.dehs.umn.edu/iaq_fib_fg_gloss.htm)> [14 de juny de 2010]



- *Glossario*. <<http://dbiodbs.units.it/quint/mair/info/glossita.html>>
- *Diccionari.cat*. <<http://www.diccionari.cat/>>
- *Institut d'Estudis Catalans*. <<http://www.iec.cat/activitats/entrada.asp>>
- *Diccionaris.cat*. <<http://www.diccionaris.cat/>>
- *El Punt Avui +*.  
<<http://www.elpuntavui.cat/serveis/diccionaris/diccionari-de-llengua-catalana.html>>  
[2009-2013]
- *Diccionari enciclopèdic de medicina*. <<http://www.medic.cat/>> [1997-2005]
- *Enciclopèdia.cat*. <<http://www.enciclopedia.cat/>>
- *Esporangiosporas*. <[http://ocwus.us.es/produccion-vegetal/sanidad-vegetal/Sanidad vegetal/Tema%2023 HTML/page\\_07.htm/](http://ocwus.us.es/produccion-vegetal/sanidad-vegetal/Sanidad%20vegetal/Tema%2023%20HTML/page_07.htm/)> [2007]

Els fongs invisibles del nostre entorn.



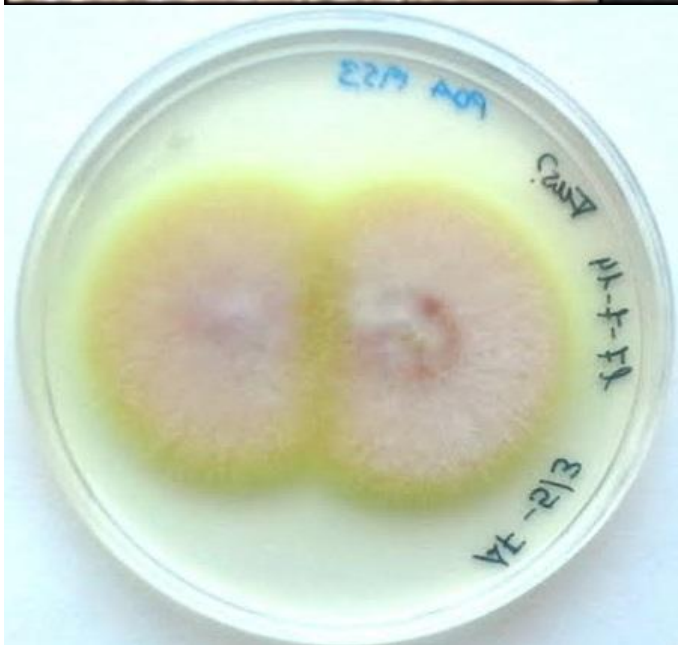


# ELS FONGS INVISIBLES DEL NOSTRE ENTORN



## ESTUDI DE LA BIODIVERSITAT FÚNGICA DEL INSTITUT SALVADOR VILASECA

### ANNEXOS



Maria Repollés de Dalmau

Tutora: María Victoria Dopazo Quiñones

Seminari de Biologia

2n BAT B

INS Salvador Vilaseca

Curs 2014-2015



## **ÍNDEX**

1. Plànol de les mostres del sòl .....	2
2. Plànols de les mostres de l'aire .....	3
3. Medis de cultius .....	5
4. Preparació del medi de cultiu PDA .....	6



## 1. PLÀNOL DE LES MOSTRES DEL SÒL

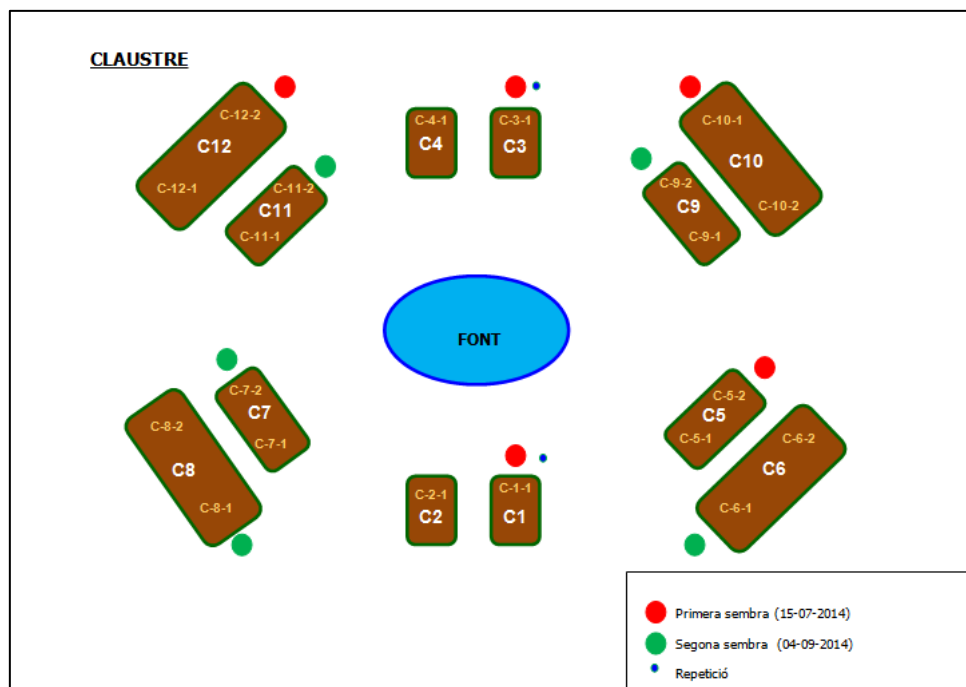


Fig. 1: Plànol del claustre del Institut Salvador Vilaseca de Reus.

En la Fig. 1 s'observa el plànol que es va fer servir per a numerar les diferents mostres recollides en els parterres del claustre de l'institut. En cadascun dels llocs –menys en les zones més petites– es van agafar dues mostres, una en cada extrem, per poder així assegurar-nos tenir un reemplaçament en el cas que la mostra no fos vàlida.

Durant l'estudi es van fer dues sembres, cadascuna d'elles marcades de manera diferent en el plànol.

Va haver-hi dues mostres, la C-1-1 i la C-3-1, que durant l'estudi els resultats no s'aproximaven als altres i es van tornar a fer, per si en algun cas, s'hagués fet un error durant el processament.



## 2. PLÀNOLS DE LES MOSTRES DE L'AIRE

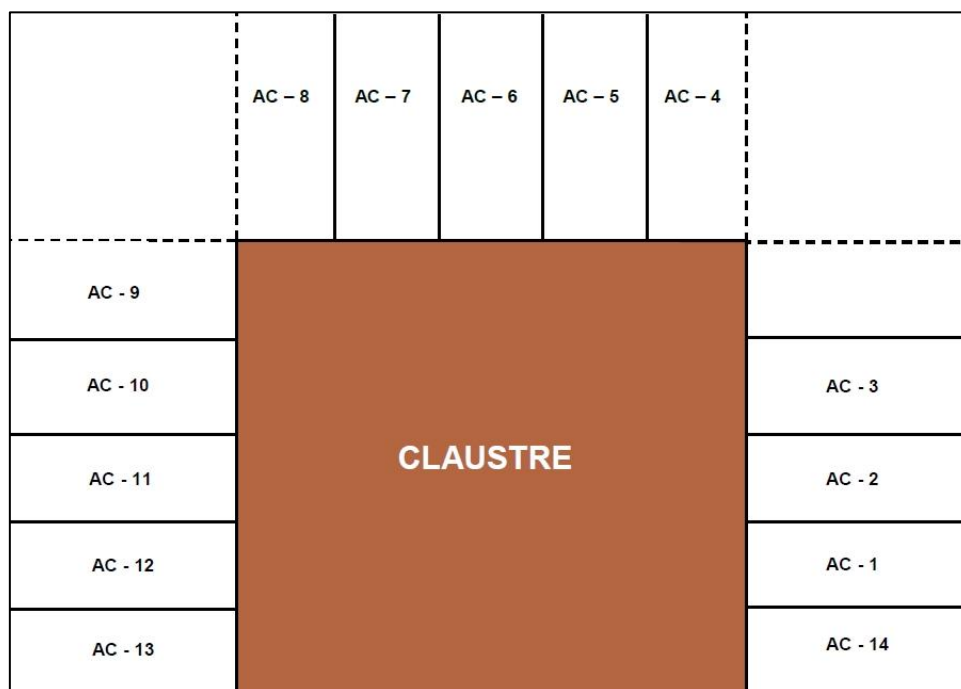


Fig. 2: Plànol del claustre del Institut Salvador Vilaseca.

Es pot veure en la Fig. 2 l'ordre i el nomenament que es va dur a terme en les mostres recollides de l'aire de l'interior del claustre.



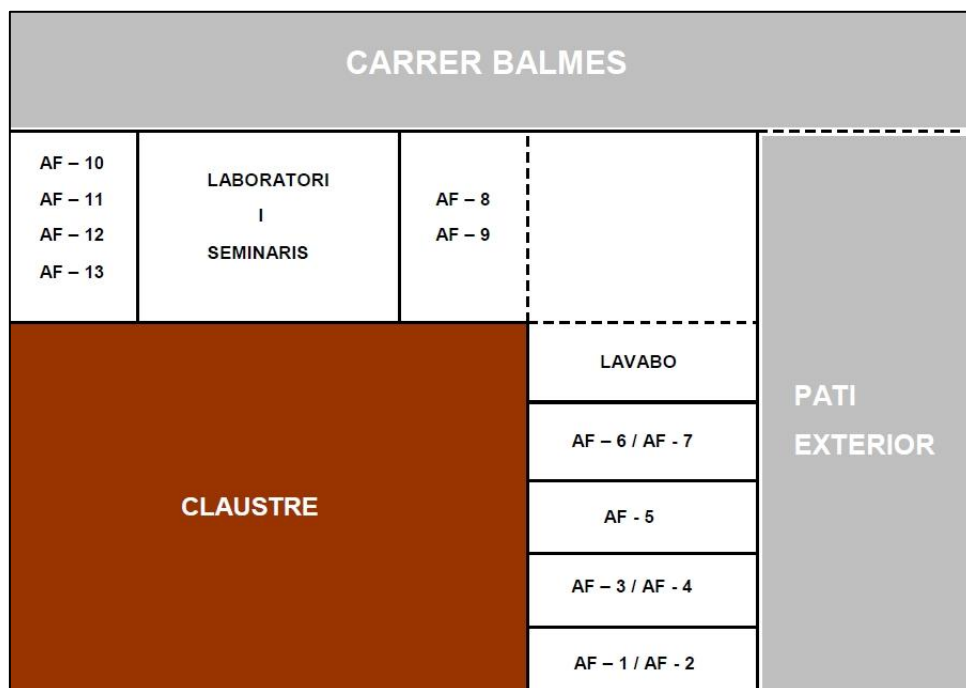


Fig. 3: Plànol del claustre i l'exterior del Institut Salvador Vilaseca.

En la Fig. 3 es pot apreciar la forma en que es van numerar i ordenar les plaques en cadascuna de les finestres exterior de les classes que comunicaven amb el pati exterior i el Carrer Balmes. Es van col·locar dues plaques en cadascuna de les finestres –menys en la AF-5 degut a la proximitat amb les plaques AF-3 i AF-4– per poder així fer rèpliques i observar que els resultats eren similars.



### 3. MEDIS DE CULTIUS

En aquest apartat s'expliquen tots els medis de cultiu utilitzats per l'aïllament de colònies i la descripció de gèneres.

- Dicloran Rosa-Bengala Cloramfenicol (DRBC): Medi de cultiu selectiu utilitzat en el recompte i aïllament de fongs. El component Rosa-Bengala és un antibiòtic que inhibeix el desenvolupament de bacteris i, el Cloramfenicol redueix la velocitat de creixement dels fongs que es desenvolupen més ràpid. Necessita més temps per que s'hi desenvolupin colònies que el PDA.
- Oatmeal Agar (OAT): Medi de cultiu a base d'agar i farina de civada. És ric en nutrients i, a la vegada, permet una bona esporulació. Molt útil per a la identificació morfològica. No conté antibiòtic.
- Potato Dextrose Agar (PDA): Medi de cultiu format a partir d'una infusió de patata i sucre, el que comporta que sigui un medi molt ric en nutrients i faciliti el desenvolupament fúngic, emfatitzant en el creixement d'hifes en lloc d'esporular.



#### 4. PREPARACIÓ DEL MEDI DE CULTIU PDA

En aquest apartat s'explica el procediment dut a terme, durant la part experimental, per preparar les plaques de Petri amb el medi de cultiu PDA artesanalment.

Primer, es van pesar 19,5g d'agar dextrosa de patata i mesurar 500 ml d'aigua destil·lada. Es van barrejar els dos components en una botella de Pyrex –ja que es un vidre resistent a altes temperatures i pressions– fins que va quedar una solució homogènia sense grumolls [Fig. 4]. Per a esterilitzar el contingut, en el tap del pot semiobert, es va col·locar una cinta indicadora d'autoclau –en la qual es va escriure el nostre nom per diferenciar el pot dels altres al sortir de la màquina [Fig. 5]– en la qual quan ja va estar esterilitzat el contingut, van aparèixer unes franges de color negre, que corresponien a unes espores amb *Bacillus* que contenen, els quals al arribar a temperatures superiors a 100°C s'activen [Fig. 8]. Quan el pot va surt de l'autoclau, es va barreja el contingut i es va deixar reposar una mica. Tot seguit es va posa en un recipient més gran amb aigua freda perquè es refredés el pot i el contingut en si. Seguidament, es va neteja el lloc de treball que s'utilitzaria per abocar el medi en les diferents plaques amb alcohol per desinfectar-lo i també es va tanca qualsevol entrada d'aire per evitar al màxim corrents d'aire. Es van disposar al llarg de tota la taula dues o tres columnes amb plaques de Petri buides i estèrils. Al costat d'un encenedor Bunsen, amb la mà dreta s'agafava el pot amb el medi i amb la mà esquerra s'anaven obrint les plaques una per una i omplint-les amb la solució [Fig. 6].

Cada cop que s'omplia una placa, s'havia de passar l'obertura de la botella per la flama per evitar qualsevol possible contaminació [Fig. 7].

Finalment, intentant moure molt poc les plaques, es van apartar del lloc de treball i es deixen reposar 48 hores. Si en aquest període de temps no va veure cap evidència d'una possible contaminació, ja es podien utilitzar.

En el cas que no es pogués obtenir l'agar ja preparat, també es pot realitzar de la següent manera:

Primer es fa bullir la patata, a trossos i pelada, durant mitja o una hora. Es filtra i, el caldo resultant s'enrasa fins a un litre amb aigua destil·lada i s'hi afegeix el sucre i l'agar corresponent en un pot de Pyrex. Es fa bullir una altra vegada i queda apunt per esterilitzar i seguir els mateixos passos anteriors.



Les mesures que es van utilitzar, van formar mig litre d'agar, que correspon a unes 20 plaques resultats aproximadament.



Fig. 4: Barrejant l'agar i l'aigua.



Fig. 5: Solució resultant després de l'esterilització i cinta d'autoclau.



Fig. 6: Omplint les plaques de Petri amb la solució.



Fig. 7: Esterilitzant l'obertura de l'ampolla amb la flama.

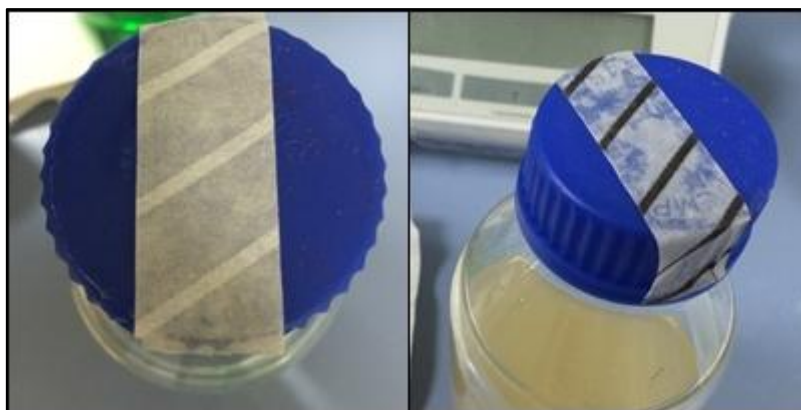


Fig. 8: Diferència de la cinta d'autoclau entre abans de ser esterilitzada i després.

Els fongs invisibles del nostre entorn.

