

## **Exudado gomoso de *Laguncularia racemosa* (Mangle blanco) como medio de cultivo para hongos.**

Luz Mila Mesa<sup>\*</sup>, Gladys León-Pinto<sup>\*\*</sup>

<sup>\*</sup>Cátedra de Micología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina y <sup>\*\*</sup>Laboratorio de Investigaciones Químicas, Facultad de Humanidades y Educación, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela.

**Palabras claves:** exudado gomoso, *Laguncularia racemosa*, *Mucedinaceae*, *Dematiaceae*, *Mucoraceae*.

**Resumen.** Se realizaron estudios morfológicos de las siguientes especies de hongos: *Aspergillus flavus*, *Microsporium canis*, *Epidermophyton floccosum*, *Curvularia lunata*, *Cladosporium carrionii*, *Nattrassia mangifera* (Edo. *Scytalidium*), *Sporothrix schenckii* y *Rhizopus oligosporus*, pertenecientes a las familias *Mucedinaceae*, *Dematiaceae* y *Mucoraceae*, en un medio preparado con el exudado gomoso de *Laguncularia racemosa* (mangle blanco). Este polímero nativo está constituido por galactosa, arabinosa, ramnosa, ácidos urónicos y proteínas y presenta como micronutrientes nitrógeno, calcio y magnesio. La búsqueda de un medio de cultivo económico fue el criterio para la evaluación de un medio preparado con exudado gomoso (4%) y agar (1,5%). Los resultados obtenidos demostraron que el exudado gomoso agar (EGA) permite la identificación adecuada de las especies estudiadas y puede ser sustituto del medio Sabouraud, ya que la preparación del mismo se basa en un producto natural nativo, de fácil obtención y económico.

Recibido: 16-02-93. Aceptado: 04-10-93.

## INTRODUCCION

Los medios de cultivo son fundamentales para el estudio de los hongos y se han reportado diversos sustratos (1, 2, 11, 13, 20, 24). El medio de Sabouraud es ampliamente usado, sin embargo, se ha observado en dicho medio ciertas características no favorables para algunos hongos dermatofitos como la pérdida del aspecto macroscópico típico y la capacidad de esporular (8).

Los exudados gomosos son solubles en agua y sus soluciones generalmente viscosas. Estos polímeros complejos, hidrocoloides, están constituidos por galactosa, manosa, arabinosa, xilosa, ramnosa y ácidos urónicos. Estos ácidos urónicos están parcialmente neutralizados por cationes tales como calcio, magnesio, potasio, sodio, etc. Por otra parte se ha demostrado la presencia de nitrógeno, el cual puede formar péptidos o proteínas en la estructura (6,7).

Los exudados gomosos se presentan como una alternativa viable para la obtención de nuevos medios de cultivo, en función de sus propiedades físicas y de la estructura química de estos polímeros. La existencia de especies nativas productoras de exudados gomosos en el país, el conocimiento de sus propiedades físicas (16, 17, 21) y de la estructura química (18, 19) de algunos de estos exudados, facilitaría su uso racional como sustrato para cultivos "in vitro" de hongos.

## MATERIALES Y METODOS

**1. ORIGEN DE LOS MATERIALES:** El exudado gomoso crudo de

*Laguncularia racemosa* (Mangle blanco) se colectó en la región de Puerto Caballo, Edo. Zulia. La procedencia de los reactivos y de las cepas usadas en este estudio se especifican a continuación: Bactopectona, Dextrosa y Bactoagar de Laboratorios Difco, Detroit, Michigan U.S.A.; las cepas de colección: *Natrassia mangífera* (Edo. *Scytilidium*) C-UA, *Rhizopus oligosporus* C-UA (Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Colombia). *Aspergillus flavus* CIB-R. Aguilar (Corporación para Investigaciones Biológicas, Medellín, Colombia), *Curvularia lunata* Z-B-367, *Microsporum canis* Z-B-759 (Cátedra de Micología, Escuela de Bioanálisis, Universidad del Zulia, Venezuela), *Epidermophyton floccosum* Z-HUM-1057, *Cladospodium carrionii* Z-HUM-902 (Sección de Micología, Hospital Universitario de Maracaibo, Venezuela) y *Sporothrix schenckii* IMT-6110 (Sección de Micología, Instituto de Medicina Tropical, Universidad Central de Venezuela). Estas cepas se desarrollaron previamente en Sabouraud Dextrosa Agar a 28°C por dos semanas.

**2. MÉTODOS: Preparación de los medios de cultivo.** Se prepararon soluciones acuosas del exudado gomoso de *L. racemosa* en varias concentraciones (1, 2 y 4%). La preparación de la solución se favoreció por agitación mecánica, se filtró y se suplementó con peptona (1%) o con glucosa (4%) (Tabla I). Se ajustó el pH (6,0-6,5) con NaOH 0,1N; se adicionó agar (1,5%) y se calentó en baño maría. El medio de Sabouraud se preparó con glucosa (40g), pepto-

**TABLA I**  
**COMPOSICION\* DE LOS MEDIOS DE CULTIVO UTILIZADOS EN EL**  
**ENSAYO PRELIMINAR A BASE DE EXUDADO GOMOSO DE *L. Racemosa*.**

Medios	Exudado gomoso	Glucosa	Peptona	Agar
M1	10	-	-	15
M2	10	-	10	15
M3	10	40	-	15
M4	20	-	-	15
M5	20	-	10	15
M6	20	40	-	15
M7**	40	-	-	15
M8	40	-	10	15
M9	40	40	-	15
Sabouraud	-	40	10	15

\*g/L

\*\* fue el medio seleccionado para los experimentos de identificación de hongos.

na (10g) en agua destilada (1000mL), ajustándose su pH entre 6,0 y 6,5. Los medios se esterilizaron a 15 libras de presión (118-121°C) por 15 minutos.

**Ensayo preliminar:** Se inocularon las cepas de *N. mangifera* (Edo. *Scytalidium*) y *M. canis* en el centro de placas de petri preparadas con EGA; la composición de los nueve medios estudiados se especifica en la Tabla I. Las placas se incubaron a 28°C en oscuridad, se practicaron observaciones macro y microscópicas a los 3, 7 y 14 días. Se usó como referencia el medio SDA.

**Experimentos de identificación:** Se inocularon las cepas *Rh. oligosporus*, *A. flavus*, *C. lunata*, *E. floccosum*, *Sp. schenckii* y *Cl. carrionii* en placas de petri preparadas con EGA (4%) sin ningún suplemento y en SDA incubándose a 28°C y en oscuridad por 3, 7, 14, 21 y 28 días (de acuerdo a la velocidad de crecimiento del hongo). Se observaron las

características macro y microscópicas de cada especie en estudio, éstas últimas mediante improntas con cinta plástica transparente y en cultivos en láminas (23) en EGA y SDA. Se utilizó lactofenol claro o azul como liquido de montaje.

## RESULTADOS

**I. Ensayo preliminar:** Los resultados se observan en las Figuras 1 y 2.

*Natrassia mangifera* (Edo. *Scytalidium*) Spegazzini 1880 C-UA. En todos los medios EGA utilizados: desarrollo rápido, 9 cm de crecimiento a los 14 días, micelio aéreo moderado, lanoso, grisáceo, reverso gris; microscópicamente: micelio septado bien desarrollado, no totalmente pigmentado, artroconidias subglobosas y cilíndricas, uni- y bicelulares, hialinas y pardas. En Sabouraud: similar a EGA, a excepción

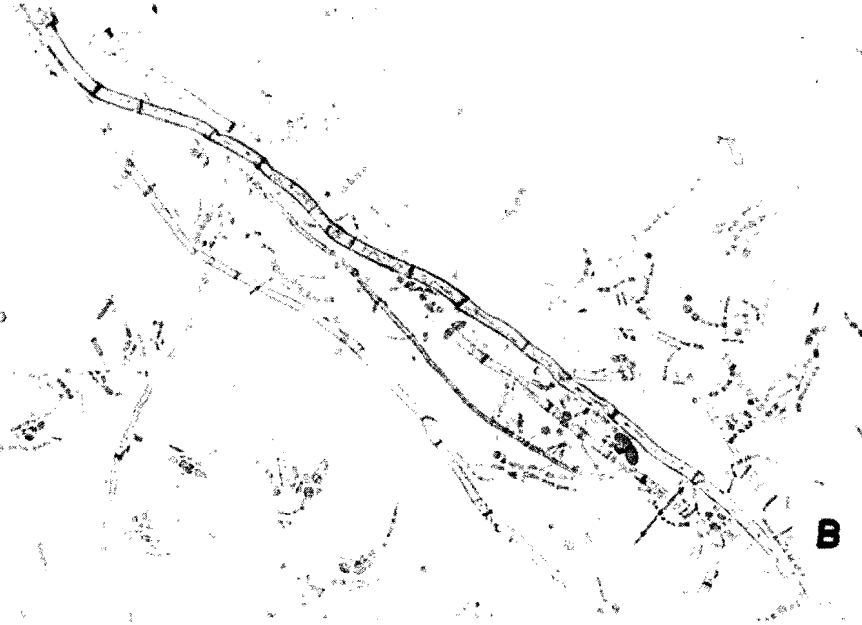
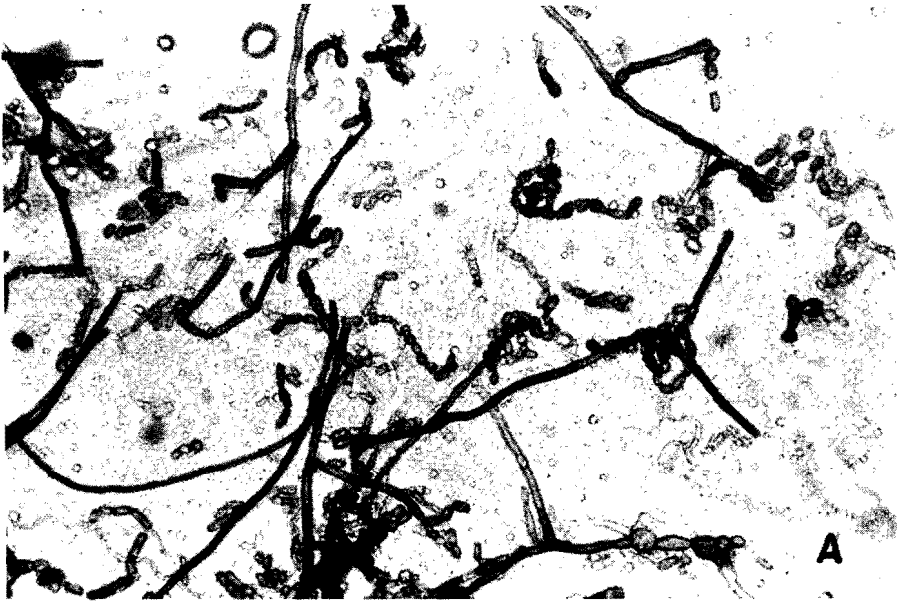


Fig. 1. (A-B): Ensayo preliminar. *Natrassta mangifera* (Edo. *Scytalidium*). A: EGA, M3; B: SDA. Se observa micelio pigmentado y arthroconidias típicas. Aumento 140X.



Fig. 2. (A-B): Ensayo preliminar. *Microsporium caninis*. A: EGA, M3; B: SDA. Se observan las típicas macroconidias piriformes. Aumento 140X.

de mayor pigmentación y micelio aéreo.

*Microsporium canis* Bodin 1902, Z-B-759. En EGA: desarrollo moderado, con un crecimiento mayor en los medios suplementados con peptona, micelio aéreo escaso, moderado a abundante, lanoso, colonia crema a amarillo pálido, reverso sin color a crema amarillento; microscópicamente: micelio septado, macroconidias fusiformes de 0-12 septos, microconidias piriformes, hifas en raqueta; en el medio con mayor concentración de exudado (M7) no se observaron microconidias y en el suplementado con glucosa (M9) ningún tipo de conidias. En Saboraud: desarrollo rápido, con un crecimiento de 8,5 cm de dm a los 14 días; micelio aéreo lanoso, amarillento

con periferia más clara, reverso sin color; microscópicamente: micelio septado, abundantes microconidias fusiformes de 0-12 septos, microconidias e hifas en raqueta.

**II. Experimento de identificación:** *Rhizopus oligosporus* Saito, C-UA. En EGA: desarrollo rápido, con un crecimiento de 9,0 cm a los 14 días, micelio aéreo escaso, algodonoso, grisáceo, reverso sin pigmentación; microscópicamente: esporangióforos solitarios o en grupos de 2 a 7, nacen de cortos rizoides, de pared lisa, mide hasta 430  $\mu$  de largo por 8,5 a 17  $\mu$  de ancho, esporangios globosos, miden de 42,7 a 99,7  $\mu$  de dm, columela globosa o subglobosa con apófisis; esporangióforo de variada forma, de pared lisa, hialinos, en masa de color marrón, de 11 a

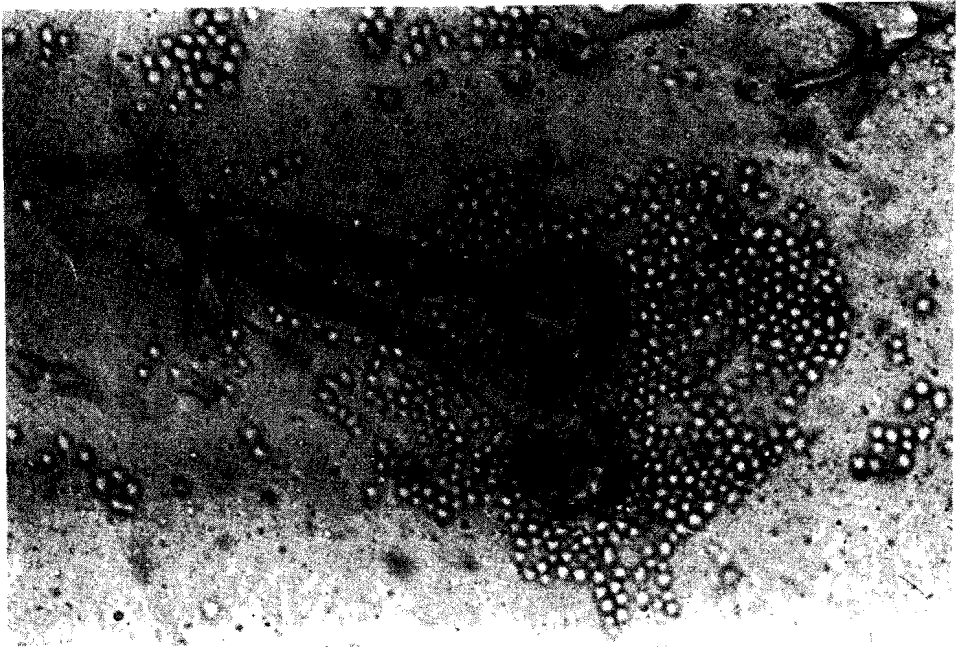


Fig. 3. *Rhizopus oligosporus* en EGA. 140X. Se observan esporangióforos surgiendo de rizoides cortos, columela globosa y esporangiosporos.

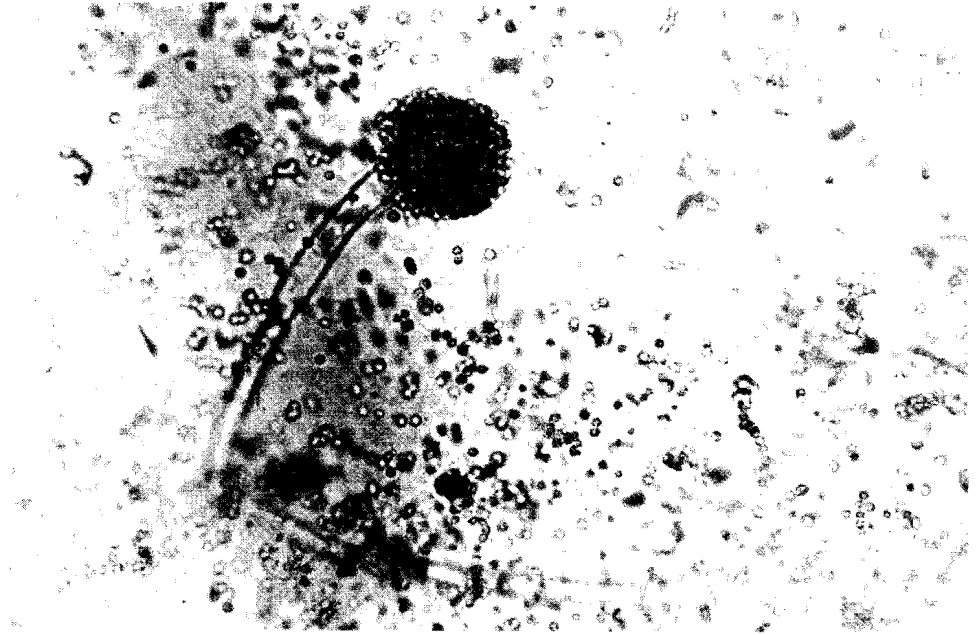


Fig. 4. *Aspergillus flavus* en EGA. 140X. Se observa conidióforo hialino, largo, cabeza aspergilar radial y conidias globosas

19  $\mu$  por 5,5 a 6,6  $\mu$  y de 5,5 a 8,8  $\mu$  de dm (Fig. 3). En Sabouraud: desarrollo rápido con un crecimiento de 9,0 cm de dm a los 14 días, micelio aéreo moderado, algodonoso, grisáceo, reverso marrón oscuro; microscópicamente: similar a EGA a excepción de mayor longitud de los esporangióforos (hasta 880  $\mu$  de largo) y de mayor diámetro de los esporangios (55 a 114  $\mu$ ).

*Aspergillus flavus* Link 1809, CIB-R. Aguilar. En EGA: desarrollo rápido, con un crecimiento de 9,0 cm de dm a los 14 días, micelio aéreo escaso a moderado, granuloso, verde, reverso sin pigmentación; microscópicamente: conidióforos septados, hialinos, de pared finamente rugosa, miden 1.790  $\mu$  de largo por 3,3 a 5,5  $\mu$  de ancho; cabeza asper-

gilar radial, amarillo verdosa, vesícula globosa o subglobosa, de 8,8 a 38,5  $\mu$  de dm, metulas de 7,7 a 11  $\mu$ , fiálides en forma de botella, de 5,5 a 7,7  $\mu$  por 3,0 a 4,4  $\mu$ , conidias globosas o subglobosas, de pared finamente rugosa, de color amarillo verdoso, de 3,3 a 4,4  $\mu$  de dm (Fig. 4). En Sabouraud: desarrollo rápido con un crecimiento de 9,0 cm de dm a los 14 días, micelio aéreo abundante, granuloso, verde, reverso amarillo limón; microscópicamente: similar a EGA a excepción de mayor longitud de los conidióforos (hasta 2.700  $\mu$  de largo).

*Curvularia lunata* (Wakker) Boedijn, Z-B-367. En EGA: desarrollo rápido con un crecimiento de 9,0 cm a los 14 días, micelio aéreo moderado, algodonoso, gris oscuro, re-

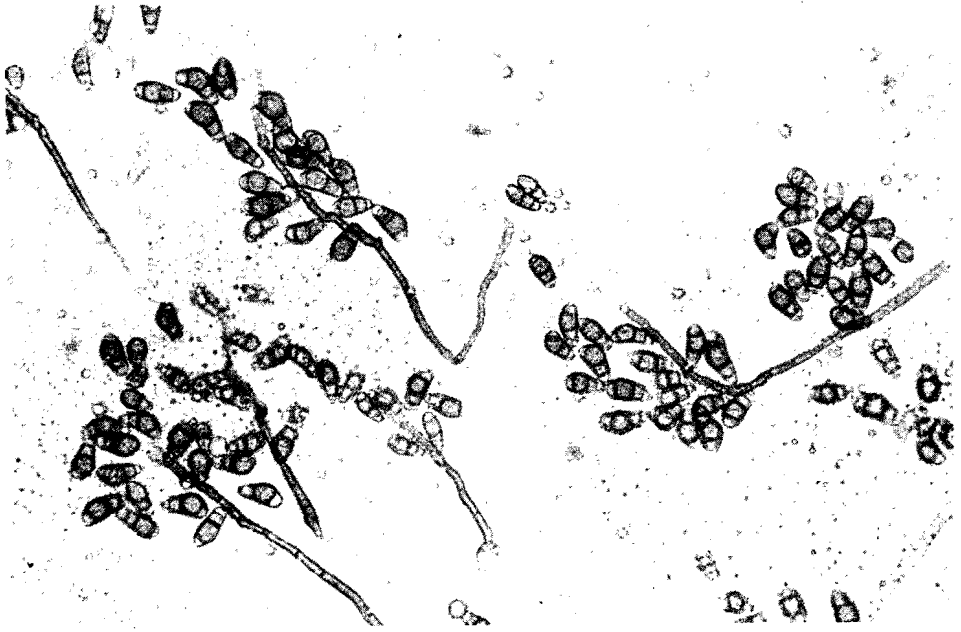


Fig. 5. *Curvularia lunata* en EGA. 140X. Se observa micelio pigmentado, conidióforos septados, conidias curvadas con hilum marcado y la tercera célula más ancha y más oscura.



Fig. 6. *Eptidermophyton floccosum* en EGA. 140X. Se observa micelio delgado, macroconidias ovales y clavadas de 0-4 septos, hifas en espirales.



verso gris; microscópicamente: micelio septado, ramificado, subhialino a marrón claro, de pared lisa, septados, simples o ramificados, solitarios o en grupos, miden de 63 a 104  $\mu$  de largo por 3,3 a 4,4  $\mu$  de dm, conidias en general curvadas, de tres septos, la tercera célula más ancha y oscura, acropleurógenas, con hilum marcado, miden de 15,4 a 24 por 6,6 a 11  $\mu$ . (Fig. 5). En Sabouraud: desarrollo rápido, con un crecimiento de 9,9 cm de dm a los 14 días, micelio aéreo abundante, aterciopelado, zonado, gris oscuro, reverso negro; microscópicamente: similar a EGA.

*Epidermophyton floccosum* (Harz) Langeron et Milochevitch 1930, Z-HUM-1057. En EGA: desarrollo lento, con un crecimiento de 2,5 cm de dm a los 21 días, sumergido, color amarillo kaki, micelio aéreo ausente, reverso amarillo claro;

microscópicamente: micelio septado, hialino, conidióforos cortos y largos, aislados y agrupados, macroconidias ovales y clavadas con base ancha y extremos redondeados, de 0-4 septos, pared delgada y lisa, miden 6,6 a 41,8 por 3,3 a 5,5  $\mu$ , clamidoconidias e hifas en espirales (Fig. 6). En Sabouraud: desarrollo moderado, con un crecimiento de 7,5 cm de dm a los 21 días, micelio aéreo aterciopelado, amarillo kaki a blanco, reverso marrón; microscópicamente: similar a EGA.

*Sporothrix schenckii* Hektoc et Perkins 1900, IMT-6110. En EGA: desarrollo lento, con un crecimiento de 2,4 cm de dm a los 28 días, micelio aéreo ausente, colonia ligeramente plegada, marrón verdosa, reverso marrón; microscópicamente: micelio septado, delgado, hialino, que porta conidióforos septados, hialinos, elongados, adelgazados



Fig. 7. *Sporothrix schenckii* en EGA. 280X. Se observa micelio delgado, conidióforos elongados, simpodiales, conidias hialinas, globosas y ovales.

hacia el ápice, simpodiales, miden de 7,7 a 38,5  $\mu$  por 0,5 a 1,1  $\mu$ , conidias hialinas, globosas u ovals, unicelulares, en la punta de conidióforos o en las hifas sobre pedículos, miden de 2,2 a 4,4 por 1,1  $\mu$ . (Fig. 7). En Sabouraud: desarrollo lento (2,4 cms a los 28 días), micelio aéreo aterciopelado, colonia ligeramente plegada, color crema, reverso marrón claro; microscópicamente: similar a EGA.

*Cladosporium carrionii* Trejos 1954, Z-HUM-902. En EGA: desarrollo lento con crecimiento de 2,6 cm de dm a los 28 días, micelio aéreo aterciopelado, verde grisáceo, periferia glabra, reverso gris; microscópicamente: micelio septado, subhialino a marrón claro que porta conidióforos rectos o flexuosos, ramificados o no, de color marrón claro, pared

lisa y de 8,8 a 16,5  $\mu$  de largo por 1,1 a 2,2  $\mu$  de dm; conidias ovals, en cadenas acropetas ramificadas, de pared lisa con hilum distintivo, hialinas a marrón claro, unicelulares, algunas con un septo. (Fig. 8). En Sabouraud: desarrollo lento, con un crecimiento de 3,5 cm de dm a los 28 días, micelio aéreo aterciopelado, gris oscuro, reverso negro, colonia plegada; microscópicamente: similar a EGA.

## DISCUSION

Los ensayos preliminares efectuados con cepas de *N. mangífera* (Edo. *Scytalidium*) y *M. canis* en los diferentes medios con exudado gomoso de *L. racemosa* (mangle blanco) y en Sabouraud como referencia,

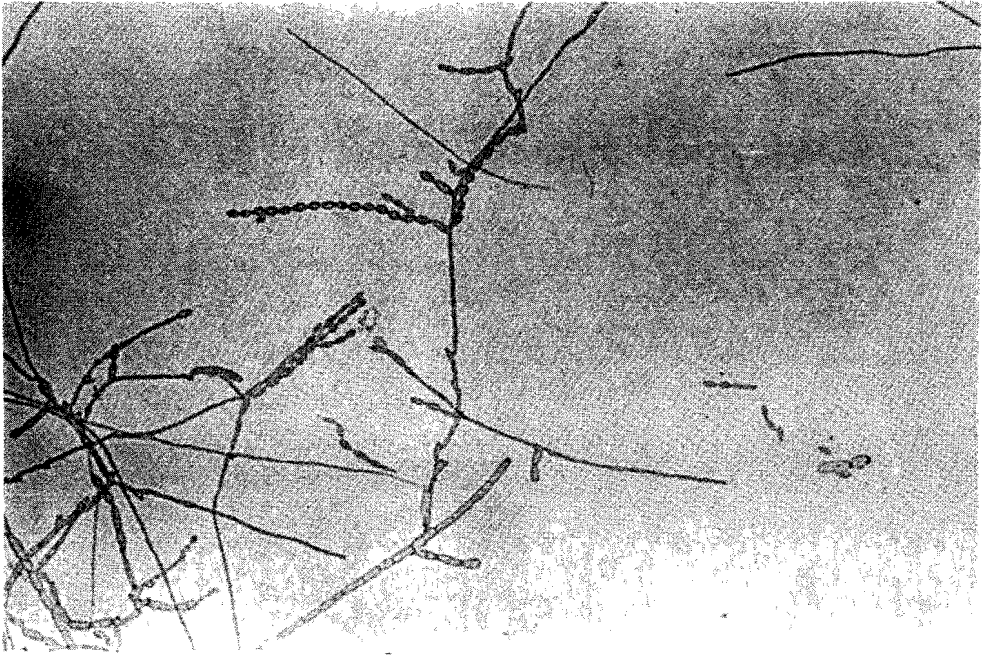


Fig. 8. *Cladosporium carrionii* e EGA. 175X. Se observa micelio septado, conidias ovals en cadenas acrópetas, con hilum distintivo.

mostraron que este polímero permite la formación de las estructuras morfológicas microscópicas (vegetativas y de reproducción) que identifican estos hongos; sin embargo, en el caso de *M. canis* la mayor concentración del exudado gomoso (M7) redujo la producción de conidias y éstas se inhibieron en el medio suplementado con glucosa (M9).

Está comprobado que la abundancia de glucosa en los substratos producen la pérdida del aspecto macroscópico y la capacidad de esporular en algunos hongos dermatofitos (8). Las características macroscópicas de las colonias se evidenciaron con menor intensidad (crecimiento, micelio aéreo y pigmentación) en los medios con exudado gomoso, como se reportó para *M. canis* en agua de coco (2). El aspecto macroscópico de la cepa *N. mangifera* en los medios con exudado gomoso fue comparable al observado en SDA, a excepción de la menor pigmentación y la disminución del micelio aéreo en M1, M3, M4.

La identificación de otras especies de hongos se realizó en un medio constituido por exudado gomoso (4%) y agar (1,5%). La búsqueda de un medio de cultivo económico fue el criterio para su selección.

Los experimentos de identificación con las cepas de las especies estudiadas mostraron en EGA las características microscópicas (vegetativas y de reproducción) típicas de cada especie, (Figs. 3-8); éstas fueron comparables a las observadas en SDA. El tipo de la pared de la conidia (lisa a rugosa) de *A. flavus*, rasgo importante para su identificación (12) se observó fácilmente en el me-

dio EGA. El tamaño y forma de las conidias de los *Hyphomycetos dematiaceos* (4, 5) principal criterio para su identificación, fue evidenciado inequívocamente en EGA.

Las características macroscópicas de las colonias fueron menos definidas en EGA. Se observó un menor diámetro de crecimiento en forma general. El micelio aéreo y la pigmentación de las colonias se redujeron o en algunos casos no se observaron. El escaso desarrollo de la especie *A. flavus* en este substrato podría atribuirse a una insuficiente concentración de zinc (3). La cepa de *Sp. schenckii* mostró en EGA una mayor pigmentación que en SDA; esta característica ha sido reportada en el medio Kaminski modificado (25).

El exudado gomoso de *L. racemosa*, heteropolímero complejo en presencia de agar resultó un substrato adecuado para el cultivo de los hongos investigados. La capacidad del microorganismo para utilizar los monosacáridos presentes en el exudado gomoso se relaciona íntimamente con el sistema enzimático de cada hongo.

La presencia de galactosa (19%), arabinosa (33%) como constituyentes del exudado gomoso podrían ser aprovechados por los hongos (22); por otra parte en la composición del exudado también existen micronutrientes (nitrógeno, calcio y magnesio) útiles para el crecimiento de los hongos. La posición de la arabinosa en la estructura de la goma de *L. racemosa* y la labilidad de sus enlaces (10), sugiere que dicho azúcar es probablemente la fuente carbonada más accesible a los hongos.

La preparación del medio de cultivo EGA induce la autohidrólisis del polímero. La liberación parcial de arabinosa en este proceso podría continuar a temperatura ambiente y durante el desarrollo del hongo.

Los resultados obtenidos demostraron que el medio EGA, preparado con el exudado gomoso nativo de *L. racemosa* permite la identificación adecuada de las especies estudiadas. La posible sustitución del medio del cultivo SDA por el EGA en la identificación de hongos, tiene un alcance importante para los estudios micológicos debido a que su preparación se basa en un producto natural nativo, de fácil obtención y económico.

#### AGRADECIMIENTO

Los autores expresan su agradecimiento al Laboratorio de Investigaciones Químicas, Facultad de Humanidades y Educación, L.U.Z. y a la Sección de Microfotografía de la Cátedra de Histología y Embriología, Escuela de Medicina, L.U.Z., por su valiosa colaboración.

#### ABSTRACT

**Gum exudate from *Laguncularia racemosa* (mangle blanco) as a culture media for fungus.** Mesa, L.M. (Cátedra de Micología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela), León-Pinto, G. *Invest Clin* 34(2): 85-98, 1993.

Morphological studies of eight species of fungus: *Aspergillus flavus*, *Microsporium canis*, *Epidermophyton floccosum*, *Curvularia lunata*, *Clad*

*dosporium carrionii*, *Natrassia mangifera* (Edo. *Scyrtalidium*), *Sporotrix schenckii* y *Rhizophus oligosporus*, which belong to families *Mucedinaceae*, *Dematiaceae* and *Mucoraceae* have been carried out in support medium based in gum exudate from *Laguncularia racemosa* (mangle blanco). This native polymer contains galactose, arabinose, rhamnose, uronic acid and proteins. Nitrogen calcium and magnesium are microconstituents of the gum. An economical substrate which contained gum exudate (4%) and agar (1.5%) was used in these studies. The results obtained showed that gum exudate-agar medium (EGA) permits an adequate identification of the studied species, therefore, it is a possible substitute for Sabouraud. It is important to know that the gum exudate is a natural product, economical and easy to obtain.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1- BORELLI D.: Medios caseros para Micología. *Arch Venez Trop Paras Med* 4(2):301-310, 1962.
- 2- CERUZZI F.: Nuevo recurso vegetal para la preparación de cultivos bacteriológicos. *Rev Fac Cienc Med Córdoba* 40(1-2):17, 1982.
- 3- CHATTERJEE C., NAUTYAL N., PATHAK A.: Influence of zinc on phosphorus metabolism in three *Aspergillus* species. *Trans Br Micol Soc* 91(3):501-504, 1980.
- 4- ELLIS M.B.: *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth Mycological Institute. Kew Surrey, England. p. 452-453, 1976.
- 5- ELLIS M.B.: More *Dematiaceous Hyphomycetes*. Commonwealth

- Mycological Institute. Kew, Surrey, England. p. 239, 1976.
- 6- GAMMOND D., STEPHEN A.M.: Glycosylated hydroxyproline derivatives from *Acacia eritoba* exudate. Carbohydrate Research 1954:298-295, 1986.
  - 7- GAMMOND D., CHURMS S., STEPHEN A.M.: Arabinogalactan-protein components of *Acacia tortilis* gum. Carbohydrate Research 151:135-146, 1986.
  - 8- GRIGORAKIS L.: La pleomorphism de dermathophytes. C R Ass Franc Av Sci 50:322-324, 1926.
  - 9- GUTIERREZ-GOTERA O., LEON-PINTO G.: Estudio estructural del exudado gomoso de *Laguncularia racemosa*. Rev Fac de Med L.U.Z. 19 y 20:91-124, 1987.
  - 10- GUTIERREZ-GOTERA O.: Posible modelo estructural del exudado gomoso de *Laguncularia racemosa*. Trabajo de ascenso, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela, 1989.
  - 11- HOCKING A., ANDREWS S.: Dichloran Chloramphenicol Peptona Agar as an identification medium for *Fusarium* species and some *Demataceous Hyphomycetes*. Trans Br Mycol Soc 89(2):239-244, 1987.
  - 12- KLINCH, MAND PITT J.: Differentiation of *Aspergillus flavus* from *A. parasiticus* and other closely related species. Trans Br Mycol Soc 91(1):99-108, 1988.
  - 13- LANGERON M.: Precis de Mycologie Generale. Mycologie Medicale. p. 122-124, Masson and Cie. (Ed), Paris, 1954.
  - 14- LEON-PINTO G., GONZALEZ-TROCONIS N., ROJAS A., LEAL E.: Espectro de R.M.N. de la goma de *Albizia lebeck* y de sus productos degradados. Aplicación de su elucidación estructural. Acta Científica Venezolana 40(5-6):335-340, 1989.
  - 15- LEON-PINTO G., LUDOVIC-CORREDOR A.: Estudio analítico de los exudados gomosos provenientes de la especie *Enterolobium cyclocarpum*. Acta Científica Venezolana. 37:92-93, 1986.
  - 16- LEON-PINTO G., RODRIGUEZ O., MARTINEZ M., RIVAS C.: Composition of *Cercidium praecox* gum exudates. Biochemical Systematics and Ecology. 21(2):297-300, 1993.
  - 17- LEON-PINTO G., NAVA M., MARTINEZ M., RIVAS C.: Gum polysaccharides of nine specimens of *Laguncularia racemosa*. Biochemical Systematics and Ecology 21(4):463-466, 1983.
  - 18- LEON-PINTO G., MARTINEZ M., GONZALEZ-TROCONIS N., ROJAS A., LEAL E.: Estudio estructural del exudado gomoso de *Swietenia mahagoni*. Anales de Química 88:157-161, 1992.
  - 19- LEON-PINTO G., ALVAREZ S., MARTINEZ M., ROJAS A., LEAL E.: Structural studies of *Melicocca bijuga* gum exudate. Carbohydrate Research, 239:257-265, 1993.
  - 20- MARQUEZ A., DA SILVA A.: Agua de coco en cultivo de cogumelos. Rev Bras Pat Clin 17(1):7-13, 1981.
  - 21- MARTINEZ M., LEON-PINTO G., RIVAS C.: Composition of *Acacia macracantha* gum exudates. Phytochemistry 31:535-536, 1992.
  - 22- MORE-LANDERCKER E.: Growth. In Fundamentals of the fungi. p. 284, 2nd ed., Prentice-Hall, Inc Englewood Cliffs, New Jersey, 1982.
  - 23- RIDELL R.W.: Permanent stained mycological preparation obtained by slide culture. Mycologia 42:265, 1950.

- 24- SABOURAUD R.: Les Trichophyties Humaines. p 31-35. Masson & Cie, Paris, 1984.
- 25- VELEZ H., SANTAMARIA L., MONTOYA F.: El medio de Kaminski adicionado con

nistatina para el aislamiento de dermatofitos y otros agentes patógenos. *Atreia* 2(1):45-49, 1989.