CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE ALGUNAS ESPECIES DE ASPERGILLI AISLADAS EN LA REPUBLICA MEXICANA

Ramón Riba y N. Esparza.

El estudio de los hongos del género *Aspergillus* y su designación con este nombre data del siglo XVIII en el que Micheli los describió en 1729 en su obra "Nova Plantarum Genera", únicamente desde el punto de vista taxonómico; pero no fué sino hasta mediados del siglo XIX cuando se les relacionó con procesos de fermentación y casos patológicos del hombre, animales y vegetales. Además de Pietro Micheli, Fresenius, De Bary y van Thiegem describieron especies estudiadas por ellos. A medida que el tiempo ha pasado, la importancia de los *Aspergilli* ha ido en aumento, y en la actualidad forman parte preponderante en la producción de algunas sustancias de valor industrial y terapéutico. Como ejemplo está *Aspergillus flavus* Link, que entre las sustancias producidas por la fermentación que provoca en el medio de cultivo sobre el que se desarrolla, forma la llamada *flavacidina*, con poder antibiótico semejante al de la penicilina, aunque en menor escala; la identidad de estas dos sustancias no ha sido probada.

Por lo que se refiere al aprovechamiento industrial de productos resultantes de la acción de estos mohos sobre el sustrato, podemos citar el caso del ácido cítrico, de cuya producción mundial más o menos el 90% se obtiene por fermentación a base de mohos del género *Aspergillus* (5, 13, 19). Además del ácido cítrico, los *Aspergilli* producen otros más como los ácidos oxálico, fumárico, kójico e itacónico (15).

Breve reseña histórica del género *Aspergillus*. — El nombre *Aspergillus*, que significa "cabeza rugosa", como se dijo antes, fué dado a estos mohos por Micheli, cuando antes del desarrollo del microscopio y ayudándose de toscas lentes, observó conidióforos y cabezuelas que presentaban una superficie desigual por las largas y numerosas cadenas de conidios formadas en su superficie; posteriormente Persoon (1790) incluyó a los *Aspergilli* en el grupo que él denominaba "monilias" basándose en la formación de conidios en cadenas. Link, en 1809, rechazó tal denominación y volvió al nombre propuesto por Miche-

li, especificando que las cadenas de esporas bien podían tener su origen en una cabezuela.

Todavía en el siglo XIX las formas ascospóricas se consideraban como organismos distintos a los **Aspergilli**, clasificándose bajo el nombre genérico de **Eurotium**: "...a simple vista aparece como una multitud de pequeños cuerpos esféricos amarillentos del tamaño de cabezas de alfiler, descansando sobre filamentos que forman una especie de telaraña a su alrededor. Observándolos con mayor aumento, la superficie de los conceptáculos se ve reticulada. En su interior se ven las esporas desnudas, aunque contenidas en ascas. Se ha considerado probable, aunque no se ha demostrado totalmente, que este hongo es una condición ascígena de un moho muy común (**Aspergillus**)" (De Bary, 1854).

Después, en 1884, Sicard, en su "Histoire Naturelle des Champignons comestibles et Vénéneux", hace referencia a un trabajo de Antón de Bary, en el que explica que los hongos del grupo de los Artrospora, pueden tomar distintos aspectos a través de su desarrollo. Por la observación hecha del desarrollo de un moho encontrado por De Bary sobre las frutas en conserva llamado **Aspergillus glaucus**, describe en su trabajo la formación de los cuerpecillos esféricos amarillentos considerados hasta entonces como **Eurotium herbariorum**.

En resumen, al género **Aspergillus** se le han dado, a través de casi doscientos años en que se ha acumulado una gran cantidad de literatura sobre él, los siguientes nombres, que desde luego, y atendiendo a las reglas de nomenclatura botánica han pasado a sinonimia: **Eurotium** (Link, 1854); **Sterigmatocystis** (Cramer, 1859); **Euaspergillus** (Ludwig, 1892); **Aspergillopsis** (Spegazzini, 1911), y **Diplcstephanus** (Langeron, 1922).

Caracterización del género Aspergillus. — Los hongos del género **Aspergillus**, junto con otros como **Rhizopus**, **Penicillium** y **Mucor**, son comúnmente llamados mohos. Por lo que se refiere al género **Aspergillus**, se puede decir que las especies que comprende son cosmopolitas, pues viven en casi todas las latitudes y altitudes del planeta, además de tener, consecuentemente, un habitat muy amplio. Como la mayor parte de los mohos, se desarrollan principalmente sobre materia orgánica en descomposición, pero se han encontrado, además, parasitando diversos animales y vegetales superiores.

Morfología. — Analizando al microscopio las colonias de **Aspergilli**, observamos que en la mayor parte de las especies la zona vegetativa de la colonia está formada por un micelio sumergido del que se desprenden hacia arriba las hifas fructíferas, dando a la superficie de la colonia un aspecto aterciopelado; otras producen una red de hifas aéreas más o menos ramificadas y entrelazadas, de las cuales se desprenden los conidióforos, llamándoseles entonces "floccosas". En oca-

siones el aspecto superficial de la colonia es importante para la clasificación de algunos grupos. Otro carácter que puede en ocasiones tomarse en cuenta para fines sistemáticos, es la disposición de las áreas fructíferas o conidiales, esto es, zonas o regiones donde se promueve la formación de conidióforos que se disponen ya en círculos concéntricos (*A. ochraceus*), bien en áreas irregulares, o sólo en los bordes de la colonia.

Fig. 1.—Esquema de la disposición de los esterigmas en una serie. (*Aspergillus ruber*).
(25 micras = 16 mm.).

Al hacer un estudio más detallado de la colonia, se distinguen varias partes, que son: el conidióforo, las células basales, la cabeza co-

nidial, la vesícula, los esterigmas, los conidios, peritecios, ascas, ascosporas y esclerocios. De la superficie de la colonia y de la red de hifas aéreas se formarán las hifas fructíferas, esto es, hifas de las que va a depender la formación de los conidios y que reciben el nombre de conidióforos (figura 1). El origen de los conidióforos está en las células basales, que son células diferenciadas del micelio con pared engrosada, de mayor tamaño que las demás, y que llevan una rama erecta y perpendicular a su eje mayor, que es el conidióforo, el cual en su extremo distal se ensancha y forma la vesícula. Esta prolongación de la célula basal puede ser septada algunas veces, y aún más, los septos llegan a ser tan apreciables, que se justifica entonces el adjetivo de "articulados" que se les dió a los conidióforos en los primeros trabajos. La pared del conidióforo es más gruesa generalmente hacia la base y se va adelgazando hasta hacerse casi imperceptible a nivel de la vesícula. Esta estructura, que es un ensanchamiento distal del conidióforo, presenta una cierta variedad de formas y puede ser globosa, hemisférica, cupuliforme o clavada, pero cualquiera de ellas presenta una gran superficie para la implantación de los esterigmas. La cavidad interna de la vesícula se continúa con la del resto del conidióforo, y sólo ocasionalmente se encuentra un ligero septo en su base (**A. mucroides**); no se encuentra con regularidad en ninguna especie.

Ahora bien, un carácter primordial en la clasificación de algunos grupos, es el color y forma de la cabeza conidial o cabezuela, que es la estructura formada por las cadenas o agrupaciones de conidiosporas (fig. 2). Cuando la cabezuela de **Aspergillus** presenta un color moreno púrpura hasta negro, el moho en cuestión pertenece al grupo **A. niger**. Las cabezuelas que presentan forma de clava indican que el hongo pertenece al grupo **A. clavatus**.

Las cabezuelas están constituidas por tres partes, que son la vesícula, los esterigmas y las conidiosporas. Los esterigmas son células a partir de las cuales se forman las conidiosporas y están implantados generalmente en toda la superficie de la vesícula (fig. 3), aunque en algunas especies se disponen en la mitad o dos tercios distales de la vesícula; casi siempre tienen forma clavada y pueden estar dispuestos en una sola serie como en **A. niveo-glauca** o en dos series, como en **A. versicolor**. Cuando se disponen en dos series, en el extremo libre de los esterigmas implantados directamente sobre la vesícula, se desarrollan dos o más esterigmas más pequeños llamados secundarios.

Las conidiosporas se forman en el extremo de los esterigmas por un proceso semejante a una gemación, ya que el núcleo esterigmático se divide por bipartición y uno de los dos núcleos resultantes pasa al extremo del esterigma, el que se angosta formando un cuerpecillo esférico o elíptico que es la conidiospora; las sucesivas divisiones del nú-

oleo activo del esterigma dan por resultado la formación de una cadena de conidiosporas, en ocasiones con cientos de ellas, capaz cada una de propagar la especie. Las conidiosporas son de origen asexual; tienen entre la membrana externa y la interna sustancias colorantes que son las que le dan el color superficial característico a la colonia por la gran cantidad de conidiosporas formadas. Tienen una gran resistencia y pueden conservar su potencialidad por muchos años, aunque algunas especies son extremadamente delicadas y se destruyen con rapidez.

Fig. 2.—Cabezuela madura de *Aspergillus fonsecaeus* (320 $\times$)

La vesícula es un ensanchamiento del extremo distal del conidióforo y forma la base de la cabeza conidial; en toda su superficie o sólo en parte de ella, se implantan los esterigmas de los que ya se ha hablado. Los peritecios (fig. 4) constituyen los órganos de reproducción sexual del hongo, y se forman como cuerpos globosos de dimensión variable (90 a 300 micras de diámetro) sobre la superficie del

sustrato, y quedan flojamente enredados en la hifas del micelio. Estos órganos se presentan con regularidad en especies de los grupos *A. glaucus* y *A. fischeri*. En su interior se desarrollan las ascosporas (fig. 5), que tienen la forma de dos valvas simétricas, asumiendo forma lenticular con un surco más o menos acentuado en la zona ecuatorial. Cuando la ascospora germina, las dos valvas se abren y permiten entonces el desarrollo de la hifa, a partir de la cual se formará un nuevo micelio.

Fig. 3.—Esquema de la disposición de los esterigmas en dos series. (*Aspergillus fonscaeus*). (50 micras = 10 mm.).

Por último, los esclerocios son masas compactas con color y estructura características de las especies que los presentan. Están formados por células parenquimatosas de pared muy gruesa y no se conoce su significado genético. Se desarrollan regularmente en especies de los grupos *A. candidus*, *A. oryzae* y *A. niger*.

Fig. 4.—Peritecio mostrando ascas de *Aspergillus ruber*.
(320 $\times$)

Medios de cultivo. — Para el desarrollo de las cepas puras se utilizaron dos medios sólidos de cultivo, Saboureaud-Dextrosa y Czapek-Agar, habiéndose hecho las observaciones comparativas en cepas desarrolladas sobre este último, cuya composición es la siguiente:

Agua	1000.00 c.c.
NaNO ₃	3.00 gm.
K ₂ HPO ₄	1.00 gm.
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.50 gm.
KCl	0.50 gm.
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.01 gm.
Sacarosa	30.00 gm.
Agar	15.00 gm.

Fig. 5.—Ascoporas de *Aspergillus ruber*.
(800 X)

La preparación se hace de la siguiente manera: en el agua se disuelven las cantidades correspondientes a las sustancias indicadas; el agua se coloca en un matraz y éste en baño maría, agitando constantemente hasta que se observe la disolución completa de las sustancias, principalmente de las partículas de agar, pues de otra manera, al solidificarse el medio habría formación de grumos. Una vez disuelto el medio de cultivo, antes que enfríe y solidifique, se vacía en tubos de ensaye de 150 mm. x 15 mm. Si se van a hacer los cultivos en tubo se vaciarán en éstos de 4 a 5 c.c. del medio. Si los cultivos se desean hacer en cajas de Petri, se llenan los tubos hasta unos 3 a 4 cm. del borde, calculando a razón de dos tubos para cada caja de Petri; no se vacía directamente sobre las cajas, porque la esterilización se hace más fácil en tubos.

Fig. 6.—Cultivos contaminados de *Aspergillus fonsæcaeus* (tamaño natural).

Fig. 7.—Cultivo puro de *Aspergillus fonsæcaeus*. (Tamaño natural).

Obtención, purificación y aislamiento de las cepas estudiadas. — Para obtener una cepa pura de cualquier especie de *Aspergillus* se deben seguir ciertos pasos necesarios para su separación, ya que pueden estar contaminadas con bacterias, levaduras y aun con otras especies de mohos en su sustrato natural, lo que puede hacer que presenten

cambios durante su desarrollo, los que se hacen presentes por un encubrimiento del moho provocado por los agentes contaminadores, o una alteración consistente en una formación muy abundante de micelio vegetativo, sin ninguna traza de formación de conidióforos (figs. 6 y 7), y por lo tanto, de conidiosporas, haciendo entonces imposible la identificación de las especies. El método seguido para la purificación de las cepas consistió en la dilución de esporas en agua esterilizada, seguida de una inoculación múltiple en caja de Petri. El material de observación e identificación se cultivó en tubos de ensaye mediante una inoculación en estría, y para detalles macroscópicos de las colonias se cultivaron éstas en cajas de Petri mediante una inoculación central para obtener una colonia gigante.

Para la obtención de las cepas puras se partió del sustrato natural del moho, excepto en los cultivos Núms. 50 y 60, los cuales en cepas puras aisladas de piñas parasitadas, fueron donadas gentilmente para su estudio por el Dr. Harry S. Schroeder y la Sra. Ma. de los Angeles M. de Schroeder.

Las cepas Núms. 10 y 20 fueron obtenidas de un fruto de limón expuesto a la intemperie; la cepa núm. 30, de un coleóptero colectado cerca de Iguala, Guerrero; las cepas Núms. 40 y 80 de semillas de trigo parasitadas procedentes del Estado de Sonora, donadas también por los Sres. Schroeder; la cepa Núm. 70 se desarrolló sobre un rizoma de *Dioscorea composita* colectado en el municipio de Atzala, Tlapacoyan, Veracruz.

Descripción de las especies estudiadas.

Cepas Núms. 10 y 20.

Grupo: *Aspergillus niger* (14).

Especie: *Aspergillus fonsecaeus* Thom y Paper.

Colonias sobre Czapek Agar con un diámetro de 8 a 9 cm. después de 15 días de incubación, a una temperatura de 25°-28° C. Abundante micelio vegetativo e incoloro; estructuras conidiales abundantes dispuestas en zonas radiadas (fig. 8); cabezuelas de color moreno negruzco (Mummy brown, Ridgway XV-17-m.); reverso de la colonia color oscuro después de dos semanas. Cabezas conidiales grandes, globosas (fig. 2), con numerosas cadenas de esporas unidas en grandes masas flojamente dispuestas, con un diámetro variable entre 380 y 600 micras. Conidióforos con longitud de 2.5 a 3.5 mm. y 16 a 23 micras de diámetro; paredes de 2 a 2.5 micras de grueso con superficie lisa e incolora, aunque ligeramente morena cerca de la vesícula. Vesículas globosas de 62 a 88 micras de diámetro, con esterigmas en dos series y dis-

Fig. 8.—Colonia gigante de *Aspergillus fonsecaeus* (tamaño natural).

puestos en toda la superficie. Esterigmas en dos series color moreno obscuro o claro; esterigmas primarios variables entre 28 a 32 micras por 7 a 9 micras, aunque pueden llegar a medir hasta 56 por 12 micras; esterigmas secundarios de 12 a 16 micras por 3 a 5 micras. Conidios grandes, forma globosa, superficie rugosa, con diámetro de 6 a 8 micras. No hubo formación de peritecios ni esclerocios.

Cepa Núm. 30.

Grupo: *Aspergillus glaucus*.

Especie: *Aspergillus ruber* Bremer.

Colonias sobre Czapek Agar con 20% de sacarosa, incubadas durante 19 días a 24° C. Son circulares, con bordes ligeramente irregulares, de 7 cm. de diámetro, de color que varía entre el rojo ferruginoso (Ridgway, XIV-9'-i) y rojo marroquí (Morocco Red; Ridgway, 1-5-k): peritecios muy abundantes dentro de un denso fieltro de hifas de color rojo; cabezas conidiales globosas sobresaliendo de dicho fieltro de hifas,

variando de verde grisáceo a verde olivo, más o menos abundantes, con diámetro de 145 a 165 micras. Conidióforos de 270 a 450 micras de largo con diámetro de 11 a 14 micras (fig. 3); pared lisa, ligeramente verdosa, con un grosor de 0.75 a 1 micra. Vesícula subglobosa, de 20 a 25 micras de diámetro; esterigmas en una sola serie y flojamente dispuestos en la superficie de la vesícula, midiendo de 7 a 8.5 micras por 3 a 4 micras, color verde claro; conidios piriformes o subglobosos, provistos de numerosas espinitas de color verde grisáceo, con dimensiones de 6 a 8 micras por 4 a 5 micras. Peritecios muy abundantes, embebidos en el micelio desarrollado sobre la superficie del medio de cultivo, de color amarillo naranja hasta rojo naranja, subesféricos (fig. 1), de 60 a 110 micras de diámetro; ascas de 11 micras de diámetro; ascosporas lenticulares de 5.5 a 6 micras por 4 a 4.5 micras con una ancha depresión circular poco profunda en la zona ecuatorial de la espora; crestas a menudo indiscernibles; superficie lisa (fig. 2).

Cepas Núms. 40 y 50.

Grupo: **Aspergillus niger**.

Especie: **Aspergillus niger** van Tiegem (17).

Fig. 9.—Colonia gigante de **Aspergillus niger** (tamaño natural).

La cepa Núm. 40 se aisló de semillas de trigo y la Núm. 50 de la superficie de una piña.

Colonias que crecen rápidamente sobre Czapek Agar con sacarosa al 3% (fig. 10). Tienen abundante micelio incoloro sumergido; hifas aéreas escasas. Areas conidiales concéntricas. Cabezuelas color moreno negruzco, comúnmente globosas y que miden de 240 a 500 micras de diámetro. Conidióforos generalmente incoloros, aunque cerca de la vesícula adquieren un tono amarillento ligeramente moreno, variando su longitud de 0.5 mm. a 1.005 mm. hasta alcanzar en ocasiones 2.280 mm. con un diámetro de 12 a 19 micras. Sus paredes son lisas, con un grosor de 1.5 a 2 micras. Vesículas de forma globosa o subglobosa, de 44 a 64 micras de diámetro, de color moreno amarillento y que presentan una ligera constricción en el lugar donde se continúa con el conidióforo (9). Esterigmas en dos series, siendo los primarios abundantes, dispuestos sobre toda la superficie de la vesícula, de color moreno claro; dimensiones: 20 a 35 micras por 5.5 a 7.5 micras; esterigmas secundarios de 5 a 10 micras por 3 a 4 micras. Conidios globosos, color moreno obscuro, superficie lisa o ligeramente rugosa, con algunas equinulaciones, y de 3.5 a 4.7 micras de diámetro (19). No se observó formación de peritecios ni de esclerocios.

Cepa Núm. 60.

Grupo: **Aspergillus flavus-oryzae**.

Especie: **Aspergillus micro-virido-citrinus** Const. y Lucet (4).

Colonias sobre Czapek Agar con 3% de sacarosa y a 24° C. alcanzando un diámetro de 8.5 cm. a las dos semanas de incubación; presentan abundante micelio sumergido incoloro y superficialmente tienen color verde cenizo, por la gran cantidad de cabezas conidiales maduras. Algunas de ellas son de forma columnar, aunque la mayor parte son globosas; su diámetro es variable entre 100 y 125 micras. Conidióforos de 520 a 840 micras de longitud, con septos transversales algunos de ellos; otros conidióforos pequeños de 100 a 150 micras de largo y unos cuantos esterigmas en la superficie de la vesícula. Su diámetro varía de 9 a 13 micras, aumentando ligeramente en la base de la vesícula. La pared del conidióforo mide de 0.75 a 1.3 micras de grueso; es granular cerca de la vesícula (presenta un aspecto ligeramente rugoso), y lisa en el extremo opuesto; es incolora o ligeramente verde amarillenta en el extremo proximal. La vesícula es semiglobosa, de color verde amarillento con diámetro variable entre 34 y 42 micras. Esterigmas en una sola serie, pocos en número, pero dispuestos en toda la superficie de la vesícula, de color ligeramente verdoso, variando en tamaño entre 8 y 10 micras por 4 a 6 micras. Conidios color verde claro, de pared delgada, lisa, de 3.7 a 4.6 micras. No se observó formación de peritecios ni de esclerocios.

Cepa Núm. 70.

Grupo: **Aspergillus flavus-oryzae** (11).

Especie: **Aspergillus oryzae** (Ahlburg) Cohn (3).

Las colonias sobre Czapek Agar son circulares, con bordes ligeramente irregulares y alcanzando un diámetro de 6 a 7 cm. a los 13 días de incubación a 24° C.; tienen abundante micelio sumergido, con una capa superficial de micelio blanquecino cuando joven; a medida que va madurando se comienzan a formar áreas conidiales maduras de color amarillo verdoso primero hasta verde olivo claro en plena madurez. Cabezuelas maduras de forma esférica color verde olivo claro, variando de 250 a 300 micras de diámetro, dándole las cadenas de conidiosporas un aspecto radiado por no estar adheridas entre sí. Conidióforos incoloros de 1.080 mm. a 1.605 mm. de largo y de 11 a 20 micras de diámetro, habiendo alcanzado algunos hasta 32.6 micras. Pared de 0.75 a 1 micra de grueso; algunos de los conidióforos tienen setos delgados; toda la pared externa de los conidióforos está cubierta de numerosas granulaciones. Vesículas globosas o subglobosas, en algunos casos septadas en la base, de 38 a 60 micras de diámetro. Esterigmas en una serie de 10 a 14 micras por 4 a 5 micras, o en dos series, los primarios de 9.6 a 20 micras por 4.6 a 8 micras, y los secundarios de 7 a 9 micras por 3 a 5 micras. Conidios piriformes de 5 a 6.2 micras por 3.5 a 4.3 micras, con superficie lisa o ligeramente amarillenta, color verde amarillento.

Eclerocios algo abundantes, duros, blancos al principio y después de color moreno obscuro de 1 mm. de diámetro (12, 13).

Cepa Núm. 80.

Grupo: **Aspergillus niger** (14).

Especie: **Aspergillus awamori** Nakazawa (7).

Cultivo en Czapek Agar, durante siete días, a 24° C., con diámetro de 6 cm. y color moreno negruzco; conidióforos de 2.100 mm. a 2.935 mm. de largo por 12 a 18 micras de diámetro; pared lisa, color moreno claro, de 1.6 a 2 micras de grueso. Cabezuelas de color moreno negruzco, globosas, de 390 a 615 micras de diámetro; vesículas globosas, de color moreno claro, de 38 a 56 micras de diámetro. Esterigmas en dos series, los primarios de 8 a 11 micras por 2 a 4 micras, dispuestos en toda la superficie de la vesícula, de color moreno claro. Esterigmas secundarios de 6.8 micras por 2 a 3 micras. Conidiosporas generalmente globosas o en ocasiones elípticas, de 4 a 4.6 micras de diámetro, lisas o ligeramente rugosas. No se observó formación de peritecios ni esclerocios.

Conclusiones. — De las seis especies de *Aspergilli* descritas en este trabajo, tres de ellas fueron encontradas viviendo como saprofitas: *A. fansecaeus*, en un fruto de limón, *A. ruber* se desarrolló en un coleóptero, cuya clasificación fué imposible por el estado de destrucción en que se encontraba (fig. 9), *A. oryzae* creció sobre un rizoma de *Dioscorea composita* a los siete días de colectado. Los otros tres se encontraron viviendo como parásitos: *A. niger* en semillas de trigo y piñas, *A. micro-virido-citrinus* en piñas también y, por último, *A. awamori* sobre semillas de trigo.

Fig. 10.—Insecto parasitado por *Aspergillus ruber*.
(2 ×)

Por lo que se refiere a su patogenicidad en el hombre, se ha reportado *A. niger* presente en algunos casos de otomicosis (1,8). Las otras especies no han sido reportadas en relación con alguna micosis del hombre.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1.—ANDERSON, C.—Sur un cas d'otomycose a *Sterigmatocystis nigra*. Arch. Inst. Pasteur Tunis, 15: 93-96, 1925.
- 2.—BAINIER, G.—*Sterigmatocystis fusca* Bainier. Bul. Soc. Mycol. France, 27:29, 1880.
- 3.—COHN, J.—Jahresb. Schless. Gesell. Vater. Cultur (1183). 61:226, Breslau 1884.
- 4.—CONSTANTIN, J. and LUCET, A.—Ann. Sci. Nat. Bot. IX (2):158, 1905.
- 5.—CURRIE, J. N.—The citric acid fermentation of *A. niger*. Jour. Biol. Chem., 31:15-57, 1917.
- 6.—KORSCHULT, O. D.—Dingler's Polytechnisches Jour. 230:330, 1878.
- 7.—NAKAZAWA, R.—On the Koji Fungus, *Aspergillus awamori*. Inst. of Gov't. Research, Formosa, Rept. Vol. I, 1907; Vol. II, 1912.

- 8.—SIEBENMANN, F.—Die Fadenpilze *Aspergillus flavus*, *niger*, *fumigatus*; *Eurotium repens* (und *A. glaucus* und ihre Beziehung. zur Otomycosis Aspergillina. Zeitschr. Ohrenheilk. 12:124-161. 1883.
- 9.—SPEGAZZINI, C.—*Aspergillopsis nigra* (van Thiegem). Speg. Myc. Arg. V, An. Mus. Nac. Buenos Aires. Ser. 3, 13:434, 1911.
- 10.—SPECKERMANN, A. and BREMER, W. Landw. Jahreshb. 31:81-128, 1902.
- 11.—THOM, C. and CHURCH, M. B. *Aspergillus flavus*, *oryzae* and associated species. Amer. Jour. Bot. 8:103-126, 1921.
- 12.—THOM, C. and CHURCH, M. B.—The *Aspergilli*. 112, 1926.
- 13.—THOM, C. and CURRIE, J. N.—Jour. Agr. Research, 7, 1, 1916.
- 14.—THOM, A. C. and CURRIE, J. N.—*Aspergillus niger* group. Jour Agr. Research. 7:1-15, 1916.
- 15.—THOM, C. and RAPER, K. B.—A Manual of the *Aspergilli*. Williams & Wilkins Company, 1945.
- 16.—UNDERKOFER and HICKEY.—Industrial Fermentations, I; Chemical Publishing Co., Inc., 1954.
- 17.—VAN THIEGEM, PH.—*Aspergillus niger*. Ann. Sci. Nat. Bot. s. 5, t. 8:240, 1867.
- 18.—VAN THIEGEM, PH.—*Sterigmatocystis nigra*. Bul. Soc. Bot. France; 24:102. 103. 1877.
- 19.—WEHNER, C.—Kleinere mykologische mitteilungen. Zur oxalsauregarung. 3: 102-108; 147-153, 1897.