

TESIS PRESENTADA PARA OPTAR AL TÍTULO DE DOCTOR EN CIENCIAS NATURALES (ORIENTACIÓN ECOLOGÍA) AÑO 2008

EFECTO OVICIDA DE HONGOS DEL SUELO SOBRE HUEVOS DE *TOXOCARA CANIS* (WERNER) JOHNSTON



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MUSEO

LIC. MARÍA LAURA CIARMELA

DIRECTORA:
DRA. MARTA CECILIA MINVIELLE

CODIRECTORA:
DRA. ANGÉLICA MARGARITA ARAMBARRI

*A mi madre,
Pepo, Greta, Isi,
Ber, Marcelo*

A la memoria de mi padre

**“IF THE DOORS OF PERCEPTION WERE
CLEANSED, EVERY THING WILL APPEAR
TO MAN AS IT IS, INFINITE”**

WILLIAM BLAKE

**“SI LAS PUERTAS DE LA PERCEPCIÓN FUERAN ABIERTAS, EL HOMBRE PERCIBIRÍA
TODAS LAS COSAS TAL COMO SON, INFINITAS” WILLIAM BLAKE**

AGRADECIMIENTOS

A mi directora, Dra. MC Minvielle, por transmitirme su experiencia y conocimientos, creer en mí y brindarme su constante estímulo en el difícil camino de la investigación.

A mi codirectora, Dra. AM Arambarri por brindarme todos sus conocimientos, elementos y apoyo incondicional, para que fuera posible este trabajo de tesis.

Al Dr. JA Basualdo por permitirme realizar en libertad este trabajo de tesis en la cátedra a su cargo.

A Patricia Sarmiento del Servicio de Microscopía Electrónica del Museo de Ciencias Naturales, UNLP por su infinita paciencia y momentos compartidos en los turnos de microscopía.

A la Ing. María Inés Urrutia por su asesoramiento en el uso de los métodos estadísticos.

A la Lic. AM Bucszinsky encargada del cepario del Instituto de Botánica Spegazzini.

A la Dra. Marta Cabello por la lectura crítica del anteproyecto de tesis.

A las Dras. G Navone, C López Lastra y J Notarnicola por poner a mi disposición y aportarme parte de la bibliografía citada.

Al Dr. M Saparrat por su asesoramiento en la presentación de la tesis.

A la Diseñadora Alicia Colussi que desde Madrid colaboró en las carátulas y portada de la tesis.

A Román González por su predisposición en la búsqueda de los parásitos adultos.

A Med. Vet. María Nieva de Veterinaria "Grinvas"

A los alumnos de las cursadas 2005-2006-2007-2008 de Microbiología y Parasitología de la Fac. de Cs. Médicas, UNLP.

A la gente del Barrio "La Aceitera"

A mis amigos del barrio, la escuela y la facultad que se preocuparon por mí durante todo este tiempo.

A mis compañeros de la cátedra por soportar mis estados de ánimo durante la ejecución de la tesis, y colaborar de una u otra manera en su desarrollo.

A mi mamá que junto a mi padre me enseñaron con amor a transitar por la vida con honestidad inculcándome esfuerzo, perseverancia, constancia y espíritu de superación como valores necesarios para grandes logros.

A Pepo por su amor, compañía, paciencia y colaboración, para que pudiera dar lugar a este logro personal comprendiendo su importancia y trascendencia.

A mi hermana que me acompaña en todo momento de la vida.

A mis sobris, Greta e Isi que sin saber mucho de qué se trata una tesis, aceptaron mis ausencias en momentos habitualmente compartidos en familia.

A mi cuñado Marcelo que siempre reconoce la tarea de investigación y valora mi trabajo de tesis.

A Zoila que me acompañó durante gran parte de mi carrera y está en mi corazón y a Lilo que supo esperar para salir a pasear.

A Ato y Coca, Tía Nelva, Claudia, Lidia, Chola, Tota, Tío Bocha, Pocha, Perla, Hugo y Elba que me acompañan siempre.

ÍNDICE

PÁGINA

Resumen
Summary

INTRODUCCIÓN.....	1
<i>Toxocara canis</i> y ubicación taxonómica.....	3
Ciclo de vida de <i>Toxocara canis</i>	4
Paraténisis.....	8
Factores que influyen en la susceptibilidad a la infección en perros adultos.....	8
Accidental	10
Aspectos clínicos de toxocariasis.....	11
Larva <i>migrans</i> visceral.....	12
Larva <i>migrans</i> ocular.....	13
Toxocariasis encubierta.....	14
Toxocariasis subclínica.....	14
Toxocariasis ambiental.....	15
Dispersión de <i>T. canis</i> por artrópodos.....	18
Control biológico	19
Control de <i>T. canis</i> : nuevas estrategias.....	21
Hongos nematófagos.....	24
Clasificación de los hongos nematófagos según su actividad ovicida	30
Procesos mecánicos: tipos de estructuras.....	31
Procesos químicos.....	33
Interacción huevos de nematodos-hongos	37
Hipótesis, objetivo general y específicos	42

MATERIALES Y MÉTODOS

Objetivo específico A	43
Toma de muestra de suelo.....	44
Área muestreada.....	46
Aislamiento de hongos del suelo.....	48
Identificación y conservación de las especies fúngicas.....	50
Objetivo específico B	51
Obtención de huevos de <i>T. canis</i>	52
Lavado de huevos de helmintos y cultivo de hongos saprótrofos del suelo en presencia de huevos de <i>T. canis</i>	54
Evaluación de la viabilidad de los huevos, microscopía electrónica y Análisis estadístico.....	55

RESULTADOS

Objetivo específico A	57
Descripción de las especies aisladas e identificadas... ..	58
<i>Fusarium aff. acuminatum</i> Ellis o Everhart	60
<i>Fusarium dimerum</i> Penzig	61
<i>Fusarium aff. semitectum</i> Berk & Rav	62
<i>Fusarium sulphureum</i> (Schlecht).....	64
<i>Aspergillus flavus</i> Link ex Gray.....	65
<i>Fusarium moniliforme</i> Sheld	66
<i>Fusarium fusarioides</i> (Frag. & Cf.) Booth	67
<i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht.....	68
<i>Chrysosporium merdarium</i> (Link ex Gray) Carmichael	69
<i>Penicillium canescens</i> Sopp.....	70
<i>Sporothrix alba</i> (Pitch) de Hoog	71
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	72
<i>Aspergillus niger</i> van Thiegen.....	73
<i>Mucor minutus</i> (Baijal & B. J. Mehrotra) Schipper	74
<i>Monilia sp.</i>	75

Objetivo específico B	76
Interacción <i>Chrysosporium merdarium</i> /huevos de <i>T. canis</i>	79
Interacción <i>Fusarium oxysporum</i> / huevos de <i>T. canis</i>	83
Interacción <i>Fusarium sulphureum</i> / huevos de <i>T. canis</i>	88
Interacción <i>Fusarium aff. semitectum</i> / huevos de <i>T. canis</i>	94
Interacción <i>Fusarium moniliforme</i> / huevos de <i>T. canis</i>	98
Interacción <i>Sporothrix alba</i> / huevos de <i>T. canis</i>	104
Interacción <i>Fusarium aff. acuminatum</i> / huevos de <i>T. canis</i>	109
Interacción <i>Fusarium fusarioides</i> /huevos de <i>T. canis</i>	114
Interacción <i>Penicillium canescens</i> /huevos de <i>T. canis</i>	120
Interacción <i>Monilia sp</i> /huevos de <i>T. canis</i>	125
Interacción <i>Aspergillus flavus</i> /huevos de <i>T. canis</i>	131
Interacción <i>Fusarium dimerum</i> /huevos de <i>T. canis</i>	136
Interacción <i>Mucor minutus</i> /huevos de <i>T. canis</i>	140
Interacción <i>Trichoderma harzianum</i> / huevos de <i>T. canis</i>	145
Interacción <i>Aspergillus niger</i> /huevos de <i>T. canis</i>	150
Huevos control de <i>T. canis</i>	155
Evaluación de viabilidad de huevos de <i>T. canis</i> al microscopio óptico	156
Cepas fúngicas que no se evaluó la interacción con huevos de <i>T. canis</i>	156
DISCUSIÓN.....	159
CONCLUSIONES.....	182
BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	184
ÍNDICE DE FIGURAS, FOTOS, TABLAS.....	209

Las enfermedades parasitarias han influido considerablemente en el curso de la historia del hombre, y según todos los indicios seguirán haciéndolo a gran escala. Hoy en día, la gran expansión y aceleración del comercio mundial, los movimientos y viajes de personas, y la explosión demográfica que experimentan las poblaciones humanas y animales ofrecen a los microorganismos una condición aún más favorable para adaptarse, transformarse y trasladarse a nuevos hospedadores y ecosistemas a menudo con resultados catastróficos (Vargas Terán & Del Barrio Reyna, 2006).

En el correr de los años, mucho se ha progresado en el conocimiento de la biología y la estructura subcelular de los agentes parasitarios, sin embargo, continúan azotando a las poblaciones del mundo (Salomón, 2006).

En el suelo se concentran diferentes formas de vida: bacterias, algas, hongos, insectos, ácaros, protozoos y nematodos de vida libre; es también el sustrato donde sobreviven y evolucionan distintos parásitos del hombre y animales. El suelo de los paseos públicos está generalmente contaminado con huevos de helmintos provenientes de la materia fecal humana y/o animal. Por lo tanto estas áreas públicas constituyen zonas de riesgo para la transmisión de infecciones parasitarias (Córdoba *et al.*, 2002).

A pesar de ser muy resistentes a las condiciones climáticas adversas y a los tratamientos con aguas residuales, los huevos de geohelmintos necesitan pasar un periodo de tiempo en el suelo hasta llegar a su estadio infectivo. Por lo tanto, su desarrollo y viabilidad dependen de las condiciones que ese sustrato le brinda además de las

condiciones ambientales como la temperatura, humedad, viento (Soriano *et al.*, 2001; Gamboa, 2006).

Las parasitosis, causadas por geohelminetos, son endémicas de países en desarrollo y constituyen un indicador de las condiciones sanitarias y ecológicas del entorno de los hospedadores (Gamboa, 2006). Los factores socioeconómicos y culturales y la falta de un sistema sanitario básico son responsables de la contaminación ambiental con estos agentes (Soriano *et al.*, 2001).

Actualmente se describen más de 140 enfermedades zoonóticas, destacándose que, el 60% de los patógenos de los seres humanos son zoonóticos (Vargas Terán, 2006). Las zoonosis persisten en el subdesarrollo junto con indicadores económicos, sociales y sanitarios desfavorables. Las zoonosis en humanos están condicionadas por: educación, comportamiento, higiene, alimentación, saneamiento, las que inciden en la probabilidad de riesgo de la población (Garza Ramos, 2006).

Toxocara canis

Toxocara canis es un parásito zoonótico que causa toxocariasis (sinon. toxocariosis, toxocarosis). Esta infección en el hombre es adquirida por la ingestión accidental de huevos larvados de *T. canis*, ascárido parásito común del perro (Gillespie, 1991; Overgaauw, 1997).

Su hospedador definitivo es el perro, en el cual los adultos de *T. canis* viven en la luz del intestino delgado (Despommier, 2003).

Ubicación taxonómica de *T. canis* (Anderson, 2000):

Reino Animalia
Phylum Nematoda
Clase Secernentea
Orden Ascaridida
Superfamilia Ascaridoidea
Familia Ascarididae
Subfamilia Toxocarinae
Género *Toxocara*
Especie *T. canis*

Ciclo de vida de *Toxocara canis*

Una hembra adulta de *T. canis* elimina 200.000 huevos inmaduros por día con la materia fecal canina (Barriga, 1988).

Estos huevos, en condiciones apropiadas de temperatura y humedad evolucionarán en el suelo a huevos larvados infectivos (Kayes, 1997). Su desarrollo a larva 2 lo realizará en aproximadamente 20 días a una temperatura de 20° C con una humedad relativa de 80%. La mayoría de la literatura consultada considera huevo infectivo a aquel que aloja el segundo estadio larval o L2, aunque algunos autores han reportado dos mudas dentro del huevo y entonces para ellos, el estadio larval infectivo sería L3 (Okoshi & Usui, 1968; Araújo, 1972). Estos huevos son muy resistentes y su permanencia viable en el ambiente ha sido reportada por más de 2 años (Glickman & Magnaval, 1993).

Los huevos de *T. canis*, como todos los nematodes, poseen una cubierta constituida por tres capas:

*interna, glicolipídica o ascarósida

*media, compuesta por proteínas y quitina

*externa, capa vitelina o albuminoidea: es lipoproteica, pegajosa y originada por secreciones uterinas (Fig. 1) (Wharton, 1980).

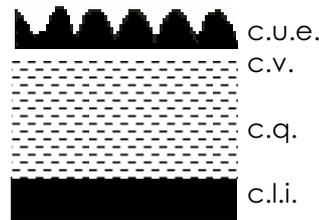


FIG. 1 Estructura de la cubierta del huevo de *T. canis*. (c.u.e.: capa uterina externa, c.v. capa vitelina, c.q. capa quitinosa, c.l.i. capa lipídica interna) (Wharton, 1980)

Los perros (fig. 2) y otros cánidos pueden infectarse con *T. canis* mediante las siguientes vías:

1. Ingestión de huevos embrionados (larva 2 ó 3).
2. Ingestión de larvas presentes en los tejidos de los hospedadores paraténicos.
3. Migración transplacentaria de las larvas desde la perra preñada a sus cachorros en desarrollo.
4. Pasaje transmamario de larvas a través de la leche de las perras a sus crías.
5. Ingestión de pre adultos presentes en el vómito y en las heces de cachorros infectados (Despommier, 2003).

Cuando los huevos infectivos de *T. canis* son ingeridos por un perro, se liberan las larvas, en el estómago y en el intestino delgado. Las larvas liberadas invaden mucosa intestinal,

penetran los vasos linfáticos y venosos y la mayoría alcanzan el hígado en 24-48 h (Basualdo *et al.*, 1995). Luego llegan al corazón y a los pulmones por vía sanguínea, alcanzan los capilares alveolares y atraviesan la barrera sangre-aire, ascendiendo por el árbol respiratorio hasta llegar a la faringe, donde son deglutidas. Estas larvas, que han seguido la migración traqueal, sufren 2 mudas y completan el desarrollo a adultos en el intestino delgado. Los huevos aparecen en las heces 4 ó 5 semanas después de la infección (Burke & Roberson, 1985).

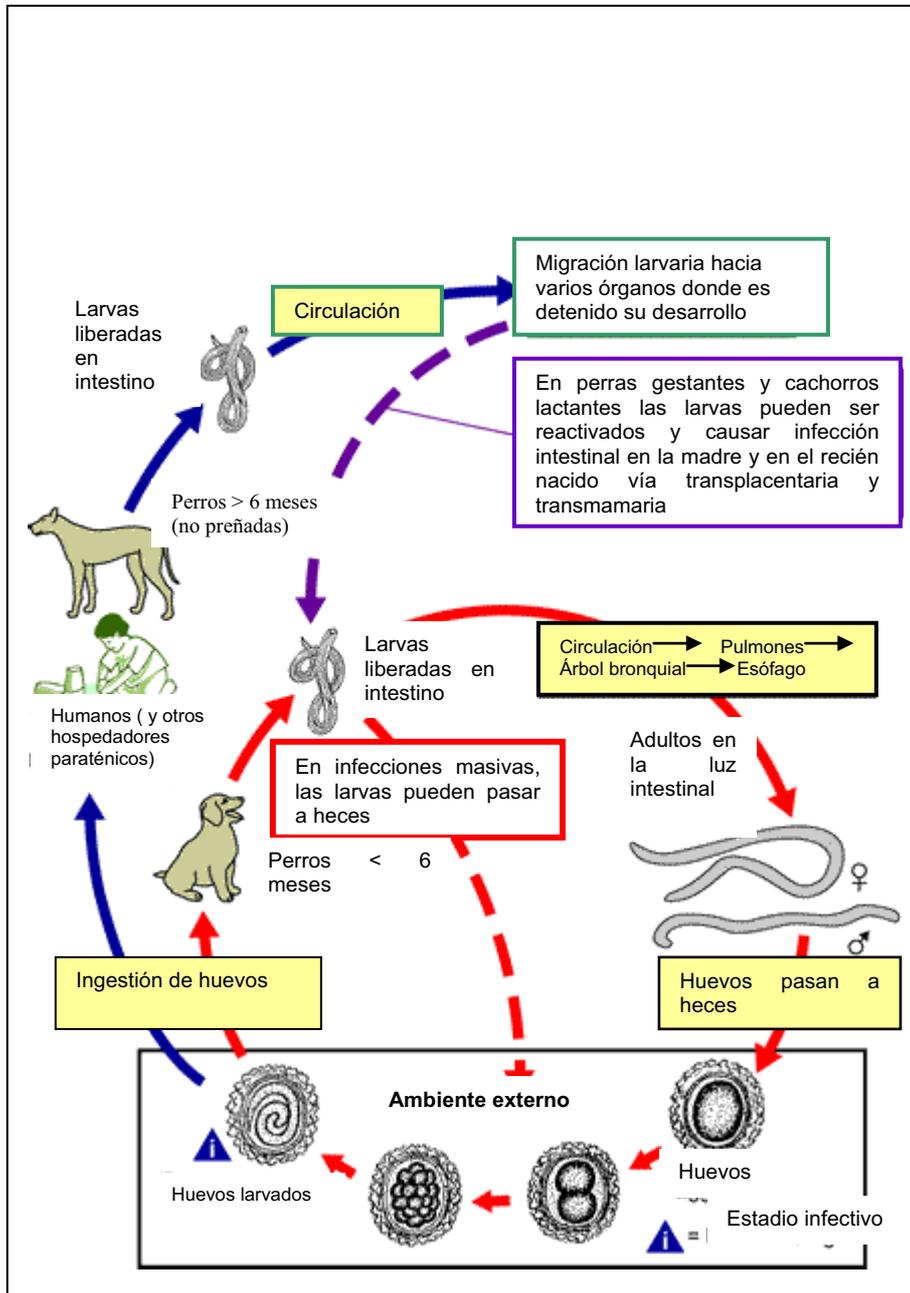


FIG. 2. Ciclo de vida de *T. canis* (extractado de <http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>)

Paraténesis

Los huevos de *T. canis* también pueden ser infectivos para un sinnúmero de especies, incluyendo al hombre. Este fenómeno se conoce como paraténesis. Hospedadores paraténicos en toxocariasis son helmintos de tierra, ratones, ratas, conejos, pollos, cerdos, palomas, ovejas, etc. Las larvas liberadas en el intestino no siguen la ruta traqueal en estos hospedadores y por ello no sufre mudas (Beaver, 1956). Como la larva permanece viva en el hospedador paraténico (hasta 6-9 años), la ingestión de los tejidos puede infectar al predador. Si es un cánido, las larvas completan su desarrollo en el tracto alimentario (Despommier, 2003).

Factores que influyen en la susceptibilidad a la infección en perros adultos

La susceptibilidad de la infección en perros adultos ha sido estudiada respecto a diversos factores (O'Lorcain, 1994). Se ha descrito una susceptibilidad individual o de raza para muchos helmintos, y de la misma forma ocurre para *T. canis*. Las razas Beagle y Greyhound pueden ser infectadas reiteradamente indicando que no existe un mecanismo que frene la reinfección. También pueden ser importantes los efectos hormonales en la susceptibilidad a la infección. El ambiente también parece influenciar la prevalencia de la infección. Es más alta en perros vagabundos y callejeros y en perros de perreras comparando con mascotas. Un estudio llevado a cabo en Australia, demostró una prevalencia de 35-55% en perros vagabundos respecto al 1-5% en perros mascotas (Lloyd, 1993).

El número de *T. canis* adultos por perro ha sido determinado por diversos autores. Lloyd (1993) contó de 2 a 12 en 16

perros vagabundos adultos en Lituania y Vanparijs *et al.* (1991) reportaron una variación de 1 a 82 (media: 14) por perro en canes vagabundos de Bélgica.

La salida diaria de huevos en las heces tiene un impacto muy importante. Diferentes autores registraron desde 10 a 2490 huevos por gramo de heces en cachorros de perreras (Hayden & van Kruiningen, 1991; Lloyd, 1993). El potencial significado de un cachorro como fuente de contaminación ambiental con huevos de *T. canis* se ve ilustrado en el estudio llevado a cabo en un criadero de Greyhounds en el sudeste de Inglaterra, en el cual las muestras fecales fueron tomadas semanalmente en cachorros no tratados. No se detectaron huevos hasta el día 14, pero el día 21 se contaron hasta 107.500 huevos por gramo de heces (promedio 10.500 huevos). El día 28 se alcanzó el máximo, con 11.500 huevos por gramo con un pico secundario más bajo en la sexta semana (casi 8.000 huevos por gramo). El primer pico es indudablemente atribuido a la maduración de *T. canis* adquiridos por los cachorros en el útero, y podemos especular que el segundo pico puede indicar una nueva vía de infección transmitida por el calostro o por la leche. La puesta de huevos cayó a cero entre las 10 y 12 semanas de edad.

La fecundidad de *T. canis* es más baja en perros adultos bien cuidados. Debemos tener en cuenta que 1/3 de las infecciones no son detectadas por las técnicas parasitológicas rutinarias (Kornblatt & Schantz, 1979).

Ciclo de vida accidental

Los niños -principalmente de 1 a 5 años de edad y con antecedentes de geofagia- se infectan cuando juegan en los paseos públicos contaminados con huevos larvados de *T. canis* -cuya cubierta es pegajosa- provenientes de la materia fecal de los perros que alojan el estadio adulto (Despommier, 2003).

Las larvas migran durante meses o años causando daño a los tejidos por donde pasan hasta que sobreviene la reacción inflamatoria del hospedador y mueren (Laufer, 2004). Se han descrito larvas de *T. canis* en hígado, pulmones, corazón y cerebro (Basualdo et al., 1995). La migración larval deja trazos de hemorragias, células inflamatorias y necrosis (Smith, 1991).

Aspectos clínicos de toxocariasis

Síntomas y signos asociados a Toxocariasis humana (Despommier, 2003):

Características Clínicas asociadas a toxocariasis humana	}	Dolor abdominal
		Hepatomegalia
		Anorexia
		Náuseas
		Vómitos
		Letargia
		Disturbios del sueño o de la conducta
		Neumonía
		Tos/broncoespasmos
		Faringitis
		Adenitis cervical
		Cefalea
		Dolor de extremidades
Fiebre moderada		
Características de Laboratorio asociadas a toxocariasis humana	}	Eosinofilia
		Serología antitoxocara positiva

La ausencia de eosinofilia no excluye toxocariasis.

Existen tres síndromes clásicos asociados a toxocariasis humana: larva *migrans* visceral (LMV), larva *migrans* ocular (LMV) y toxocariasis encubierta (Minvielle, 1995; Laufer, 2004). Otros síndromes menos conocidos son toxocariasis asmátiforme, neurológica, neurofisiológica y subclínica (Minvielle *et al.*, 1999).

Minvielle *et al.* (1999) determinaron anticuerpos antitoxocara en una población de 38 pacientes con síndrome de asma bronquial. La serología fue positiva para el 68,42% de los pacientes.

Larva *migrans* visceral

Ocurre generalmente en niños menores de 5 años con antecedentes de geofagia o estrecha relación con cachorros, siendo menos frecuente en adultos (Minvielle *et al.*, 1999). Se presenta con hepato y esplenomegalia, síntomas de afectación de las vías respiratorias bajas como broncoespasmo, dando cuadros asmáticos (Despommier, 2003). En un 50% de los pacientes se observan radiológicamente infiltrados pulmonares transitorios (Minvielle *et al.*, 1999). En sangre periférica, la eosinofilia puede alcanzar valores del 70%. También ha sido reportada hipergammaglobulinemia de Ig M, Ig G e Ig E. Se han descrito casos de miocarditis, nefritis (Minvielle *et al.*, 1999) y afectación del sistema nervioso central como meningitis aséptica con eosinofilia en líquido céfalo raquídeo. Taranto *et al.* (2000) evaluaron 2 poblaciones de niños del bosque xerófilo del Chaco Salteño en quienes determinaron valores hematológicos y anticuerpos Anti-*T. canis*. Se detectó una eosinofilia del 10% de los niños estudiados. El 55,6% del total de niños con eosinofilia tuvo serología positiva para *T. canis*.

Xinou *et al.* (2003) describieron un caso de meningitis eosinofílica causada por *T. canis* en una paciente de 54 años y Vidal *et al.* (2003) en un paciente de 2 años. Eberhardt *et al.* (2005) reportaron un caso de meningiomielitis en un adulto sin factores de riesgo conocidos, y con respuesta positiva a anticuerpos anti *Toxocara* en líquido céfalo raquídeo pero no en sangre.

En piel se han descrito lesiones tales como urticaria y nódulos asociadas a eosinofilia causada por toxocariasis (Laufer, 2004).

El síndrome de *larva migrans visceral* puede mimetizarse con un linfoma. Se ha descrito un caso de un paciente adulto con todos los signos-síntomas típicos de un linfoma, sin embargo la serología de tal enfermedad maligna resultó negativa y positiva la serología para *T. canis* (Bachmeyer *et al.*, 2003).

Larva *migrans* ocular

Ocurre generalmente en niños de 5 a 10 años de edad y se presenta con pérdida de visión unilateral como síntoma más frecuente (Despommier, 2003; Teyssot *et al.*, 2005). Benitez del Castillo *et al.* (1995) describieron un caso de una paciente de 14 años con toxocariasis ocular bilateral. La consecuencia más seria de la infección es la invasión de la retina, llevando a la formación de granuloma, ya sea periféricamente o en el polo posterior (Despommier, 2003).

La endoftalmitis y la uveítis son causas importantes de la pérdida visual en la fase aguda de la enfermedad. Stewart *et al.* (2005) describieron toxocariasis ocular en el 1% de pacientes con uveítis, la edad promedio era de 16,5 años. Los pacientes con larva *migrans* ocular generalmente no tienen historia registrada de geofagia o una

asociación tan estrecha con cachorros, y probablemente tengan una carga larvaria menor que los pacientes con larva *migrans* visceral (Minvielle *et al.*, 1999).

Toxocariasis encubierta

Describe los signos y síntomas de pacientes con toxocariasis que no pueden ser ingresados en la categoría de larva *migrans* visceral u ocular. Los síntomas son generalmente inespecíficos, pero cuando se agrupan forman un síndrome reconocible. Síntomas como hepatomegalia, tos, alteraciones del sueño, dolor abdominal, cefaleas y trastornos de la conducta se han asociado con títulos elevados de anticuerpos anti-*Toxocara*. La eosinofilia es variable (Minvielle *et al.* 1999).

Toxocariasis subclínica

Es frecuentemente informada en individuos sanos de países desarrollados en donde la serología se realiza de rutina en pacientes pediátricos o en estudios llevados a cabo en donantes de sangre (Minvielle *et al.*, 1999). Estos informes incluyen entre otros, a niños en España con seropositividad del 6,5% (Conde García *et al.*, 1989); adultos en Italia 4,0% (Genchi *et al.*, 1990) y adultos donantes de sangre en Gualeguaychú, Argentina 10,6% (Minvielle *et al.*, 2000).

Toxocariasis ambiental

La existencia en el suelo de elementos infectivos de geohelminos patógenos para el hombre y animales es un problema asociado a la presencia de animales parasitados que deambulan en zonas urbanas y rurales. La distribución de los nematodos, depende de la coexistencia de múltiples factores: además de una fuente de parásitos y de los hospedadores definitivos; se necesitan condiciones climáticas, microclimáticas y biológicas que garanticen el transcurso de la fase extrahospedador en el desarrollo del parásito (Lýsek & Nigenda, 1989). De esta manera, el suelo es la fuente principal de nuevas infecciones provocadas por nematodos tanto en el hombre como en los animales.

La llegada de los huevos de *T. canis* con la materia fecal de los perros parasitados a los paseos públicos y su alta persistencia en el ambiente constituyen un problema para la salud pública (Glickman & Magnaval, 1993).

Numerosos estudios han demostrado la presencia de huevos de *T. canis* en paseos públicos de diversas ciudades, por lo tanto estos espacios contaminados con materia fecal canina son reconocidos como una fuente potencial de infección (Gillespie *et al.*, 1991).

Se han realizado estudios sobre la prevalencia de la infección en mascotas urbanas y en perros callejeros del mundo. Aunque la mayoría de los estudios revelan alta frecuencia de toxocariasis en perros menores (3 a 6 meses de edad), también se describe la presencia de este parásito en perros adultos aunque en menor proporción (Pereira *et al.*, 1991).

Surgan *et al.* (1980) en el condado de Essex, Nueva Jersey hallaron huevos de *T. canis* en 0,32% de 629 muestras de suelo de 32 paseos públicos analizados. Chorazy & Richardson (2005) hallaron huevos de ascáridos en Connecticut en el 14,4% de las muestras de tierra recolectadas de paseos públicos, patios de las casas y escuelas. Dada & Lindquist (1979) entre 10 y 30% de las muestras tomadas en suelos de parques y áreas de recreación de Estados Unidos detectaron huevos de *T. canis*. Gillespie *et al.* (1991) en 6,3% de las muestras de suelo de 15 parques de Londres. También han sido recuperados huevos de este parásito de jardines de la misma ciudad (Pegg, 1975) y de Irlanda (O' Lorcaín, 1994).

Mahdi & Ali (1993), en 180 muestras de suelo de paseos públicos y de patios de escuelas en zonas urbanas y rurales de Basrah, Irak. Uga *et al.* (1996) hallaron un 12,2% de las muestras de suelo contaminadas con huevos de *T. canis*, de Japón.

Dumenigo & Galvez, (1995) tomaron muestras de suelo de 45 zonas residenciales diferentes de la ciudad de La Habana, Cuba, de las cuales 42,2% fue positivo para *T. canis*. Devera *et al.* (2005) en muestras de tierra de 25 espacios públicos de Ciudad Bolívar (Venezuela) hallaron huevos de *T. canis* en el 55% de las mismas. Blazius *et al.* (2005) hallaron en materia fecal canina de lugares públicos de Itapema (Brasil) un 14,5% de huevos de *T. canis*.

Pereira *et al.* (1991) en un estudio sobre muestras de materia fecal canina de 1000 perros, hallaron una prevalencia del 10% de huevos de *T. canis*. Minvielle *et al.* (1993) realizaron muestreos de materia fecal canina de plazas y calles de la ciudad de La Plata y del total de estas muestras, un porcentaje de 10,5 fue positivo para huevos de *T. canis*. Taranto *et al.* (2000) tomaron muestras de materia fecal

canina de una comunidad del Chaco Salteño donde la gente convive en estrecha relación con los perros. Del total de muestras analizadas se encontró el 77,4% de las mismas parasitadas, siendo de 17,2% el porcentaje hallado para huevos de *T. canis*.

De Lorenzi *et al.* (2000) en muestras de suelo del peridomicilio de una comunidad indígena de la provincia de Misiones hallaron huevos de *T. canis* en el 62,8% de las muestras.

Silva & Sánchez Thevenet (2001) determinaron la prevalencia de parásitos intestinales en tres plazas de la ciudad de Comodoro Rivadavia, se recolectaron 45 muestras de suelo; de estas muestras el 40% fue positivo para huevos de *T. canis*. Córdoba *et al.* (2002) tomaron 46 muestras de tierra de 23 paseos públicos de la ciudad de La Plata, en las cuales hallaron 15 muestras positivas para *T. canis*. Minvielle *et al.* (2003) tomaron muestras de suelo de paseos públicos y plazas de la ciudad de Gualeguaychú arrojando un resultado de 100% de las muestras contaminadas con huevos de *T. canis*. En el mismo trabajo se tomaron muestras de materia fecal de 100 perros dando como resultado un 25% de positividad de huevos de *T. canis*.

Sánchez Thevenet *et al.* (2003) investigaron la presencia de parásitos intestinales en heces caninas recolectadas de paseos públicos de la ciudad de Comodoro Rivadavia. Del total de las heces recolectadas hallaron en las frescas un 8,2% y en las secas 9,5% de huevos de *T. canis*.

Chiodo *et al.* (2006) realizaron un estudio en una comunidad rural de la provincia de Buenos Aires estableciendo la relación entre la frecuencia de toxocariasis y variables ambientales, sanitarias, eosinofilia y otros parásitos intestinales. Tomaron muestras de

materia fecal de 81 perros para detectar huevos de *T. canis*. También se tomaron muestras de tierra de los peridomicilios y de los paseos públicos. Todas las personas con serología positiva para toxocariasis poseían perros. La frecuencia de huevos de *T. canis* halladas en las muestras de tierra fue de 41,17%. Se hallaron huevos de *T. canis* en 6,17% de los perros, que pertenecían a personas con serología positiva.

Dispersión de *T. canis* por artrópodos

La dispersión que realizan los artrópodos también debe ser tomada en cuenta. Las moscas ingieren 1-3 mg de heces en 2 ó 3 horas; y pueden ingerir huevos de helmintos como el de *T. canis*. Los huevos de *T. canis* han sido hallados en un 2,4% y en un 2,1% de moscas silvestres atrapadas en Nigeria (Lloyd, 1993). La dispersión que hace la mosca de huevos de nematodos provenientes de heces es de 80 metros pero la diseminación de la infección por otros insectos y animales es suficiente para inducir infecciones hasta 1km desde la deposición contaminada del perro. Aunque los huevos de *T. canis* deben embrionar, las moscas son atraídas por las heces luego de un considerable tiempo de producidas. El desarrollo embrionario puede ocurrir luego de la dispersión, por eso es que la diseminación a partir de las moscas debe ser investigado (Glickman & Schantz, 1981).

Todos estos datos indican que la contaminación por *T. canis* es un problema de salud pública de distribución mundial, con gran impacto en nuestra región.

Control biológico

El control biológico es la utilización de organismos antagónicos vivos que actúan como enemigos naturales contra diferentes plagas (insectos, hongos, nematodos, virus, bacterias, vertebrados) y usualmente involucra su liberación y propagación dentro del hábitat de estas poblaciones (Rey *et al.*, 2000).

Esta definición de “organismos vivos” incluye a los predadores, parasitoides, nematodos, hongos, bacterias, protozoos y virus, mientras que los genes o fragmentos de estos fuera del organismo vivo están excluidos de esta definición. Los metabolitos de varios organismos utilizados para control de plagas, pero aplicados sin el organismo que los producen, no están incluidos dentro del control biológico, estos merecen ser agrupados como “control bioracional” (Eilenberg, 2006).

El objetivo del control biológico no es eliminar la plaga, sino mantener a la población plaga debajo de un umbral donde no pudieren infligir daño a la población hospedadora. Estos organismos de control biológico no eliminan el organismo blanco, pero sí reducen su densidad poblacional (Jaffee, 1992; Larsen, 2000).

El control biológico se fundamenta en dos principios ecológicos fundamentales:

1. Un organismo puede ser usado para el control de otro organismo.
2. El organismo control tiene un limitado rango de hospedadores. El rango de hospedadores generalmente hace referencia a un grupo de especies blanco sobre las cuales el organismo control

puede alimentarse y desarrollar. El uso seguro y efectivo de un agente de control biológico es mediante un organismo control con capacidad para sobrevivir, reproducirse, dispersarse y evolucionar en el medio donde se lo utilice, sin producir daño alguno sobre el resto de los organismos. Esta práctica representa una tecnología de control efectiva, benigna para el ambiente, capaz de automantenerse durante periodos prolongados sin la necesidad de intervenciones costosas (Mc Evoy, 1996).

El control biológico se puede aplicar sobre virus, microbios, nematodos, insectos, garrapatas, malezas y vertebrados plaga que invaden diversos ambientes influyendo negativamente sobre los recursos naturales, agricultura, productos almacenados y ambientes urbanos (Charudattan *et al.*, 2006).

Control de *T. canis*: nuevas estrategias

Una de las medidas de control de las parasitosis es la aplicación de antiparasitarios químicos en el hospedador definitivo. Lamentablemente, su uso está limitado por diversos factores que deben ser tenidos en cuenta como el costo del tratamiento, desconocimiento de las vías de transmisión de los parásitos y la falta de medidas de sanidad animal sobre los perros, entre otras. Todas estas razones explican por qué el ambiente está contaminado con elementos parasitarios (Larsen, 2000).

Entre las condiciones que determinan el grado de contaminación se consideran factores biológicos que pueden afectar la supervivencia de los huevos en el suelo, ya sea eliminando o al menos paralizando el desarrollo de los huevos de manera tal que ellos pierdan su importancia epidemiológica. Este fenómeno conocido como supresión, autodepuración o "autodeshormintización" es variable dependiendo de las condiciones interiores del suelo, presencia de organismos capaces de destruir los huevos y de las cualidades de estos microorganismos, así como de las condiciones exteriores, climáticas y microclimáticas (Lýsek & Nigenda, 1989).

El fenómeno de supresión, en el cual la dinámica de la población de nematodos en el suelo está naturalmente contenida, y la incidencia de las enfermedades que causan reducida, se conoce desde hace mucho tiempo. A pesar que los mecanismos y los agentes implicados en la disminución de la capacidad potencial de los nematodos para producir enfermedad no son completamente conocidos, este fenómeno natural constituye la base del desarrollo de nuevas alternativas de control de las parasitosis en las áreas de agronomía y veterinaria (Kim *et al.*, 1998; Westphal *et al.*, 1999).

Durante los últimos 50 años el control de las parasitosis animales y vegetales fue realizado fundamentalmente con el uso de antihelmínticos (control químico). Sin embargo, el desarrollo de la resistencia de los helmintos a los antiparasitarios químicos, sumado a los cambios en los sistemas de cultivo, la producción orgánica de ganado, la regulación en el uso de drogas y la tendencia globalizada a no contaminar el ambiente ni el producto final, ha condicionado la búsqueda de estrategias alternativas para controlar las parasitosis (Saumell, 2002; Waghorn *et al.*, 2002)

En las últimas dos décadas la preocupación por hallar agentes de control biológico en las parasitosis animales se ha ido incrementando debido a, como ya se mencionó, la resistencia que ofrecen a los antiparasitarios químicos. Ya en la década del 80 aparecen las primeras recopilaciones de casos de resistencia antihelmíntica (Saumell, 2002).

Como alternativa posible a las medidas tradicionales de control de las parasitosis y en el marco de un sistema integrado de producción, surge la utilización de microorganismos antagónicos que actúan como enemigos naturales (Rey *et al.*, 2000).

El objetivo del control biológico como estrategia alternativa al uso de antiparasitarios químicos, no es eliminar la plaga, sino mantener los parásitos debajo de un umbral donde no pudieren infligir daño a la población hospedadora. Estos organismos de control biológico no eliminan el organismo blanco, pero sí reducen su densidad poblacional (Jaffee, 1992; Larsen, 2000).

El uso de estos agentes de control biológico surge como una alternativa para el control de las infecciones parasitarias o

como complemento a los antiparasitarios químicos en el ganado de pastoreo (Larsen, 2000). Dados que los nematodos tienen muchos enemigos naturales, varios agentes han sido estudiados como posibles agentes de control biológico, encontrándose entre ellos bacterias, hongos, protozoos y artrópodos (Saumell & Fernández, 2000). Una de estas alternativas es el uso de hongos nematofagos del suelo (Huang *et al.*, 2004).

Hongos nematófagos

Los hongos nematófagos juegan un rol en el control biológico natural de los nematodos en el suelo. Es interesante su biología y bioquímica asociadas a los procesos de captura, penetración y digestión. Desde hace unos años se les ha prestado atención en cuanto a su ecología, fisiología y estructuras relacionadas. La ecología de los hongos nematófagos especialmente aquella pertenecientes a los hongos predadores y endoparásitos, y sus actividades en el suelo incluyendo el reconocimiento de la presa y estrategias de supervivencia, han sido tema de estudio en las últimas décadas (Nordbring Hertz, 1988; Dijksterhuis *et al.*, 1994).

Los hongos antagonistas de huevos y larvas de nematodos constituyen un grupo heterogéneo que utiliza los elementos parasitarios como fuente nutritiva principal o suplementaria de su existencia saprótrofa en el suelo (Barron, 1977; Waller & Faedo, 1996). Estos hongos están distribuidos en todo el mundo, se los encuentra en diversos hábitats, principalmente en ambientes ricos en materia orgánica (Larsen, 2000).

Muchas especies de hongos del suelo utilizan a los nematodos vivos como fuente de energía y de carbono. Estos hongos nematofagos han sido estudiados porque son componentes comunes de la microflora del suelo y exhiben adaptaciones morfológicas y fisiológicas muy buenas (Jaffee, 1992). La primera observación de hongos destructores de nematodos la hizo Lohde en 1874. *Arthrobotrys oligospora* fue uno de los primeros hongos con el que se demostró actividad interferente con larvas de nematodos (Veenhuis *et al.*, 1985; Poinar & Börje Jansson, 1986). Se han estudiado cerca de 150 especies

adicionales que han demostrado esta capacidad siendo su efecto ovicida/ovistático de diverso grado de intensidad (Dunn *et al.*, 1982).

Existen varios trabajos publicados acerca del control biológico de huevos de nematodos con hongos saprótrofos del suelo. Estos hongos tienen la capacidad de atacar la cubierta y destruir los estadios de los nematodos parásitos (Larsen, 2000).

Algunas especies fúngicas saprótrofas ejercen actividad ovicida produciendo un efecto negativo sobre el desarrollo y persistencia de huevos de helmintos en el suelo. Estos hongos juegan un rol importante desde el punto de vista del mantenimiento del ecosistema suelo en un nivel de homeostasis adecuado (Lýsek *et al.*, 1982).

Los nematodos son plagas importantes en los cultivos y los animales, por este motivo es que muchos investigadores usan a los hongos nematofagos como agentes de control biológico (Jaffee, 1992).

Los hongos nematófagos son de distribución cosmopolita y están relacionados con la capa superficial y la capa de humus del suelo. Existen especies que exhiben cierto grado de flexibilidad nutricional a lo largo de su ciclo de vida (den Belder & Jansen, 1994) pudiendo capturar bacterias, tardígrados, amebas y otros organismos de vida libre (Lýsek & Nigenda, 1989).

La mayoría de los hongos nematofagos ejercen su actividad sobre una etapa específica del desarrollo del nematode. Esto involucra a estructuras específicas como las trampas donde quedan atrapados los nematodos, o esporas que se adhieren a la superficie de ellos o son ingeridas por estos (Jansson *et al.*, 1997).

Durante las décadas del 80 y 90, los estudios sobre hongos avanzaron inicialmente para conocer la actividad depredadora *in vitro* de algunas especies contra estadios de vida libre de parásitos nematodos de varias especies animales, llegando a la conclusión que son altamente eficaces (Saumell, 2002).

Clasificación de hongos nematofagos según su modo de ataque sobre los nematodos

Los hongos antagonistas de nematodos pueden clasificarse en:

1. Hongos depredadores
2. Hongos endoparásitos
3. Hongos parásitos de quistes y huevos
4. Hongos productores de toxinas.

1. Hongos depredadores de nematodos. Son hongos con una relativamente buena capacidad saprótrofa que producen estructuras trampa de nematodos adhesivas y no adhesivas (hifas, anillos constrictores y no constrictores, ramas, nudos, redes) que crecen en el micelio superficial, Ej. *Arthrobotrys oligospora* (Foto 1), *Dactylaria candida* (Foto 2) (Wharton & Murray, 1990).



FOTO 1. *Arthrobotrys oligospora*
(MicrobeLibrary.org,
www.microbeworld.org)

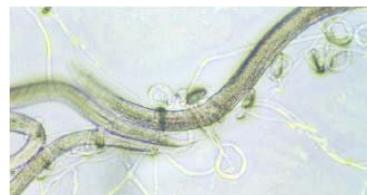


FOTO 2. *Dactylaria candida*
(science.scu.edu.tw/.../image006.jpg)

2. Hongos endoparásitos. Son parásitos obligados que infectan nematodos vivos y generalmente muestran mayor especificidad de especie. Producen esporas que se adhieren a la cutícula del nematode o son ingeridas por los nematodos (Larsen, 2000). El mecanismo molecular no está bien explicado, pero se basa en las investigaciones realizadas sobre hongos entomopatógenos, cuyo modo de infección es similar a los nematofagos, en el que participan enzimas hidrolíticas en varios pasos de la infección (Huang *et al.*, 2004). A menudo, son parásitos obligados de nematodos vivos y generalmente demuestran, a diferencia de los hongos predadores, una alta especificidad de hospedador. Ej.: *Drechmeria coniospora*, *Hirsutella rhossiliensis* (Foto 3), *Catenaria anguillulae* (Foto 4).



Foto 3. Conidios adherentes de *H. rhossiliensis*
(www.cpes.peachnet.edu)



Foto 4. Zoosporas de *C. anguillulae*
(agroecology.ifas.ufl.edu/nematophagous)

3. Hongos parásitos de quistes y huevos. Solamente atacan ciertos estadios del ciclo de vida de los nematodos como los huevos y quistes a través de sus zoosporas y son hongos oportunistas como por ej. *Nematophthora gynophila* o por terminaciones hifales como *Verticillium chlamydosporium* (Foto 5).



FOTO 5. *V. chlamydosporium*

(<http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/images/antago30.jpg>)

Estos hongos liberan quitinasas que son enzimas inducibles que catalizan la quitina, componente de los huevos de nematodos.

4. Hongos productores de toxinas. Se pueden encontrar entre los hongos descomponedores de madera como *Pleurotus sp* y otros géneros. *P. ostreatus* libera toxinas de su micelio que inmoviliza nematodos antes que el hongo los invada y usa su contenido como fuente de nitrógeno. Esta toxina fue aislada y se identificó como ácido trans-2-decenodioico e inmoviliza al nematode *Panagrellus redivivus* (Jansson *et al.*, 1997).

En la tabla 1 se observan distintos géneros representativos con sus medios de ataque hacia los nematodos.

TABLA 1. Ubicación taxonómica de hongos nematofagos; Phylum y Géneros representativos (modificada de Dijksterhuis, 1994)

Phylum	Género	Interacción	Estructura Infecciosa
Chytridiomycota	<i>Catenaria</i>	Endoparásito	Zoosporas
Zygomycota	<i>Stylopage</i>	Trampa	Hifas adhesivas
	<i>Cystopage</i>	Trampa	Hifas adhesivas
Anamorfos de Ascomycota (Fungi Imperfecti)	<i>Arthrobotrys</i>	Trampa	Trampas no adhesivas
	<i>Monacrosporium</i>	Trampa	Trampas adhesivas
	<i>Dactylaria</i>	Trampa	Trampas no adhesivas
	<i>Dactylella</i>	Trampa	Trampas adhesivas
	<i>Nematoctonus</i>	Parásito de huevos	Extremos hifales
		Trampa	Trampas adhesivas
		Endoparásito	Conidias adhesivas
	<i>Harposporium</i>	Endoparásito	Conidias no adhesivas
	<i>Drechmeria</i>	Endoparásito	Conidias adhesivas
	<i>Hirsutella</i>	Endoparásito	Conidias adhesivas
	<i>Verticillium</i>	Endoparásito	Conidias adhesivas
		Parásito de huevos	Extremos hifales
		Parásito de huevos	Extremos hifales
Basidiomycota	<i>Paecilomyces</i>	Parásito de huevos	Extremos hifales
	<i>Cylindrocarpon</i>	Parásito de huevos	Extremos hifales
	<i>Fusarium</i>	Parásito de huevos	Extremos hifales
	<i>Hohenbuhelia</i>	Trampa	Trampas adhesivas
	(teleomorfo de <i>Nematoctonus</i>)	Endoparásito	
Ascomycota	<i>Pleurotus</i>	Trampa Toxina	Tr. adh. Toxinas
	<i>Atricordyceps</i> (teleomorfo de <i>Harposporium</i>)	Endoparásito	Conidias adhesivas

Clasificación de los hongos nematofagos según su actividad ovicida

Lýsek & Nigenda (1989) clasificaron a los hongos ovicidas en tres tipos de acuerdo al grado de ovicidad:

1er. Tipo: Hongos que con sus metabolitos detienen, paralizan o alteran el desarrollo de los embriones en los huevos sin modificar el aspecto morfológico de sus cubiertas. Esta paralización puede ser temporal (efecto ovistático) o permanente (efecto ovicida).

2do. Tipo: hongos que con sus metabolitos destruyen la cubierta de los huevos. Una vez que las cubiertas son degradadas el embrión queda a expensas de la acción de los hongos y es destruido.

3er. Tipo: el hongo penetra activamente a través de las cubiertas del huevo. Ataca al embrión cualquiera sea su estadio de desarrollo y crece dentro del huevo. Este proceso ovicida es el más complejo y puede dividirse en 5 fases:

1. Fase de contacto: la hifa del hongo entra en contacto con las cubiertas del huevo.
2. Fase de adherencia: se adhiere a las cubiertas de los huevos. Durante esta fase algunos hongos forman un órgano de penetración tipo lentiforme que amplía la extensión del área de adhesión. Además, en el lugar de contacto el hongo produce enzimas que degradan las cubiertas de los huevos (Lýsek & Krajcì, 1987).

3. Fase de penetración: el hongo penetra por las cubiertas de los huevos y por efecto de sus enzimas los destruyen. Algunas especies forman apresorios que perforan la cubierta y penetran al huevo, ej. *Paecilomyces lilacinus* (Basualdo *et al.*, 2000).
4. Fase de consumación: al penetrar por lo menos una hifa, el hongo comienza a ramificarse. Inicia la formación de una red que inmoviliza al embrión y lo mata. Simultáneamente se degradan los restos de cubiertas de los huevos.
5. Fase de liberación: al consumir todos los sustratos nutritivos en el huevo, el micelio fúngico regresa al medio externo.

Durante la infección de los nematodos los hongos parásitos de quistes y huevos penetran la superficie y digieren sus tejidos internos. Los mecanismos fundamentales de la penetración se desconocen pero se han propuesto procesos mecánicos y enzimáticos.

Procesos mecánicos: tipos de estructuras

Los hongos predadores producen estructuras trampa para capturar nematodos. Barron (1977) informó que existen 6 tipos de trampas:

Hifas adhesivas: son pegajosas y más robustas que las hifas vegetativas (Sayre, 1971).

Trampas adhesivas:

- a.** Ramas adhesivas: son ramas laterales con pocas células de longitud. Ellas se anastomosan formando lazos, pero nunca forman una compleja red.
- b.** Protuberancias adhesivas: Es una célula morfológicamente distinta que puede ser sésil o encontrarse sobre un talo de 2 ó 3 células. Tiene una superficie externa adhesiva que cubre la protuberancia. Son multinucleadas con inclusiones en la periferia celular. Se cree que estas inclusiones secretan material adhesivo una vez que capturan la presa.
- c.** Redes adhesivas: compleja red de ramas adhesivas.

Trampas no adhesivas: se forman para ejercer acción mecánica.

- d.** Anillos constrictores: se forman cuando una rama hifal enrosca sobre sí misma y se anastomosa formando un anillo de 3 ó 4 células. Cuando el nematode pasa por este anillo las células se hinchan cerrando el anillo y queda atrapado (Dijksterhuis *et al.*, 1994).
- e.** Anillos no constrictores: se forman de una manera similar a los anillos constrictores. Es una hifa muy delgada que se ensancha en su extremo y se curva de manera circular. Cuando el nematode pasa por el anillo, queda atrapado por sus forcejeos para escapar y de esta manera va dañando la cutícula del nematode (Hay *et al.*, 1997).

Procesos químicos

Toxinas

Diversos estudios sugieren que la causa de la inmovilización de nematodos puede ser la acción de metabolitos tóxicos. Aunque la presencia de toxinas ha sido propuesta muchas veces, su presencia también ha sido cuestionada, ya que ningún compuesto con actividad nematicida ha sido aislado y caracterizado.

Una excepción son los compuestos tóxicos producidos por *Pleurotus ostreatus* el cual produce gotitas tóxicas sobre su micelio, que ejercen una acción inmovilizante de los nematodos antes de que estos sean invadidos y utilizados como fuente de nitrógeno. Esta toxina fue identificada como ácido trans-2-decenodioico y su acción fue comprobada sobre *Panagrellus redivivus* (Jansson *et al.*, 1997).

Enzimas

Para los hongos que infectan las plantas y los insectos estos hechos involucran la actividad de enzimas hidrolíticas que solubilizan las macromoléculas de la superficie (Nordbring Hertz, 1988). Entre las enzimas que secretan los hongos que parasitan a los vegetales, se encuentran las de tipo celulolíticas y lignolíticas (Pardo & Forchiassin, 1999; Braga *et al.*, 2002) que La evidencia de la producción de enzimas que degradan la cubierta de los huevos proviene de estudios ultraestructurales. Los huevos de nematodos infectados muestran áreas de baja densidad electrónica alrededor de las estructuras de infección (apresorios) y penetración de las hifas, los que sugiere la acción de enzimas hidrolíticas (López Llorca, 1990).

Está demostrado que la composición de la barrera extracelular del hospedador es importante en relación al tipo de enzimas que son producidas durante la infección fúngica. La cubierta de los huevos de los nematodos es una estructura multilaminar compuesta de proteínas, lípidos y carbohidratos, pero a diferencia de la cutícula, estos presentan una capa media de microfibrillas de quitina, la capa quitinosa, embebida en una matriz proteica. Esta capa es la más gruesa y probablemente la barrera más importante contra la infección. Esta muestra semejanzas con el exoesqueleto y la cubierta de los huevos de los insectos (Tikhonov *et al.*, 2002).

Kunert (1992) estudió la actividad enzimática de hongos nematofagos *in vitro*. La actividad quitinolítica, proteolítica y lipolítica de las especies probadas se evaluaron sobre huevos de *Ascaris lumbricoides* arrojando los siguientes resultados (Tabla 2):

TABLA 2. Actividad enzimática de hongos nematofagos (Kunert, 1992)

Especies	Efecto ovicida	Actividad quitinolítica	Actividad proteolítica	Actividad lipolítica
<i>Verticillium chlamydosporium</i>	+++	+++	+++	+++
<i>Acremonium sp.</i>	++	+++	+++	+++
<i>Mortierella nana</i>	+++	+++	++	(+)
<i>Paecilomyces marquandii</i>	++	+++	+++	(+)
<i>Fusarium moniliforme</i>	++	(+)	+	+++
<i>Penicillium lanosum</i>	++	+	+	+
<i>V. bulbillosum</i>	++	(+)	+	+

La Tabla 2 resume las pruebas de efecto ovicida e hidrólisis de varios sustratos, +++, ++, +, (+): fuerte, media, débil y muy débil actividad ovicida o enzimática (Kunert, 1992).

Ninguno de los hongos estudiados fue capaz de degradar enzimáticamente la capa glicolípídica (ascarosida) de la cubierta del huevo la cual permaneció intacta luego de la digestión de los demás componentes del huevo (Kunert, 1992).

Proteasas

Han sido purificadas y caracterizadas proteasas extracelulares en hongos nematofagos que hidrolizan las proteínas de la cutícula y de la cubierta de los huevos. Los primeros informes de la existencia de estas enzimas provienen de especies de hongos trampa. La primera proteasa (P32) purificada y caracterizada es producida por un hongo nematofago parásito de huevos *V. suchlasporium* (López Llorca, 1990)

Proteasas similares fueron detectadas y caracterizadas en el hongo trampa *A. oligospora*. Todas las proteasas son serin-proteasas, la mayoría con un pH bajo y tienen efecto sobre la degradación de las cutículas y cubiertas de los huevos de nematodos. Son similares a las proteasas de los hongos entomopatógenos y por lo tanto comparten secuencias homólogas. La producción enzimática puede ser estimulada en presencia de cutículas de nematodos o cubiertas de huevos (Tunlid *et al.*, 1991). Las proteasas son las únicas enzimas producidas en grandes cantidades, son elaboradas en los primeros pasos de la infección seguidas normalmente por las quitinasas (Bonants *et al.*, 1995).

El hecho de que la producción de las serin-proteasas extracelulares caracterizadas por hongos nematófagos puedan ser inducidas, no solo por elementos estructurales de los nematodos, sino también por otras fuentes de proteínas (solubles e insolubles), demuestra que estas no solo tienen un rol en la infección de los nematodos sino también en el desarrollo saprófito de los hongos (Nordbring Hertz, 1988).

Quitinasas

Las quitinasas fúngicas son importantes enzimas requeridas para el desarrollo hifal. Sin embargo, también son producidas por hongos antagónicos de otros hongos, y por hongos nematófagos y entomopatógenos (Tikhonov *et al.*, 2002). Las enzimas quitinolíticas de hongos patógenos de invertebrados pueden probablemente ser responsables de la penetración al hospedador. Hay evidencias de producción de quitinasas de hongos entomopatógenicos (Patil *et al.*, 2000).

Wharton (1980) publicó un trabajo acerca de la importancia de la quitinasa fúngica y su potencial rol en la infección de los huevos de nematodos. La actividad de quitinasa fue detectada por ensayos enzimáticos en *Verticillium spp.* aislada de huevos de nematodos infectados en estudios de monitoreo sobre medio sólido con quitina coloidal y en medios líquidos mediante ensayos enzimáticos (López Llorca, 1990).

También ha sido demostrado que la proporción de huevos de nematodos infectados aumenta a medida que se acelera la actividad quitinolítica (Huang *et al.*, 2004).

Interacción huevos de nematodos-hongos

Diversos investigadores ha evaluado la interacción biológica de los hongos sobre diferentes estadios de nematodos parásitos (Gray, 1987).

Investigadores de República de Eslovaquia estudiaron un grupo de hongos nematofagos. Ellos recolectaron huevos de *Ascaris lumbricoides* para probar el hongo *Verticillium chlamydosporium*. El hongo demostró la capacidad de disolver enzimáticamente la cáscara del huevo e infectarlo (Lýsek & Krajčí, 1987; Lýsek & Sterba, 1991; Kunert, 1992).

En 1985, Grønvold *et al.* reiniciaron estudios en Dinamarca sobre la acción de hongos nematófagos contra los estados de vida libre de los nematodos parásitos; previamente la aplicabilidad y eficacia había sido demostrada por Deschiens (1943). Den Belder *et al.* (1994) observaron en suelo esterilizado y no tratado la colonización a través de anillos constrictores de *Arthrobotrys oligospora* sobre estadios larvales de *Meloidogyne hapla*.

Olivares-Bernabeu *et al.* (2002) tomaron muestras de suelos españoles con nematodos fitopatógenos endoparásitos y hallaron los siguientes hongos oviparásitos: *Pochonia chlamydosporia* var. *chlamydosporia*, *Lecanicillium lecanii* y *Paecilomyces lilacinus*. La mayoría de las cepas se hallaron sobre los nematodos *Heterodera schachtii* y *H. avenae*.

Se realizaron estudios *in vitro* de *Fusarium equiseti* sobre *Meloidogyne hapla* y *Heterodera glycines*. Los resultados

confirman que *F. equiseti* secreta metabolitos antagonistas de los nematodos (Nitao *et al.*, 1999).

Chandrawathani *et al.* (2002, 2004), demostraron la reducción en materia fecal de larvas de *Haemonchus contortus* cuando se administraron clamidosporas de *Duddingtonia flagrans* a ovejas infectadas con aquel parásito. Grønvold *et al.* (1993) alimentaron con *Arthrobotrys oligospora* y *Duddingtonia flagrans* a distintos grupos de vacas infectadas con *Ostertagia ostertagi*. La segunda cepa fue muy efectiva en la reducción de larvas infectivas (entre un 74 y 85%), no así *A. oligospora* que no demostró el mismo efecto. Otro grupo de investigadores trabajó con *Duddingtonia flagrans* y otros hongos nematofagos como *Monacrosporium gephyropagum* y *Harposporium helicoides* en el control biológico de estadios libres de *Ostertagia (Teladorsagia) circumcincta* en Nueva Zelanda. *D. flagrans* y *H. helicoides* solos o en combinación redujeron la recuperación de larvas infectivas (Waghorn *et al.*, 2002).

Araújo *et al.* (1995) probaron tres especies fúngicas formadoras de redes, *Arthrobotrys conoide*, *A. robusta* y el hongo parásito de huevos *Paecilomyces lilacinus* sobre huevos de *Toxocara canis*. Luego de 7 días de contacto de los huevos con los hongos *P. lilacinus* presentó mayor efecto ovicida en relación con las otras 2 especies que apenas presentaron hifas adhesivas sobre los huevos, en tanto que *P. lilacinus* presentó hifas que colonizaron internamente a los huevos. Holland *et al.* (1999) en huevos de *Meloidogyne hapla* con *P. lilacinus*. Faedo *et al.* (2000) estudiaron los efectos de esporas de *Duddingtonia flagrans* sobre la materia fecal ovina con huevos del nematode *Nematodirus spp.* Como resultado observaron una reducción del número de larvas 3 recuperadas de las heces. Paraud *et al.* (2005) administraron clamidosporas de *Duddingtonia flagrans* a cabras

infectadas experimentalmente con *Trichostrongylus colubriformis*. Examinaron las heces y observaron que había disminuido entre 50 a 97% el número de larvas recuperadas.

Se han descubierto basidiomycetes con actividad nematófaga como por ejemplo *Coprinus comatus* sobre larvas libres de *Panagrellus redivivus* Goodey (Luo et al., 2004).

Flores Crespo et al. (2003) evaluaron la acción de tres hongos nematofagos que forman redes adhesivas tridimensionales en presencia del nematode. Estas especies fueron *Dactylaria* sp., *Arthrobotrys oligospora* y *Duddingtonia flagrans* sobre larvas infectivas de *Haemonchus contortus*. La especie que tuvo mayor potencial como agente de control biológico fue *Duddingtonia flagrans*. Luo et al. (2006) demostraron la capacidad que tiene *Stropharia rugosoannulata* Farlow de inmovilizar estadios vivos del nematode *Panagrellus redivivus* Goodey a través de proyecciones digitiformes denominadas acantocitos.

Paraud & Chartier (2003) observaron la reducción de larvas L3 del nematode *Teladorsagia circumcincta* en materia fecal de cabras provocado por la ingestión de clamidosporas de *Duddingtonia flagrans*, hongo endoparásito.

Anke et al. (1995) estudiaron compuestos nematocidas y antibióticos de interés en la interrelación hongo-nematode sobre un amplio espectro de hongos: basidiomycetes, ascomycetes y deuteromycetes. Dichos estudios incluyeron el desarrollo de los hongos en medios de cultivo líquido, batch o fermentadores, la extracción de micelio y de la fase acuosa con solventes así como test en placa con *Caenorhabditis elegans* como organismo control. Durante el desarrollo de estas investigaciones, se aisló a partir de extractos miceliales de

numerosas especies de *Arthrobotrys*, ácido linoleico, un compuesto de fuerte acción nematicida hacia *C. elegans*. La producción de ácido linoleico aumentó con el número de estructuras trampa inducidas en el medio por péptidos de nematodos, lo cual indica el rol del compuesto nematicida en la captura de nematodos (Jansson *et al.*, 1997).

Verticillium spp. producen proteínas del tipo de las endoquitinasas en presencia de quitina coloidal. El efecto de estas fue demostrado sobre huevos de *Globodera pallida*, frente a cada enzima por separado y frente a la combinación de ambas. Sus resultados sugieren que tanto las quitinasas como las proteasas pueden estar involucradas en la ruptura de la cubierta de los huevos de nematodos, por parásitos fúngicos (Tikhonov *et al.*, 2002).

En nuestro país, Basualdo *et al.* (2000) evaluaron la interacción biológica entre huevos de *Toxocara canis* y hongos del Gen *Paecilomyces*, dando como resultado actividad ovicida alta en *P. lilacinus* y moderada en *P. marquandii*. *P. lilacinus* fue aislado también del vector de la enfermedad de Chagas, *Triatoma infestans* en un área endémica de Argentina (Marti *et al.*, 2006).

La colonización de los hongos del suelo sobre los huevos de *T. canis* evaluada en este trabajo de tesis, constituirá una herramienta potencial aplicada al control biológico experimental de huevos de *T. canis*.

Investigaciones posteriores serán necesarias para ampliar el conocimiento de la ecología de los hongos nematófagos, medir el grado de impacto ambiental así como estudiar la influencia de otros factores bióticos sobre la actividad y sobrevivencia de estos agentes. Estos estudios podrían permitir que las estrategias de control

biológico puedan ser una alternativa real en salud pública en los próximos años.

HIPOTESIS

La micobiota saprótrofa nativa del suelo de paseos públicos ejerce un efecto ovicida frente a los huevos de *T. canis*.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la presencia de hongos saprótrofos de suelo de paseos públicos que puedan utilizarse en el control de huevos de *Toxocara canis*.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ◆ A. Determinar la micobiota saprótrofa de suelos de paseos públicos de la ciudad de La Plata, Prov. Buenos Aires.

A'. Aislar e identificar especies fúngicas de suelos de la ciudad de La Plata.

A''. Conservar en medios adecuados las especies aisladas.

- ◆ B. Determinar el efecto ovicida de los hongos aislados en cultivo, sobre huevos de *T. canis in vitro*.

B'. Tratar los huevos de *T. canis* con las especies aisladas para determinar aquellas que puedan detener la evolución de los huevos.

B''. Registrar el efecto de las especies fúngicas aisladas sobre los huevos de *T. canis* por microscopía electrónica de barrido.

- ◆ **Determinar la microbiota saprótropa de suelos de paseos públicos de la ciudad de La Plata, Prov. Buenos Aires.**

A'. Aislar e identificar especies fúngicas de suelos de la ciudad de La Plata.

A''. Conservar en medios adecuados las especies aisladas.

Toma de muestra de suelo

Se obtuvieron muestras de suelo cercanas a 2 árboles tomados al azar de 10 plazas de la ciudad de La Plata (total = 20 muestras), entre los meses de junio de 2005 y abril de 2006, cada muestra fue procesada en la semana de la toma.

Las muestras se tomaron de la siguiente manera: se retiró la hojarasca superficial (foto 6) de un cuadrado de 20cm de lado de un área húmeda y sombría (los elementos parasitarios conservan la viabilidad por más tiempo en este tipo de áreas, para los hongos es indistinto) cercana a los árboles seleccionados. Se tomó el suelo raspando (foto 7) no más de 2cm de profundidad.



FOTO 6. Eliminación de la hojarasca superficial de un área de 20 cm de lado.



FOTO 7. Toma de muestra de tierra.

Las muestras debidamente rotuladas se transportaron en bolsas de polietileno cerradas (foto 8) hasta el laboratorio y se conservaron a temperatura ambiente.



FOTO 8. Conservación de muestra de tierra en bolsa de polietileno rotulada.

Área muestreada

Se eligió la ciudad de La Plata para realizar el muestreo de los paseos públicos.

En el plano de la ciudad de La Plata (Fig. 3) se pueden observar en color los paseos públicos muestreados (aproximadamente el 50% del total de los paseos públicos) y el número de árbol muestreado en cada uno de ellos.

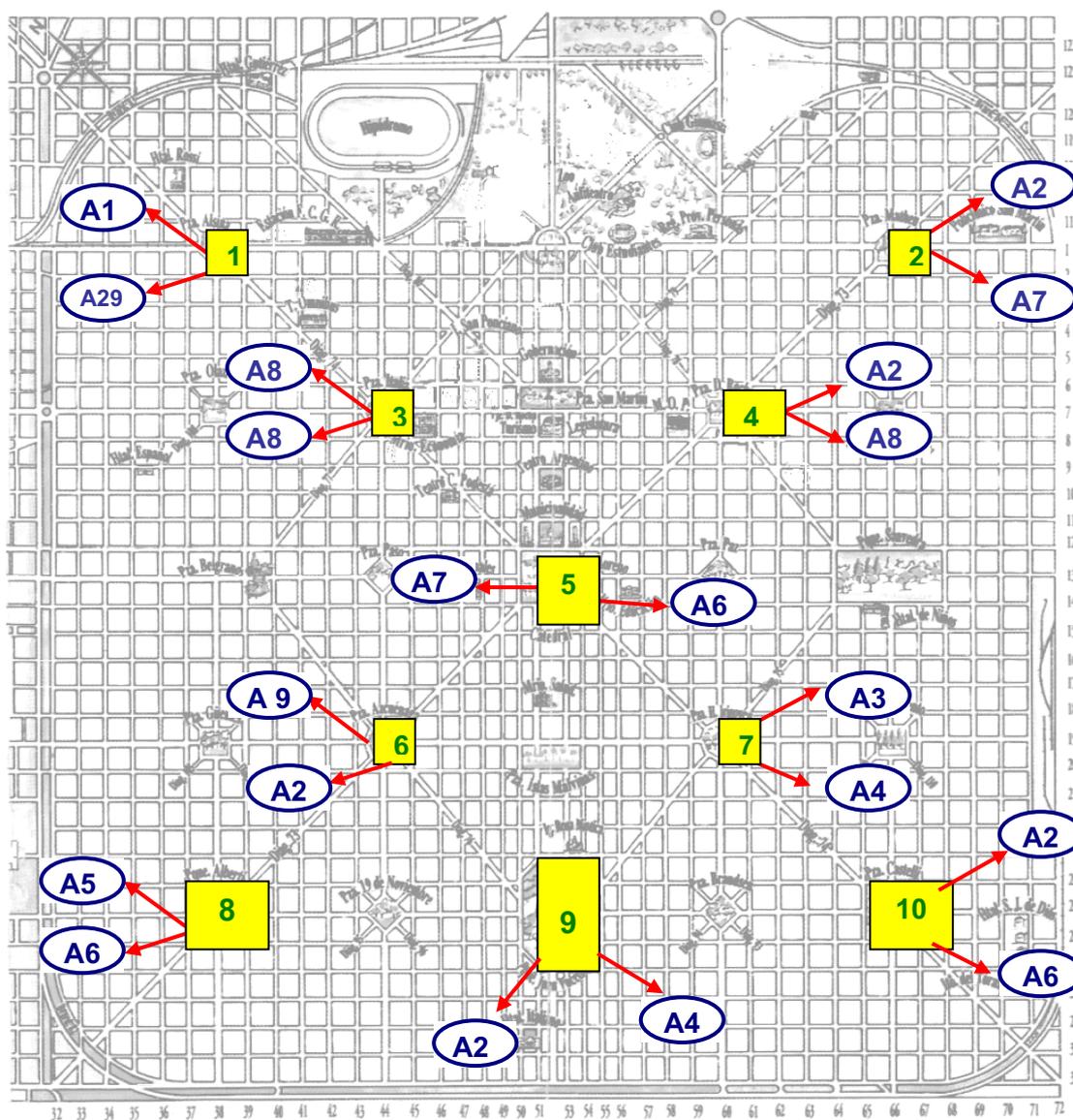


FIG. 3 Área muestreada de la ciudad de La Plata

Referencias

1. Plaza Alsina (1 y 38)
2. Plaza Matheu (1 y 66)
3. Plaza Italia (7 y 44)
4. Plaza Rocha (7 y 60)
5. Plaza Moreno (12-14 y 50-54)
6. Plaza Azcuénaga (19 y 44)
7. Plaza Irigoyen (19 y 60)
8. Plaza Alberti (25 y 38)
9. Parque San Martín (25 y 51)
10. Plaza Castelli (25 y 66)

Aislamiento de hongos del suelo

La técnica utilizada para el aislamiento de hongos del suelo es la de Parkinson & Williams (1961) modificada. El suelo fue degranulado en agua y tamizado (apertura de malla 1000 μm y 500 μm) (foto 9).



Foto 9. Degranulación de la muestra de tierra

El suelo degranulado y retenido por el último tamiz se transfirió a un Erlenmeyer de 250ml (foto 10). Se agitó y se lavó con agua destilada estéril 5 veces (foto 11).

**Foto 10.** Tamizado de muestras**Foto 11.** Lavado de muestras

La muestra de tierra se pasó a un papel de filtro. Se le extrajo el agua por bomba de vacío (foto 12). Posteriormente se dejó secar completamente en una caja de Petri estéril con papel de filtro durante una semana a 22°C (foto 13).

**Foto 12.** Secado de la muestra por bomba de vacío



Foto 13. Muestra de tierra secada

Se sembraron las partículas de suelo (4 x placa de Petri) en medio agar malta (MERCK®).

Se incubaron a temperatura ambiente durante una semana.

Las cepas aisladas se mantuvieron en agar malta a 4°C.

Identificación de las especies fúngicas

Las especies fúngicas aisladas del suelo fueron identificadas según Domsch *et al.* (1993).

Conservación de las especies fúngicas

Las especies fúngicas aisladas del suelo e identificadas fueron conservadas en medios adecuados en el Instituto de Botánica Spegazzini, UNLP.

- ◆ **B. Determinar el efecto ovicida de los hongos aislados en cultivo, sobre huevos de *T. canis in vitro*.**

B'. Tratar los huevos de *T. canis* con las especies aisladas para determinar aquellas que puedan detener la evolución de los huevos.

B''. Registrar el efecto de las especies fúngicas aisladas sobre los huevos de *T. canis* por microscopía electrónica de barrido.

Obtención de huevos de *T. canis*

Los ejemplares adultos de *T. canis* fueron obtenidos por desparasitación de cachorros naturalmente infectados (hasta 6 meses de edad) con diclorhidrato de piperazina. Se seleccionaron las hembras de *T. canis* y sus huevos fueron procesados de acuerdo al método de Oshima (1961). Brevemente, se realizó la disección de *T. canis* en solución de HONa 1N (fotos 14 y 15). Los huevos y fragmentos uterinos fueron filtrados (foto 16) y lavados 5 veces con agua destilada estéril por centrifugación (500 g durante 10 minutos).



FOTO 14. Procesamiento de *T. canis*



FOTO 15. Disección de *T. canis*



FOTO 16. Filtrado de huevos de *T. canis*

Lavado de huevos de helmintos

Para lograr una mejor decontaminación de los huevos, estos fueron puestos en contacto con etanol 70% (5 seg) y agua oxigenada 5 vol. (6 min). Luego fueron lavados 4 veces en agua destilada estéril.

El sedimento final fue resuspendido en agua destilada estéril a una concentración de 1×10^4 /ml (Basualdo *et al.*, 1995).

Cultivo de hongos saprótrofos en presencia de huevos de *T. canis*

A las especies fúngicas aisladas de los paseos públicos se les colocó una suspensión de 500 huevos de *T. canis* en el estadio inmaduro en 3 placas de Petri por tratamiento. Se incubaron en agar agua 2% a temperatura ambiente.

En los días 4, 7, 14, 21 y 28 post incubación, 3 muestras de cada placa fueron cosechadas para observación entre porta y cubre objeto al microscopio óptico y al microscopio electrónico de barrido.

Como muestras control se colocó una suspensión de 500 huevos del parásito en cajas de Petri en agua destilada estéril y antibióticos y fueron incubados a temperatura ambiente. Se observaron por microscopía óptica y electrónica los mismos días que los grupos experimentales.

Estos experimentos se realizaron utilizando 4 replicaciones para cada interacción.

Evaluación de la viabilidad de los huevos

El desarrollo y viabilidad de los huevos de *T. canis* fue evaluado por examinación al microscopio óptico (Microlux Triocular Mod. MXT-PL) entre porta y cubre objetos a 100X y 400X de las muestras obtenidas en los días 4, 7, 14, 21 y 28 postincubación (foto 113).

Microscopía electrónica

La totalidad de las muestras fueron secadas por punto crítico (Cohen, 1974) y metalizadas con oro antes de su examinación (microscopio electrónico de barrido JEOL modelo JSM-T100) a un aumento de 350-7500X. Se evaluaron 100 huevos por cada observación y se realizó el recuento de huevos alterados. Consideramos un huevo alterado aquel que mostró deformaciones en su morfología.

La actividad ovicida se determinó según la clasificación de Lỳsek *et al.* (1982) considerando 5 niveles: sin actividad (nivel 1, $\leq 15\%$ huevos alterados), actividad baja (nivel 2, $\geq 15-20\%$ huevos alterados), intermedia (nivel 3, 21-49% de huevos alterados), actividad alta (nivel 4, 50-79% huevos alterados), muy alta actividad (nivel 5, $\geq 80\%$ huevos alterados).

Análisis estadístico

Los resultados fueron evaluados por los siguientes métodos estadísticos: Test de análisis de la varianza (ANOVA) que pone a prueba en su hipótesis nula la igualdad de las medias de los grupos analizados. En este caso en particular como las observaciones son porcentajes, se realizó la transformación de arcsen de la raíz cuadrada del porcentaje para analizar posteriormente los datos transformados. En

aquellos casos que se rechazó la hipótesis porque se obtuvo un valor del estadístico F (Fisher) que superaba el valor crítico de 0,05 y 0,01 se continuó el análisis con un Test de diferencias mínimas significativas y el elegido fue el Test de Tukey.

Valores de $p \leq 0,05$ fueron considerados significativos (S), superiores a este fueron considerados no significativos (NS).

- ◆ **OBJETIVO A.** Determinar la microbiota saprótropa de suelos de paseos públicos de la ciudad de La Plata, Prov. Buenos Aires.

A'. Aislar e identificar especies fúngicas de suelos de la ciudad de La Plata.

A''. Conservar en medios adecuados las especies aisladas.

Se identificaron 17 especies fúngicas, de las cuales 15 pertenecen a anamorfos (Hyphomycetes).

En la tabla 3 se observa la distribución de las especies aisladas en los paseos públicos de la ciudad de La Plata.

	(1) P. Alsina	(2) P. Matheu	(3) P. Italia	(4) P. Rocha	(5) P. Moreno	(6) P. Azcuénaga	(7) P. Irigoyen	(8) P. Alberti	(9) P. San Martín	(10) P. Castelli
<i>M. minutus</i>		X		X	X	X	X	X	X	
<i>F. semitectum</i>	X				X		X	X		X
<i>Levaduras</i>			X		X			X	X	X
<i>F. moniliforme</i>		X		X		X	X			
<i>Monilia sp</i>			X			X		X		X
<i>F. acuminatum</i>	X									X
<i>F. sulphureum</i>	X								X	
<i>Sordaria sp</i>	X	X								
<i>F. fusarioides</i>		X						X		
<i>A. niger</i>					X	X				
<i>F. oxysporum</i>		X				X				
<i>T. harzianum</i>			X				X			
<i>S. alba</i>			X			X				
<i>C. merdarium</i>			X							X
<i>P. canescens</i>			X						X	
<i>F. dimerum</i>	X									
<i>A. flavus</i>		X								

TABLA 3. Distribución de las especies aisladas en paseos públicos de la ciudad de La Plata

Descripción de las especies aisladas e identificadas

1. *Fusarium acuminatum* Ellis o Everhart

Colonia de crecimiento rápido azafrañado a rosado/rojo carmín (foto 17).

Macroconidios curvados con las células de los extremos alargadas y continuado con la curvatura 3-8 septados, de 30-70 x 3,5-5 μm (foto 18). Microconidios ausentes.



FOTO 17. *F. acuminatum* (colonia AM)



FOTO 18. *F. acuminatum* (macroconidias 400x)

2. *Fusarium dimerum* Penzig

Colonia de crecimiento lento blanco a anaranjado, sin pigmentos en el medio (foto 19).

Macroconidios curvados en ambos lados de la espora 1-2 septados (ocasionalmente 0 septados), usualmente abundantes a lo largo de la colonia, 15-25 x 2,5-4 μ m (foto 20). No produce clamidosporas, microconidios ni esporodoquios.



FOTO 19 *F. dimerum* (colonia en AM)

FOTO 20 *F. dimerum* (macroconidias 400x)

3. *F. aff. semitectum* Berk & Rav

Colonia de crecimiento rápido color durazno cambiando a avellana (foto 21) .

Macroconidios fusiformes ligeramente rectos 3-5 septados, de tamaño variable de 17-40 x 3-5 μm (foto 22). Microconidios ausentes. Clamidosporas dispersas, globosas, intercalares formadas de manera solitaria o en cadenas, 5-10 μm de diámetro (foto 23).



FOTO 21 *F. aff. semitectum* (colonia AM)

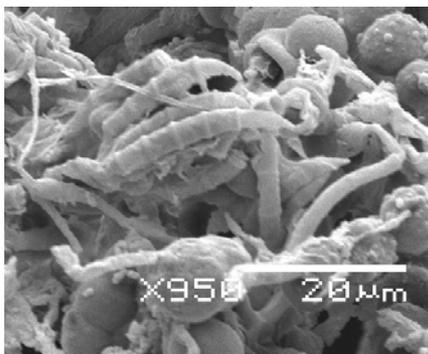


FOTO 22. Microfotografía electrónica de *F. aff. semitectum* (macroconidias, clamidosporas)

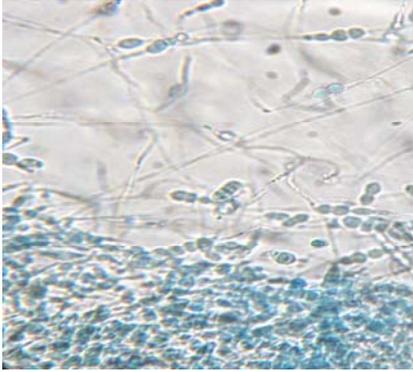


Foto 23. *F. aff. semitectum* (clamidosporas x 400)

4. *Fusarium sulphureum* (Schlecht)

Colonia de crecimiento rápido de color crema a amarillo azufrado (foto 24).

Macroconidios cilíndricos ligeramente curvados, 3 septados de 23-32 x 3,5 – 4µm (foto 25). Microconidios ausentes. Clamidosporas globosas, aisladas, intercalares o en cadenas de 8-10 µm de diámetro.



FOTO 24. *F. sulphureum* (colonia en AM)

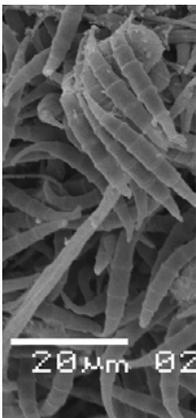


FOTO 25. Microfotografía electrónica *F. sulphureum* (macroconidias)

5. *Aspergillus flavus* Link ex Gray

Colonias alcanzando 3 – 7 cm en 10 días, cabezas conidiales de color verde amarillo brillante, volviéndose marrón con la edad (foto 26). Conidios dispuestos de manera radial o columnar, globosos o subglobosos de 3,5 – 4,5 μm de diámetro, métulas presentes, conidióforos incoloros y rugosos (foto 27).



FOTO 26 *A. flavus* (colonia AM)*

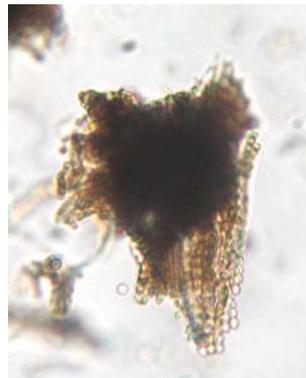


FOTO 27 *A. flavus* Cabeza aspergilar (400x)

<http://www.mold.ph/images/a.flavus.gif>

6. *Fusarium* "moniliforme" Sheld 1904

Es un complejo de al menos cuatro especies: *F. verticilloides*, *F. proliferatum*, *F. fujikuroi*, *F. sacchari* var *sacchari* y *F. sacchari* var. *subglutinans*.

Colonias de crecimiento rápido: rosa salmón, vinaceo o púrpura (foto 28).

Macroconidios fusoides 3-7 septados, 25-60 x 2,5-4 μm . Microconidios fusoides a clavados 5-12 x 1,5-2 μm (foto 29). Clamidosporas ausentes. Colonia salmón durazno a violeta.

Teleomorfo: *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenw.



FOTO 28 *F. moniliforme* (colonia en AM)

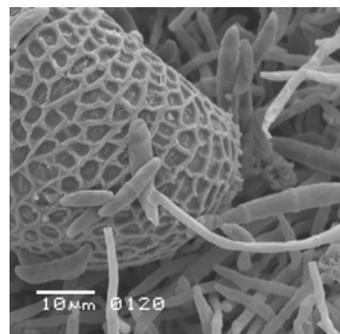


FOTO 29 Microfotografía electrónica de *F. moniliforme* (macroconidios y microconidios)

7. *Fusarium fusarioides* (Frag. & Cf.) Booth

Colonia carmín, coral o roja (foto 30). Con microconidios 0-1 septados, clavados de 8-12 x 2,5 – 4 μm . Macroconidios 3 – 5 septados 30 -46 x 3 – 5 μm (foto 31). Clamidosporas globosas, pardas hasta 30 μm de diámetro.



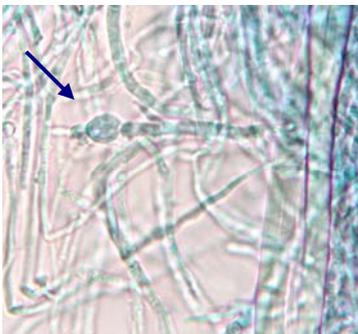
FOTO 30. *F. fusarioides* (colonia AM)



FOTO 31. *F. fusarioides*
(macroconidias x 400)

8. *Fusarium oxysporum* Schlecht

Colonia blanca, rosada, hasta violeta (foto 32).
Microconidios ovales – elípticos, cilíndricos, rectos o curvados 5 – 12 x 2,5 – 3 μm (foto 33). Macroconidios 3 – 5 septadas 27 – 60 x 3 – 5 μm (foto 35).
Clamidosporas globosas (foto 34).

**FOTO 32** *F. oxysporum* (colonia)**FOTO 33** *F. oxysporum*
(microconidias 400x)**FOTO 34.** *F. oxysporum* (clamidosporas 400x)**FOTO 35.** *F. oxysporum*
(macroconidias 400x)

9. *Chrysosporium merdarium* (Link ex Grev.) Carmichael

Colonias alcanzando los 30-35 mm en 14 días, inicialmente blancas, márgenes regulares definidos. Reverso amarillo brillante (foto 36). Hifas hialinas de paredes delgadas de 1,5 – 4 μm de ancho. Conidios laterales o terminales, sésiles o sobre ramas cortas laterales, subhialinas a amarillo pálido, lisos o ligeramente equinulados de paredes gruesas, subglobosos a obovoide, unicelular, 4-10 x 3-6 μm con una amplia cicatriz basal (aleuriosporas) (foto 37).

Anamorfo: *Gymnoascus uncinatus* Eidam



Foto 36. *C. merdarium* (colonia en AM)

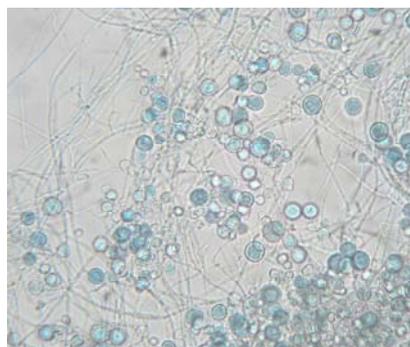


Foto 37. *C. merdarium* (conidios 400x)

10. *Penicillium canescens* Sopp

Colonia verde grisáceo, reverso naranja volviéndose marrón con la edad (foto 38). Conidióforo rugoso, métulas divergentes. Conidios globosos-ovados lisos o ligeramente rugosos 2-2,5 μm de diámetro (foto 39).

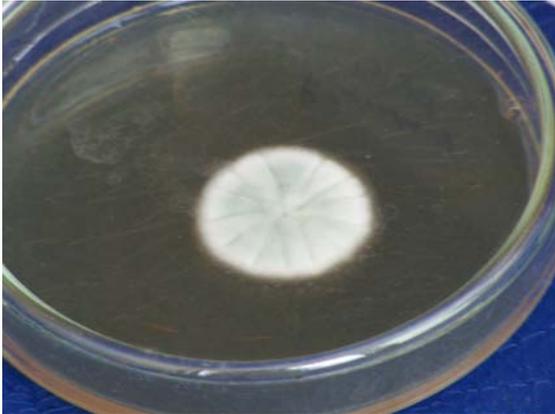


FOTO 38. *P. canescens* (colonia en AM)

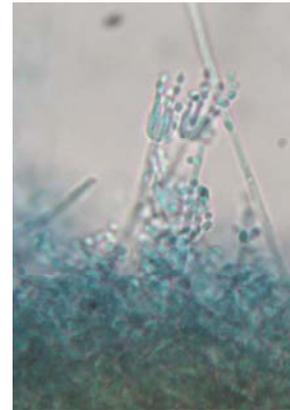


FOTO 39. *P. canescens*
(fructificación)

11. *Sporothrix alba* (Pitch) de Hoog

Colonia hialina a pardo claro (foto 40). Células conidiógenas aisladas, laterales o terminales sobre conidióforos indefinidos, denticuladas. Con proliferación simpodial. Conidio hialino liso, de paredes delgadas, fusiforme con la base aguzada $6-8 \mu\text{m} \times 1 - 1.5$ (foto 41).

Teleomorfo no conocido.

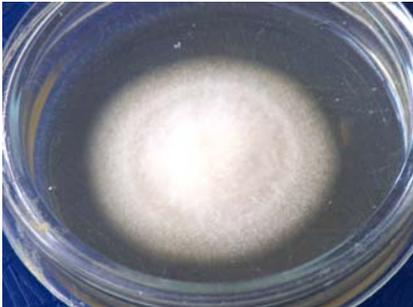


FOTO 40. *S. alba* (colonia AM)

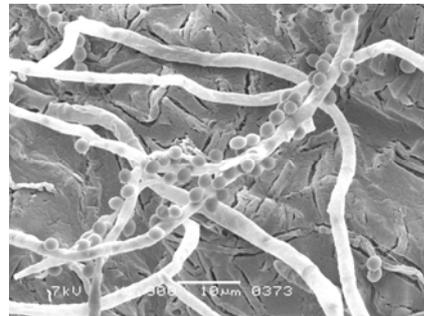


FOTO 41. Microfotografía electrónica de *S. alba* (conidios)

12. *Trichoderma harzianum* Rifai

Colonias de crecimiento rápido blancas, volviéndose verdosas con la esporulación (foto 42).

Conidióforo muy ramificado, fiálides dispuestas en ramas cortas. Conidios subglobosos a cortamente ovoides, lisos de 2,8 – 3,2 x 2,5 – 2,8 μm (foto 43).



FOTO 42 *T. harzianum* (colonia AM)



FOTO 43 *T. harzianum* (fructificación 400x)

13. *Aspergillus niger* van Tieghen

Colonias alcanzando 2,5 – 3 cm en 10 días (foto 44). Conidios en cabezas grandes o cabezas conidiales de color pardo oscuro, globosos, equinulados de manera irregular de 4 – 5 μm de diámetro (foto 45).

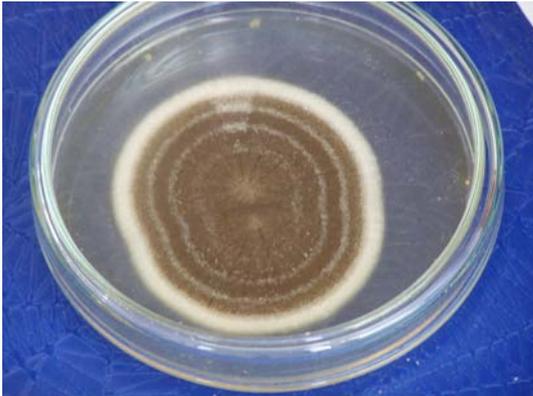


FOTO 44 *A. niger* (colonia en AM)



FOTO 45 *A. niger* (cabeza aspergilar 400x)

14. *Mucor minutus* (Baijal & B. S. Mehrotra) Schipper

Colonias gris-pardas, hasta 16 mm de altura, alcanzan 78 mm de diámetro a 20°C en 5 días (foto 46).

Esporangióforos de 15-20 μm de diámetro, primero monopodiales, luego simpodiales. Esporangios blancos a gris-negruzcos en la madurez, globosos, 90.0-180.0 μm de diámetro; columela subglobosa a elipsoidal, 35.0-82.5 \times 37.5-105.0 μm , con pequeños collares; esporangiosporas globosas a elipsoidales, 3.9-4.9 \times 3.9-5.9 μm (foto 47).

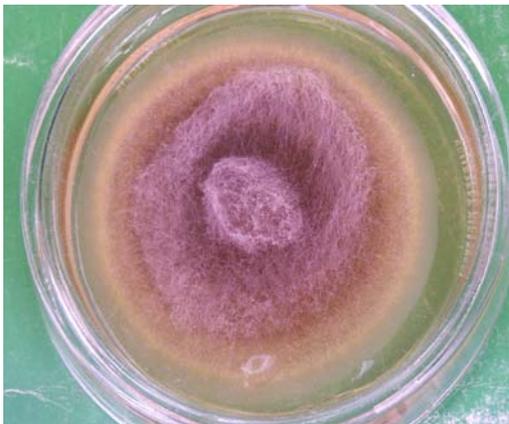


FOTO 46 *M. minutus* (colonia en AM)



FOTO 47 *M. minutus* (esporangio 400x)

15. *Monilia sp.*

Colonias blancas o grises, y abundantes en cultivo (foto 48). Conidióforos ramificados, conidias rosa, grises o canela en masa, cilíndricas cortas a redondeadas, en cadenas acropétalas (foto 49).

Se cultiva en agar papa a 24°C.



FOTO 48 *Monilia sp.* (colonia AM)



FOTO 49 *Monilia sp.* (fructificación 400x)

- ◆ **OBJETIVO B.** Determinar el efecto ovicida de los hongos aislados en cultivo, sobre huevos de *T. canis in vitro*.

B'. Tratar los huevos de *T. canis* con las especies aisladas para determinar aquellas que puedan detener la evolución de los huevos.

B". Registrar el efecto de las especies fúngicas aisladas sobre los huevos de *T. canis* por microscopía electrónica de barrido.

Los estadios evolutivos del huevo de *T. canis* considerados en estos resultados son los siguientes:

No desarrollados: huevos que permanecieron con una sola célula durante toda la experiencia (foto 50).

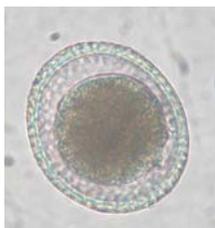


FOTO 50. Huevo de *T. canis* no desarrollado (400X)

En desarrollo: huevos cuyas células se encuentran en clivaje activo (foto 51).

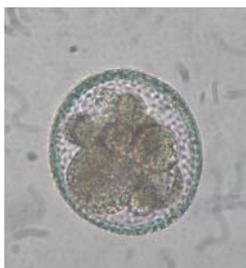


FOTO 51. Huevo de *T. canis* en desarrollo (400X)

Larvados: huevos en estadio de larva 1 o larva 2. Larva 1 presenta una extremidad anterior roma y una cola fina que termina en una pequeña protuberancia. Esta larva mide aproximadamente 400 μm de longitud y 20 μm de ancho, y se encuentra arrollada dentro del huevo (foto 52).

Larva 2 se reconoce por la mayor definición de sus estructuras al microscopio óptico y su estilización. Mide alrededor de 500 μm de largo y 15 μm de ancho. Se encuentra arrollada generalmente formando anillos en el interior de los huevos (foto 53) (Minvielle, 1995).

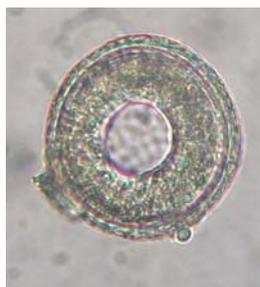


FOTO 52. Huevo en estadio de Larva 1 (inmóvil) (400X)



FOTO 53. Huevo en estadio de Larva 2 (móvil) (400X)

Las observaciones de la viabilidad de los huevos de *T. canis* al microscopio óptico luego de incubarlos *in vitro* en agar agua 2% con cada una de las especies fúngicas aisladas de los paseos públicos de la ciudad de La Plata evidenciaron los siguientes resultados:

1. Interacción *Chrysosporium merdarium*/huevos de *T. canis*

Microscopía óptica (MO)

En el día 4 post incubación se observó la fructificación de *C. merdarium*. En este día, el porcentaje de los huevos en evolución fue similar a la de GC. A partir de ese día los huevos en evolución fueron disminuyendo de manera ostensible (Fig. 4).

A partir del día 14, la cepa fúngica comenzó a desarrollar micelio vegetativo alrededor de los huevos de *T. canis*. Estos quedaron atrapados en la trama hifal, que afectó su evolución.

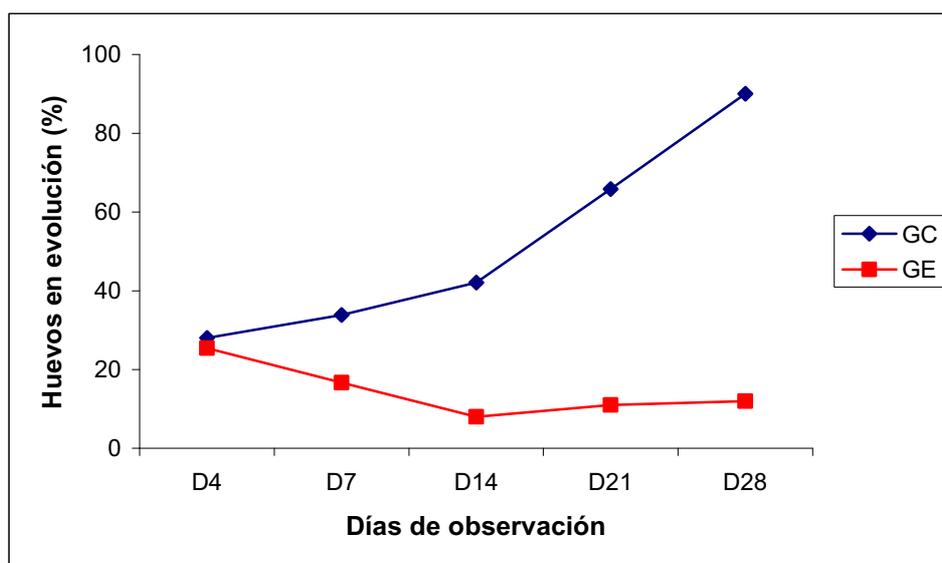


FIG. 4. Interacción *Chrysosporium merdarium*/huevos de *T. canis*. GC: evolución de huevos de *T. canis* en agar agua 2% TA. GE: evolución de huevos de *T. canis* incubados con *C. merdarium* (MO)

En la Fig. 5 se puede observar que el porcentaje de huevos "no desarrollados" en el GE siempre fue mayor que el del GC. Por el contrario, los huevos "en desarrollo" del GE aparecieron de

manera dispar a lo largo de la experiencia y en el día 28 post cultivo no se observaron huevos larvados en este grupo.

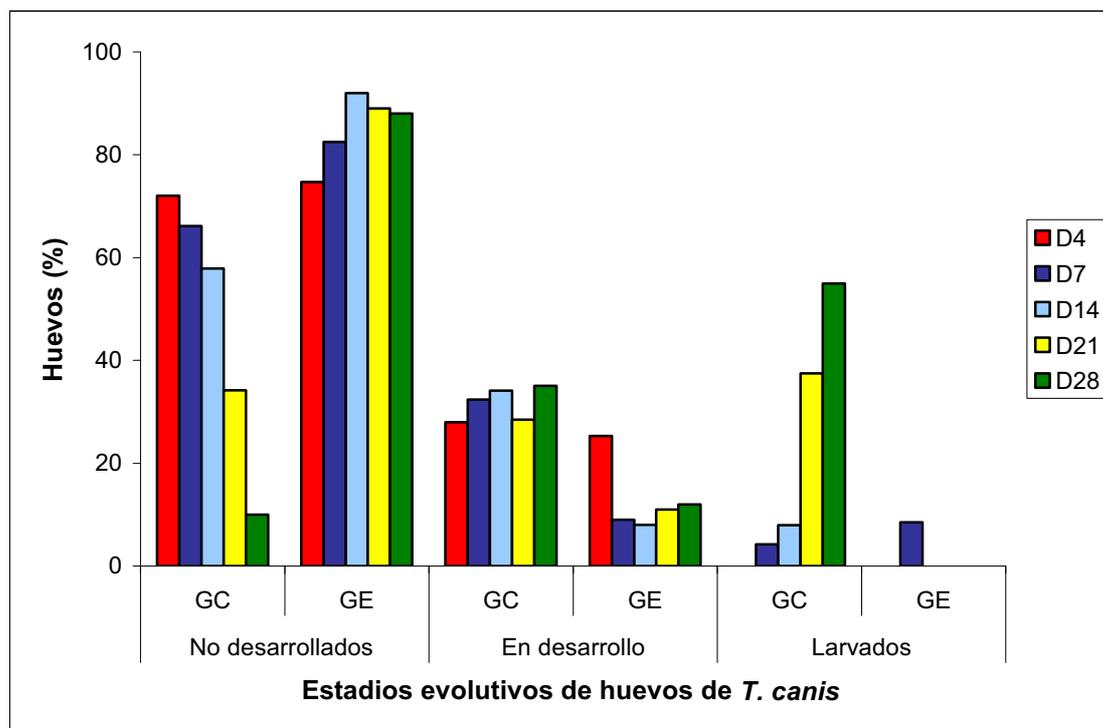


FIG. 5 Evolución de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *Chrysosporium merdarium* (%). Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control, GE: Grupo Experimental

El análisis de varianza para los huevos “no desarrollados” del grupo experimental vs. grupo control dio como resultados que las diferencias fueron significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post incubación (Tabla 4).

TABLA. 4 Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *C. merdarium* (GE)

Día post cultivo	Huevos control		Huevos y <i>C. merdarium</i>		<i>p</i>
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	
28	9,98	5,62	88,03	7,95	S

Microscopía electrónica

C. merdarium fue observado en fructificación y con escaso micelio vegetativo, en el día 4 post incubación (foto 54). Los huevos de *T. canis* no se visualizaron dentro del micelio de fructificación.

A medida que avanzó el tiempo de exposición a la cepa fúngica, se observó un aumento de micelio y crecimiento de la red hifal con entrapado de huevos de *T. canis*.

A partir del día 21 (foto 55) los huevos de *T. canis* pudieron observarse inmersos en la trama hifal, llegando a un alto grado de deformación y destrucción (86%) de los mismos hacia el día 28 de observación (foto 56).

Según la clasificación de Lỳsek la actividad ovicida de *C. merdarium* sobre huevos de *T. canis* fue "muy alta" (nivel 5).

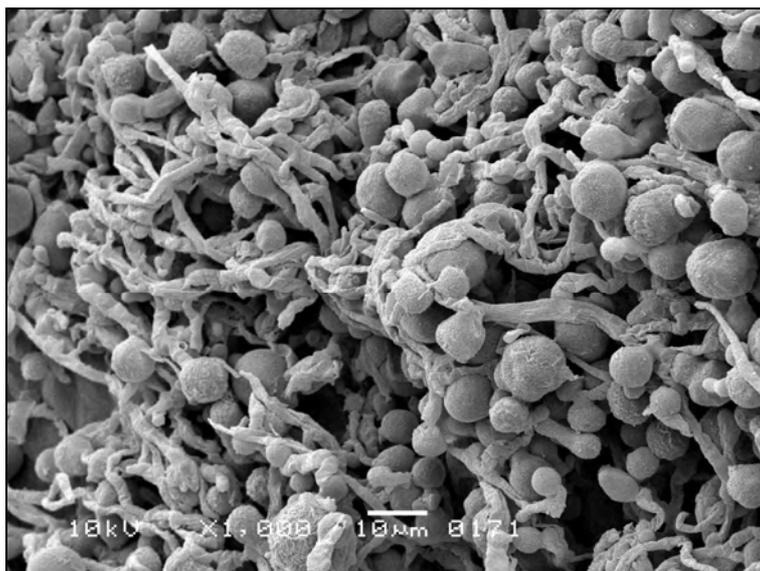


FOTO 54. Microfotografía electrónica de *C. merdarium* (fructificación, día 4)

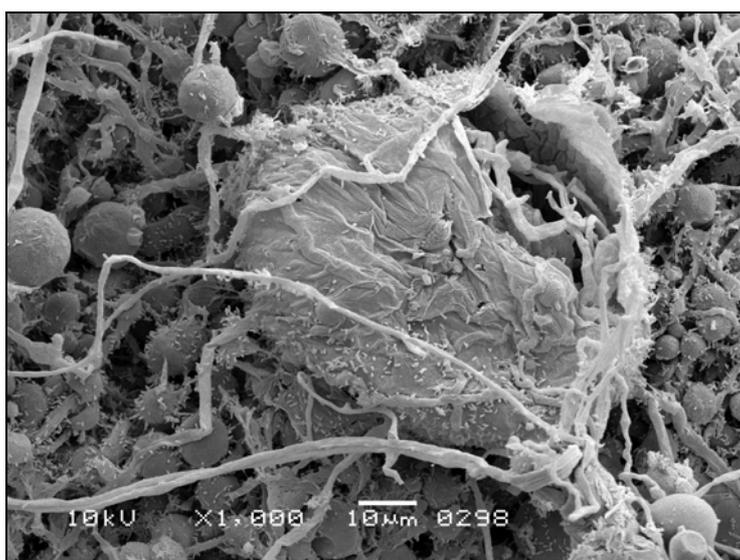


FOTO 55. Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* colonizado y destruido por *C. merdarium* (día 21 post incubación)

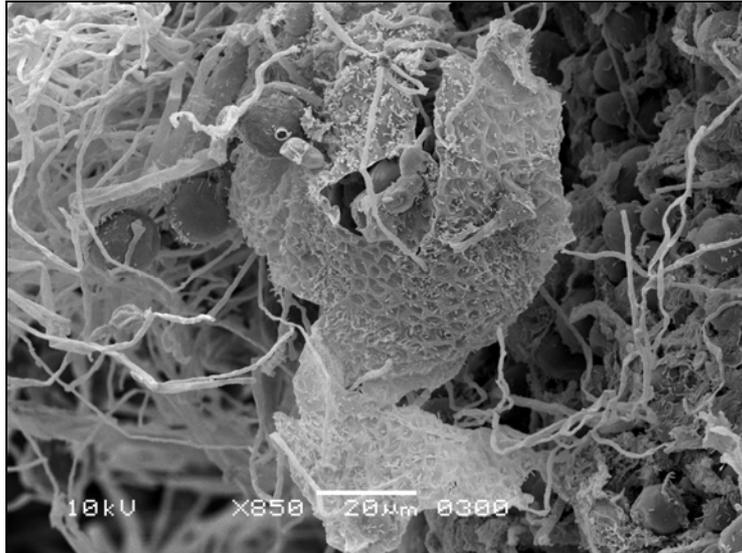


FOTO 56. Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* colonizado y destruido por *C. merdarium* (día 28)

2. Interacción *Fusarium oxysporum*/huevos de *T. canis*

Microscopía óptica (MO)

En esta experiencia realizada con *Fusarium oxysporum*, los huevos de *T. canis* en contacto con la cepa fúngica evolucionaron de manera gradual desde el día 4 hasta el día 28 post incubación, en menor porcentaje que los huevos en evolución pertenecientes al GC (Fig. 6).

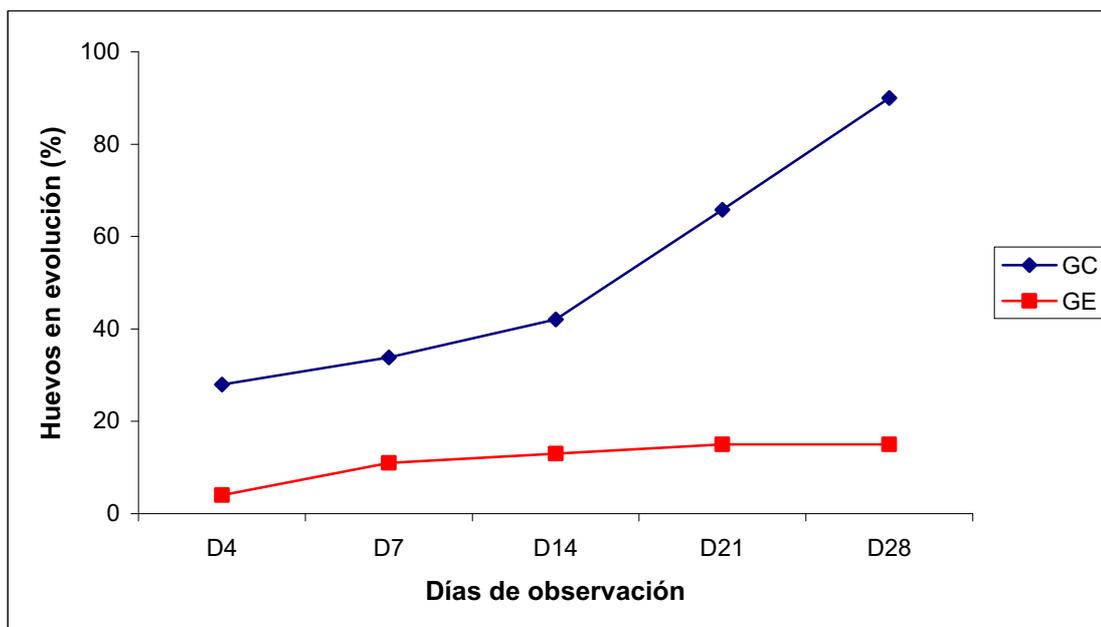


FIG. 6 Interacción *Fusarium oxysporum*/huevos de *T. canis*. GC: Evolución de huevos de *T. canis* en agar agua 2% a TA. GE: Evolución de huevos de *T. canis* incubados con *F. oxysporum* (MO)

En la Fig 7 se observa la evolución de los huevos de *T. canis* en contacto con *F. oxysporum* en agar agua 2%. De esta figura se deduce que el número de huevos “no desarrollados” del GE fue en franco aumento a través de los días de incubación.

Los huevos “en desarrollo” variaron el porcentaje a través de la experiencia siendo menor en el GE, excepto en el día 28.

Los huevos “larvados” del GE se presentaron en menor proporción que el GC, excepto en el día 14 post incubación.

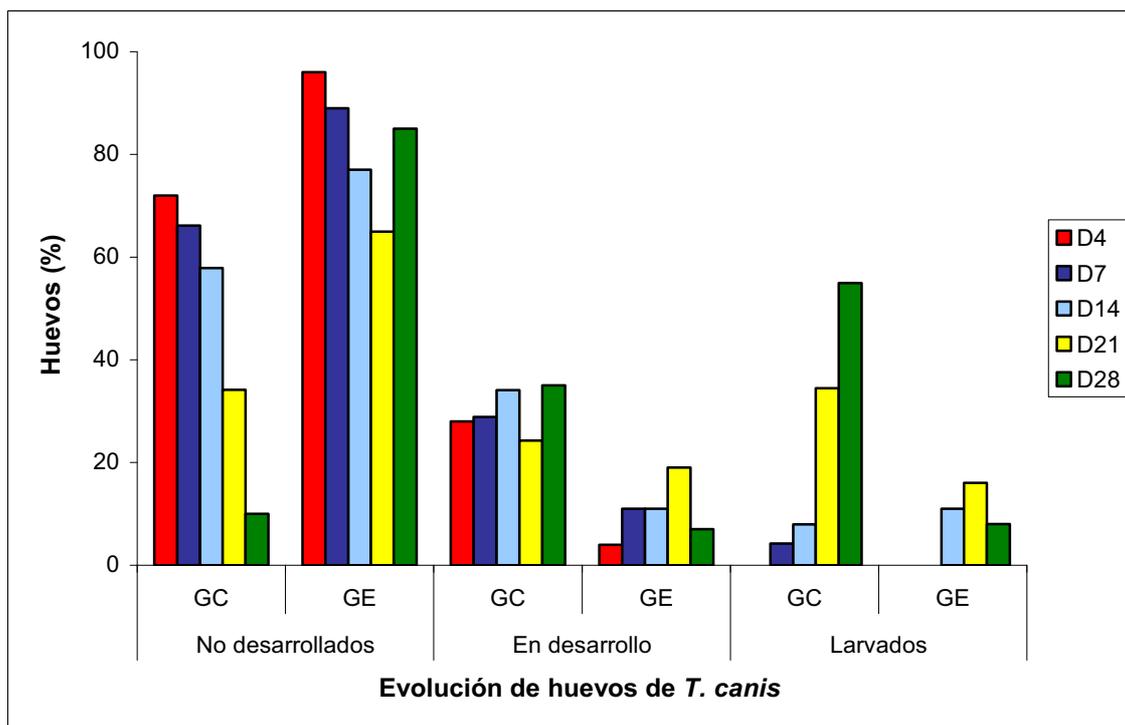


FIG. 7 Evolución de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *Fusarium oxysporum* (%). Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control, GE: Grupo Experimental (MO)

El análisis de varianza para los huevos “no desarrollados” del grupo experimental vs grupo control dio como resultados que las diferencias fueron significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post incubación (Tabla 5).

Tabla. 5 Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *F. oxysporum* (GE)

Día cultivo	post	Huevos control		Huevos y <i>F. oxysporum</i>		p
		\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	
28		9,98	5,62	85,00	7,95	S

Microscopía electrónica

Durante las observaciones al microscopio electrónico de barrido, los huevos de *T. canis* se observaron formes e incluidos en la trama hifal de *F. oxysporum* a partir del día 4 (Foto 57).

En el día 7 los huevos de *T. canis* en contacto con *F. oxysporum* se hallaron con la cubierta lisa en gran proporción. A partir del día 14 post incubación se incrementó el porcentaje de huevos deformados, de cubierta lisa y destruidos (Foto 58), estas características permanecieron hasta el final de la experiencia (Día 28, Fotos 59 y 60).

En el día 14 se observó la fructificación de *F. oxysporum*.

Dentro de la clasificación de Lỳsek la actividad ovicida de *F. oxysporum* sobre huevos de *T. canis* fue “muy alta” (nivel 5).

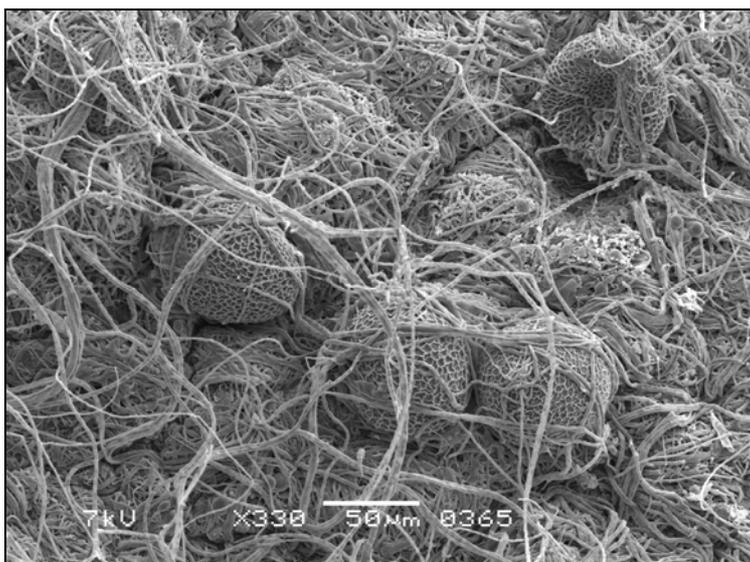


FOTO 57 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en la trama hifal de *F. oxysporum* (Día 4)

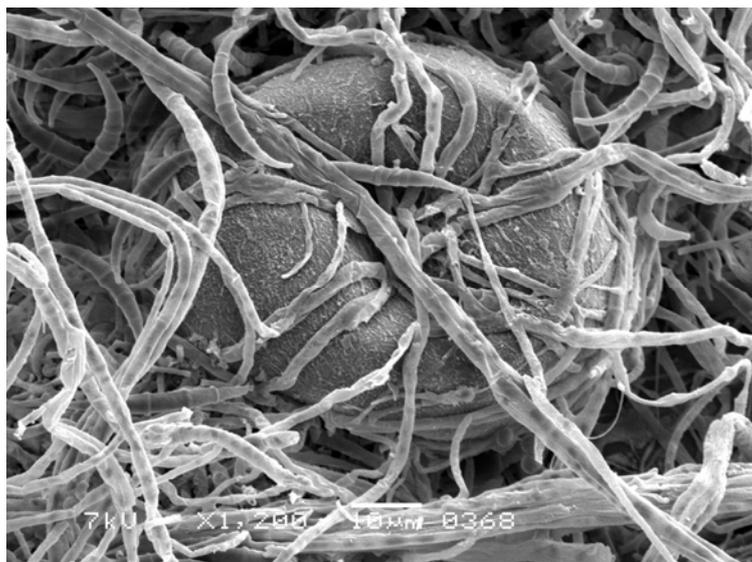


Foto 58 Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* con cubierta lisa en la trama hifal de *F. oxysporum* fructificado (Día 14 post cultivo).

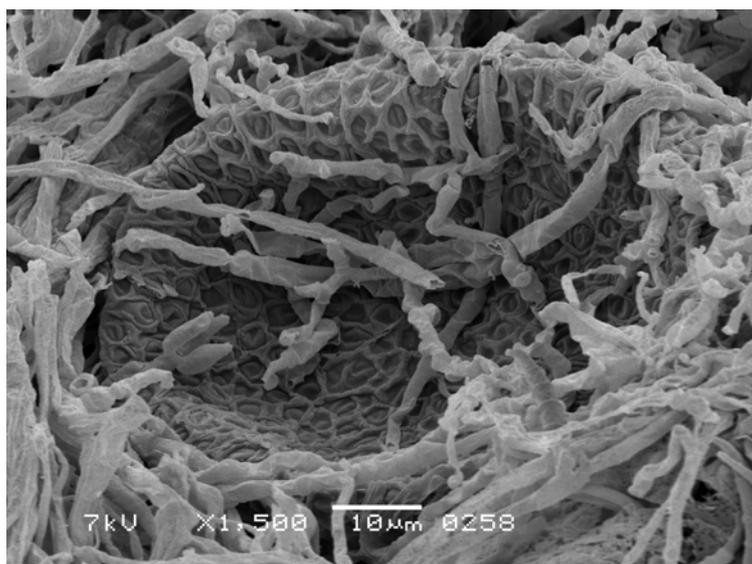


Foto 59 Microfotografía electrónica de huevo deformado de *T. canis* en trama hifal de *F. oxysporum* (Día 28)

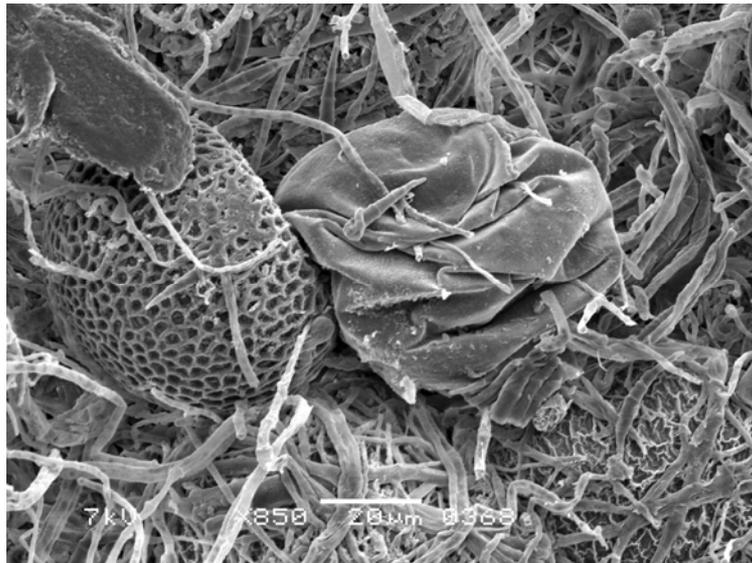


Foto 60 Microfotografía electrónica de huevos deformados y destruidos, con cubierta lisa en la trama hifal de *F. oxysporum* (Día 28)

3. Interacción *Fusarium sulphureum*/huevos de *T. canis*

Microscopía óptica (MO)

Durante toda la experiencia realizada con *F. sulphureum*, los huevos de *T. canis* en contacto con la cepa fúngica evolucionaron de manera gradual desde el día 4 hasta el día 28 post incubación, en menor porcentaje que los huevos en evolución pertenecientes al GC (Fig. 8).

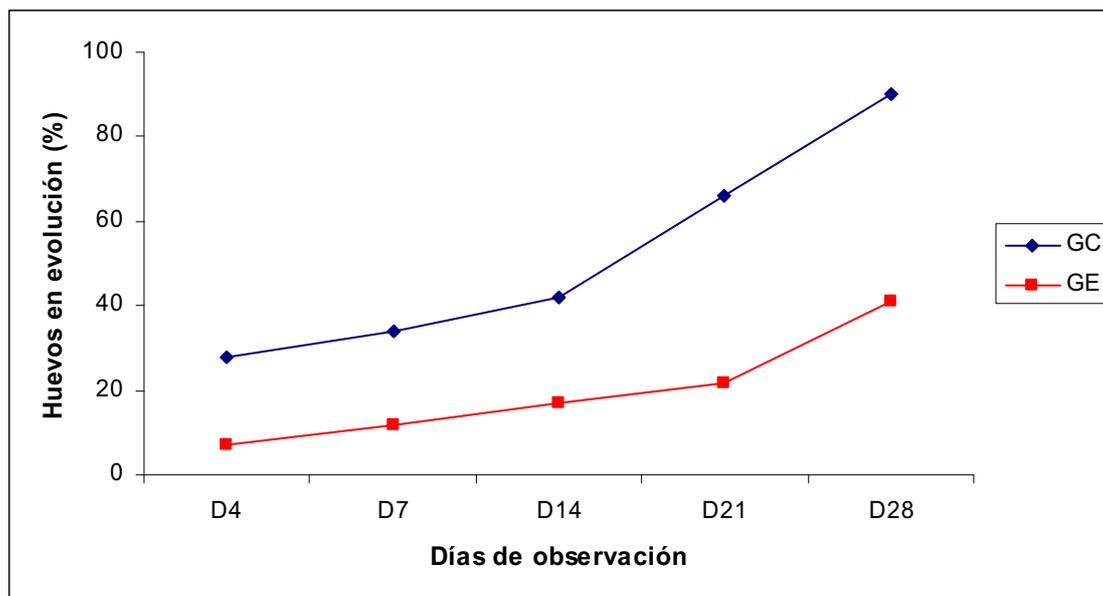


FIG. 8 Interacción *F. sulphureum*/huevos de *T. canis*. GC: evolución de huevos de *T. canis* en agar agua 2% a TA. GE: evolución de huevos de *T. canis* incubados con *F. sulphureum* (MO)

En la Fig. 9 se observa los estadios de huevos de *T. canis* en incubación con *F. sulphureum* en agar agua 2% a TA. Los huevos de *T. canis* pertenecientes al grupo experimental presentaron todos los estadios de evolución hasta el día 28 post incubación.

Los huevos “no desarrollados” del GE se presentaron en mayor número a lo largo de la experiencia. Acorde con esto, los huevos “en desarrollo” tuvieron menor recuento. Los huevos “larvados” de GE se presentaron más “retrasados” en su aparición respecto a los huevos larvados del GC que pudieron ser detectados a partir del día 7 post incubación.

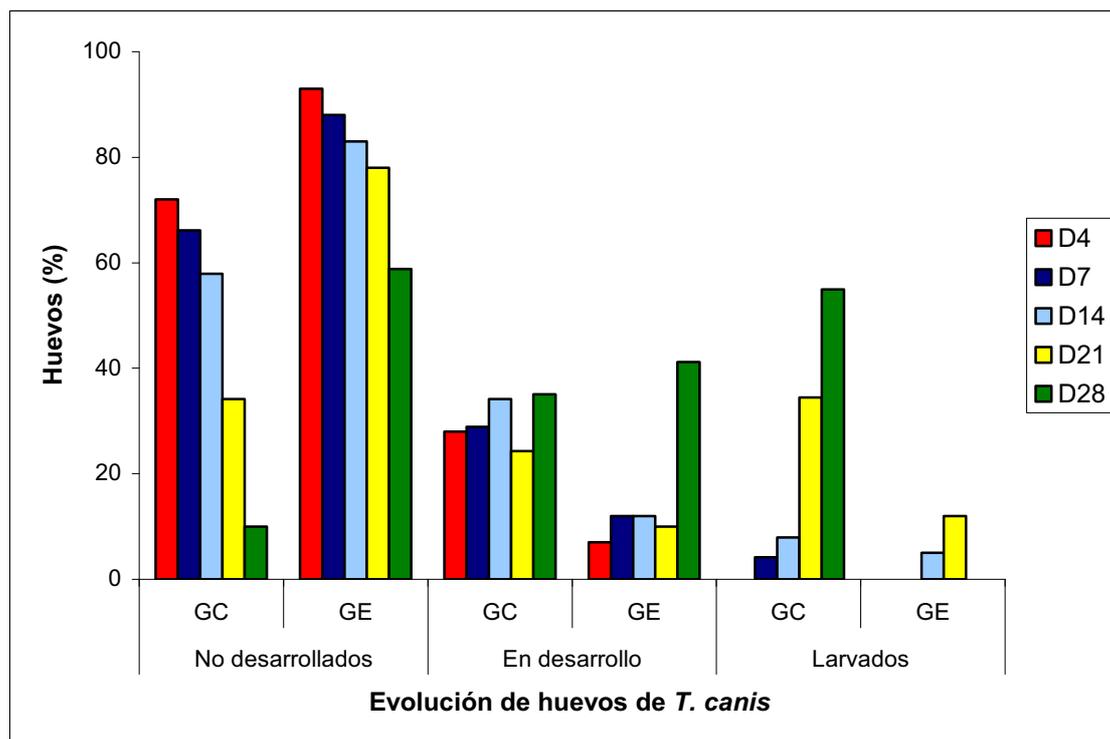


Fig. 9 Evolución de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *F. sulphureum* (%). Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control, GE: Grupo Experimental (MO)

El análisis de varianza para los huevos “no desarrollados” del grupo experimental vs grupo control dio como resultados que las diferencias fueron significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post incubación (Tabla 6).

TABLA 6. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *F. sulphureum* (GE)

Día post cultivo	Huevos control		Huevos y <i>F. sulphureum</i>		<i>p</i>
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	
28	9,98	5,62	58,85	5,62	S

Microscopía electrónica

A partir del día 4 postincubación, la red hifal de *F. sulphureum* comenzó a desarrollarse entramando a los huevos de *T. canis*. Estos elementos parasitarios se observaron con su morfología conservada. Un escaso número de ellos se deformaron en los primeros días de incubación (Foto 61).

Con el avance del tiempo de exposición a la cepa fúngica, el número de huevos de *T. canis* deformados aumentó hacia los días 21 y 28. Un porcentaje moderado de huevos que perdieron la cubierta externa aparecieron hacia el día 21 (Foto 62). Un alto número (72%) de huevos destruidos fue observado en el día 28 (Fotos 63 y 64).

Dentro de la clasificación de Lỳsek la actividad ovicida de *F. sulphureum* sobre huevos de *T. canis* fue "alta" (nivel 4).



FOTO. 61 Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* y *F. sulphureum* (Día 7 post incubación).

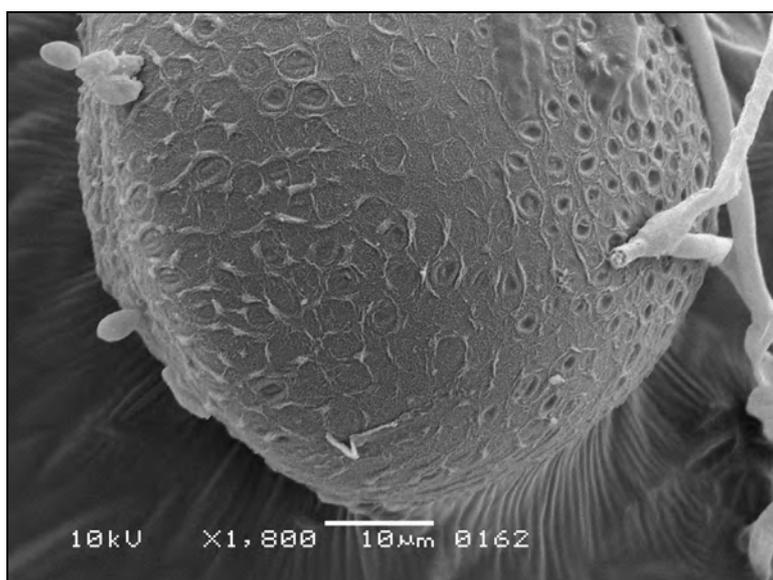


FOTO 62 Microfotografía electrónica de huevo *T. canis* sin la cubierta externa (día 21)

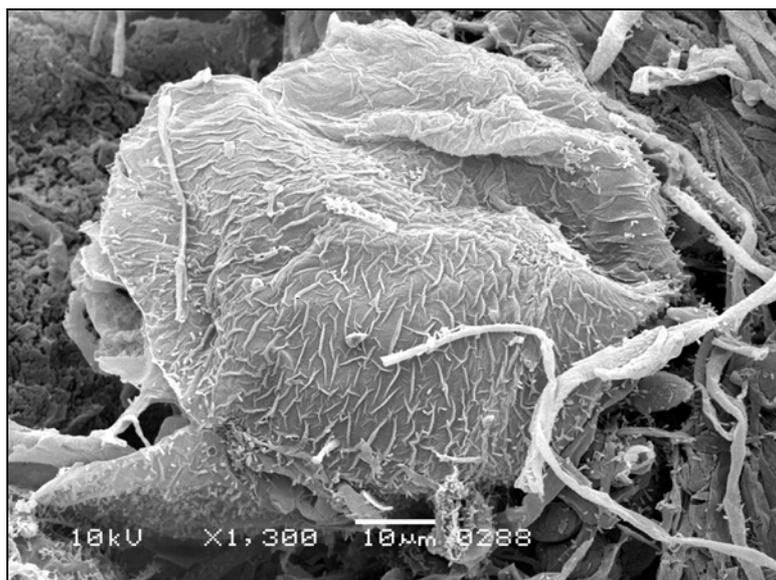


Foto 63. Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* destruidos por *F. sulphureum* en el día 28 de incubación



Foto 64. Microfotografía electrónica huevo de *T. canis* en incubación con *F. sulphureum* (día 28)

4. Interacción *Fusarium aff. semitectum*/huevos de *T. canis*

Microscopía óptica (MO)

Los huevos de *T. canis* comenzaron su evolución a partir del día 4 post incubación con *F. aff. semitectum* en una dinámica similar al GC hasta el día 14 post incubación.

A partir del día 21 post incubación, si bien, los huevos de *T. canis* pertenecientes al GE siguieron su evolución, esta se dio en menor proporción que en el GC. Esta diferencia se evidenció aún más, en el día 28 post incubación (Fig. 10).

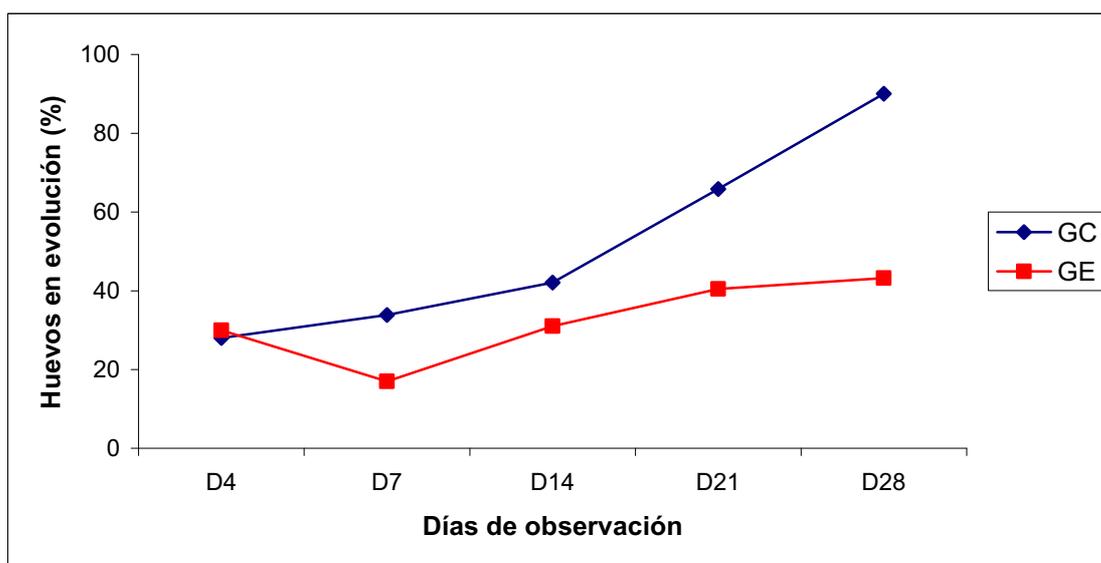


FIG. 10 Interacción *F. aff. semitectum*/huevos de *T. canis*. GC: Evolución de huevos de *T. canis* en agar agua 2% a temperatura ambiente (TA). GE: Evolución de huevos de *T. canis* incubados con *F. aff. semitectum* (MO)

En la Fig. 11 se observa la evolución de los huevos de *T. canis* en presencia de *F. aff. semitectum* en agar agua 2%. De esta figura se deduce que el número de huevos "no desarrollados" del GE fueron en franco aumento a través de los días de incubación.

Los huevos en estadio de larva se hallaron a partir del día 7 en el grupo control (GC) hasta el final de la incubación y solamente, en los días 7, 14 y 21 y en menor proporción en GE. La proporción de huevos larvados fue menor en el GE que en el GC.

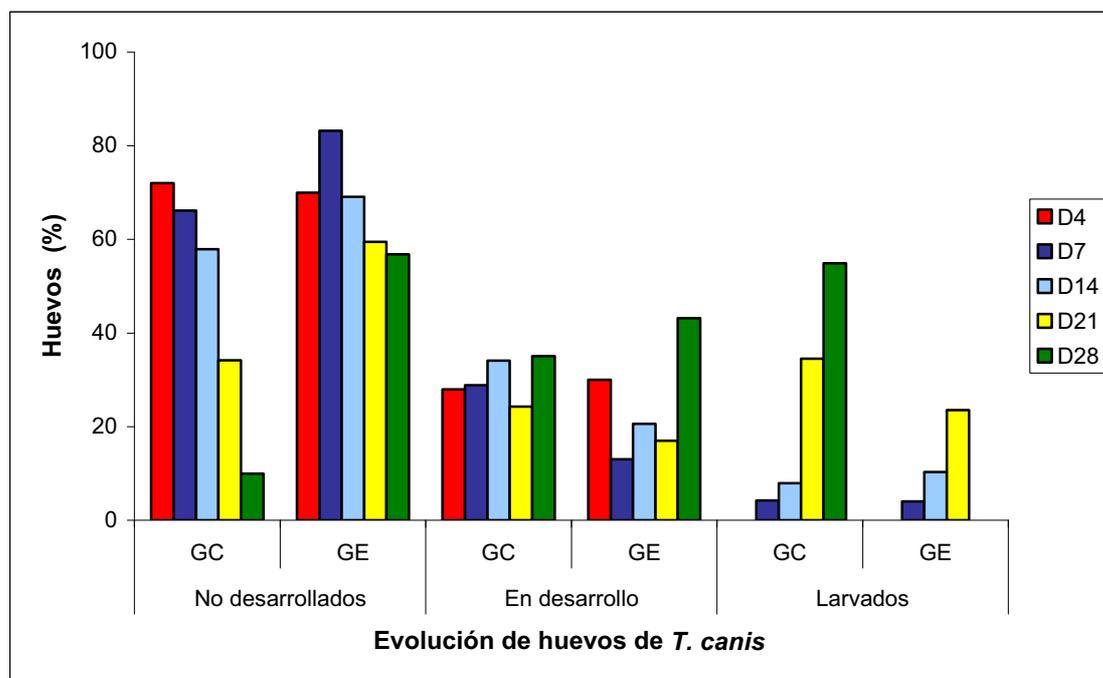


FIG. 11 Evolución de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *F. aff. semitectum* (%). Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control GE: Grupo Experimental (MO)

El análisis de varianza para los huevos “no desarrollados” del grupo experimental vs grupo control dio como resultados que las diferencias fueron significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post incubación (Tabla 7).

TABLA 7. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *F. aff. semitectum* (GE)

Día post cultivo	Huevos control		Huevos y <i>F. aff. semitectum</i>		
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	<i>p</i>
28	9,98	5,62	56,79	7,95	S

Microscopia Electrónica

En las observaciones realizadas al microscopio electrónico de barrido en el día 4 post incubación, los huevos de *T. canis* se hallaron con su morfología conservada sobre la trama hifal de *F. aff. semitectum* (día 4 post incubación) Foto 65.

En el día 7 post incubación, un aumento en el número de huevos deformados en contacto con la cepa fúngica fue observado. En los días 21 (Foto 66) y 28 los huevos *T. canis* del GE fueron observados sin cubierta externa fosetada. La superficie de estos huevos apareció lisa, esto puede deberse a la acción enzimática de la cepa fúngica que degradó la capa externa, y aumentó el número de huevos deformados y destruidos en la trama hifal (Foto 67).

Dentro de la clasificación de Lỳsek la actividad ovicida ejercida por *F. aff. semitectum* es "alta" (nivel 4) sobre huevos de *T. canis*.

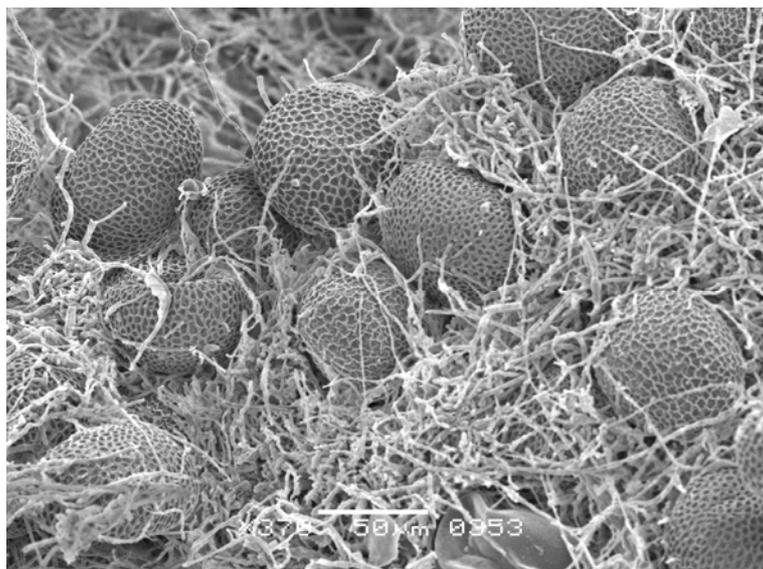


FOTO 65. Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en la trama hifal de *F. aff. semitectum* (Día 4)

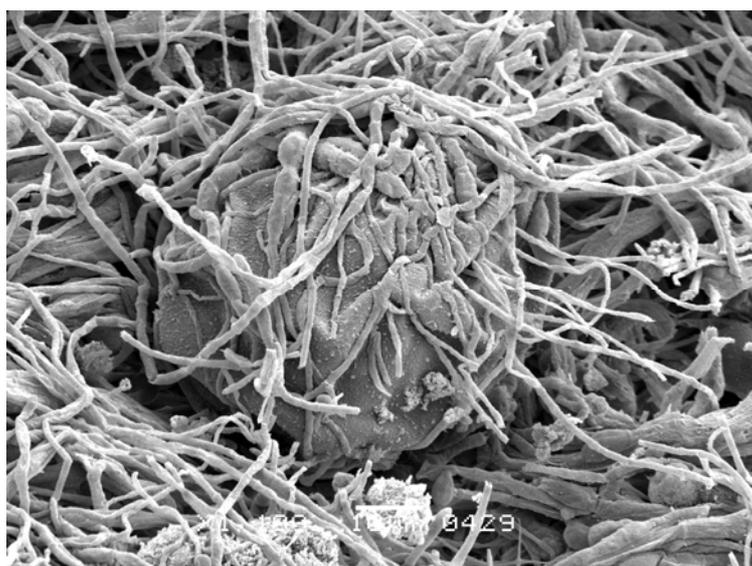


FOTO 66 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* deformados y de cubierta lisa en contacto con *F. aff. semitectum* (Día 21)

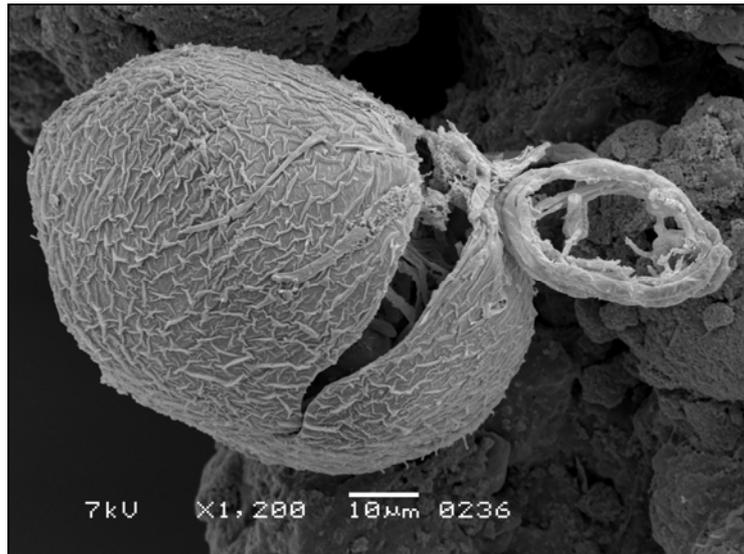


Foto 67. Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* colonizado por *F. aff. semitectum* (Día 28)

5. Interacción *Fusarium moniliforme*/huevos de *T. canis*

Microscopía óptica (MO)

A lo largo de toda la experiencia se observó la evolución de los huevos de *T. canis* del GE. En los días 4 y 14 los porcentajes de huevos en evolución son casi iguales a los del GC.

En observaciones sucesivas, los huevos de *T. canis* en contacto con la cepa fúngica continuaron su evolución en menor proporción que el GC hasta el día 28 post incubación (Fig. 12).

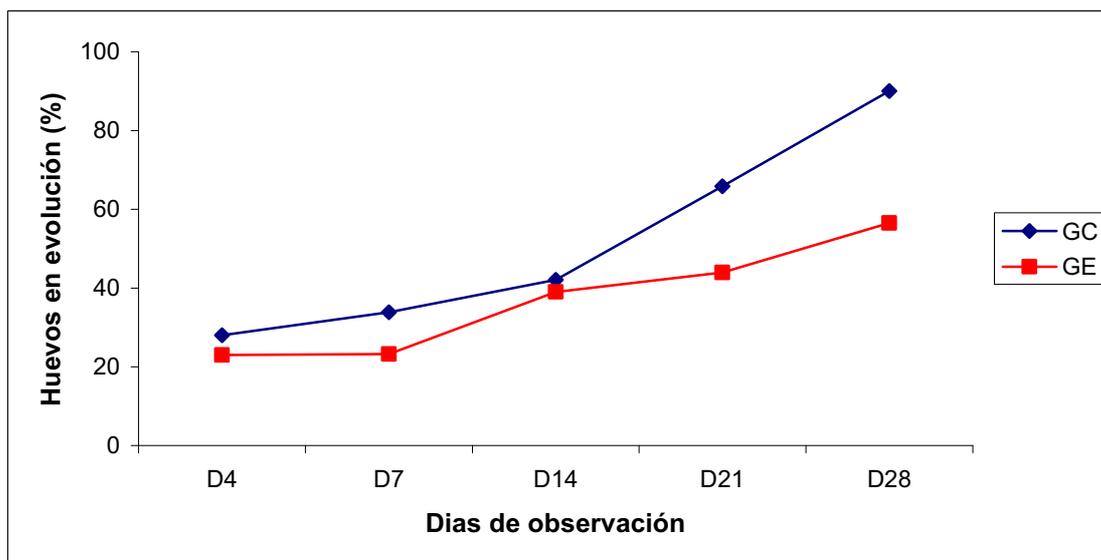


Fig. 12 Interacción *Fusarium moniliforme*/huevos de *T. canis*. GC: Evolución de huevos de *T. canis* en agar agua 2% a temperatura ambiente (TA). GE: Evolución de huevos de *T. canis* incubados con *F. moniliforme* (MO)

Como se observa en la Fig. 13 durante la experiencia, los huevos “no desarrollados” de GE se presentaron en mayor proporción que los de GC.

No obstante, los huevos “en desarrollo” se presentaron en menor número en el GE, excepto en el día 14 post incubación.

Los huevos “larvados” de GE se presentaron en menor proporción a partir del día 7 de observación y hasta el final de la experiencia.

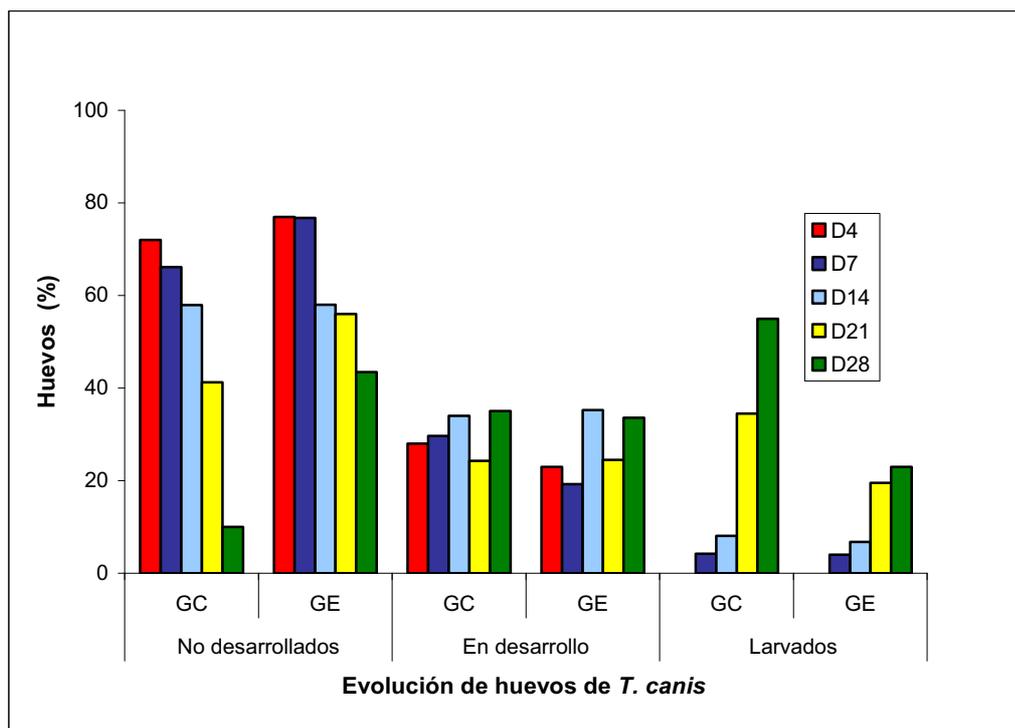


FIG. 13 Evolución de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *F. moniliforme*. Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control, GE: Grupo Experimental (MO)

El análisis de varianza para los huevos “no desarrollados” del grupo experimental vs grupo control dio como resultado que las diferencias fueron significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post incubación (Tabla 8).

TABLA. 8 Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *F. moniliforme* (GE)

Día post cultivo	Huevos control		Huevos y <i>F. moniliforme</i>		<i>p</i>
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	
28	9,98	5,62	43,46	4,59	S

Microscopía electrónica

Las observaciones realizadas al microscopio electrónico de barrido a partir del día 4 evidenciaron el comienzo de la formación de la trama hifal de *F. moniliforme* alrededor de los huevos de *T. canis* (Foto 68).

En el día 7 post incubación un escaso número de huevos deformados y de cubierta lisa pudieron ser observados. A medida que avanzó el tiempo de exposición de los huevos a la cepa fúngica, se observó un aumento de la trama hifal alrededor de los huevos (Foto 69).

En el día 21, abultamientos de hifas de *F. moniliforme* se evidenciaron sobre la superficie de huevos de *T. canis* (Foto 70). La especie fúngica se observó con fructificación característica. (Foto 71).

Hacia el día 28 la trama hifal de *F. moniliforme* se observó más abundante y con un gran número de huevos deformados (47%) (Foto 72).

Dentro de la clasificación de Lỳsek la actividad ovicida ejercida por *F. moniliforme* sobre huevos de *T. canis* fue "intermedia" (nivel 3).



FOTO 68 Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* y *F. moniliforme* (Día 4)



FOTO 69 Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* con cubierta lisa en contacto con *F. moniliforme* (Día 7 postincubación)

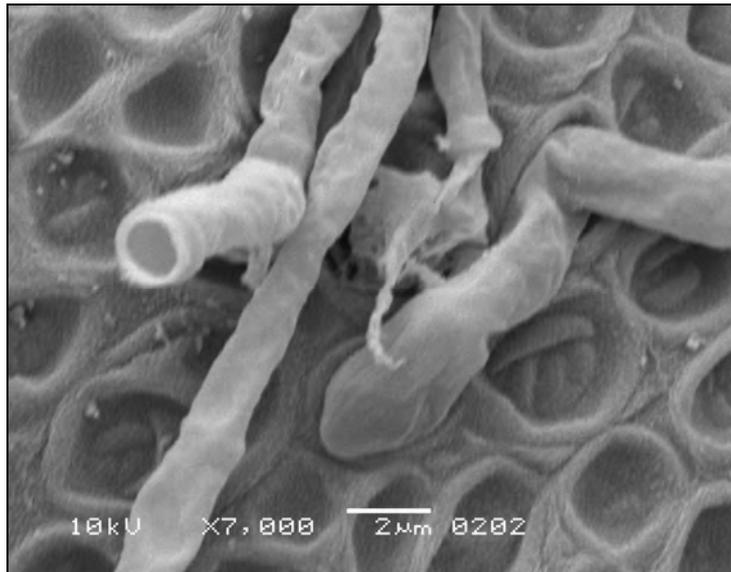


Foto 70 Microfotografía electrónica de superficie de huevo de *T. canis* e hifas de *F. moniliforme*, se demuestra el abultamiento de una hifa de la cepa fúngica sobre una foseta de la superficie del huevo de *T. canis* (Día 21 postincubación)

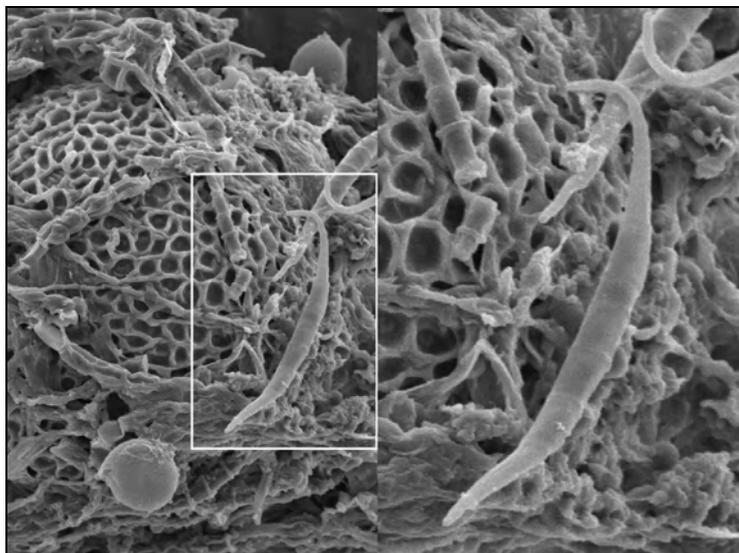


Foto 71 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* rodeados de conidias de *F. moniliforme* (Día 21 post incubación)

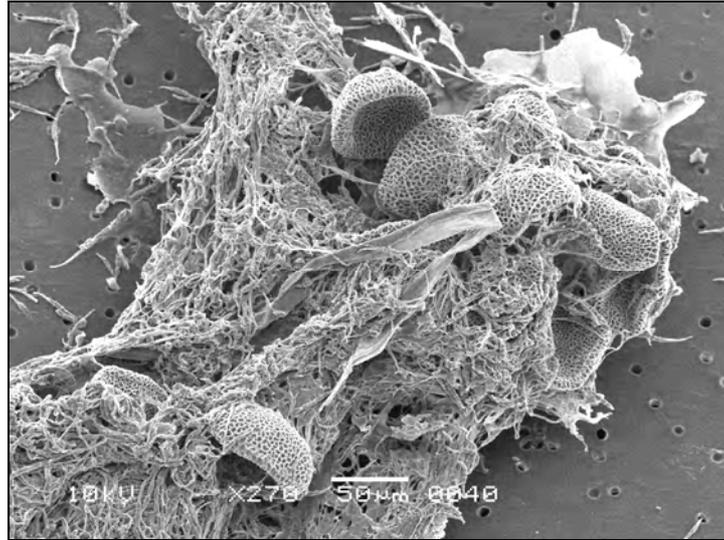


Foto 72 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* deformados en la trama hifal de *F. moniliforme* (día 28 post incubación)

6. Interacción *Sporothrix alba*/huevos de *T. canis*

Microscopía óptica

Durante toda la experiencia realizada con *S. alba*, los huevos de *T. canis* en contacto con la cepa fúngica, evolucionaron gradualmente desde el día 4 hasta el final de las observaciones, día 28, en menor porcentaje que los huevos en evolución pertenecientes al GC (Fig. 14).

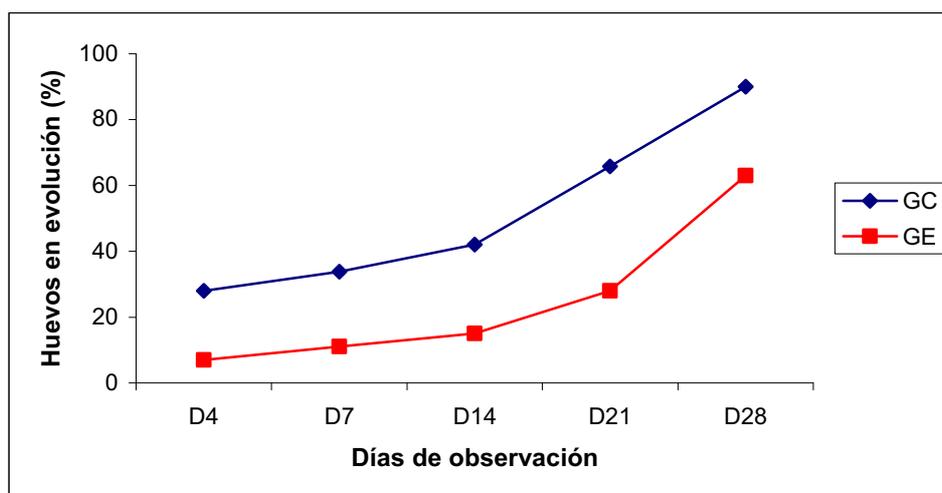


FIG. 14 Interacción *Sporothrix alba*/huevos de *T. canis*. GC: Evolución de huevos de *T. canis* en agar agua 2% a TA. GE: Evolución de huevos de *T. canis* incubados con *S. alba* (MO)

En la figura 15 se observan los estadios de huevos de *T. canis* en incubación con *S. alba* en agar agua 2% a TA. Los huevos de *T. canis* pertenecientes al GE “no desarrollados” se presentaron en mayor número a lo largo de la experiencia. De acuerdo a esto, los huevos “en desarrollo” del GE tuvieron menor recuento, excepto en el día 28 post incubación.

La proporción de huevos de *T. canis* “larvados” fue menor durante toda la experiencia en el GE.

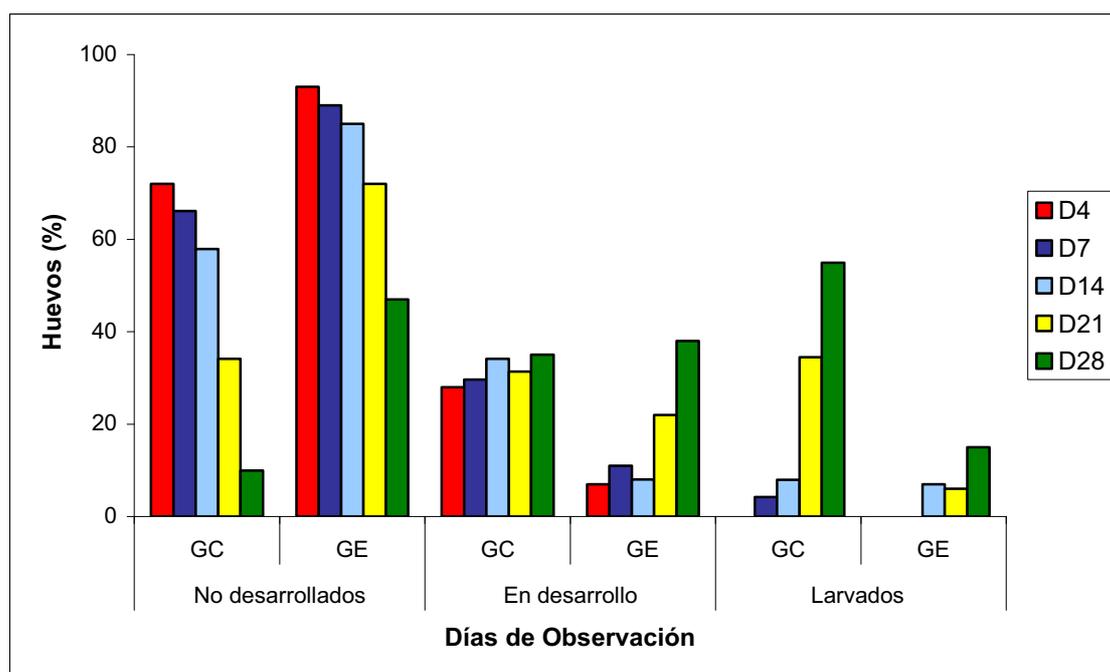


Fig. 15 Evolución de huevos de *T. canis* en presencia/ausencia de *Sporothrix alba* (%). Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control, GE: Grupo Experimental

El análisis de varianza para los huevos “no desarrollados” del grupo experimental vs. grupo control dio como resultados que las diferencias fueron significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post cultivo (Tabla 9).

TABLA. 9 Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *S. alba* (GE)

Día post cultivo	Huevos control		Huevos y <i>S. alba</i>		<i>p</i>
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	
28	9,98	5,62	47,00	7,95	S

Microscopia Electrónica

En el día 4 post cultivo se visualizó el crecimiento de la red hifal entramando los huevos de *T. canis*. Estos huevos permanecieron formes en la trama hifal (Foto 73).

En el día 7 se observaron hifas adhesivas de *S. alba* (Foto 74). A partir del día 14 post incubación pudo observarse fructificación de *S. alba* (Foto 75).

Con el avance del tiempo de exposición de los huevos de *T. canis* a la cepa fúngica, aumentó el número de huevos deformados en la trama hifal. Esta cantidad de huevos deformados en la trama hifal se incrementó hasta el final de la experiencia, el día 28 post incubación (Foto 76).

Dentro de la clasificación de Lỳsek la actividad ovicida de *S. alba* sobre huevos de *T. canis* fue "intermedia" (nivel 3).

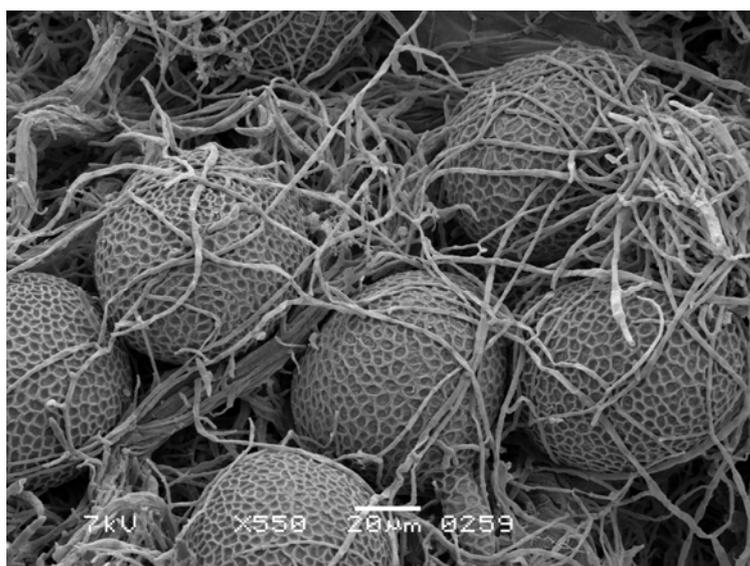


Foto 73 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en la trama hifal de *S. alba* (Día 4 post incubación)

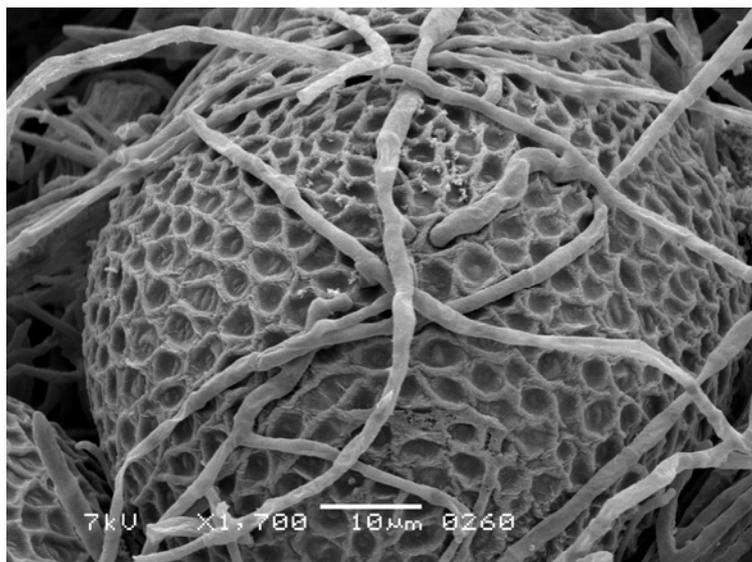


Foto 74 Microfotografía electrónica de hifas adhesivas de *S. alba* sobre huevo de *T. canis* (Día 7 post incubación)

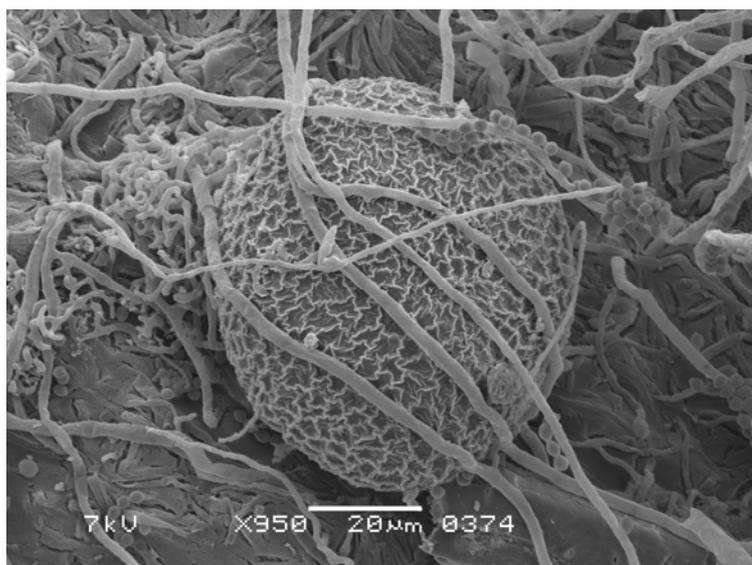


Foto 75 Microfotografía electrónica de fructificación de *S. alba* sobre huevo deformado de *T. canis* (Día 14 post incubación)



Foto 76 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* destruidos en contacto con *S. alba* (Día 28)

7. Interacción *Fusarium aff. acuminatum*/huevos de *T. canis*

Microscopía óptica (MO)

Los huevos de *T. canis* comenzaron su evolución a partir del día 4 post incubación con *F. aff. acuminatum* en una dinámica similar al GC hasta el día 7 post incubación.

A partir del día 14 post incubación, si bien los huevos pertenecientes al GE continuaron su evolución, esto se dio en menor proporción que en el GC hasta el final de la experiencia (Fig. 16).

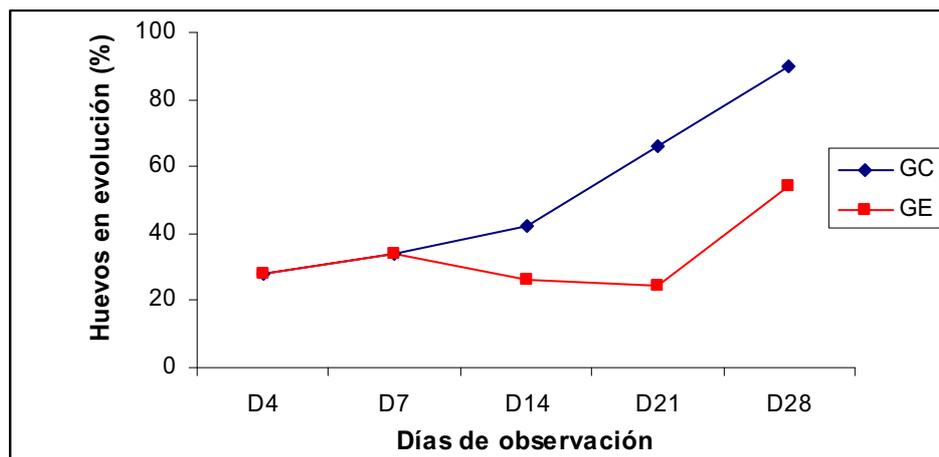


FIG. 16 Interacción *Fusarium aff. acuminatum*/huevos de *T. canis*. GC: Evolución de huevos de *T. canis* en agar agua 2% a TA. GE: Evolución de huevos de *T. canis* incubados con *F. aff. acuminatum*

En la Fig. 17 se observan los estadios de huevos de *T. canis* en cultivo con *F. acuminatum* en agar agua 2% a TA. Los huevos de *T. canis* pertenecientes a GE presentaron todos los estadios de evolución hasta el día 28 post incubación.

Los huevos de *T. canis* “no desarrollados” del GE se presentaron en mayor número a lo largo de la experiencia.

El porcentaje de los huevos “en desarrollo” del GE fue ligeramente superior en los días 7 y 28 post incubación.

Los huevos de *T. canis* “larvados” de GE se hallaron a partir del día 14 post incubación hasta el final de la experiencia en menor porcentaje que el GC.

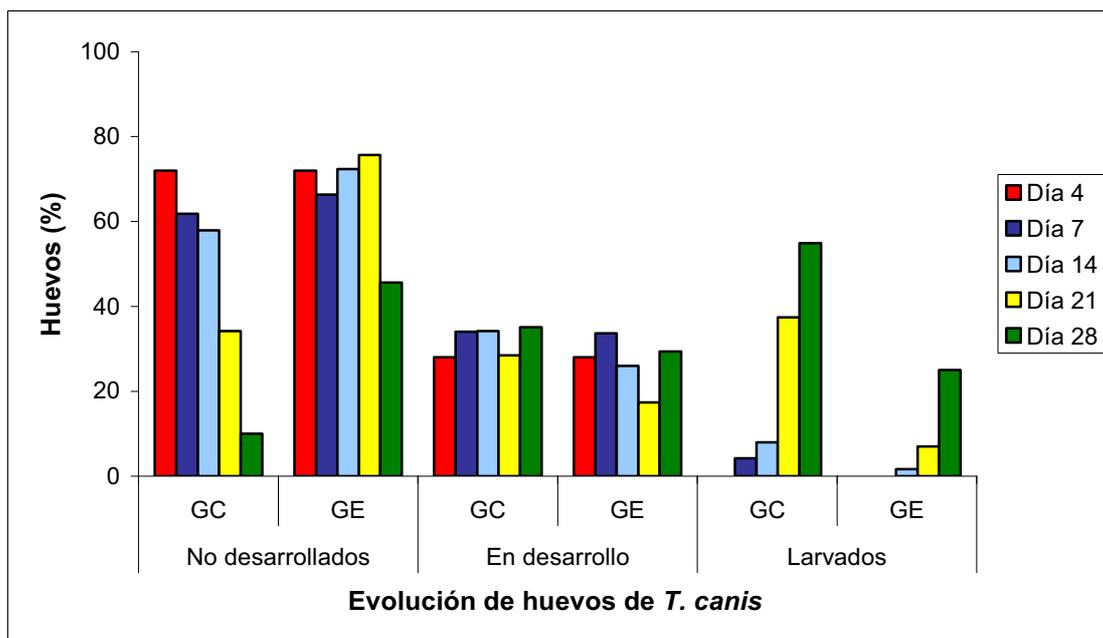


FIG. 17 Evolución de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *F. aff. acuminatum* (%). Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control, GE: Grupo Experimental. (MO)

El análisis de varianza para los huevos “no desarrollados” del grupo experimental vs grupo control dio como resultados que las diferencias fueron significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post incubación (Tabla 10).

TABLA. 10 Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *F. aff. acuminatum* (GE)

Día post cultivo	Huevos control		Huevos y <i>F. acuminatum</i>		<i>p</i>
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	
28	9,98	5,62	45,59	4,48	S

Microscopia electrónica

En el día 4, los huevos se observaron con su morfología conservada en la trama hifal (Foto 77).

En el día 7, un escaso número de huevos deformados de *T. canis* fueron observados sobre la trama hifal (foto 78).

En el día 14 se observó la fructificación de *F. aff. acuminatum* e hifas adhesivas sobre huevos de *T. canis* (foto 79). Hasta el día 28 están todos formes en la trama hifal con su morfología conservada con una escasa proporción de huevos deformados (foto 80).

Al final de la experiencia se observó el 45% de los huevos deformados en contacto con *F. aff. acuminatum*. Dentro de la clasificación de Lỳsek *F. aff. acuminatum* ejerció actividad ovicida "intermedia" (nivel 3) sobre huevos de *T. canis*.

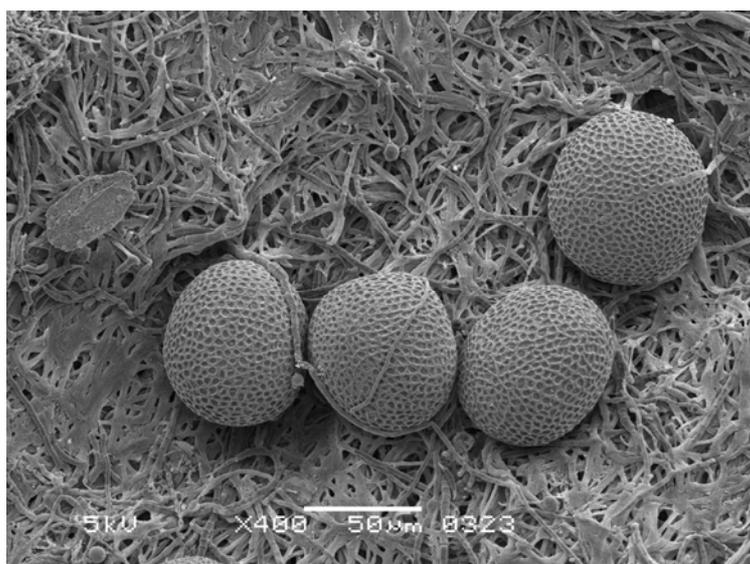


Foto 77. Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en trama hifal de *F. aff. acuminatum* (Día 4 post incubación)



Foto 78. Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en trama hifal de *F. aff. acuminatum* (Día 7 post incubación)



Foto 79 Microfotografía electrónica de un huevo de *T. canis* sobre trama hifal de *F. aff. acuminatum* fructificado (día 14)



Foto 80. Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* sobre la red hifal de *F. aff. acuminatum* (Día 28).

8. Interacción *Fusarium fusarioides*/huevos de *T. canis*

Microscopía óptica

A lo largo de toda la experiencia realizada pudimos observar la evolución de los huevos de *T. canis* pertenecientes al GE. En los días 4 y 14 los porcentajes de evolución fueron casi iguales a los del GC.

En observaciones sucesivas, los huevos de *T. canis* en contacto con *F. fusarioides* continuaron su evolución en menor proporción que el GC hasta el día 28 post incubación (Fig. 18).

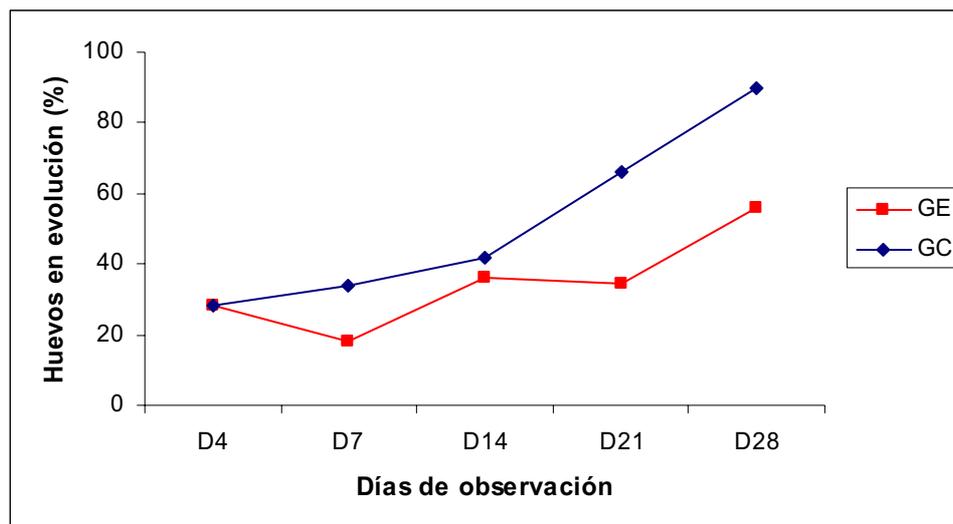


FIG. 18 Interacción *Fusarium fusarioides*/ huevos de *T. canis*. GC: Evolución de huevos de *T. canis* en agar agua 2% a TA. GE: Evolución de huevos de *T. canis* incubados con *F. fusarioides*

En la Fig. 19 se observan los estadios de huevos de *T. canis* incubados con *F. fusarioides* en agar agua 2% a TA. Durante el transcurso de la experiencia, el porcentaje de huevos “no desarrollados” en contacto con *F. fusarioides* se presentó en mayor número a lo largo de la experiencia. Acorde con esto, los huevos “en desarrollo” tuvieron menor recuento excepto en los días 21 y 28.

Huevos “larvados” fueron observados en el GE a partir del día 14 en menor proporción que el GC.

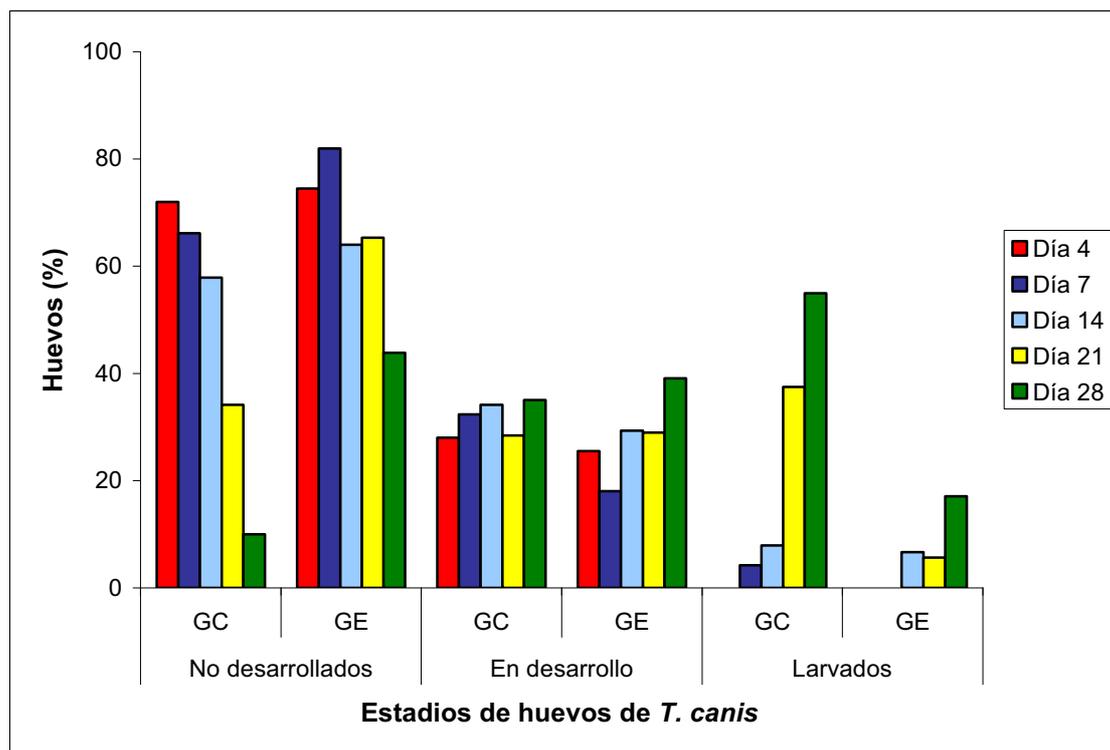


FIG. 19 Evolución de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *Fusarium fusarioides* (%). Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control, GE: Grupo Experimental

El análisis de varianza para los huevos "no desarrollados" del grupo experimental vs grupo control dio como resultados que las diferencias fueron significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post incubación (Tabla 11).

TABLA. 11 Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *F. fusarioides* (GE)

Día post cultivo	Huevos control		Huevos y <i>F.fusarioides</i>		
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	<i>p</i>
28	9,98	5,62	43,82	4,48	S

Microscopía electrónica

Las observaciones realizadas al microscopio electrónico de barrido en el día 4 post incubación se evidenciaron huevos de *T. canis* en la trama hifal con hifas adhesivas (foto 81).

En los días 7 (Foto 82) y 14 (Foto 83) post cultivo se hallaron escasos huevos sobre la trama hifal de *F. fusarioides* con aspecto deformado. Hacia el día 21 se hallaron huevos con hifas adhesivas sobre ellos además de huevos deformados atrapados en la red hifal (Foto 84). En el día 28 post incubación se registraron huevos con cubierta lisa y deformados en la trama hifal (Foto 85).

Los huevos del grupo control conservaron su estructura, tamaño y morfología durante toda la experiencia.

Dentro de la clasificación de Lỳsek la actividad ovicida ejercida por *F. fusarioides* sobre huevos de *T. canis* fue "intermedia" (nivel 3).

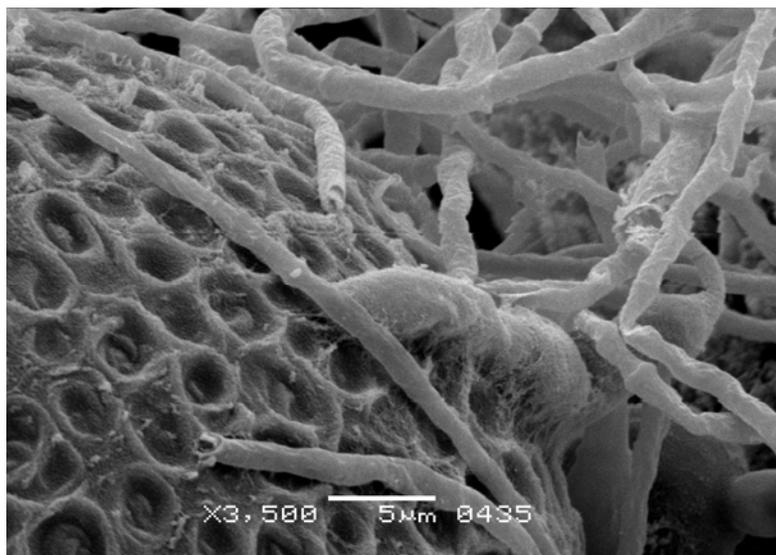


FOTO 81 Microfotografía electrónica de *F. fusarioides*, hifas adhesivas sobre huevos de *T. canis* (Día 4)



FOTO 82 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* sobre trama hifal de *F. fusarioides* (Día 7)

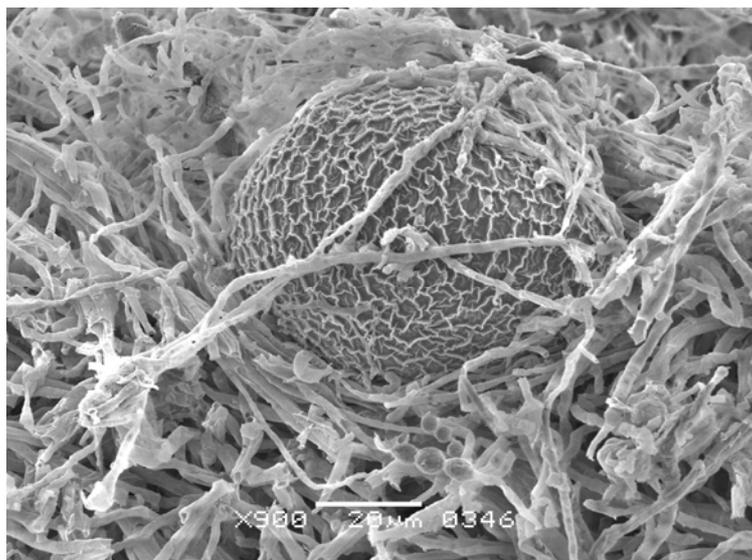


Foto 83 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en trama hifal de *F. fusarioides* (Día 14)

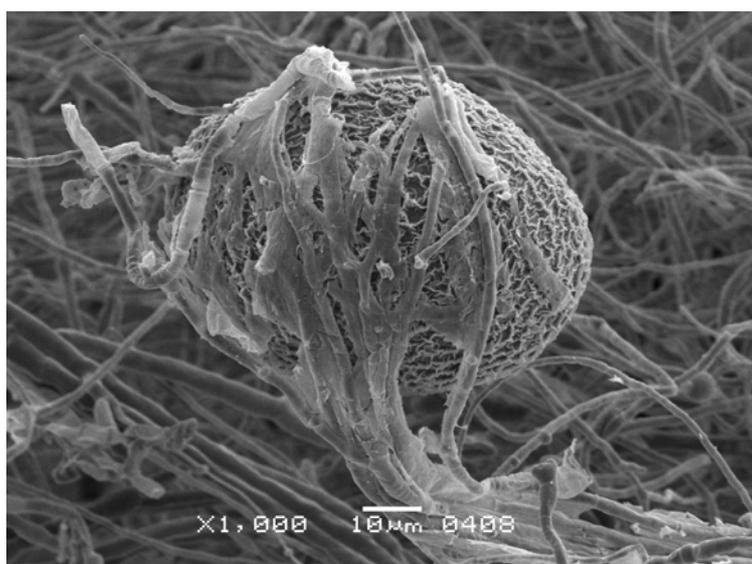


Foto 84 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en trama hifal de *F. fusarioides* (Día 21)

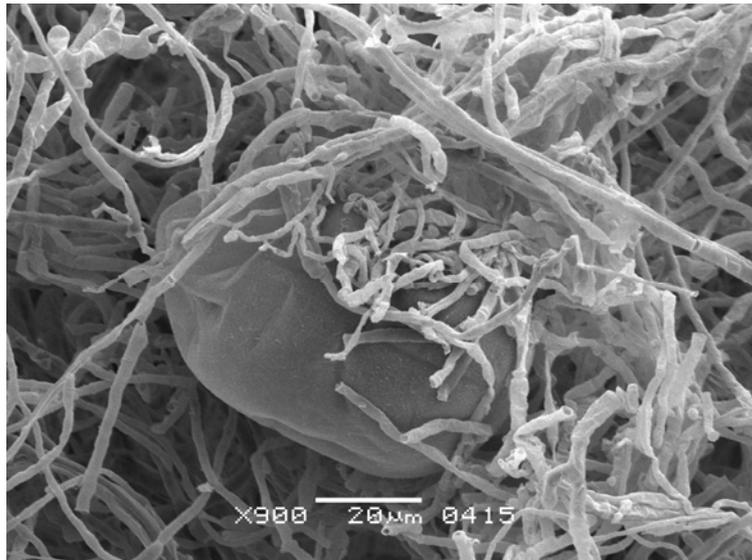


Foto 85 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* con cubierta lisa en trama hifal de *F. fusarioides* (Día 28)

9. Interacción *Penicillium canescens*/huevos de *T. canis*

Microscopía óptica (MO)

Las observaciones al microscopio de luz realizaron en el día 4 de co cultivo de huevos de *T. canis* con *P. canescens*. No registraron huevos en evolución en contacto con la cepa fúngica.

Los huevos de *T. canis* evolucionaron de manera gradual a partir del día 7 hasta el final de la experiencia, día 28, siempre en menor porcentaje que los huevos pertenecientes al GC (Fig. 20).

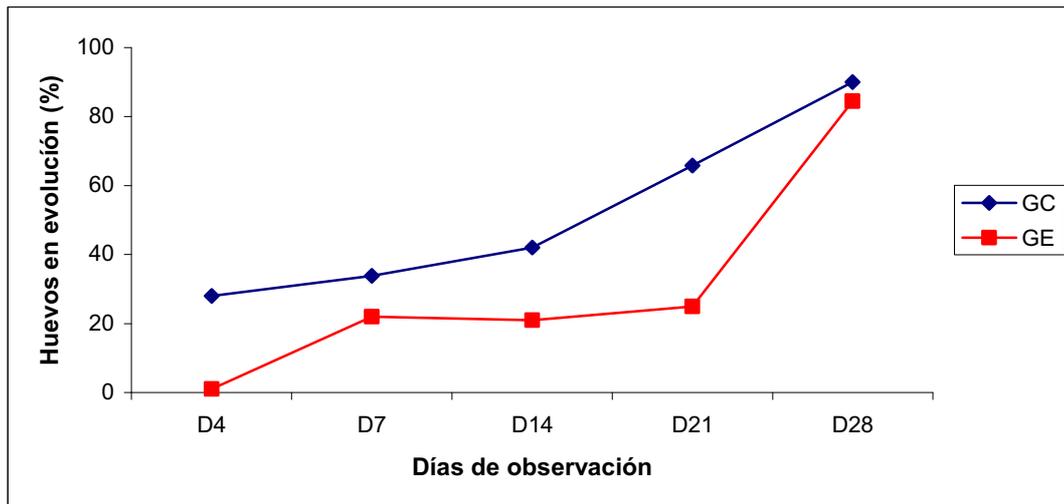


FIG. 20 Interacción *Penicillium canescens*/huevos de *T. canis*. GC: Evolución de huevos de *T. canis* en agar agua 2%, TA. GE: Evolución de huevos de *T. canis* incubados con *Penicillium canescens*

En la figura 21 se puede observar que el porcentaje de huevos “no desarrollados” en el GE siempre fue mayor que el del GC. Por el contrario, los huevos “en desarrollo” del GE aparecieron en menor proporción que los huevos pertenecientes al grupo control.

Los huevos “larvados” se observaron desde el día 7 hasta el día 28 post incubación, en GE y siempre en menor porcentaje que en GC.

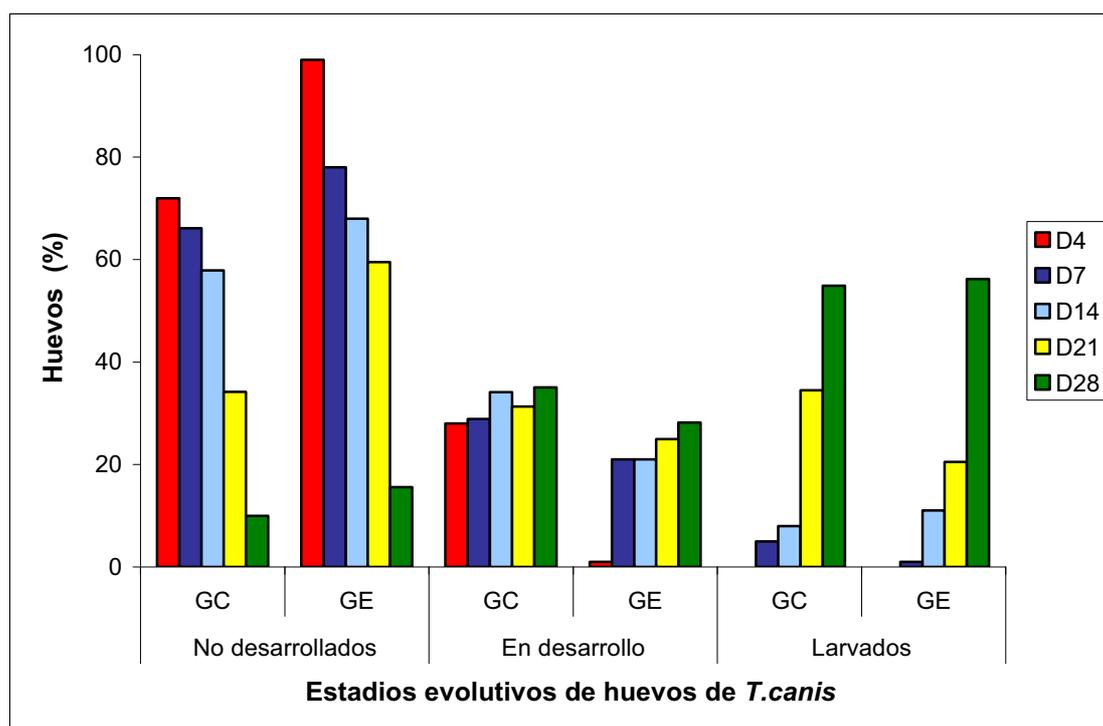


FIG. 21 Desarrollo de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *Penicillium canescens* (%). Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control, GE: Grupo Experimental

El análisis de varianza para los huevos “no desarrollados” del grupo experimental vs grupo control dio como resultados que las diferencias fueron no significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post incubación (Tabla 12).

TABLA. 12 Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *P. canescens* (GE)

Día post cultivo	Huevos control		Huevos y <i>P. canescens</i>		
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	<i>p</i>
28	9,98	5,62	15,55	7,95	NS

Microscopía electrónica

A partir del día 4 post incubación. Los huevos de *T. canis* se hallaron formes e inmersos en la trama hifal de *P. canescens*. Micelios de fructificación de esta cepa pudieron ser observados desde ese día. Las conidias permanecieron adheridas a los huevos de *T. canis* durante toda la experiencia (Foto 86).

Hifas adhesivas de *P. canescens* sobre huevos de *T. canis* fueron observadas a partir del día 7 postcultivo (Foto 87).

Un escaso porcentaje (menor al 20%) de huevos de *T. canis* deformados se observó en la trama hifal hacia el día 28 post incubación (Foto 88).

Dentro de la clasificación de Lỳsek la actividad ovicida ejercida por *P. canescens* sobre huevos de *T. canis* recayó en el nivel 2 (actividad "baja").

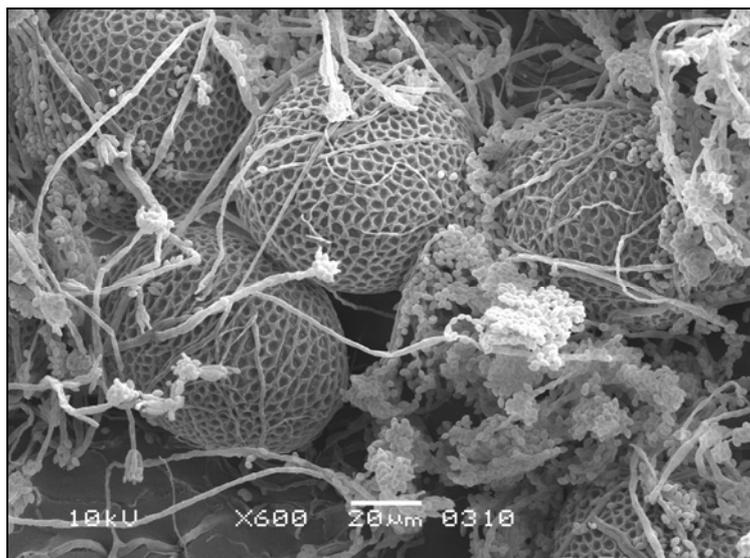


FOTO 86 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en la trama hifal de *Penicillium canescens* fructificado con conidias adheridas (Día 4).

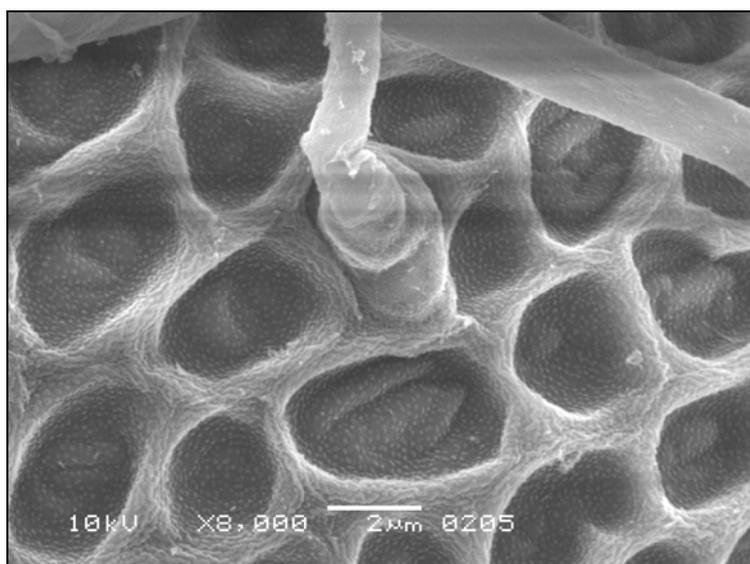


FOTO 87 Microfotografía electrónica de hifa adhesiva de *Penicillium canescens* sobre la superficie de huevo de *T. canis* (Día 7 post cultivo)

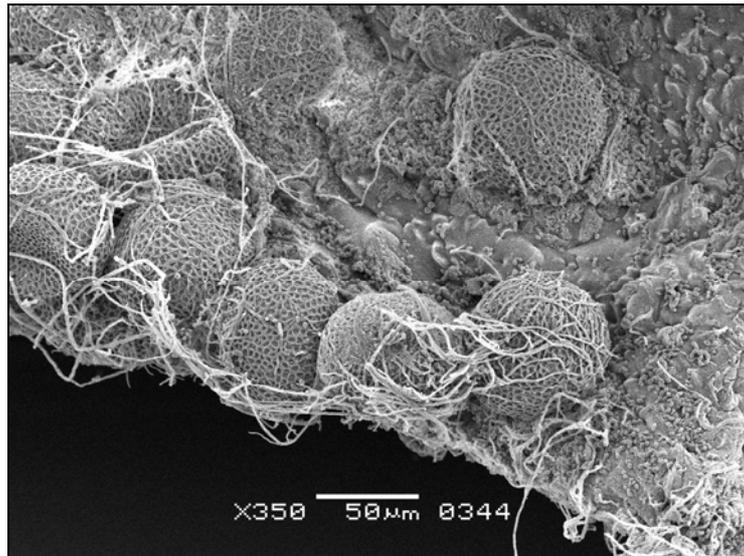


FOTO 88 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en trama hifal de *P. canescens* (Día 28)

10. Interacción *Monilia sp*/huevos de *T. canis*

En esta experiencia, los huevos de *T. canis* en contacto con *Monilia sp* evolucionaron de manera gradual desde el día 4 hasta el día 28 post incubación, en menor porcentaje que los huevos en evolución pertenecientes al GC (Fig. 22).

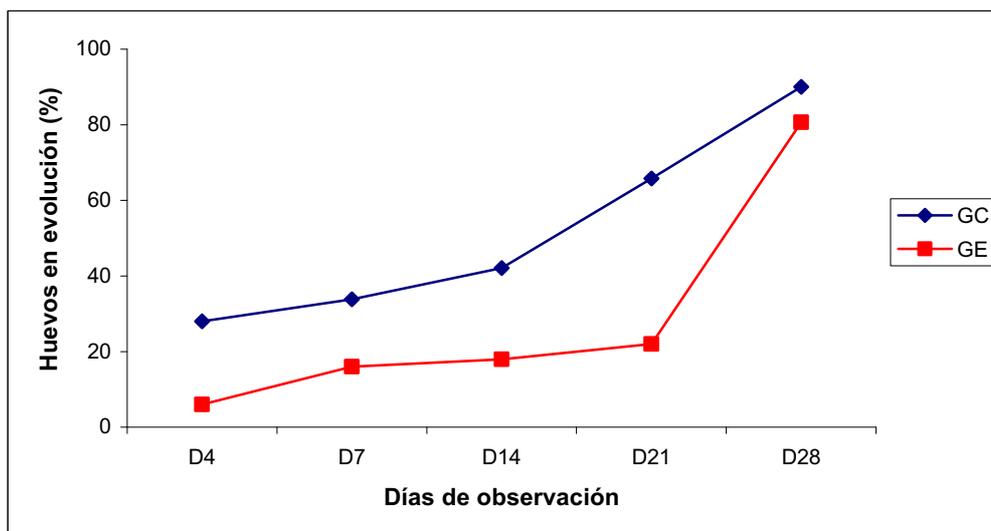


FIG. 22 Interacción *Monilia sp*/huevos de *T. canis*. GC: Desarrollo de huevos de *T. canis* en agar agua 2% a temperatura ambiente (TA). GE: Desarrollo de huevos de *T. canis* incubados con *Monilia sp*

En la figura 23 se observan los estadios de huevos de *T. canis* incubados con *Monilia sp* en agar agua 2% a TA. Los huevos de *T. canis* pertenecientes al grupo experimental presentaron todos los estadios de evolución hasta el día 28 post cultivo.

Los huevos de *T. canis* “no desarrollados” del GE se presentaron en mayor número a lo largo de la experiencia. Acorde con esto, los huevos “en desarrollo” tuvieron menor recuento excepto en el día 28 postincubación.

Los huevos de *T. canis* “larvados” de GE se hallaron a partir del día 14 post incubación hasta el final de la experiencia en menor porcentaje que el GC.

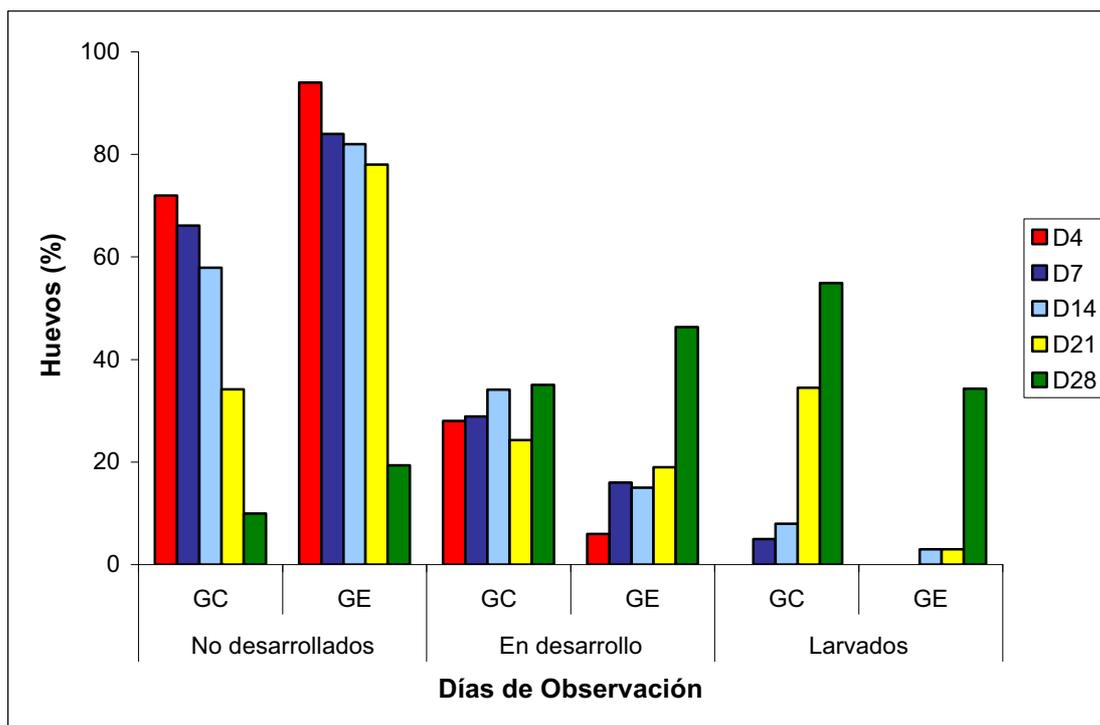


FIG. 23 Evolución de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *Monilia sp* (%). Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control, GE: Grupo Experimental

El análisis de varianza para los huevos “no desarrollados” del grupo experimental vs grupo control dio como resultado que las diferencias fueron no significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post cultivo (Tabla 13).

TABLA. 13 Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *Monilia sp* (GE)

Día post cultivo	Huevos control		Huevos y <i>Monilia sp</i>		
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	<i>p</i>
28	9,98	5,62	19,34	7,95	NS

Microscopía Electrónica

Huevos de *T. canis* de morfología normal se observaron inmersos en la trama hifal de *Monilia sp* a partir del día 4 post cultivo (Foto 89).

A partir del día 14 post cultivo, se observó un aumento de micelio con el consiguiente crecimiento de la trama hifal. La cantidad de huevos deformados atrapados por ella fue en aumento hacia el final de la experiencia (Foto 90).

Monilia sp fue observada en fructificación en el día 14 post incubación (Foto 91). Conidias de la cepa fúngica se observaron adheridas a la superficie de los huevos de *T. canis* en el último día post cultivo (día 28) (Foto 92).

Dentro de la clasificación de Lỳsek la actividad ovicida ejercida por *Monilia sp* sobre huevos de *T. canis* recayó en el nivel 2 (actividad "baja").

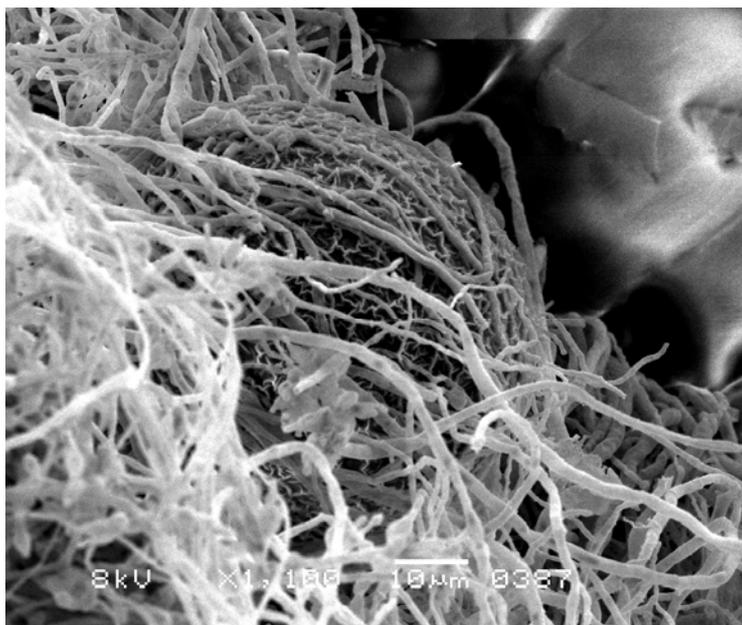


FOTO 89 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en la trama hifal de *Monilia* sp (Día 4)

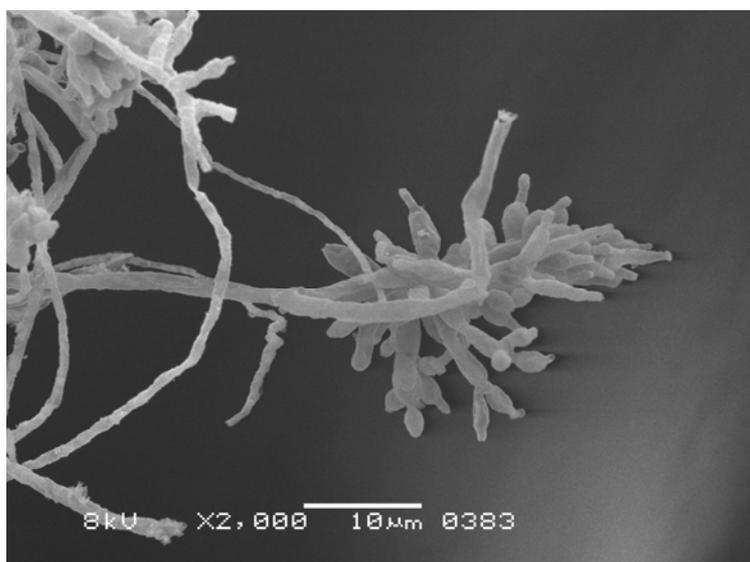


FOTO 90 Microfotografía electrónica de fructificación de *Monilia* sp (Día 14 postcultivo)

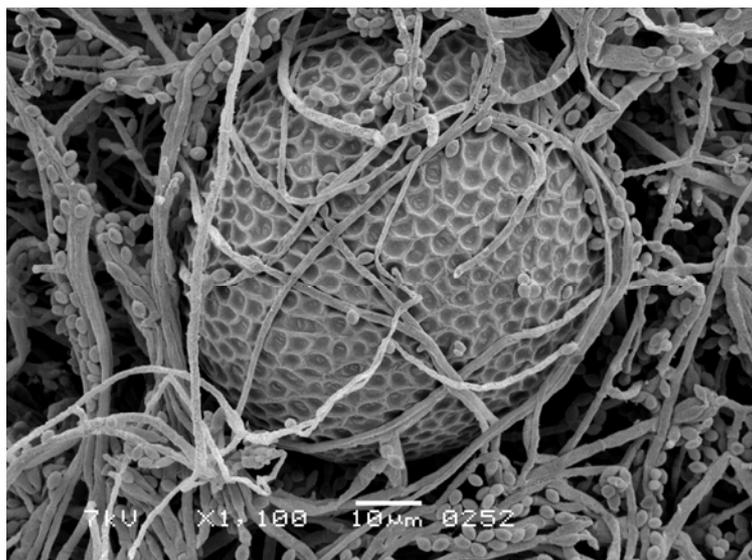


FOTO 91 Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* en la trama hifal de *Monilia* sp. con conidias adheridas (Día 14)

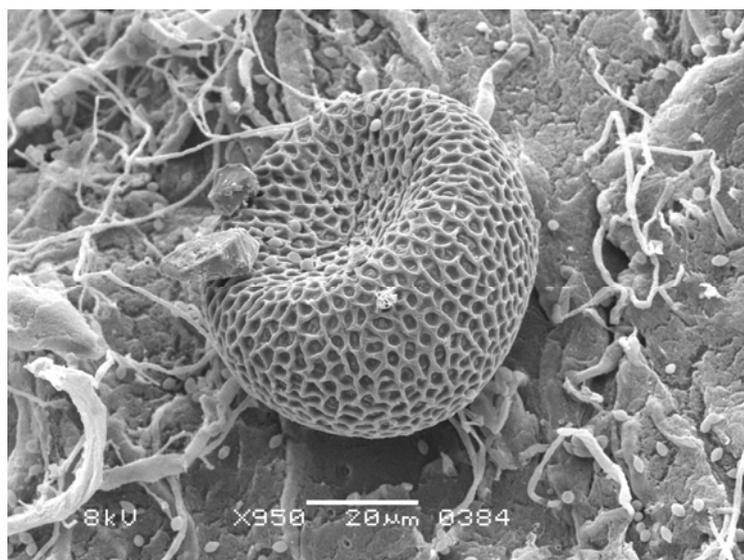


FOTO 92 Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* deformados en la trama hifal de *Monilia* sp (Día 28 post cultivo)

11. Interacción *Aspergillus flavus*/huevos de *T. canis*

Microscopía óptica

Las observaciones al microscopio de luz realizadas en el día 4 de incubación de huevos de *T. canis* con *A. flavus* no se registraron huevos en evolución en contacto con la cepa fúngica.

Los huevos de *T. canis* evolucionaron de manera gradual a partir del día 7 hasta el final de la experiencia, día 28 siempre en porcentaje mucho menor que los huevos pertenecientes la GC (Fig. 24).

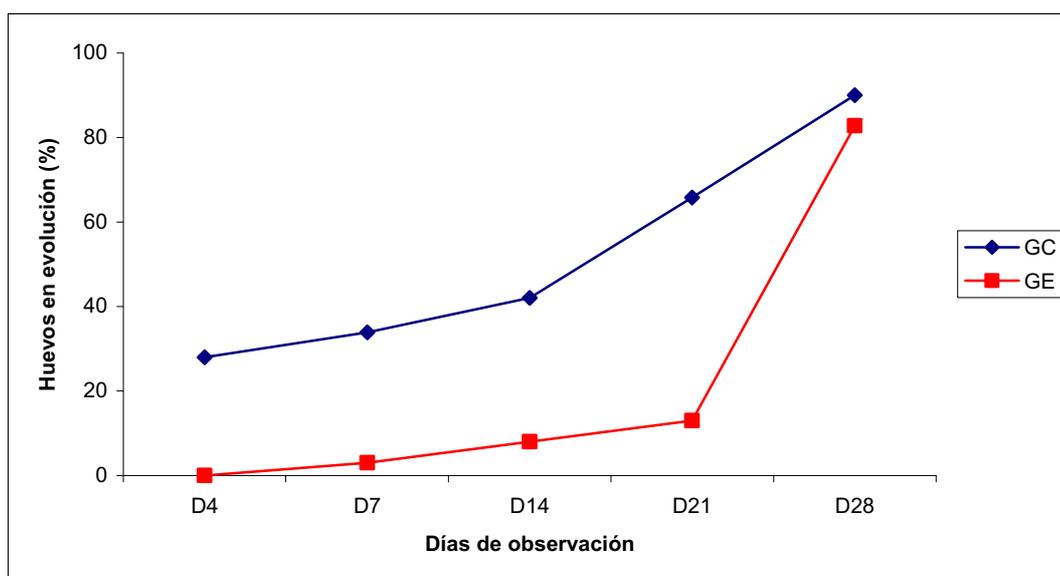


FIG. 24 Interacción *A. flavus*/huevos de *T. canis*. GC: Evolución de huevos de *T. canis* en agar agua 2% a TA. GE: Evolución de huevos de *T. canis* incubados con *A. flavus*

En la figura 25 se puede observar que el porcentaje de huevos “no desarrollados” en el GE siempre fue mayor que el del GC.

Acorde con esto, los huevos “en desarrollo” tuvieron menor recuento, excepto en el día 28 postincubación.

Los huevos “larvados” se hallaron desde el día 14 post incubación en el GE y en menor proporción que GC.

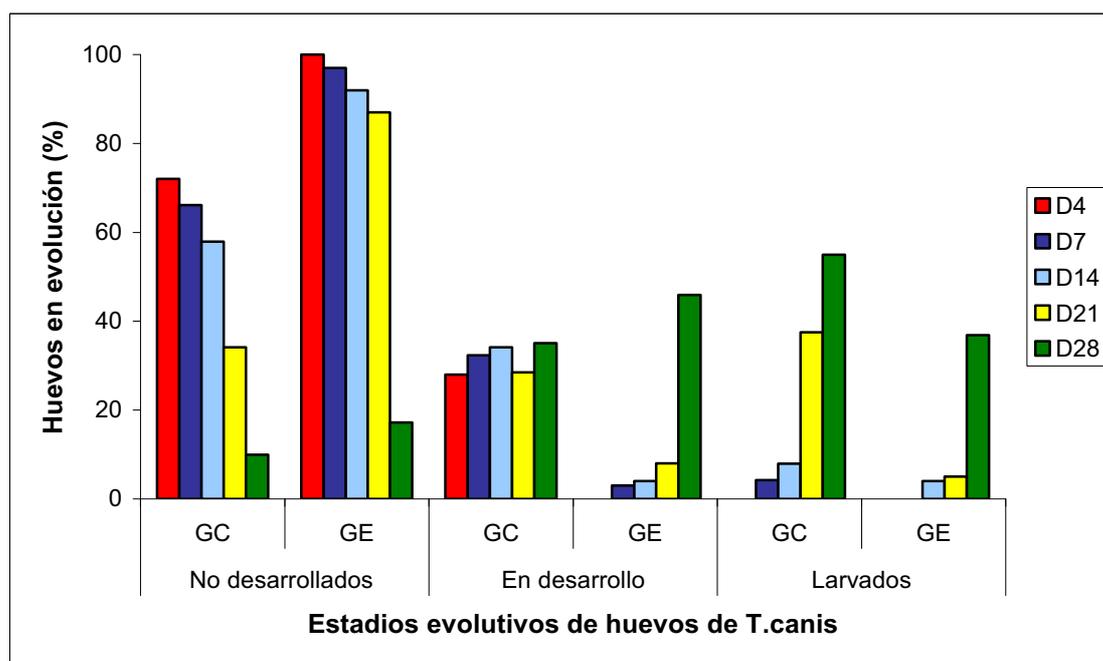


FIG. 25 Evolución de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *A. flavus* (%). Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control, GE: Grupo Experimental.

El análisis de varianza para los huevos “no desarrollados” del grupo experimental vs grupo control dio como resultados que las diferencias fueron no significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post incubación (Tabla 14).

TABLA. 14 Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *A. flavus* (GE)

Día post cultivo	Huevos control		Huevos y <i>A. flavus</i>		
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	<i>p</i>
28	9,98	5,62	17,21	7,95	NS

Microscopía electrónica

Los huevos de *T. canis* en contacto con *A. flavus* en el día 4 permanecieron formes en la trama hifal. En este mismo día *A. flavus* se observó frucificado (foto 93). A lo largo de las observaciones sucesivas, la mayoría de los huevos pertenecientes al GE permanecieron con su morfología conservada (fotos 94).

Hacia el día 28 post cultivo se observaron huevos deformados sobre la trama hifal en escaso porcentaje, asimismo que huevos con cubierta lisa (Fotos 95 y 96).

Dentro de la clasificación de Lỳsek *A. flavus* ejerció actividad ovicida "baja" (nivel 2) sobre huevos de *T. canis*.

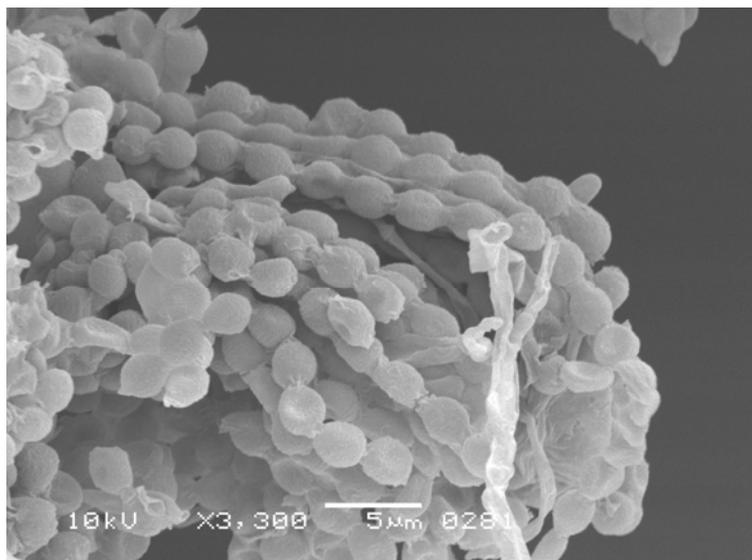


Foto 93 Microfotografía electrónica de fructificación de *A. flavus* (Día 4)

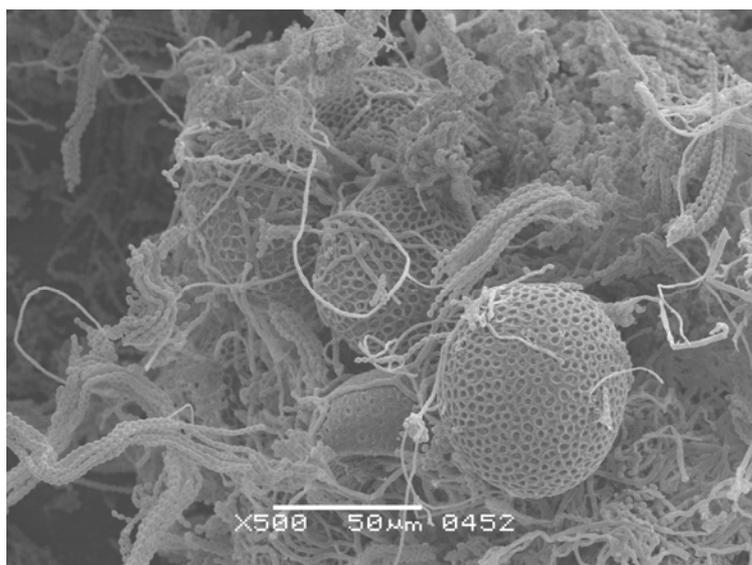


Foto 94 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en la trama hifal de *A. flavus* fructificado (Día 14).

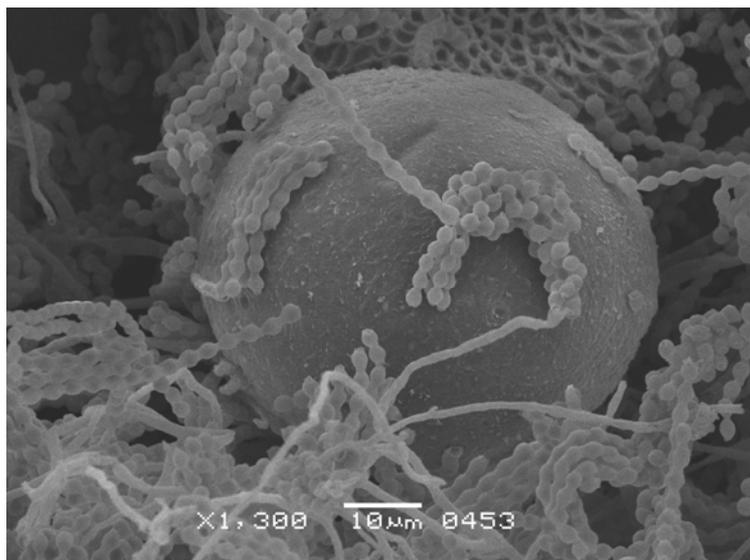


FOTO 95 Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* con cubierta lisa sobre la red hifal de *A. flavus* (Día 28)

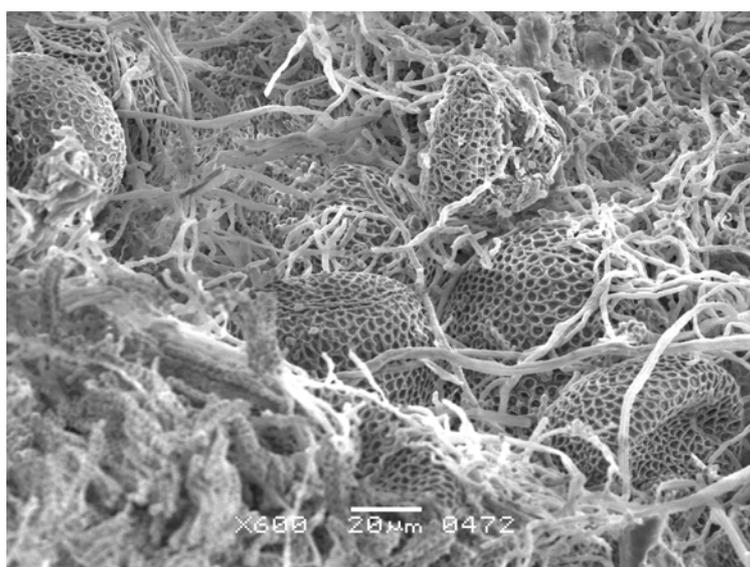


FOTO 96 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* sobre la red hifal de *A. flavus* (Día 28)

12. Interacción *Fusarium dimerum*/huevos de *T. canis*

Microscopía óptica (MO)

A lo largo de toda la experiencia la evolución de huevos de *T. canis* de grupo experimental (GE) fue en paralelo a la del grupo control (GC), alcanzando casi los mismos valores (Fig. 26).

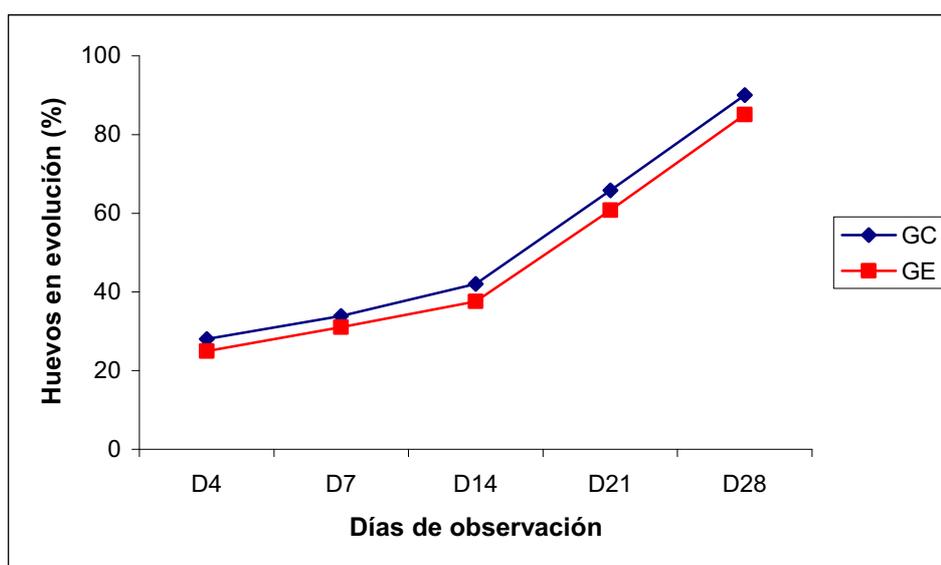


FIG. 26 Interacción *Fusarium dimerum*/huevos de *T. canis*. Grupo control (GC): evolución de huevos de *T. canis* en agar agua 2% a temperatura ambiente (TA). Grupo experimental (GE): Evolución de huevos de *T. canis* incubados con *F. dimerum*

Como se observa en figura 27 durante la experiencia, los huevos “no desarrollados” se presentaron en proporciones similares en ambos grupos. No así los huevos “en desarrollo” que variaron el porcentaje, especialmente a partir del día 14. Los huevos larvados del GE se presentaron en mayor número en los últimos tres días de observación.

En la interacción huevos *T. canis*/*F. dimerum* se observó la evolución casi en paralelo, pero el número de huevos larvados fue superior en el GE respecto a GC.

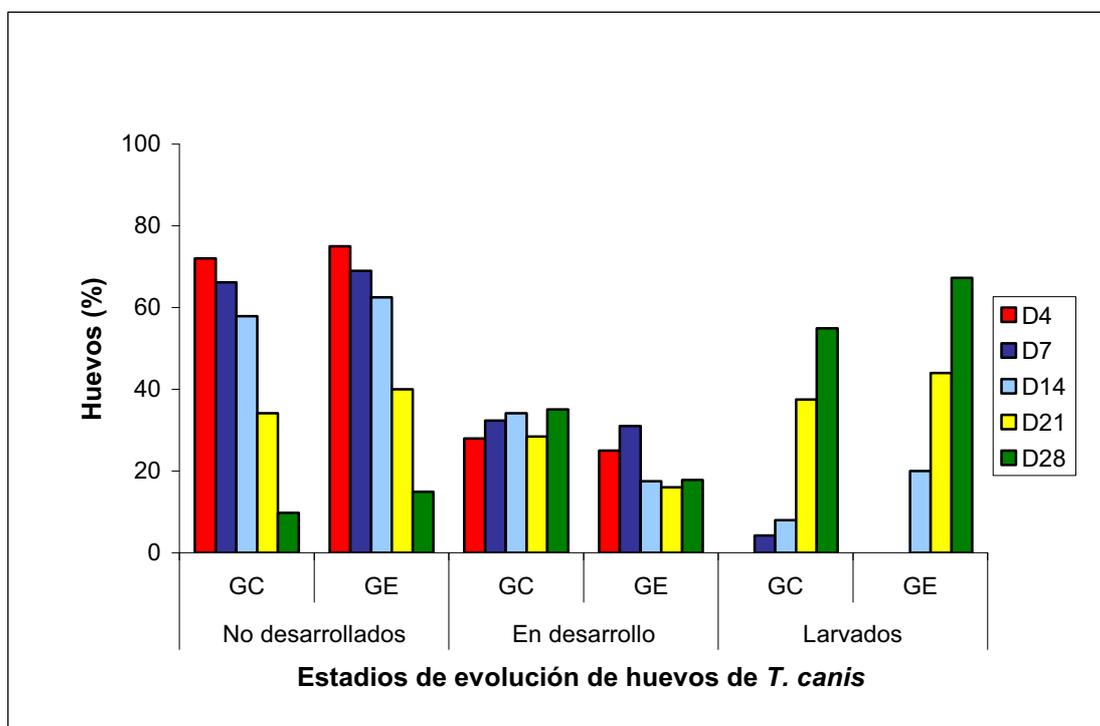


FIG. 27 Evolución de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *F. dimerum* (%). Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control, GE: Grupo Experimental.

El análisis de varianza para los huevos “no desarrollados” del grupo experimental vs grupo control dio como resultados que las diferencias fueron no significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post cultivo (Tabla 15).

Tabla 15. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *F. dimerum* (GE)

Día post cultivo	Huevos control		Huevos y <i>F. dimerum</i>		<i>p</i>
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	
28	9,98	5,62	14,90	3,97	NS

Microscopía Electrónica

Durante las observaciones al microscopio electrónico de barrido, la mayoría (90 %) de los huevos de *T. canis* aparecieron formes e inmersos en la trama hifal durante toda la experiencia. Un escaso número de huevos (10%) perdieron su morfología. La red hifal se tornó más abundante hacia el día 28 de observación pero, evidentemente, este crecimiento no afectó la viabilidad de los huevos (Fotos 97 y 98).

Dentro de la clasificación de Lỳsek, *F. dimerum* no ejerció actividad ovicida (nivel 1) sobre huevos de *T. canis*.

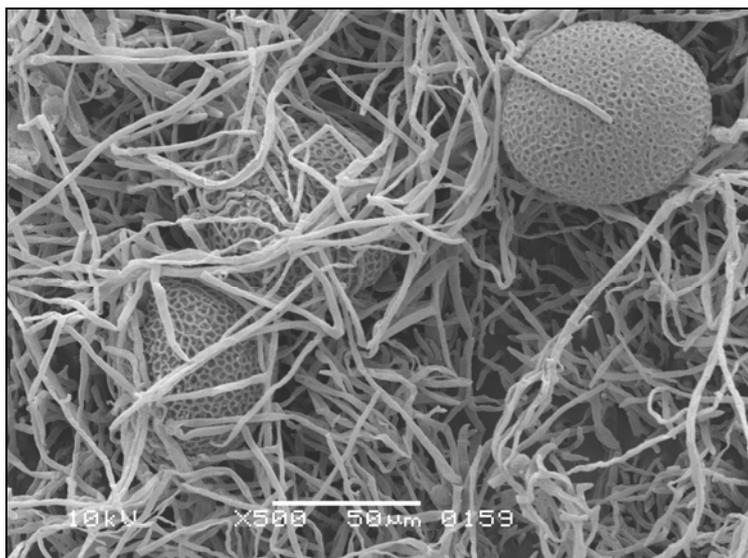


FOTO 97 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en la trama hifal de *F. dimerum* (día 7 post cultivo)



FOTO 98 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en la trama hifal de *Fusarium dimerum* (día 28 post cultivo)

13. Interacción *Mucor minutus*/huevos de *T. canis*

Microscopía óptica

Durante la experiencia, los huevos de *T. canis* en contacto con *Mucor minutus* evolucionaron en paralelo a los huevos del grupo control, excepto en los días 7 y 21. El porcentaje de huevos en desarrollo del GE siempre fue menor que en el GC (Fig. 28).

En el día 4 post cultivo se observaron esporangios de *Mucor sp.*

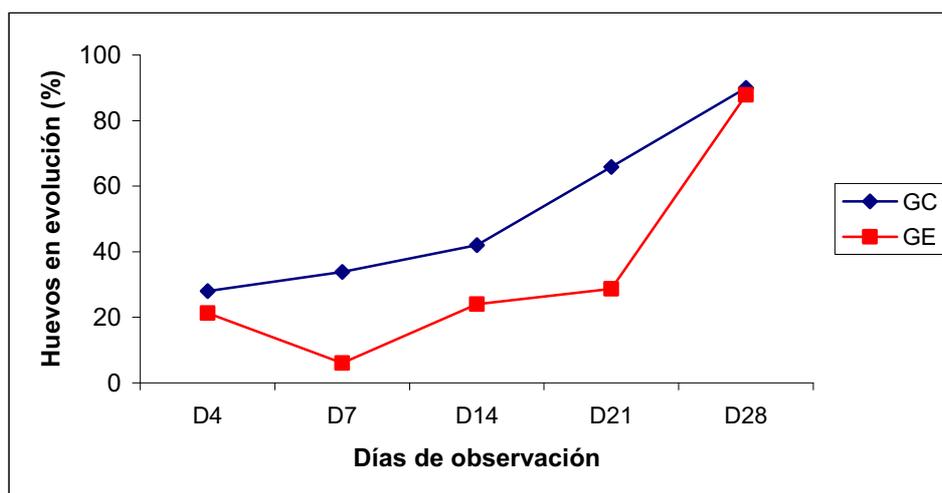


FIG. 28 Interacción *Mucor minutus*/huevos de *T. canis*. GC: Evolución de huevos de *T. canis* en agar agua 2% a temperatura ambiente (TA). GE: Evolución de huevos de *T. canis* incubados con *Mucor sp*

En la Fig 29 se observan los estadios de huevos de *T. canis* incubados con *M. minutus* en agua 2% a TA. Los huevos pertenecientes al GE presentaron todos los estadios de evolución hasta el día 28 post incubación.

Los huevos “no desarrollados” del GE se presentaron en mayor número, a lo largo de la experiencia. Acorde con esto los huevos “en desarrollo” tuvieron menor recuento, excepto en los días 21 y 28 post incubación que fue mayor. En este día, a pesar de ser mayor el recuento de huevos en evolución del grupo experimental, no se observaron huevos larvados, hubo un retraso en la aparición de estos hasta el día 28. En el GC que pudieron ser detectados a partir del día 7 post incubación. La proporción de huevos larvados pertenecientes a GE fue menor que en GC.

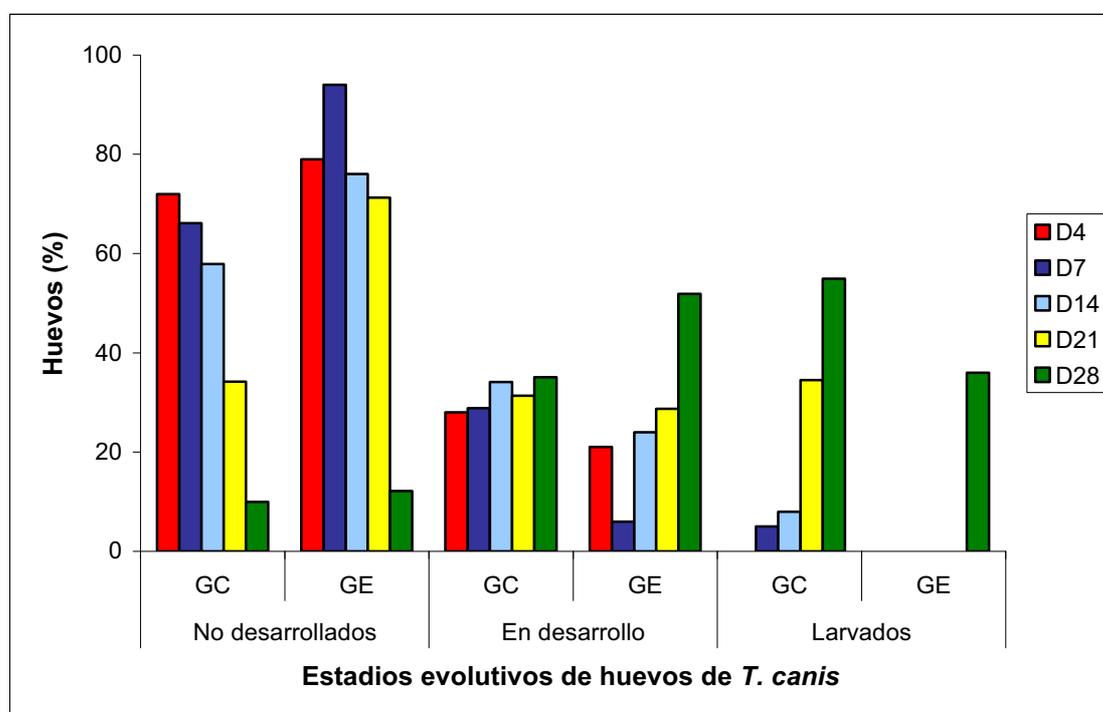


FIG. 29 Evolución de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *M. minutus* (%). Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control, GE: Grupo Experimental

El análisis de varianza para los huevos “no desarrollados” del grupo experimental vs grupo control dio como resultados que las diferencias fueron no significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post incubación (Tabla 16).

TABLA 16. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *M.minutus* (GE)

Día post cultivo	Huevos control		Huevos y <i>M. minutus</i>		<i>p</i>
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	
28	9,98	5,62	12,13	7,95	NS

Microscopia electrónica

Al comienzo de la experiencia en el día 4, los huevos de *T. canis* se observaron formes e incluidos en la trama hifal (Foto 99).

En el día 7 post incubación, los huevos aparecieron en su mayoría formes (92 %), algunos deformados y una escasa cantidad con cubierta lisa. Se evidenciaron también, esporangios de *M. minutus* (Foto 100). Hacia el final de la experiencia los huevos se observaron formes dentro de la trama hifal conservando su estructura (Fotos 101 y 102).

Dentro de la clasificación de Lysek la actividad ovicida ejercida por *M. minutus* sobre *T. canis* fue del nivel 1 (sin actividad).

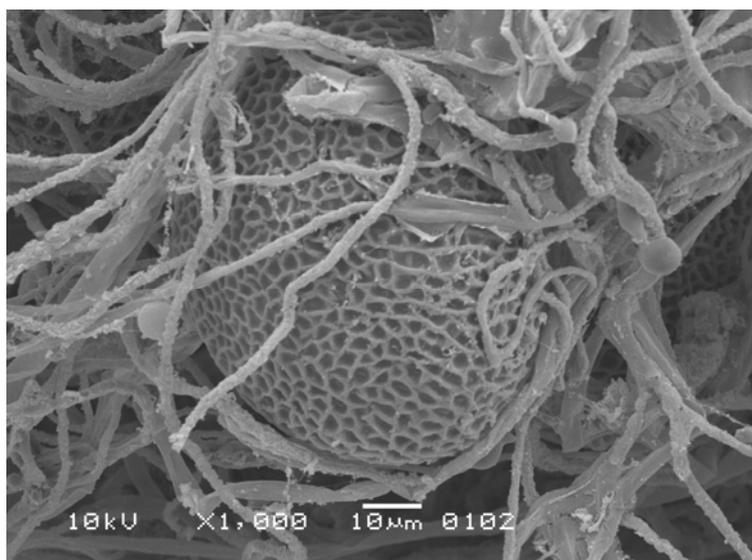


Foto 99. Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* rodeado de hifas de *M. minutus* (Día 4)

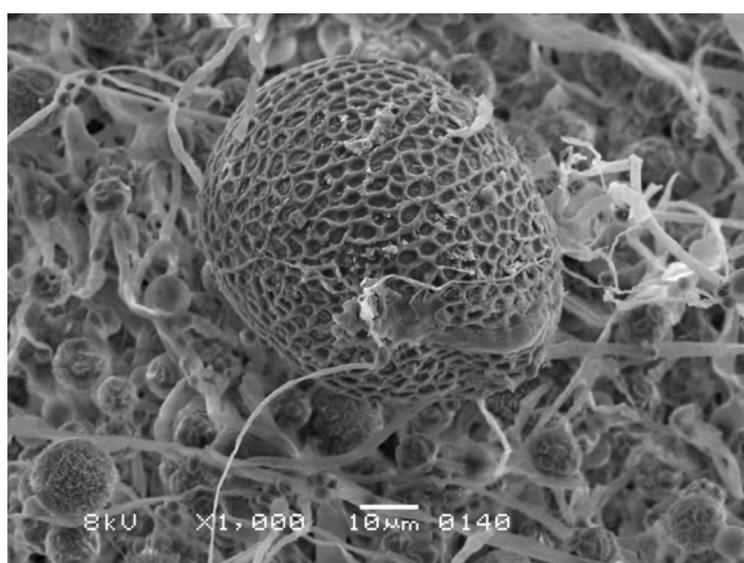


Foto 100. Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* rodeados de hifas de *M. minutus* con fructificación (esporangios) (Día 7)

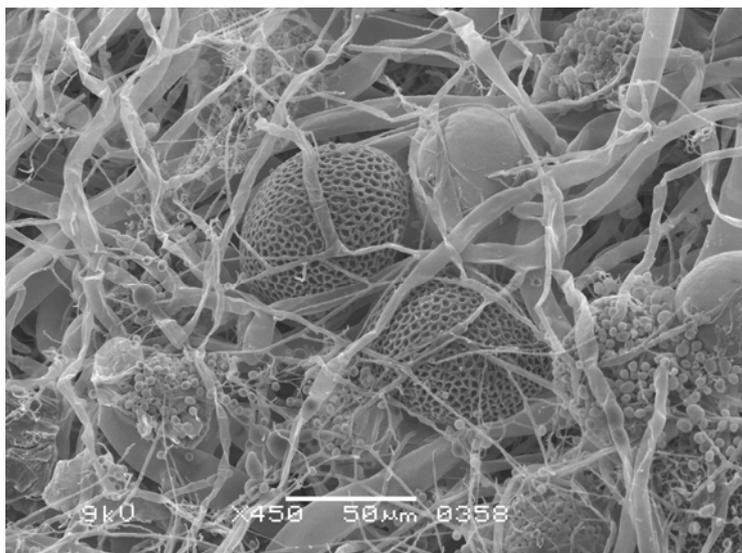


Foto 101. Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en trama hifal de *M. minutus* (Día 7)

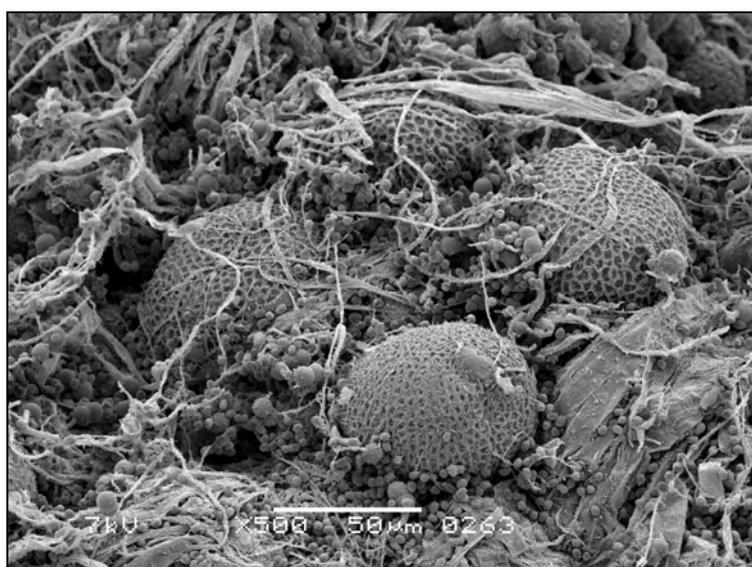


Foto 102. Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en la trama hifal de *M. minutus* (Día 28)

14. Interacción *Trichoderma harzianum*/huevos de *T. canis*

Microscopía óptica (MO)

Durante toda la experiencia realizada con *T. harzianum*, los huevos de *T. canis* en contacto con la cepa fúngica evolucionaron de manera gradual, con un pico ascendente en los días 14 y 28 post incubación, pero siempre en menor porcentaje que los huevos en evolución pertenecientes al GC (Fig. 30).

A partir del día 4 y durante toda la experiencia, *T. harzianum* se observó con fructificación y escaso micelio vegetativo entre los huevos de *T. canis*.

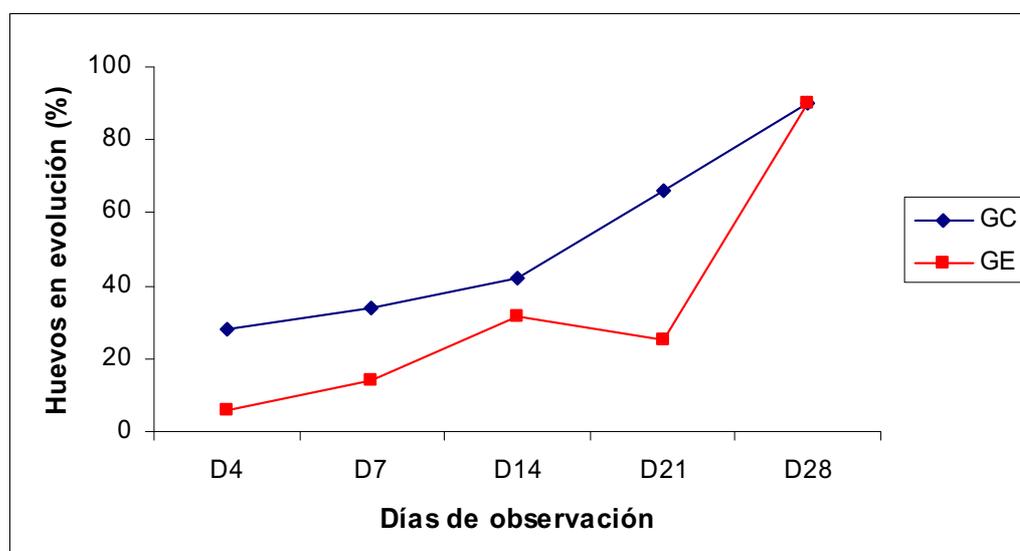


FIG. 30 Interacción *Trichoderma harzianum*/huevos de *T. canis*. . GC: Evolución de huevos de *T. canis* en agar agua 2% a TA. GE: Evolución de huevos de *T. canis* incubados con *T. harzianum*

En la figura 31 se observan los estadios de huevos de *T. canis* en cultivo con *T. harzianum* en agar agua 2% a TA. Los huevos

de *T. canis* pertenecientes al GC presentaron todos los estadios de evolución hasta el día 28 post incubación, no así el GE en el que solamente se hallaron huevos larvados en el día 14 post cultivo.

Los huevos “no desarrollados” del GE se presentaron en mayor número a lo largo de la experiencia. El porcentaje de huevos “en desarrollo” de GE fue menor, excepto en los días 21 y 28 que el recuento fue mayor que GC.

Se observaron huevos “larvados” en el GE sólo en los días 14 y 28 post incubación y en menor porcentaje que GC.

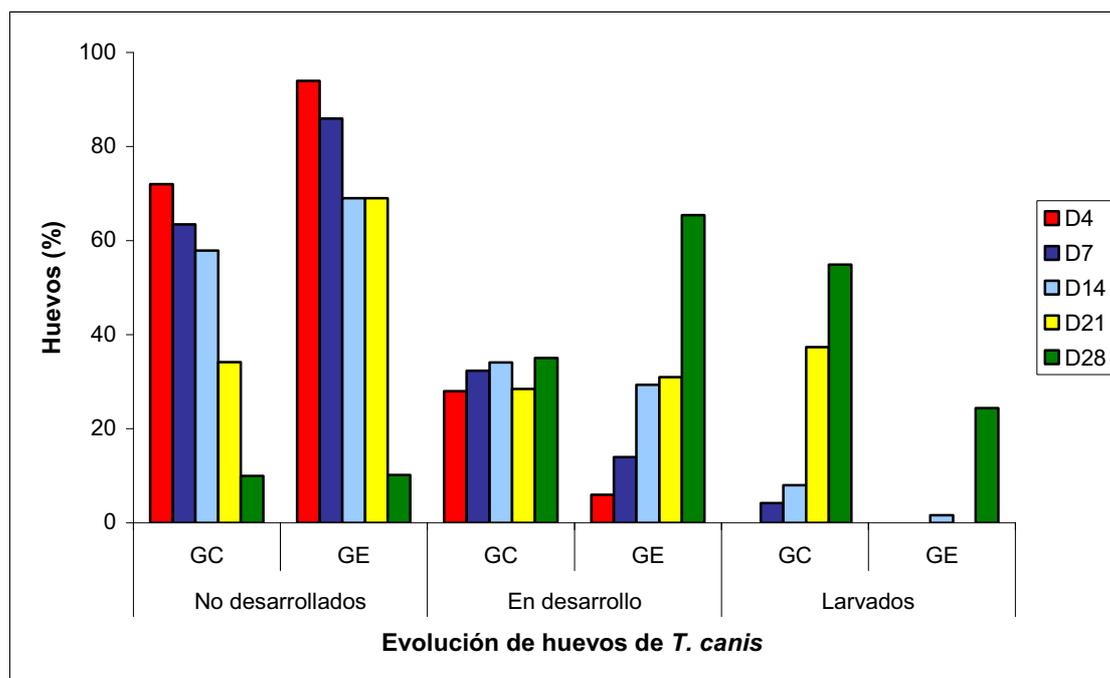


FIG. 31 Evolución de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *Trichoderma harzianum* (%). Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control, GE: Grupo Experimental

El análisis de varianza para los huevos “no desarrollados” del grupo experimental vs. grupo control dio como

resultados que las diferencias fueron no significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post incubación (Tabla 17).

TABLA 17. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *T. harzianum* (GE)

Día post cultivo	Huevos control		Huevos y <i>T. harzianum</i>		
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	<i>p</i>
28	9,98	5,62	10,18	7,95	NS

Microscopia electrónica

En las observaciones realizadas en el día 4 post incubación al microscopio electrónico de barrido no se registraron huevos de *T. canis* en contacto con la cepa fúngica, sólo fructificación de *T. harzianum* (Foto 103).

A partir del día 7 post incubación, algunos huevos de *T. canis* fueron retenidos en la escasa trama hifal. Algunos huevos observados presentaban conidias e hifas de *T. harzianum* adheridas. Otros huevos se observaron deformados (Foto 104). En las observaciones sucesivas de los días 14 y 21 muy pocos huevos se observaron en la trama hifal y se encontraban rodeados de fructificación e hifas adheridas de la cepa fúngica (Fotos 105 y 106). En el día 28 post cultivo se observaron pocos huevos deformados (6%), la mayoría de los huevos se hallaron formes sobre la trama hifal (foto 107).

Dentro de la clasificación de Lỳsek *T. harzianum* no ejerció actividad ovicida (nivel 1) sobre huevos de *T. canis*.

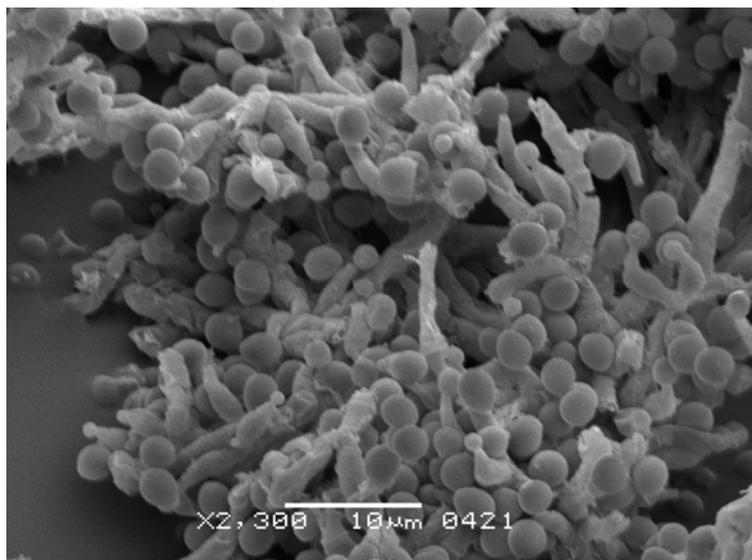


Foto 103 Microfotografía electrónica de *T. harzianum* (Día 4)



Foto 104 Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* con hifas y conidias adheridas de *T. harzianum* (Día 7)

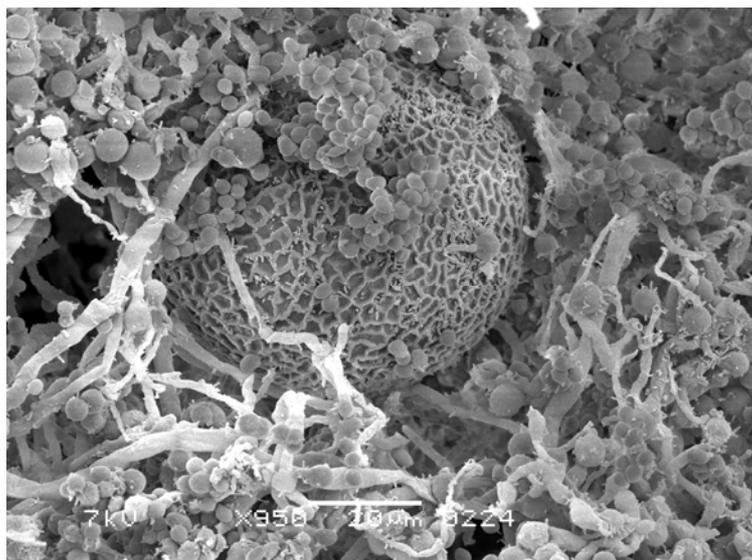


Foto 105 Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* en trama hifal de *T. harzianum* (Día 14)

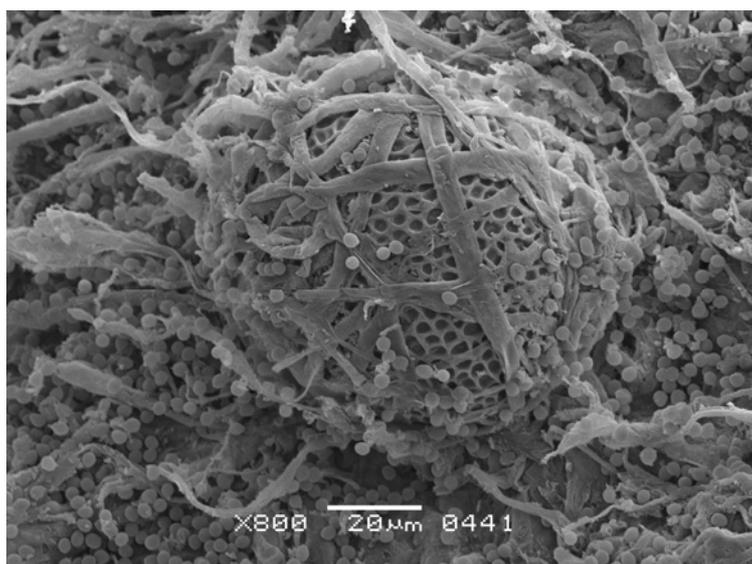


Foto 106 Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* con hifas adheridas de *T. harzianum* (Día 21)

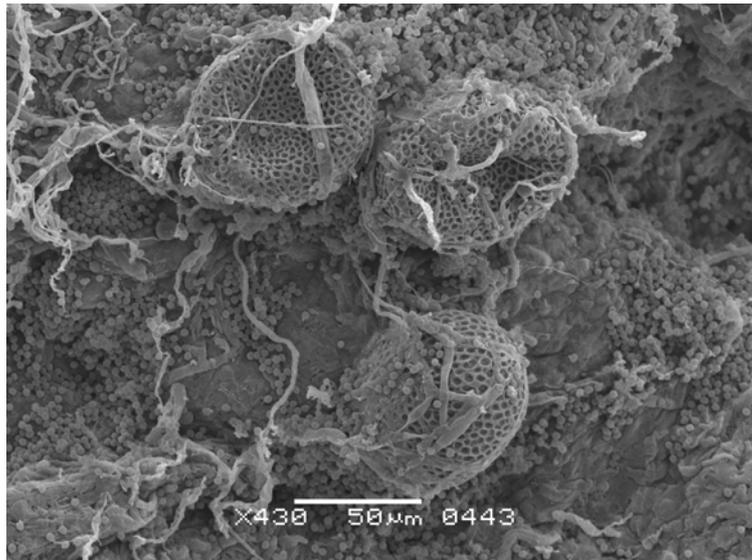


Foto 107 Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis* en trama hifal de *T. harzianum* (Día 28)

15. Interacción *Aspergillus niger*/huevos de *T. canis*

Microscopía óptica (MO)

Durante toda la experiencia realizada con *A. niger*, los huevos de *T. canis* en contacto con la cepa fúngica evolucionaron de manera gradual desde el día 4 hasta el día 28 post cultivo, en menor porcentaje que los huevos en evolución pertenecientes al GC (Fig. 32).

En el día 4 post incubación se observó fructificación de *A. niger*.

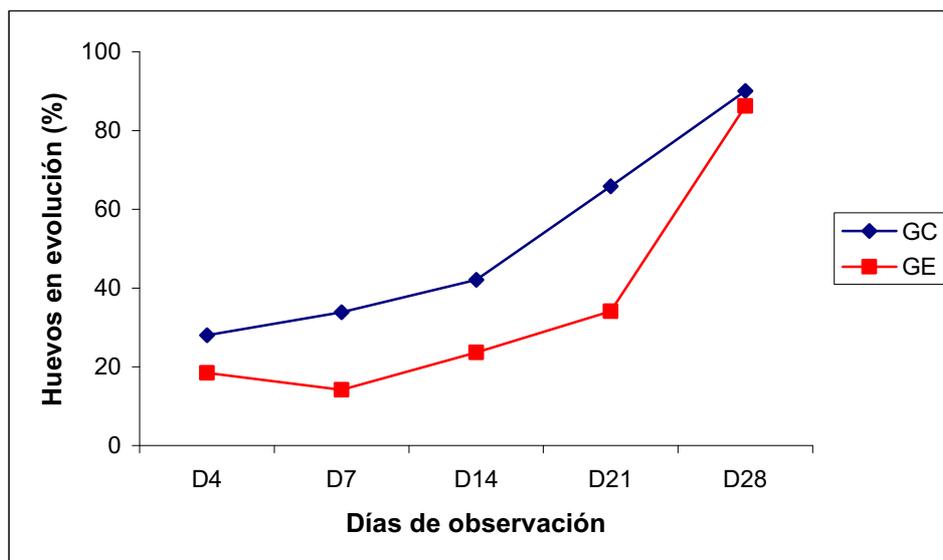


FIG. 32 Interacción *Aspergillus niger*/huevos de *T. canis*. GC: Evolución de huevos de *T. canis* agar agua 2% a TA. GE: Evolución de huevos de *T. canis* incubados con *Aspergillus niger*

En la Fig. 33 se puede observar que el porcentaje de huevos de *T. canis* “no desarrollados” en el GE fue siempre mayor que el GC. Por el contrario, los huevos “en desarrollo” del GE aparecieron en menor proporción que el grupo control, solo en el día 28 la proporción de huevos en desarrollo de GE fue mayor que GC.

Los huevos “larvados” se hallaron a partir del día 7 postincubación en el GE y en menor proporción que GC.

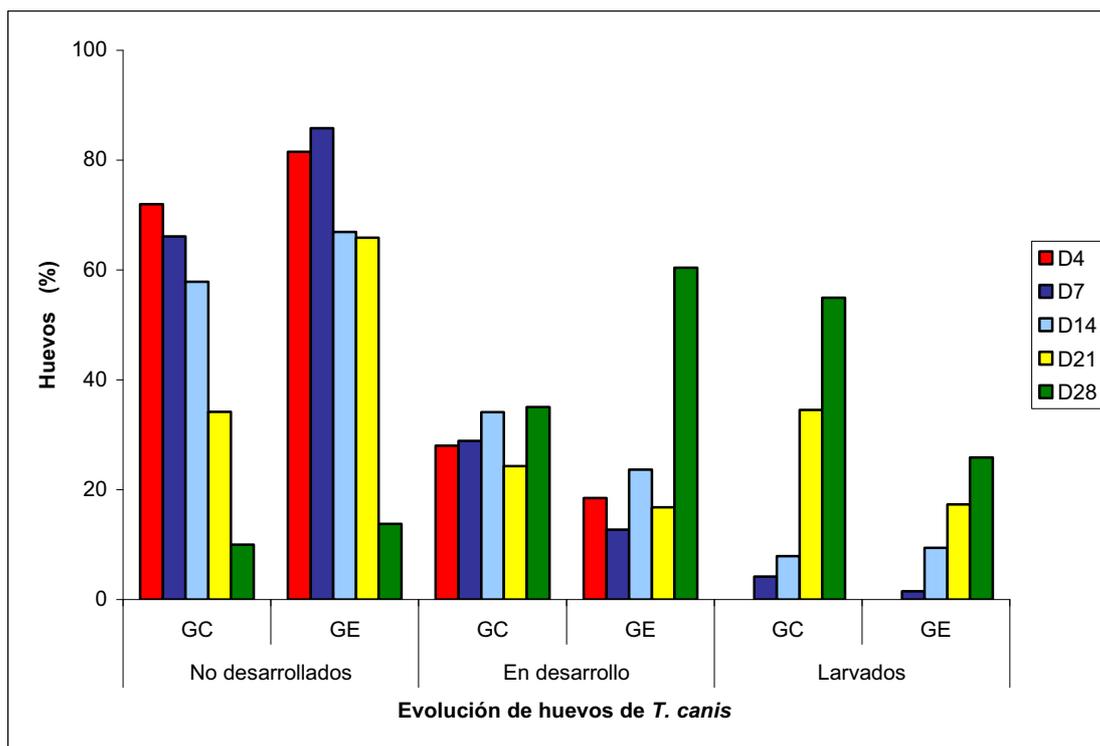


FIG. 33 Evolución de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *Aspergillus niger* (%). Las observaciones fueron realizadas durante los días 4 (D4), 7 (D7), 14 (D14), 21 (D21) y 28 (D28) post incubación. GC: Grupo Control, GE: Grupo Experimental

El análisis de varianza para los huevos “no desarrollados” del grupo experimental vs grupo control dio como resultados que las diferencias fueron no significativas para $p < 0,05$ en el día 28 post cultivo (Tabla 18).

TABLA 18. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de *T. canis* (GC) y en presencia de *A. niger* (GE)

Día post cultivo	Huevos control		Huevos y <i>A. niger</i>		
	\bar{X}	DS	\bar{X}	DS	<i>p</i>
28	9,98	5,62	13,75	5,62	NS

Microscopía electrónica

En las observaciones al microscopio electrónico de barrido en el día 4 post incubación, los huevos se hallaron rodeados por una trama hifal débil, con su morfología conservada (Foto 108). *Aspergillus niger* presentó su fructificación en el día 4 post incubación (Foto 109). Durante toda la experiencia se observaron conidias e hifas adheridas a los huevos formes (Fotos 110).

Los huevos de *T. canis* en contacto con *A. niger* permanecieron formes a lo largo de toda la experiencia (Foto 111).

A. niger no ejerció actividad ovicida sobre huevos de *T. canis*, por lo tanto, dentro de la clasificación de Løsek esta especie pertenece al nivel 1.



Foto 108 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* en trama hifal débil con conidias adheridas (Día 4 post cultivo)

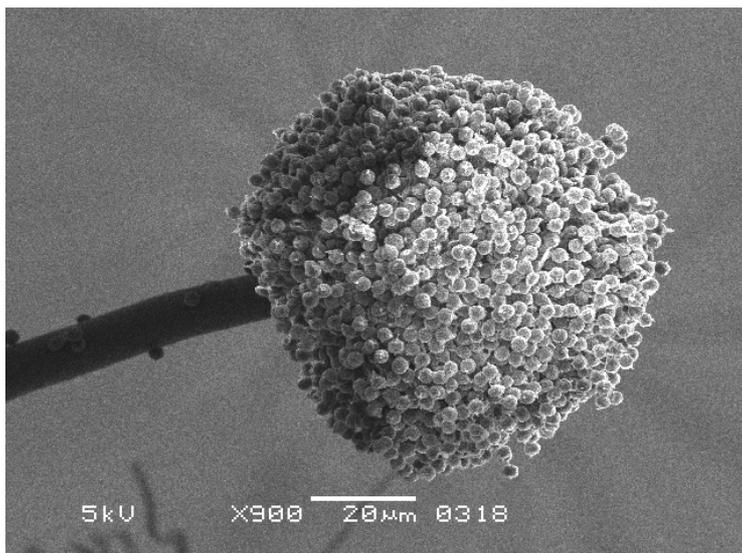


Foto 109 Microfotografía electrónica de cabeza aspergilar de *A. niger* (Día 4)

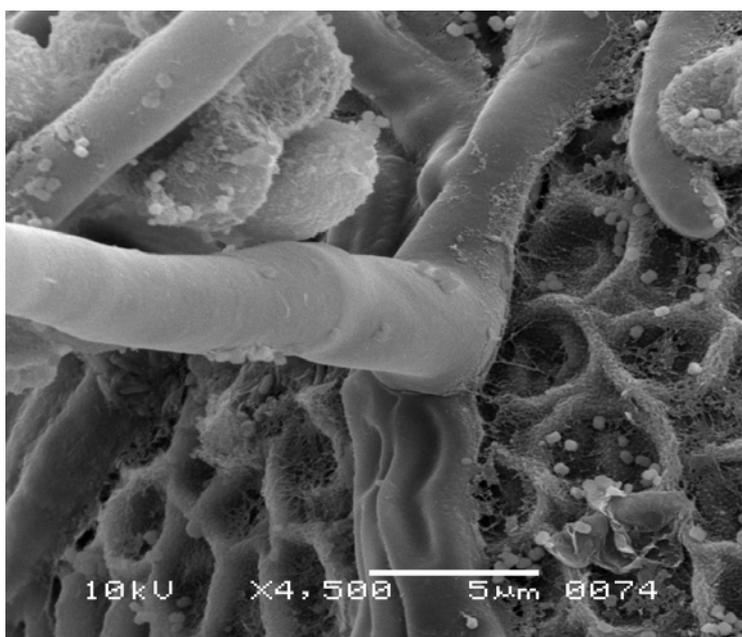


Foto 110 Microfotografía electrónica de detalle de hifas adhesivas de *A. niger* sobre huevos de *T. canis* (Día 14)



Foto 111 Microfotografía electrónica de huevos de *T. canis* rodeados de conidias de *A. niger* (Día 28 post cultivo)

Huevos control de *Toxocara canis*

Los huevos control de *T. canis* permanecieron con su morfología, tamaño y estructura habitual durante todas las experiencias; como así también la mayoría arribaron a su desarrollo completo al estadio de Larva 2 hacia el día 28 (foto 112).

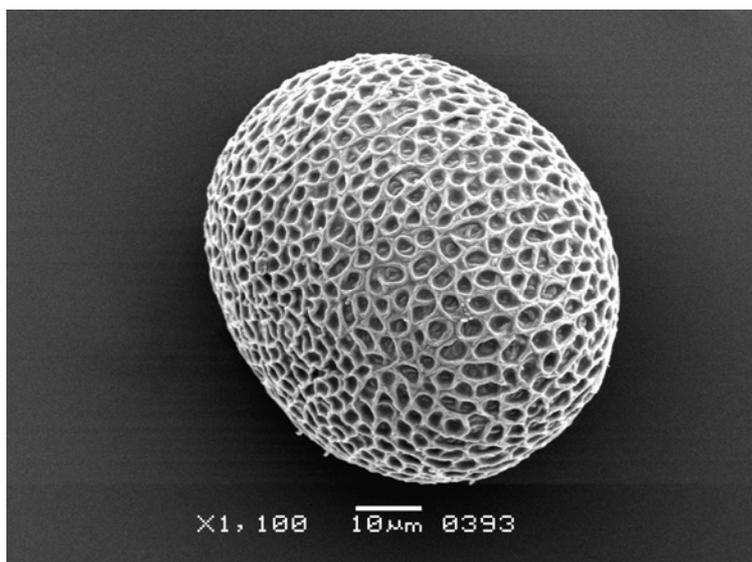


Foto 112 Microfotografía electrónica de huevo de *T. canis*

Evaluación de la viabilidad de huevos de *T. canis* al microscopio óptico

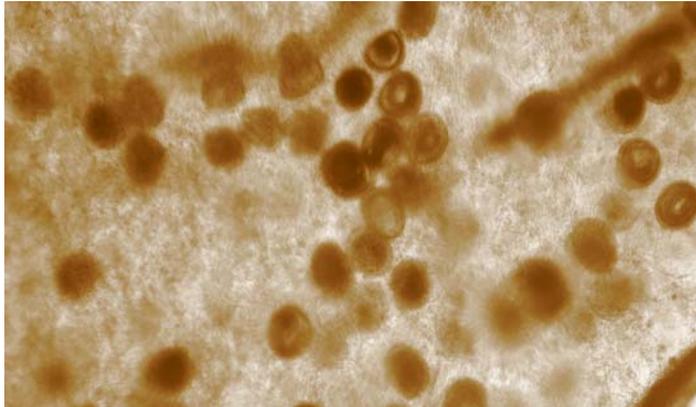


Foto 113. Huevos de *T. canis*/*F. acuminatum* (día 4 post incubación, 100X)

Cepas fúngicas en las que no se evaluó la interacción con huevos de *T. canis*

1. *Sordaria sp*

La experiencia de interacción de huevos de *T. canis* en contacto con *Sordaria sp* no fue realizada pues esta especie fúngica no desarrolló micelio vegetativo a partir de las ascosporas en medio de cultivo agar malta a TA.

En la Foto 113 se muestran una microfotografía electrónica de peritecios de *Sordaria sp*.

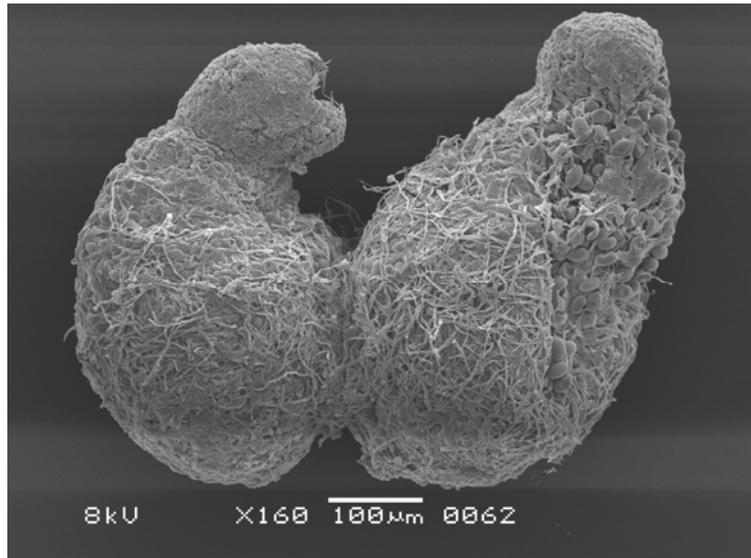


Foto 114. Microfotografía electrónica de *Sordaria* sp (peritecio)

2. Levaduras spp

Las levaduras halladas no fueron estudiadas porque este trabajo de tesis investigó el efecto ovicida de hongos filamentosos del suelo sobre huevos de *T. canis*.

Resumiendo, las especies fúngicas aisladas e identificadas de paseos públicos de la ciudad de La Plata fueron clasificadas de acuerdo a su actividad ovicida (Lýsek *et al.* 1982) ejercida sobre *T. canis* (Tabla 19).

TABLA 19. Especies fúngicas aisladas y su actividad ovicida sobre huevos de *T. canis*

Espece fúngica	Actividad ovicida
<i>Chrysosporium merdarium</i>	Muy alta (nivel 5)
<i>Fusarium oxysporum</i>	Muy alta (nivel 5)
<i>Fusarium sulphureum</i>	Alta (nivel 4)
<i>Fusarium semitectum</i>	Alta (nivel 4)
<i>Fusarium moniliforme</i>	Intermedia (nivel 3)
<i>Sporothrix alba</i>	Intermedia (nivel 3)
<i>Fusarium acuminatum</i>	Intermedia (nivel 3)
<i>Fusarium fusarioides</i>	Intermedia (nivel 3)
<i>Penicillium canescens</i>	Baja (nivel 2)
<i>Monilia sp</i>	Baja (nivel 2)
<i>Aspergillus flavus</i>	Baja (nivel 2)
<i>Fusarium dimerum</i>	Sin actividad (nivel 1)
<i>Mucor minutus</i>	Sin actividad (nivel 1)
<i>Trichoderma harzianum</i>	Sin actividad (nivel 1)
<i>Aspergillus niger</i>	Sin actividad (nivel 1)

Nota: * La foto de *A. flavus* fue extraída de Internet pues en el momento de tomar las fotografías fue imposible recuperar el cultivo.

En este trabajo fueron procesadas 20 muestras de tierra de 10 paseos públicos de la ciudad de La Plata con el fin de aislar e identificar hongos saprótrofos del suelo que interactúen con huevos de *T. canis* cultivados *in vitro*.

Las especies fúngicas aisladas fueron identificadas según Domsch *et al.* (1993).

Estos hongos, fueron clasificados de acuerdo a su actividad ovicida (Lýsek *et al.* 1982) ejercida sobre *T. canis*. Las especies aisladas fueron las siguientes con actividad ovicida "muy alta" (nivel 5): *Chrysosporium merdarium* y *Fusarium oxysporum*; actividad ovicida "alta" (nivel 4) *F. sulphureum* y *F. semitectum*; actividad ovicida "intermedia" (nivel 3) *F. moniliforme*, *S. alba*, *F. acuminatum* y *F. fusarioides*; actividad ovicida "baja" (nivel 2) *P. canescens*, *Monilia sp* y *A. flavus*; "sin actividad ovicida" (nivel 1) *F. dimerum*, *M. minutus*, *T. harzianum* y *A. niger*.

La distribución de los hongos saprótrofos aislados en estas muestras de los paseos públicos de la ciudad de La Plata fue totalmente aleatoria, ya que no se distinguió un patrón de distribución acorde a la actividad ovicida ejercida por aquellos sobre huevos de *T. canis* cultivados *in vitro*.

Como antecedentes sobre la búsqueda de hongos del suelo se encuentran los siguientes estudios:

Lýsek *et al.* (1982) estudiaron la presencia de hongos del suelo con efecto ovicida en áreas recreacionales y otras áreas de

Cuba con el objeto de verificar la existencia de hongos con capacidad ovicida en países tropicales y estudiar la manera de ejercer su potencial actividad ovicida en condiciones de laboratorio sobre huevos de *Ascaris lumbricoides*. Como resultado de esta investigación, *Fusarium spp* y *Humicola fuscoatra* ambos con alta actividad ovicida, fueron aislados de los paseos públicos de Cuba.

Ramesh & Hilda (1998) aislaron hongos queratinofílicos en suelos de paseos públicos de la ciudad de Madras, India con el propósito de encontrar el patrón de incidencia de este tipo de hongos. Las especies siguientes fueron halladas: *Chrysosporium tropicum*, *C. keratinophilum*, *Microsporum gypseum*, *C. pannorum*, *Trychophyton mentagrophites*, *T. terrestre*.

Shadzi *et al.* (2002) realizaron aislamientos en suelos de paseos públicos de la ciudad de Isfahan, Iran con el objetivo de hallar la frecuencia de hongos queratinofílicos. Se realizaron 214 aislamientos en los cuales, la especie más frecuente fue *Chrysosporium keratinophilum*.

Ciarmela *et al.* (2002) con el propósito de aislar e identificar hongos del suelo de paseos públicos de la ciudad de La Plata para evaluar la naturaleza de su interacción con huevos de *T. canis in vitro*, hallaron e identificaron las siguientes especies: *Fusarium pallidoroseum* que ejerció muy alta actividad ovicida y *Mucor hiemalis* sin actividad ovicida.

Vidyasagar *et al.* (2005) aislaron diferentes especies de dermatofitos de muestras de suelos de 21 paseos públicos de la ciudad de Gulbarga, India. Entre otras especies identificadas se hallaron con mayor

frecuencia coincidiendo con Shadzi *et al.* (2002) *Chrysosporium keratinophilum*, *Trychophyton mentagrophites*, *M. nanum* y *Ch. tropicum*.

Gortari *et al.* (2007) realizaron aislamientos en suelo con el propósito de comprobar la existencia de hongos potencialmente patógenos para el hombre con efecto antagónico sobre huevos de *T. canis*. Los aislamientos fueron realizados en el paseo del Bosque de la ciudad de La Plata. Se hallaron las siguientes especies de hongos antagónicos de huevos de *T. canis*: *Aspergillus parvulus*, *A. terreus*, *A. viridenutans*, *Chrysosporium aff. merdarium*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium spp*, *Humicola fuscoatra*, *Mucor hiemalis*, *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium spp*, micelio hialino estéril, entre otras.

Se han aislado hongos saprótrofos del suelo de diversos ecosistemas, esto indica que este tipo de hongos son de distribución universal (den Belder *et al.*, 1994; Kim *et al.*, 1998; Basualdo *et al.*, 2000; Olivares-Bernabeu & López-Llorca, 2002).

Entre las especies con muy alta actividad ovicida, *Chrysosporium merdarium* (Link e Grev) Carm hallada en este trabajo es un hongo queratinofílico y fue aislado también por Gortari *et al.* (2007) en el paseo del Bosque de la ciudad de La Plata como un hongo con efecto ovicida sobre huevos de *T. canis*.

En este trabajo, cabe destacar que, en el día 4 post incubación, la proporción de huevos en desarrollo fue mayor en el grupo experimental respecto al grupo control en la interacción *C. merdarium*-huevos de *T. canis*. Esto podría explicarse porque en ese día *C. merdarium* no había desarrollado micelio vegetativo que atrapara los huevos de *T.*

canis. El micelio de fructificación observado no tendría efecto sobre los huevos.

El micelio vegetativo fue detectado a partir del día 21 post incubación. En este periodo se halló una gran cantidad de huevos deformados atrapados en la red hifal de esta especie fúngica.

El retardo en el crecimiento del micelio vegetativo permitiría la presencia de huevos larvados observados solo en el día 7 post cultivo.

La existencia de huevos de *T. canis* con cubierta lisa a partir del día 14 post incubación en contacto con *C. merdarium* puede deberse a la secreción de enzimas. Estas enzimas degradarían los compuestos químicos de la capa externa de la cáscara del huevo, utilizándolos para su nutrición.

En este trabajo, *C. merdarium* tuvo efecto ovicida sobre huevos de *T. canis* en donde se destacó el mayor porcentaje de huevos "no desarrollados" ingresando a la categoría de "muy alta actividad ovicida" (nivel 5) de Lỳsek (1982).

C. merdarium, si bien es un contaminante ambiental común, ocasionalmente se lo aísla de infecciones humanas. Las especies de *Chrysosporium* pueden causar infecciones en piel y uñas en humanos. Con poca frecuencia se lo aisló de pacientes transplantados de médula ósea y en pacientes con enfermedades granulomatosas crónicas (Roilides *et al.*, 1999).

Según las características antes mencionadas para poder utilizar *C. merdarium* como agente de control biológico sobre huevos de *T. canis*, debería hacerse un estudio exhaustivo sobre la incidencia de esta especie fúngica sobre el impacto biológico antes de contaminar el ambiente con sus esporas.

En esta investigación otra de las especies fúngicas aislada de muestras de tierra de paseos públicos de la ciudad de La Plata con muy alta actividad ovicida fue *F. oxysporum* sobre huevos de *T. canis*. Este efecto fue demostrado con el mayor porcentaje de huevos no desarrollados en contacto con la cepa fúngica de todas las experiencias. Este fenómeno pudo corroborarse con las observaciones al microscopio electrónico de barrido, en las cuales los huevos fueron atacados por la cepa fúngica al final de la experiencia. La aparición de huevos de cubierta lisa y deformados indicaría una acción enzimática y mecánica ejercida por esta especie fúngica para utilizar los compuestos orgánicos de los huevos así degradados como sustancias nutritivas.

Como antecedentes, Mennan *et al.* (2005) investigaron los efectos de *F. oxysporum* sobre un nematode parásito *Heterodera cruciferae*, patógeno de plantas de repollo.

Fusarium oxysporum ejerce su efecto tóxico sobre quistes de nematodes y se considera una especie de importancia en el control natural de quistes de nematodes en el suelo contaminado. Igualmente, el mecanismo de penetración ejercido por *F. oxysporum* sobre quistes y huevos de nematodos aún no está claro, se cree que es una combinación de ambos (mecánico y enzimático). Este grupo de investigadores llegó a la conclusión que *F. oxysporum* tiene la capacidad

de penetrar los quistes a través de su pared disminuyendo así, su viabilidad. Otros autores como Akinsanmi & Adekunle (2003) demostraron efecto negativo de *F. oxysporum* sobre huevos de *Meloidogyne incognita*, nematode parásito de plantas.

Weber *et al.* (2006) evaluaron la ocurrencia de especies de *Fusarium* asociadas a micotoxinas en plantaciones de espárragos. Esta investigación dio como resultado la presencia de *F. oxysporum* como un hongo patógeno a través de la producción de fumonisinas y moniliformina sobre aquellas plantaciones. Estos investigadores llegaron a la conclusión que el efecto tóxico disminuye la calidad del alimento.

Serani *et al.* (2007) aislaron *Fusarium spp.* de plantas de café afectadas con el propósito de establecer su patogenicidad e identificar posibles hospedadores alternativos. Las especies aisladas en esta investigación fueron entre otros, *F. oxysporum* y *F. moniliforme*.

Las toxinas de *Fusarium spp* pueden causar además aberraciones en la salud de los animales y pueden llegar a causar la muerte (Weber *et al.*, 2006).

Con respecto a la salud humana, las especies de *Fusarium* causan micosis oportunistas en pacientes con enfermedades hematológicas, una de estas especies es *F. oxysporum* (Girmenia *et al.*, 2000). En individuos inmunocompetentes puede causar queratitis, onicomycosis y ocasionalmente peritonitis y celulitis (Dignani & Anaissie, 2004).

Debido a las características arriba mencionadas, debería tomarse recaudos antes de utilizar a *F. oxysporum* como agente de control biológico en paseos públicos sobre huevos de *T. canis*.

Fusarium aff. semitectum fue otra especie que presentó, en este trabajo, alta actividad ovicida. Los huevos de *T. canis* desarrollaron por debajo del porcentaje de los huevos del grupo control. Estos huevos en contacto con la cepa fúngica alcanzaron el estadio larval en el día 7 y hasta el día 21 de observación post cultivo. Todos los huevos de *T. canis* fueron observados incluidos en la trama hifal. Teniendo en cuenta que el número de huevos deformados durante toda la experiencia no fue alto y los huevos con cáscara lisa también fueron pocos; se puede sugerir que *F. aff. semitectum* secreta alguna sustancia tóxica para inhibir el desarrollo del huevo sin deformarlo.

No existen antecedentes en la literatura consultada, acerca de la actividad ovicida de *F. aff. semitectum*.

F. aff. semitectum es una especie que produce un metabolito tóxico: la fusaproliferina. Este metabolito tiene actividad tóxica sobre células de insectos, linfocitos B humanos y también posee efectos teratogénicos sobre embrión de pollo (Munkvold *et al.*, 1998; Rheeder *et al.*, 2002).

F. aff. semitectum infecta plantas de *Gossypium sp* (algodón), especie nativa de dos regiones de Australia. Esta especie fúngica fue aislada predominantemente de *G. bickii* (Wang *et al.*, 2004).

F. aff. semitectum coloniza distintos cereales de grano donde produce una micotoxina denominada zearalenona. Esta toxina no posee efecto carcinogénico, pero está implicada en el desarrollo sexual precoz en niños de Puerto Rico y ginecomastia en hombres jóvenes de Italia (Bueno & Oliver, 2004).

En zonas costeras y montañosas de Ecuador se recolectaron plantas de soja contaminadas con *F. aff. semitectum* (Pacin *et al.*, 2003).

Castillo *et al.*, (2004) investigaron la micoflora en plantaciones de habas negras en el noroeste de nuestro país, Salta. En época de cosecha hallaron *F. semitectum* como agente productor de zearalenona.

Tonon *et al.* (1997) investigaron la micoflora de arroz integral en dos provincias del norte de Argentina y una del sur de Paraguay. Entre otras especies aislaron *F. semitectum* de este cultivo.

Esta especie de *Fusarium* es patógena de cultivos de plantas florales como un colonizador secundario. Ha sido aislado por Flores *et al.* (2005) en cultivo de especies florales en Quebrada de Lozano, Jujuy.

Desjardins *et al.* (2000) demostraron la presencia de *F. semitectum* en granos de maíz y trigo con producción de micotoxinas en la región montañosa del Himalaya, Nepal. Además de *F. semitectum* hallaron también *F. oxysporum*. Molto *et al.* (1997) investigaron la producción de diferentes tricotecenos, estas toxinas están asociadas a síndromes hemorrágicos en humanos y animales, zearalenonas de *Fusarium spp*

aislados de granos de maíz. En este caso; el aislamiento de *F. semitectum* secretó diacetoxyscirpenol, esta micotoxina causa fusariotoxicosis y hemorragia en el ganado.

En un estudio realizado en bananas de Ecuador, Panamá e Islas Canarias comercializadas en Italia y España para determinar la presencia de micotoxinas se realizaron 66 aislamientos *Fusarium*. Se identificaron las siguientes especies: *F. semitectum*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum* y *F. dimerum*, entre otras. Se hallaron las siguientes toxinas: fumonisina B1 es la responsable de leucoencefalomalacia equina, edema pulmonar en porcinos, en humanos está relacionada en cancer esofágico (Li, 1999); fumonisina B2, carcinogénica (Rheeder *et al.* 1999); moniliformina, zearalenona, a zearalenona, deoxynivalenol, 3-acetildeoxynivalenol, etc. (Jiménez *et al.*, 1997).

La beauvericina es una micotoxina producida por *F. semitectum* y otros *Fusarium spp* con propiedades insecticidas y puede inducir apoptosis celular en mamíferos (Logrieco *et al.* , 1998).

Entre las enzimas que secreta *F. semitectum* se encuentran las queratinasas. Esto fue demostrado cuando se aisló material de lesión de escudo queratinaceo de tortuga, *Gopherus berlandieri*, y la especie aislada fue *F. semitectum* (Rose *et al.*, 2001).

Mikunthan *et al.* (2006) aislaron *F. semitectum* de cadáveres de Afidos (*Aphis gossypii*) plaga de cultivos de ají. Evaluaron la actividad sobre insectos plagas de diferentes cultivos. Como resultado, *F. semitectum* atacó varios insectos plaga de ají, caña de azúcar y cocotero.

Por lo tanto, este hongo podría incorporarse como una táctica viable al control integrado de plagas en agricultura.

Para poder utilizar *F. semitectum* como agente de control biológico deberíamos hacer un estudio exhaustivo acerca del impacto ambiental sobre la salud humana y la sanidad vegetal.

Hasta el momento no existen estudios acerca de la actividad ovicida/ovistática, en la literatura consultada, de *F. sulphureum* sobre huevos de nematodos.

En este trabajo los huevos de *T. canis* no desarrollados en contacto con *F. sulphureum* tuvieron mayor porcentaje que los huevos control. Este efecto pudo deberse a que los huevos de *T. canis* quedaron atrapados en la trama hifal a partir del día 4 post cultivo. Sin embargo, en este día la estructura y morfología de los huevos permanecieron inalterables.

Los huevos larvados fueron observados solamente en los días 14 y 21 post incubación en contacto con *F. sulphureum*. La existencia de huevos con cubierta lisa a partir del día 21 post incubación pudo deberse a la secreción de enzimas por parte de la cepa fúngica, para así utilizar estos compuestos degradados como materia orgánica para su nutrición.

F. sulphureum tiene una alta actividad ovicida sobre huevos de *T. canis* y solamente hay información que es patógeno de papa (Lees & Bravshow, 2001).

Esta especie, previos estudios acerca del impacto sobre la salud animal y el deterioro ambiental, podría ser utilizada como agente control biológico sobre huevos de nematodos en paseos públicos, dado que no existen reportes que informen acerca de su patogenicidad u oportunismo en el ser humano.

Entre las especies aisladas que tuvieron una actividad ovicida intermedia sobre huevos de *T. canis* incubados *in vitro*, hallamos a *F. moniliforme* que es un hongo productor de micosis oportunista en pacientes con enfermedades hematológicas crónicas y leucemia aguda (Girmenia *et al.*, 2000). En pacientes inmunocompetentes puede causar onicomycosis, queratitis y ocasionalmente peritonitis y celulitis (Dignani & Anaissie, 2004).

En agricultura, esta especie es patógena, entre otras, de cultivares de *Lilium sp.*, en la provincia de Buenos Aires, afectando la producción de flores disminuyendo esta de manera considerable, pues los síntomas se manifiestan en las plantas próximas a la floración (Lori *et al.*, 1999).

A lo largo de la experiencia, los huevos de *T. canis* en contacto con *F. moniliforme*, se desarrollaron en menor proporción que el grupo control desde el día 4 hasta el día 28 post-cultivo. El recuento de huevos no desarrollados durante toda la experiencia fue mayor en el grupo experimental. El recuento de huevos “en desarrollo” fue menor en el grupo experimental.

Con respecto a los huevos larvados, estos aparecieron a partir del día 7 post-cultivo y fueron visualizados hasta el día 28 de la experiencia.

Los abultamientos de las hifas de *F. moniliforme* observadas sobre los huevos de *T. canis* no indican la formación de apresorios, dado que este género no forma este tipo de especialización de micelio. Estas hifas pueden haberse especializado en la penetración al huevo para degradar su contenido y utilizarlo como fuente nutritiva.

Los huevos de *T. canis* hallados con cubierta lisa podría deberse a que *F. moniliforme* además de actuar en forma mecánica, también actuó secretando enzimas que degradan su cubierta externa y utilizan sus compuestos para su subsistencia.

La actividad ovicida (nivel 3, intermedia) de *F. moniliforme* determinada en este trabajo coincide con aquella observada por Lỳsek *et al.* (1982) cuando aislaron esta especie fúngica de muestras de suelo de Cuba y lo cultivaron *in vitro* con huevos de *Ascaris lumbricoides*.

De esto se desprende que *F. moniliforme* además de todos los daños que causa en el ambiente y en el ser humano, su eficacia como antagonista sobre huevos de nematodos sería relativa.

Sporothrix alba es una especie fúngica que puede aislarse del ecosistema suelo. Aún no existen estudios previos en la literatura consultada que evalúen su interacción con huevos de nematodos.

En este trabajo solo evolucionaron a su desarrollo completo menos del 60% de huevos de *T. canis* en contacto con *S. alba*. El mecanismo de ataque de esta especie fúngica aún no puede deducirse. *S. alba* desarrolló hifas adhesivas sobre los huevos de *T. canis*. Promediando la experiencia *S. alba* fructificó y se halló una escasa cantidad de huevos deformados hacia el final del experimento pero con su cubierta conservada. El efecto de esta especie sobre los huevos de *T. canis* puede haber sido enzimático, dado que se mantuvieron formes durante toda la experiencia y semi inmersos en la trama hifal. A lo largo de las experiencias *S. alba* ejerció un efecto ovistático sobre huevos de *T. canis*.

Fusarium acuminatum es un hongo patógeno de cereales; este hongo produce enfermedades en las plantas en crecimiento (Fernández *et al.*, 2005). La mayoría de *Fusarium spp* producen en los granos infectados micotoxinas del tipo de los tricotecenos, las cuales son dañinas tanto para el hombre como para los animales; ocasionando trastornos digestivos como reflujo y vómitos (Hussein *et al.*, 2002). Este tipo de micotoxinas fue hallada también en plantas de maíz contaminadas con *F. acuminatum* en el Sudoeste de Nigeria (Adejumo *et al.*, 2007).

En Nueva Zelanda se demostró la presencia de *F. acuminatum* en granos de maíz y mantillo en las mismas condiciones que las halladas en Sud África, Canadá y Australia (Hussein *et al.*, 2002).

En Nigeria, por primera vez se extrajeron α -zearalenol y enantinas, micotoxinas procedentes de *F. acuminatum* de plantas de maíz contaminadas con esta especie fúngica (Adejumo *et al.*, 2007).

Otro de los cereales afectados por *F. acuminatum* es el trigo cultivado en República Eslovaca (Rohacik & Huded, 2005). Además de hallarse *F. acuminatum* en cultivos de trigo y maíz, esta especie fúngica se halló como contaminante de plantas de espárragos en la provincia de Québec, Canadá (Vujanovic *et al.*, 2006).

Tiscornia *et al.* (2005) hallaron *F. acuminatum* en baja frecuencia en muestras de compost sembradas con nematodos pertenecientes a cinco grupos tróficos.

Entre las enzimas que produce *F. acuminatum* se encuentra la galactosa oxidasa, enzima que cataliza la transferencia de un electrón de sustratos hidrolíticos incluyendo la galactosa a oxígeno molecular con la formación de agua oxigenada y un aldehído (Barbosa-Tessmann *et al.*, 2001; Whittaker, 2002; Rogers & Dooley, 2003; loos *et al.*, 2004; Alberton *et al.*, 2007). Una de las características interesantes de esta enzima es la amplia variedad de sustratos (Barbosa-Tessmann *et al.*, 2001).

En este trabajo el desarrollo de huevos de *T. canis* en presencia de *F. acuminatum* fue similar al desarrollo de los huevos pertenecientes al grupo control en las primeras observaciones post incubación (días 4 y 7). La disminución del número de huevos en desarrollo quedó demostrado a partir de los días 14 a 28, en los cuales el número de huevos que completó su desarrollo a larva fue mucho menor que el número de huevos pertenecientes al grupo control. *F. acuminatum* comenzó a afectar los huevos recién a partir del día 14 post incubación.

Al final de la experiencia, se observaron huevos con aspecto deformado, lo que indicaría que *F. acuminatum* ejerce un efecto

mecánico sobre los huevos de *T. canis*. También es probable que este hongo secreta enzimas del tipo de las quitinasas que degradan la pared del huevo para utilizar sus compuestos orgánicos como fuente de carbono.

Para poder utilizar esta especie fúngica debería hacerse un estudio exhaustivo acerca de su acción en el ambiente. Su eficacia se considera relativa, dado que esta especie, tuvo actividad ovicida intermedia sobre huevos de *T. canis* y fue recién a partir del día 14 post incubación.

Guilhermetti *et al.* (2007) investigaron la prevalencia de onicomycosis causada por *Fusarium sp* en pacientes inmunocompetentes en la región de Maringá, Paraná, Brasil. Los hongos aislados con mayor frecuencia fueron entre otros, *F. oxysporum* y *F. fusarioides*.

En esta investigación *F. fusarioides* ejerció una acción antagónica sobre los huevos de *T. canis* dado que estos desarrollaron pero en menor proporción que los huevos control.

Los huevos en contacto con la cepa fúngica llegaron al final de su desarrollo pero, en mucho menor proporción que el grupo control, debido a acción ejercida de *F. fusarioides* sobre los huevos demostrada a través de las microfotografías electrónicas. En estas microfotografías se apreciaban las hifas adhesivas sobre los huevos, lo que sugiere un efecto mecánico ejercido por el hongo. A medida que aumentó el tiempo de contacto con la cepa fúngica esta formó una red hifal con mayor desarrollo quedando los huevos atrapados y deformes. También fueron observados huevos de cubierta lisa, esto explicaría la acción enzimática que puede ejercer este hongo para degradar la

cubierta externa de los huevos de *T. canis*. Aún con estos efectos observados de esta manera, *F. fusarioides* pertenece al grupo de hongos con actividad ovidica intermedia ya que el número de huevos alterados resultó bajo.

En nuestro trabajo *Penicillium canescens* originó escaso micelio vegetativo atrapando huevos, asimismo se observó fructificación de la cepa fúngica pero los huevos permanecieron inalterados sobre la trama hifal. Aparentemente esta especie fúngica no produce acción enzimática ni mecánica sobre los huevos de *T. canis*.

Las diferentes especies de *Penicillium* son organismos versátiles que producen una amplia variedad de enzimas extracelulares, algunas de ellas de interés industrial (Di Giambattista, 2001). Sinitsyna *et al.* (2003) demostraron que *P. canescens* posee un complejo enzimático del tipo de las xilanasas y arabinofuranosidasas (Vavilova *et al.*, 2003). Bakri *et al.* (2003) demostraron la secreción de xilanasas a cargo de *P. xylonosus* según la fuente de carbono, nitrógeno y el contenido de humedad.

Además de conocerse la secreción de enzimas de *P. canescens*, esta especie también produce toxinas con efecto fungicida que actúan sobre un fitopatógeno, *Rhizoctonia solani in vitro* (Nicoletti *et al.*, 2007).

Sinitsyna *et al.* (2007) purificaron pectin lyasa de un filtrado de *P. canescens* e investigaron distintas propiedades de esta enzima.

Rankovic (2005), ensayó 33 especies de hongos aislados de agua y sedimento del Río Koluwara para determinar su acción antagónica sobre 11 especies de bacterias patógenas. Se llegó a la conclusión que *P. canescens* entre otras especies tiene efectos antagónicos sobre las siguientes bacterias: *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *S. enteritidis* y *Shigella sonnei*.

Es evidente que la secreción de enzimas informadas por Nicoletti *et al.* (2007) no ejercen efecto ovicida sobre huevos de *T. canis*. Por lo tanto, resultaría de baja utilidad usar *P. canescens* como agente de control biológico sobre huevos de *T. canis*.

Monilia sp ejerció actividad ovicida baja sobre huevos de *T. canis*. En este trabajo hubo diferencias entre el grupo experimental y el grupo control en lo que respecta a los huevos no desarrollados. Sin embargo, en las observaciones al microscopio electrónico de barrido los huevos de *T. canis* no evidenciaron estar atacados por *Monilia sp*, esto indicaría que *Monilia sp* pudo haber ejercido un efecto ovistático a través de la secreción de alguna enzima o sustancia química que detenga el desarrollo de huevos de *T. canis*.

Distintas especies de *Monilia* son causantes de enfermedades de plantas, ej.: *M. fructigena* que causa daño en las manzanas (Buza *et al.*, 2004).

Martínez Ordaz *et al.* (2002), realizaron un relevamiento de esporas fúngicas en las casas de pacientes con asma en una zona desértica de México, encontraron que existían *Monilia spp*. Este grupo de

investigadores realizó una intradermorreacción a estos pacientes, dando una positividad del 48% a *Monilia*.

Centeno & Calvo (2001) en un estudio realizado en corchos de tapones de botellas de vino espumante, demostraron la producción de enzimas del tipo de las estearasas en *M. sitophila*.

En este trabajo *Aspergillus flavus* ejerció una actividad ovicida baja. Si bien el porcentaje de huevos en desarrollo en contacto con la cepa fúngica fue moderado, igualmente llegaron al estadio larval, indicando que *A. flavus* podría ejercer un efecto ovistático. A través de la microscopía electrónica de barrido esta especie fúngica no formó red hifal que atrape los huevos de *T. canis*.

Si bien *A. flavus* fructificó desde el 4º día post cultivo, estas conidias no desarrollaron micelio vegetativo que atrapara los huevos.

A. flavus es un hongo que habita el suelo como saprótrofo, en el cual juega un rol importante en el reciclaje de nutrientes aportados por plantas y animales (Scheidegger & Payne, 2003). La capacidad que tiene *A. flavus* de sobrevivir a distintas condiciones le permite competir con otros organismos por el sustrato en el suelo o en las plantas (Bhatnagar *et al.*, 2000). Asimismo, *A. flavus* produce aflatoxinas, compuestos naturales con poder carcinogénico (Hedayati *et al.*, 2007).

Además, *A. flavus* secreta enzimas queratinolíticas (Friedrich *et al.*, 1999). Este tipo de enzimas determina que *A. flavus* tenga características de hongo entomopatígeno (Leger *et al.*, 1992).

A. flavus es la segunda especie fúngica en causar micosis invasivas y el más común que causa infecciones respiratorias superiores. Los síndromes clínicos causados por *A. flavus* incluyen sinusitis granulomatosa crónica, queratitis, aspergillosis cutánea, osteomielitis seguida de trauma e inoculación. *A. flavus* es un hongo que causa micosis oportunista en pacientes inmunocomprometidos como por ejemplo un caso publicado por Evison *et al.*, 2007 de un absceso parafaríngeo en un paciente neutropénico con leucemia mielógena.

Se ha informado un caso de pericarditis en un paciente con leucemia mieloblástica aguda causada por *A. flavus* aislada de fluido pericárdico (Gökahmetoğlu *et al.*, 2000). Se conocen informes en un paciente con leucemia mielógena de aislamiento de *A. flavus* en forma de émbolo compuesto por hifas septadas pertenecientes a esta especie (Galimberti *et al.*, 1998; Khatri *et al.*, 2000; Krunic *et al.*, 2003).

Existen microorganismos que actúan de manera antagónica sobre *A. flavus*, según Agarry *et al.* (2005). Bacterias como *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli* y los hongos como *Saccharomyces spp* inhibieron el crecimiento de *A. flavus in vitro*.

Debido a todos los problemas que causa a la salud humana y que su actividad ovicida es baja sobre huevos de *T. canis* Esta especie fúngica, *A. flavus*, no debiera incluirse como probable agente de control biológico.

En este trabajo *F. dimerum*, no ejerció actividad ovicida sobre huevos de *T. canis* dado que estos huevos desarrollaron a la par que el grupo control. El recuento de los huevos larvados en contacto con la

cepa fúngica, fue mayor que en el grupo control. Parecería que *F. dimerum* hubiera favorecido el desarrollo a estadio larval en todas las observaciones.

F. dimerum puede aislarse del suelo, como en este trabajo o también del agua de bebida (Hageskal *et al.*, 2006).

F. dimerum es capaz de producir toxinas, tal como lo demostraron Naiker & Odhav (2004) cuando aislaron muestras de 29 pacientes con queratitis micótica. Las micotoxinas halladas fueron las siguientes: ácido fusarínico, moniliformina y fumonisinas B1.

F. dimerum es el agente causal de queratomicosis (Sallaber *et al.*, 1999; Vismar *et al.*, 2002; Letscher – Bru *et al.*, 2002), endocarditis post bypass arteria coronaria (Camin *et al.*, 1999) e infección en pacientes transplantados de médula ósea (Bigley *et al.*, 2004; Boutati & Anaissie, 1997; Guarro *et al.*, 2000; Nir-Paz *et al.*, 2004). Se han descrito casos de funguemia por *F. dimerum* en pacientes con cáncer (Krcmery *et al.*, 1997). Esta especie es capaz de causar fusariosis diseminada en pacientes con leucemia linfoblástica (Austen *et al.*, 2001), donde se halló esta especie de hemocultivos.

Esta especie fúngica no debiera ser propuesta como agente de control biológico de huevos de *T. canis* dado que tiene nula actividad ovicida.

Los huevos de *T. canis* en contacto con *Mucor minutus*, en este trabajo, permanecieron en la trama hifal y este hongo no ejerció un efecto perjudicial sobre ellos. Como se demostró a través de las

observaciones al microscopio óptico, un gran porcentaje de huevos pertenecientes al grupo experimental llegó a su estadio larval. Esto implica que *M. minutus* no ejerció actividad ovicida sobre huevos de *T. canis*.

Se ha experimentado con otra especie de *Mucor*, *M. hiemalis* sobre huevos de *T. canis*, en los cuales esta especie no demostró tener actividad ovicida (Ciarmela *et al.*, 2002; Gortari *et al.*, 2007).

En este trabajo *Trichoderma harzianum* no afectó la viabilidad de los huevos de *T. canis in vitro*, tal como lo demostraron Meyer *et al.* (1990) cuando ensayaron el antagonismo *in vitro* de 20 especies fúngicas, entre ellas *T. harzianum* sobre huevos de *Heterodera glycines*. Esta especie ensayada no alteró la viabilidad de huevos del nematodo.

Siddiki & Shaukat (2004) con el objetivo de determinar la influencia de *T. harzianum* sobre *Pseudomonas fluorescens* contra el nematodo *Meloidogyne javanica* descubrieron que efectivamente esta especie fúngica mejora el biocontrol de *P. fluorescens* contra *M. javanica* tanto *in vitro* como en invernadero.

T. harzianum secreta enzimas del tipo de las quitinasas que afectan al desarrollo de la plaga de lepidópteros sobre plantas de algodón (Binod *et al.*, 2007). Otros investigadores demostraron que *T. harzianum* produce quitinasas sobre sustrato quitinoso proveniente de valvas de cangrejos (Limón *et al.* 2001; Boer *et al.*, 2004). Esta enzima, la quitinasa, parece tener también propiedades antifúngicas tal como lo demostraron Viterbo *et al.* (2001) sobre patógenos de algodón como *Rhizoctonia solani*.

Con respecto a la salud humana *T. harzianum* puede causar micosis diseminada (Guarro *et al.* 1999)

Los huevos de *T. canis* en contacto con *Aspergillus niger* desarrollaron en un porcentaje menor que los huevos control. Los huevos larvados llegaron a este estadio en menor proporción que el grupo control. Probablemente, *A. niger* haya ejercido algún tipo de acción química o enzimática escasa deteniendo su desarrollo, pero no atacándolos de manera mecánica. Esto pudo corroborarse con las observaciones al microscopio electrónico de barrido. En el procesamiento de las muestras, los huevos de *T. canis* no pudieron ser observados porque al no quedar atrapados en la trama hifal, fueron perdiéndose en los sucesivos pasajes de fijador y deshidratantes, reafirmando la no existencia de acción mecánica.

Las conidias observadas en esta experiencia no desarrollaron micelio germinativo para formar la red hifal y así dejar atrapados los huevos de *T. canis* como lo hicieron otras especies fúngicas en este trabajo. Huevos de *T. canis* con morfología inalterada se observaron durante toda la experiencia.

Por lo tanto estos resultados sugieren que *A. niger* ejerce efecto ovistático sobre huevos de *T. canis*.

Está demostrado que el biofilm conformado por *A. niger* sobre ropa de poliéster secreta enzima celulasa que actúa sobre el polisacárido celulosa (Villena & Gutiérrez Correa, 2006). Probablemente, *A. niger* produzca enzimas del tipo de las quitinasas para degradar la quitina de la cubierta de los huevos de *T. canis* y así utilizar los productos de degradación para su nutrición.

A. niger puede causar micosis en inmunocompetentes destacándose un informe de otomicosis bilateral en una mujer de 46 años causada por esta especie fúngica (Mishra *et al.*, 2003).

De acuerdo a su bajo efecto ovicida demostrado en este trabajo, *A. niger* no podría ser utilizada como agente de control biológico sobre huevos de *T. canis*.

Se hallaron 18 especies fúngicas en diez paseos públicos relevados. Este trabajo se centró sobre hongos filamentosos, por lo tanto, dos especies de levaduras y *Sordaria sp.*, que no desarrolló micelio vegetativo a partir de sus ascosporas en medio de cultivo agar malta a temperatura ambiente no fue evaluada su actividad ovicida sobre huevos de *T. canis*.

De las 15 especies fúngicas aisladas e identificadas se encontraron dos especies con "muy alta" actividad ovicida: *Chrysosporium merdarium* y *Fusarium oxysporum* y dos especies con "alta" actividad ovicida: *F. sulphureum* y *F. semitectum*.

Analizando las especies mencionadas respecto a su potencial aplicación en control biológico de huevos de *T. canis* podemos concluir que:

C. merdarium es un hongo de características oportunistas, se lo ha aislado en pacientes con enfermedades granulomatosas crónicas y en pacientes inmunocompetentes con características queratinofílicas habiéndose aislado de muestras de uña y piel. Por lo tanto, para poder utilizar esta especie fúngica como agente de control biológico de *T. canis* deberían realizarse estudios sobre el impacto en la salud humana.

F. oxysporum produce enfermedades oportunistas en pacientes inmunosuprimidos y en inmuno competentes puede provocar queratitis, peritonitis, celulitis. Por lo tanto, para ser utilizado como agente de control biológico sería de sumo interés hacer un estudio sobre dónde sembrar esporas de este hongo sin afectar la salud humana.

F. sulphureum es una especie fúngica que potencialmente podría ser utilizada como agente de control biológico. En la bibliografía se menciona que esta especie solo es patógena en cultivos de papa.

F. semitectum ejerció actividad ovicida alta, pero dado la cantidad de micotoxinas que produce con efecto sobre la

salud humana no debiera ser utilizado como agente de control biológico.

Se hallaron cuatro especies con actividad ovicida "intermedia": *F. moniliforme*, *F. acuminatum*, *F. fusarioides* y *S. alba*. Estas especies no debieran ser utilizadas porque, además de poseer este nivel de actividad ovicida, producen enfermedades oportunistas que dañan la salud del hombre y animales.

Las especies fúngicas aisladas con actividad baja y sin actividad sobre huevos de *T. canis* fueron: *A. flavus*, *P. canescens*, *Monilia sp.*, *F. dimerum*, *M. minutus*, *T. harzianum*, *A. niger*.

Los huevos de *T. canis* pertenecientes al grupo control desarrollaron con normalidad y conservaron su tamaño, estructura y morfología durante todas las experiencias.

La mayoría de los hongos aislados de paseos públicos de La Plata ejercen poca o ninguna actividad ovicida sobre huevos de *T. canis*.

Fusarium sulphureum hallada en esta investigación con alta actividad ovicida, es la única especie que podría ser utilizada como agente de control biológico de huevos de *T. canis* en el ambiente.

Estos resultados avalan posteriores estudios sobre los mecanismos (químicos y/o mecánicos) que utilizan los hongos para destruir los huevos de *T. canis*.

Adejumo, TO; Hettwer, U; Karlovsky, P "Occurrence of *Fusarium* species and trichothecenes in Nigerian maize" Int J Food Microbiol 2007, 116: 350-357.

Agarry, OO; Akinyosoye, FA; Adetuyi, FC "Antagonistic properties of microorganisms associated with cassava (*Manihot esculenta* Crantz) products" Af. J Biotechnol. 2005, 4: 627-632.

Akinsamni OA; Adekunle OK. "Effect of *Fusarium oxysporum* f. sp. *Glycines* and *Sclerotium rolfsii* on the pathogenicity of *Meloidogyne incognita* Race 2 to soybean. Plant Soil 2003, 253:429-435.

Alberton, D; Silva de Oliveira, L; Peralta, RM; Barbossa.Tessman, IP "Production, purification, and characterization of a novel galactose oxidase from *Fusarium acuminatum*" J Basic Microbiology 2007, 47: 203-212.

Anderson, RC "Nematode parasites of vertebrates – their development and transmission" 2000 2nd. Edition, CABI Publishing.

Anke, H; Stadler, M.; Mayer, A. "Secondary metabolites with nematicidal and antimicrobial activity from nematophagous fungi and Ascomycetes" Can. J. Bot. 1995, 73: 932-939.

Araújo, P. "Observacoes pertinentes as primeiras ecdises de larvas de *Ascaris lumbricoides*, *A. suum* e *Toxocara canis*. Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paul. 1972, 14: 83-90.

Araújo JV, Santos MA, Ferraz S "Efeito ovicida de fungos nematofagos sobre ovos embrionados de *T. canis*" Arq Bras Med Vet Zootec 1995, 47: 37-42.

Austen, B; Mc Carthy, H; Wilkins, B; Smith, A; Duncombe, A "Fatal disseminated *Fusarium* infection in acute lymphoblastic leukaemia in complete remission" J Clin Pathol 2001, 54: 488-490.

Bachmeyer, C; Lamarque, G.; Morariu R.; Molina, T.; Bourée, P.; Delmer, A. "Visceral larva *migrans* mimicking lymphoma" C.H.E.S.T. 2003, 123: 1296-1297.

Bakri, Y; Jacques, P; Thonart, P "Xylanase production by *Penicillium canescens* 10-10c in solid-state fermentation" Appl Biochem Biotechnol 2003, 105-108: 737-748.

Barbosa-Tessmann IP; da Silva, DA; Peralta, RM; Kemmelmeier, C "A new species of *Fusarium* producer of galactose oxidase" J Basic Microbiol 2001, 41: 143-148.

Barriga, O. "A critical look at the importance, prevalence and control of toxocaríasis and the possibilities of immunological control" Vet. Parasitol. 1988, 29: 195-234.

Barron, G. L. "The nematode-destroying fungi." Topics in Mycobiology 1977, 1:140.

Basualdo, J.; Minvielle, M.; Pezzani, B.; Niedfeld, G. "Relationship between parasitological inoculum and immunologic parameters in experimental toxocaríasis". Zbl. Bakt. 1995, 282:465-73.

Basualdo, JA; Ciarmela, ML; Sarmiento, PL; Minvielle, MC. "Biological activity of *Paecilomyces* genus against *Toxocara canis* eggs" Parasitol. Res. 2000, 86: 854-859.

Beaver, PC. "Larva *migrans*". Exp. Parasitol. 1956, 5: 587-621.

Benítez del Castillo, Herreros G, Guillen JL, Fenoy S, Bañares A, García J. "Bilateral ocular toxocariasis demonstrated by aqueous humor enzyme-linked immunosorbent assay" *Am. J. Ophthalmol.* 1995, 119: 514-516.

Bhatnagar, D; Cleveland, TE; Payne, GA "Encyclopedia of food microbiology" 2000, 72-79.

Bigley, VH; Duarte, RF; Gosling, RD; Kibbler, CC; Seaton, S; Potter, M "*Fusarium dimerum* infection in a stem cell transplant recipient treated successfully with voriconazole" *Bone Marrow Transplant* 2004, 34:815-817.

Binod, P; Sukumaran, RK; Shirke, SV; Rajput, JC; Pandey, A "Evaluation of fungal culture filtrate containing chitinase as a biocontrol agent against *Helicoverpa armigera*" *J App Microbiol* 2007, 103: 1845-1852.

Blazius, RD; Emerick, S; Prophiro, JS; Torres Romão, PR; Santos da Silva, O. "Ocorrência de protozoários e helmintos em amostras de fezes de cães errantes da Cidade de Itapema, Santa Catarina" *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 2005, 38:73-74.

Boer, H; Munck, N; Natunen, J; Wohlfahrt, G; Söderlund, H; Renkonen, O; Koivula, A "Differential recognition of animal type β 4-galactosylated and α 3-fucosylated chito-oligosaccharides by two family 18 chitinases from *Trichoderma harzianum*" *Glycobiology* 2004, 14: 1303-1313.

Bonants, PJM; Fitters, PF; Thijs, H; den Belder, E; Waalwijk, C; Henfling, JWDM. "A basic serine protease from *Paecilomyces lilacinus* with biological activity against *Meloydogine hapla* eggs. *Microbiology*, 1995, 141:775-784.

Boutati, El; Anaissie, EJ "Fusarium, a significant emerging pathogen in patients with hematologic malignancy; ten years' experience at a cancer center and implications for management" Blood 1997, 90: 999-1008.

Braga, EJ; Uhart, M; Diorio, LA; Forchiassin, F "Effect of cocultivating fungal species on the degradation of lignocellulose residues" Rev. Argent. Microbiol., 2002; 34: 39-44.

Bueno, DJ; Oliver, G "Determination of aflatoxins and zearalenone in different culture media" Methods Mol Biol 2004, 268: 133-137.

Burke, TM y Roberson EL. "Prenatal and lactational transmission of *Toxocara canis* and *Ancylostoma caninum*: experimental infection of the bitch at midpregnancy and at parturition" Int J Parasitol. 1985, 15: 485-490.

Buza, NL; Krinitsyna, AA; Protsenko, MA; Varpetian, VV "Rol of a protein inhibitor of polygalacturonase in ripening of apples and their resistance of infection with *Monilia fructigena*, the causative agent of fruit rot" Prikl Biokhim Mikrobiol 2004, 40:104-108.

Camin, AM; Michelet, C; Langanay, T; de Place, C; Chevrier, S; Gueho, E; Guiguen, C "Endocarditis due to *Fusarium dimerum* four years after coronary artery bypass grafting" Clin Infect Dis 1999, 28: 150.

Castillo, MD; González, HH; Martínez, EJ, Pacin, AM; Resnik, SL "Mycoflora and potential for mycotoxin production of freshly harvested black bean from the Argentinean main production area" Mycopathologia, 2004, 158: 107-112.

Centeno, S; Calvo, MA "Enzymatic activity of micro-organisms isolated from cork wine stoppers" Microbios 2001, 413:69-73.

Chandrawathani, P; Jamnah, O; Waller, PJ; Höglund, J; Larsen, M; Zahari, WM "Nematophagous fungi as a biological control agent for nematode parasites of small ruminants in Malaysia: a special emphasis on *Duddingtonia flagrans*" Vet. Res. 2002, 33: 685-696.

Chandrawathani, P; Jamnah, O; Adnan, M; Waller, PJ; Larsen, M; Gillespie, AT. "Field studies on the biological control of nematode parasites of sheep in the tropics, using the microfungus *Duddingtonia flagrans*" Vet. Parasitol. 2004, 120: 177-178.

Charudattan, R; Coll, M; Heimpel, GE; Hunter, MS; Kaya, HK; Kloeper, JW; Te Beest, D; Vandenberg, JD; Wäckers, F "Biological Control" http://www.elsevier.com/wps/find/journaldescription.cws_home/622791/description#description 2006.

Chiodo, P; Basualdo J; Ciarmela, ML; Pezzani, B; Apezteguía, M; Minvielle, M "Related factors to human toxocariasis in a rural community of Argentina" Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Río de Janeiro 2006 101:397-400.

Chorazy, ML; Richardson DJ "A survey of environmental contamination with ascarid ova, Wallingford, Connecticut" Borne Zoonotic Dis. 2005, 5:33-39.

Ciarmela, ML; Minvielle, MC; Lori, G; Basualdo, JA. "Biological interaction between soil fungi and *Toxocara canis* eggs" Vet Parasitol 2002, 103:251-257.

Cohen, A C. "Critical point drying" Principles and Techniques of Scanning Electron Microscopy (ed. by M A Hayat), 1974, 1:3-49. Von Nostrand Reinhold, New York.

Conde García, L; Muro Álvarez, A; Simón Martín, F. "Epidemiological studies on toxocariasis and visceral *larva migrans* in a zone of westerns Spain". An. Trop. Med. Parasitol. 1989, 83:615-620.

Córdoba, A; Ciarmela, ML; Pezzani B; Gamboa MI; De Luca, MM; Minvielle MC; Basualdo JA "Presencia de parásitos intestinales en paseos públicos urbanos en La Plata, Argentina". Parasitol. Latinoam. 2002, 57:25-9.

Dada, B; Lindquist, W. "Prevalence of *Toxocara sp.* eggs in public grounds and highway rest areas in Kansas". J. Helminthol. 1979, 53:145-6.

Delorenzi, N; Digiani, MC; Navone, G. "Importancia del ambiente como factor regulador de la contaminación parasitológica del suelo" III Jornadas de Zoonosis Microbianas y Parasitarias, II Jornadas de Enfermedades Emergentes de la provincia de Buenos Aires, I Jornada de Medio Ambiente, Educación y Zoonosis de la provincia de Buenos Aires, Libro de resúmenes, 2000: 91.

den Belder, E; Edens, JT; Jansen, E. "Establishment and *Meloidogyne*-capture of an adhesive hyphae-forming isolate of the fungus *Arthrobotrys oligospora* in soil" Appl. Soil Ecol. (1994) 1: 171-183.

Deschiens, R. "La prophylaxie des infestations vermineuses a nematodos par les agents biologiques." La presse medicale 1943, 39: 573-574.

Desjardins, AE; Manandhar, G; Plattner, RD; Maragos, CM; Shrestha, K; McCormick, SP "Occurrence of *Fusarium spp* and mycotoxins in Nepalese maize and wheat and the effect of traditional processing methods on mycotoxin levels" J Agric Food Chem 2000, 48: 1377-1383.

Despommier, D. "Toxocaríasis: Clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects". Clin. Microbiol. Rev. 2003, 16, 265-272.

Devera, R; Hernández H. y Simoes, D. "Huevos de *Toxocara sp.* y otros helmintos en plazas y parques de Ciudad Bolívar, Estado Bolívar" Parasitol. Latin. 2005, 60(2): 304.

Di Giambattista, R ; Federici, F ; Petruccioli, M ; Fenice, M "The chitinolytic activity of *Penicillium janthinellum* P9: purification, partial characterization and potential applications" J App Microbiol 2001, 91: 498-505.

Dignani, MC; Anaissie E "Human fusariosis" Clin. Microbiol. Infect. 2004, 10:67-75.

Dijksterhuis, J; Veenhuis, M; Harder, W.; Nordbring Hertz, B. "Nematophagous fungi: physiological aspects and structure function relationships" Adv. Microb. Physiol. 1994, 36:111-143.

Domsch, K., Gams, W. and Anderson, T. "Compendium of soil Fungi" ed. Verlag 1993.

Dumenigo, B. y Galvez, D. "Soil contamination in Ciudad de La Habana province with *Toxocara canis* eggs". Rev. Cubana Med. Trop. 1995, 47:178-180.

Dunn, MT; Sayre, RM; Carrell, A; Wergin, WP. "Colonization of nematode eggs by *Paecilomyces lilacinus* (Thom) Samsom as observed with scanning electron microscope". SEM 1982, III: 1351-7.

Eberhardt, O; Bialek, R; Nägele, T; Dichgans, J. "Eosinophilic meningomyelitis in toxocariasis: case report and review of the literature". Clin. Neurol. Neurosurgery, 2005, 107: 432-438.

Eilenberg, J. "Concepts and visions of biological control" En: Eilenberg, J; Hokkanen, HMT, editores. An Ecological and Societal Approach to Biological Control. Springer; 2006, 1-11.

Evison, J; Blaser, B; Stauffer, E; Mühlemann, K. "Parapharyngeal abscess by *Aspergillus flavus* in a neutropenic patient with myelogenous leukaemia" *Mycoses* 2007, 50:239-241.

Faedo, M.; Larsen, M. y Thamsborg, S. "Effect of different times of administration of the nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* on the transmission of ovine parasitic nematodes on pasture – a plot study" *Vet. Parasitol.* 2000, 94: 55-65.

Fernández, MR; Selles, F; Gehl, D; De Pauw, RM; Zentner, RP "Crop production factors associated with *Fusarium* head blight in spring wheat in eastern Saskatchewan" *Crop Sci* 2005, 45:1908-1916.

Flores Crespo, J; Herrera Rodriguez, D; Mendoza de Gives, P; Liebano Hernandez, E; Vazquez Prats, VM; Lopez Arellano, ME. "The predatory capability of three nematophagous fungi in the control of *Haemonchus contortus* infective larvae in ovine faeces." *J. Helminthol.* 2003, 77 : 297-303.

Friedrich, J; Gradisar, H; Mandin, D; Chaumont, JP "Screening fungi for síntesis of keratinolytic enzymes" *Letters in Applied Microbiology*, 1999, 28: 127-130.

Galimberti, Kowalczyk, Hidalgo Parra, Gonzalez Ramos, Flores "Cutaneous aspergillosis; a report of six cases" *British J Dermatology* 1998, 139: 522-526.

Gamboa, MI."El suelo como reservorio y dispersor de parásitos de importancia en la sanidad humana y animal" I Congreso Panamericano de Zoonosis, V Congreso Argentino de Zoonosis, II Congreso Bonaerense de Zoonosis, 2006 *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, supl. 3, p. 99.

Garza Ramos, J "Prevención y control de zoonosis mediante factores de riesgo" I Congreso Panamericano de Zoonosis, V Congreso Argentino de Zoonosis, II

Congreso Bonaerense de Zoonosis, 2006 Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana, supl. 3, p. 51.

Genchi, C; Disacco, B; Gatti, S; Sangalli, G; Scagli, M. "Epidemiology of human toxocariasis in northern Italy" *Parassitologia* 1990, 32: 313-319.

Gillespie, SH; Pereira, M; Ramsay, A. "The prevalence of *Toxocara canis* ova in soil samples from parks and gardens in the London area". *Public. Health.* 1991, 105: 335-339.

Girmania, C; Pagano, L; Corvatta, L; Mele, L; Del Favero, A; Martino P. "The epidemiology of fusariosis in patients with haematological diseases" *British J Hematol*, 2000, 111: 272-276.

Glickman, LT; Schantz, P. "Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis" *Epidemiol. Rev.* 1981, 3: 230-250.

Glickman, LT; Magnaval, JF. "Zoonotic roundworm infections" En: *Infectious disease clinics of North America*". Eds. Maguire, J. H. y Keystone, J. S; W. B. Saunders Company, Philadelphia. 1993, 7: 717-32.

Gökahmetoğlu, S; Koç, K; Patiroğlu "Case report. Fatal *Aspergillus flavus* pericarditis in a patient with acute myeloblastic leukaemia" *Mycoses* 2000, 43: 65-66.

Gortari, C; Cazau, C; Hours, R. "Hongos nematofagos de huevos de *Toxocara canis* en un paseo público de La Plata, Argentina" *Rev. Iberoam. Micol.* 2007:24: 24-28.

Gray, NF. "Nematophagous fungi with particular reference to their ecology" *Biol Rev*, 1987; 62: 245-304.

Grønvold, J; Korsholm, H; Wolstrup, J; Nansen, P; Henriksen, SA. "Laboratory experiments to evaluate the ability of *Arthrobotrys oligospora* to destroy infective larvae of *Cooperia* species, and to investigate the effect of physical factors on the growth of the fungus. *J. Helminthol.* 1985, 59: 119-125.

Grønvold, J; Wolstrup, J; Larsen, M; Henriksen, S; Nansen, P. "Biological control of *Ostertagia ostertagi* by feeding selected nematode-trapping fungi to calves." *J. Helminthol.* 1993, 67: 31-36.

Guarro, J; Antolin-Ayala, MI; Gené, J; Gutiérrez Calzada, J; Nieves-Díez, C; Ortopeda, M "Fatal case of *Trichoderma harzianum* infection in a renal transplant recipient" *J Clin Microbiol* 1999, 37: 3751-3755.

Guarro, J; Vieira LA; de Freitas, D; Gené, J; Zaror, L; Hoffling-Lima, AL; Fischman, O; Zorat-Yu, C; Figueras, MJ "Pheoisaria clematidis as a cause of keratomycosis" *J Clin Microbiol* 2000, 38: 2434-2437.

Guilhermetti, E; Takahachi, G; Suemi Shinobu, C; Estivalet Svidzinski, TI "Fusarium spp. as agent of onychomycosis in immunocompetent hosts" *Int J Dermatology* 2007, 46: 822-826.

Hageskal, G; Knusten, AK; Gaustad, P; Sybren de Hoog, G; Skaar, I "Diversity and significance of mold species in Norwegian drinking water" *App Environ Microbiol* 2006; 72: 7586-7596.

Hay, F. S.; Niezen, J.H.; Ridley, G. S.; Bateson, L.; Miller, C.; Robertson, H. "The influence of pasture species and time of deposition of sheep dung on infestation by nematophagous fungi." *Appl. Soil Ecology*, 1997, 6: 181-186.

Hayden, D; van Kruiningen H. "Experimentally induced canine toxocaríasis: laboratory examination and pathologic changes" Am. J.Vet. Med. Ass. 1991, 199:702-707.

Hedayati, MT; Mayahi, S; Aghil, R; Goharimghadam, K. "Airborne fungi in indoor and outdoor of asthmatic patients' home, living in the city of Sari, Iran" J Allergy Asthma Immunol 2005, 4: 189-191.

Hedayati, MT; Pasqualotto, AC; Warn, PA; Bowyer, P; Denning, DW "Aspergillus flavus: human pathogen, allergen and mycotoxin producer" Microbiology 2007, 153:1677-1692.

Holland, RJ; Williams, KL; Khan A. "Infection of *Meloidogyne javanica* by *Paecilomyces lilacinus*" Nematology 1999, 1: 131-139.

Huang, X; Zhao, N; Zhang, K. "Extracellular enzymes serving as virulence factors in nematophagous fungi involved in infection of the host" Res. Microbiol. 2004, 155:811-816.

Hussein, HM; Christensen, MJ; Baxter, M "Occurrence and distribution of *Fusarium* species in maize fields in New Zealand" Mycopathologia 2002, 156: 25-30.

loos, R; Belhadj, A; Menez, M "Occurrence and distribution of *Microdochium nivale* and *Fusarium* species isolated from barley, durum and soft wheat grains in France from 2000 to 2002" Mycopathologia, 2004, 158: 351-362.

Jaffee, BA. "Population biology and biological control of nematodes" Can J Microbiol 1992, 38: 359-364.

Jansson, H. B.; Tunlid, A; Nordbring Hertz, B. "Nematodes" T. Anke (Ed.) Fungal Biotechnology Chapman & Hall, Weinheim, 1997, cap. 3.2:38-50.

Jiménez, M; Huerta, T; Mateo, R "Mycotoxin production by *Fusarium* species isolated from bananas" App Environ. Microbiol 1997, 63: 364-369.

Kayes, SG. "Human toxocarasis and the visceral larva migrans syndroms: correlative immunopathology". Chem. Immunol. Basel, Karger. 1997, 66:99-124.

Khatri, ML; Stefanato, CM; Benghazeil, M; Shafi, M; Kubba, A; Bhawan, J "Cutaneous and paranasal aspergillosis in an immunocompetent patient" Int. J Dermatology 2000, 39: 853-856.

Kim, DG; Riggs, RD; Correll, JC "Isolation, characterization and distribution of a biocontrol fungus from cysts of *Heterodera glycines*" Phytopathology, 1998, 88: 465-471.

Kornblatt, A; Schantz, P. "Veterinary and public health considerations in canine roundworm control" J Am Vet Med Ass. 1979, 177:1212-1215.

Krcmery, V; Jesenska, Z; Spanik, S; Gyarfás, J; Nogova, J; Botek, R; Mardiak, J; Suffiarsky, J; Sisolakova, J; Vanickova, M; Kunova, A; Studena, M; Trupl, J "Fungaemia due to *Fusarium* in cancer patients. J Hosp Infect 1997, 36: 223-228.

Krunic, AL; Medenica, M; Busbey, S "Solitary embolic cutaneous aspergillosis in the immunocompromised patient with acute myelogenous leukemia – a propos another case caused by *Aspergillus flavus*" Int J Dermatology 2003, 42: 946-950.

Kunert, J. "On the mechanism of penetration of ovicidal fungi through egg shells of parasitic nematodes. Decomposition of chitinous and ascaroside layers." *Folia Parasitologica* 1992, 39: 61-66.

Larsen, M. "Prospects for controlling animal parasitic nematodes by predacious micro fungi". *Parasitology* 2000, 120: 121-131.

Laufer, M. "Toxocariasis" <http://www.emedicine.com/PED/topic2270.htm>, 2004.

Lees, AK; Bradshaw, JE "Inheritance of resistance to *Fusarium sulphureum* in crosses between *S. tuberosum* potato cultivars measured on field and glasshouse grown tubers" *Potato Research* 2001, 44:147-152.

Leger, RJ; Frank, DC; Roberts, DW; Staples, RC; "Molecular cloning and regulatory analysis of the cuticle-degrading-protease structural gene from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*" *Eur J Biochem* 1992, 204: 991-1001.

Letscher-Bru, V; Campos, F; Waller, J; Randriamahazaka, R; Candolfi, E; Herbrecht, R "Successful outcome of treatment of a disseminated infection due to *Fusarium dimerum* in a leukemia patient. *J Clin Microbiol* 2002, 40:1100-1102.

Li, YC; Ledoux, DR; Bermúdez, AJ; Fritsche, KL; Rottinghaus, GE "Effects of fumonisin B₁ on selected immune responses in broiler chicks" *Poultry Science*, 1999, 78: 1275-1282.

Limon, MC; Margolles-Clark, E; Benítez, T; Penttilä "Addition of substrate-binding domains increases substrate-binding capacity and specific activity of a chitinase from *Trichoderma harzianum*" *FEMS Microbiology Letters*, 2001, 198: 57-63.

Logrieco, A; Moretti, A; Castella, G; KostECKI, M; Golinski, P; Ritieni, A; Chelkowski, J "Beauvericin production by *Fusarium* species" App Environ Microbiol 1998, 64: 3084-3088.

López Llorca, L.V. "Purification and properties of extracellular produced by nematophagous fungus *Verticillium suchlasporium*" Can. J. Microbiol. 1990, 36:530-537.

Lori GA, SM Wolcan, CI Monaco "Fusarium moniliforme, nuevo patógeno de los cultivares asiáticos de *Lilium*" Investigación Agraria. Producción y protección vegetales 1999, 14:117-130.

Luo,H; Mo, M; Huang, X; Li, X; Zhang, K. "Coprinus comatus : A basidiomycete fungus forms novel spiny structures and infects nematodo." Mycologia, 2004, 96:1218-1224.

Luo,H; Li, X; Li, G; Pan, Y; Zhang, K. "Acanthocytes of *Stropharia rugosoannulata* function as a nematode-attacking device" Appl. Environ. Microbiol. 2006, 72: 2982-2987.

Lýsek, H; FassatiOVA, O; Cuervo Pineda, N; Lorenzo Hernández, N. "Ovicidal fungi in soils of Cuba". Folia parasitologica (Praha). 1982, 29:265-70.

Lýsek, H; Krajcì D. "Penetration of ovicidal fungus *Verticillium chlamydosporium* through the *Ascaris lumbricoides* egg-shells" Folia parasitologica (Praha). 1987, 34:57-60.

Lýsek, H y Nigenda, G. "Capacidad de autodeshormintización del suelo". Salud Publica Mex. 1989, 31: 763-771.

Lýsek, H; Sterba, J. "Colonization of *Ascaris lumbricoides* eggs by the fungus *Verticillium chlamydosporium* Goddard." *Folia parasitologica (Praha)*. 1991, 38:255-259.

Lloyd, S. "*Toxocara canis*: the dog" *Toxocara* and *Toxocariasis*. *Brit. Soc. Parasitol.* 1993, 11-23.

Mahdi, N.K. y Ali, H.A. "*Toxocara* eggs in the soil of public places and schools in Basrah, Iraq". *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 1993, 87 :201-205.

Martínez Ordaz, VA; Rincon-Castaneda, CB; Esquivel López, G; Lazo-Saenz, JG; Llorenz Meraz, MT; Velasco Rodríguez, VM "Fungal spores in the environment of the asthmatic patient in a semidesert area of Mexico" *Rev Alerg Mex* 2002, 49: 2-7.

Marti, GA; Scorsetti, AC; Siri, A; Lastra, CC. "Isolation of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Deuteromycotina: Hyphomycetes) from the Chagas disease vector, *Triatoma infestans* (Hemiptera: Reduviidae) in Argentina" *Mycopathologia* 2005, 159: 389-391.

Mc Evoy, PB. "Host specificity and biological pest control" *Bio Science* 1996, 46: 401-405.

Mennan, S; Aksoy, M; Ecevit, O. "Antagonistic effect of *Fusarium oxysporum* on *Heterodera cruciferae*" *J. Phytopathology* 2005, 153:221-225.

Meyer, SLF; Huettel, RN; Sayre, RM "Isolation of fungi from *Heterodera glycines* and in vitro bioassays for their antagonism to eggs" *J Nematol* 1990, 22: 532-537.

Mikunthan, G; Manjunatha, M "Pathogenicity of *Fusarium semitectum* against crop and its biosafety to non-target organism" *Commun Agric Appl Biol Sci* 2006, 71: 465-473.

Minvielle, M.; Pezzani, B. y Basualdo, J. "Frequency of findings eggs in canine stool samples collected in public places from La Plata city, Argentina". *Bull. Chil. Parasitol.* 1993, 48: 63-65.

Minvielle, M "Parámetros inmunopatogénicos en la infección experimental murina con huevos de *Toxocara canis*" Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Médicas, pp. 124, 1995.

Minvielle, MC; Niedfeld, G; Ciarmela ML; De Falco, A; Ghiani, H; Basualdo, JA "Asma y toxocarosis encubierta" *Medicina (Buenos Aires)* 1999, 59: 243-248.

Minvielle, MC; Niedfeld, G; Ciarmela ML; Basualdo, JA. "Toxocariosis causada por *Toxocara canis*: aspectos clinicoepidemiológicos." *Enf. Infecc. Microbiol. Clin.:* 1999, 17: 300-6.

Minvielle, M; Tauss, MR; Raffo, A; Ciarmela, ML; Basualdo, J. "Seroprevalence of toxocariosis in blood donors of Gualeguaychú, Argentina" *Trans. R. Soc. Med. Hyg.* 2000, 94: 373-375.

Minvielle, M; Tauss, MR; Ciarmela, ML; Francisconi, M; Barlasina, M; Pezzani, B C; Gasparovic, A; Raffo, A; Goldaracena, C. "Aspectos epidemiológicos asociados a toxocarosis en Gualeguaychú, Entre Ríos. Argentina" *Parasitol. Latinoam.* 2003, 58:128-130.

Mishra, GC; Mehta, N; Pal, M "Chronic bilateral otomycosis caused by *Aspergillus niger*" *Mycoses*, 2003, 47:82-84.

Molto, GA; González, HH; Resnik, SL; Pereyra González, A "Production of trichothecenes and zearalenone by isolates of *Fusarium* spp from Argentinian maize" Food Addit Contam 1997, 14: 263-268.

Munkvold, G; Stahr, HN; Logrieco, A; Moretti, A; Ritieni, A "Occurrence of fusaproliferina and beauvericin in *Fusarium* contaminated livestock feed in Iowa" App. Environ. Microbiol. 1998, 64: 3923-3926.

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

Nicoletti, R; López-Gresa, MP; Manzo, E; Carella, A; Ciavatta, ML "Production and fungitoxic activity of Sch 642305, a secondary metabolite of *Penicillium canescens*" Mycopathologia, 2007, 163:295-301.

Nir-Paz, R; Strahilevitz, J; Shapiro, M; Keller, N; Goldschmied-Reouven, A; Yarden O; Block, C; Polacheck, I "Clinical and epidemiological aspects of infections caused by *Fusarium* species: a collaborative study from Israel" J Clin Microbiol 2004, 42: 3456-3461.

Nitao, J.K.; Meyer, S.L.F.; Chitwood, D. J. "In vitro assays of *Meloidogyne incognita* and *Heterodera glycines* for detection of Nematode-antagonistic fungal compounds." J. Nematol. 1999, 31: 172-183.

Nordbring Hertz, B. "Nematophagous fungi: strategies for nematode exploitation and for survival" Microbiological Sciences 1988, 5: 108-116.

Okoshi, S; Usui, M. "Experimental infection in mice, chickens and earthworms with *Toxascaris leonina*, *Toxocara canis* and *Toxocara cati*." Jpn. J. Vet. Sci. 1968, 30: 151-166.

O'Lorcain, P. "Prevalence of *T. canis* ova in public playgrounds in the Dublin area of Ireland". J. Helminth. 1994, 68, 237-241.

Olivares-Bernabeu, CM; López-Llorca, L. "Fungal egg-parasites of plant-parasitic nematodos from Spanish soils". Rev Iberoam Micol 2002, 19:104-110.

Oshima, T. "Standardization of techniques for infecting mice with *Toxocara canis* and observations on the normal migration routes of the larvae. J. Parasitol. 1961, 47: 652-6.

Overgaauw, P.A. "Aspects of *Toxocara* epidemiology: Human Toxocariosis". Crit. Rev. Microbiol. 1997, 23: 215-231.

Pacin, AM; González, HH; Etcheverry, M; Resnik, SL; Vivas, L; Espin, S "Fungi associated with food and feed commodities from Ecuador" Mycopathologia 2003, 156: 87-92.

Paraud, C.; Chartier, C. "Biological control of infective larvae of a gastro-intestinal nematode (*Teladorsagia circumcincta*) and a small lungworm (*Muellerius capillaries*) by *Duddingtonia flagrans* in goats faeces." Parasitol. Res. 2003, 89:102-106.

Paraud, C.; Hoste, H; Lefrileux, Y.; Pommaret, A.; Paolini, V. ; Pors, I. ; Chartier, C. "Administration of *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to goats to control gastro-intestinal nematodes: dose trials." Vet. Res. 2005, 36:157-166.

Pardo, AG; Forchiassin, F. "Influence of temperature and pH on cellulase activity and stability in *Nectria catalinensis*" Rev. Argent. Microbiol. 1999, 31: 31-35.

Parkinson D, Williams Sl. "A method for isolating fungi from soil microhabitats" Plant and soil 1961, 13: 347-355.

Patil, RS; Ghormade, V; Deshpande, MV. "Chitinolytic enzymes: an exploration" *Enzyme and microbial Technology* 2000, 26:473-483.

Pegg, E. "Dog roundworms and public health" *Vet. Rec.* 1975, 97, 78-80.

Pereira, D; Basualdo, J; Minvielle, M; Pezzani, B; Pagura, E; Demarco, J. "Catastro parasitológico: Helmintiasis en canes. Area Gran La Plata. Sobre 1000 casos." *Vet. Argentina*, 1991, 7:165-172.

Pezzani, BC; Minvielle, MC; Basualdo Farjat JA. "Toxocariasis humana". *Infectología* 1993, 6: 9-13.

Poinar, GO; Börje Jansson, H. "Infection of *Neoaplectana* and *Heterobhabditis* (Rhabditida: Nematoda) with the predatory fungi, *Monacrosporium elliposporum* and *Athrrobotrys oligospora* (Moniliales: Deuteromycetes)" *Revue Nématol.* 1986, 9: 241-244.

Ramesh, VM; Hilda, A. "Incidence of keratinophilic fungi in the soil of primary schools and public parks of Madras City, India" *Mycopathologia*, 1998, 143:139-145.

Rankovic, B "Antagonistic activity of a natural fungal population towards pathogenic bacteria. An in vitro study" *Riv. Biol* 2005, 98:167-177.

Rheeder, JP; Marasas, WFO; Vismer, HF "Production of fumonisin analogs by *Fusarium* species" *Appl. Environm. Microbiol.* 2002, 68: 2101-2105.

Rey, M; Delgado Jarana, J; Rincón, AM; Limón, MC; Benitez, T. "Mejora de cepas de *Trichoderma* para su empleo como fungicidas. *Rev Iberoam Micol* 2000, 17: 31-36.

Rogers, MS; Dooley, DM "Cooper-tyrosyl radical enzymes" *Curr Op Chem Biol* 2003, 7: 189-196.

Rohacik, T; Hudec, K "Influence of agro-environmental factors on *Fusarium* infestation and population structure in wheat kernels" *Ann Agric Environ Med* 2005, 12: 39-45.

Roilides, E; Sigler, L; Bibashi, E; Katsifa, H; Flaris, N; Panteliadis, C. "Disseminated infection due to *Chrysosporium zonatum* in a patient with chronic granulomatous disease and review of non-*Aspergillus* fungal infections with this disease" *J Clin Microbiol* 1999, 37:18-25.

Rose, FL; Koke, J; Koehm, R; Smith, D "Identification of the etiological agent for necrotizing scute disease in the Texas tortoise" *J Wildlife Diseases* 2001, 37: 223-228.

Sallaber, S; Lori, G; Galeppi, I "Keratomycosis by *Fusarium dimerum*" *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1999, 17:146-147.

Salomón C., "Enseñanza de la Parasitología en la Carrera de Medicina, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Cuyo" I Congreso Panamericano de Zoonosis, V Congreso Argentino de Zoonosis, II Congreso Bonaerense de Zoonosis, 2006 Libro de resúmenes, p. 82.

Sánchez Thevenet, P.; Jensen, O.; Mellado, I.; Torrecillas, C.; Raso, S.; Flores, M.E.; Minvielle, M.C.; Basualdo, J.A. "Presence and persistence of intestinal parasites in canine fecal material collected from the environment in the Province of Chubut, Argentine Patagonia" *Vet. Parasitol.* (2003) 117, 263-269.

Saumell, C. A.; Fernández A. S. "Hongos nematófagos para el control biológico de nemátodos parásitos de rumiantes" *Rev. Med. Vet.* (2000) 81, 270-273.

Saumell, CA. "Control mediante hongos nematófagos" Reunión de especialistas en parasitología veterinaria de Argentina, Brasil, Chile, Paraguay y Uruguay. 11° Encuentro de Veterinarios endoparasitólogos rioplatenses. 2002. Libro de resúmenes.

Sayre, RM. "Biotic influences in soil environment." *Plant. Parasite Nematodes* 1971, 1:235-256.

Scheidegger, KA; Payne, GA "Unlocking the secrets behind secondary metabolism: a review of *Aspergillus flavus* from pathogenicity to functional genomics. *J Toxicol* 2003, 22: 423-459.

Serani, S; Taligoola, HK; Hakiza, GJ. "An investigation into *Fusarium spp.* associated with coffee and banana plants as potential pathogens of robusta coffee" *African J Ecology* 2007, 45:91-95.

Shadzi, S; Chadeganipour, M; Alimoradi, M "Isolation of keratinophilic fungi from elementary schools and public parks in Isfahan, Iran" *Mycoses*, 2002, 45:496-499.

Siddiqui, IA; Shaukat, SS "*Trichoderma harzianum* enhances the production of nematicidal compounds in vitro and improves biocontrol of *Meloidogyne javanica* by *Pseudomonas fluorescens* in tomato" *Letters in App Microbiol* 2004, 38: 169-175.

Silva, R.A.; Sánchez Thevenet P. "Parásitos intestinales en suelo: prevalencia y relación con el tipo de sustrato" X Congreso Argentino de Microbiología, Libro de resúmenes. 2001, 79.

Sinitsyna, OA; Bukhtoyarov, FE; Gusakov, AV; Okunev, ON; Bekkarevitch, AO; Vinetsky, YP; Sinitsyn, AP "Isolation and properties of major components of *Penicillium canescens* extracellular enzyme complex" *Biochemistry (Mosc)* 2003, 68:1200-1209.

Sinitsyna, OA; Fedorova, EA; Semenova, MV; Gusakov, AV; Sokolova, LM; Bubnova, TM; Okunev, ON; Chulkin, AM; Vavilova, EA; Vinetsky, YP; Sinitsyn AP "Isolation and characterization of extracellular pectin lyase from *Penicillium canescens*" Biochemistry (Mosc) 2007; 72: 565-571.

Smith, H. "Immune evasion and immunopathology in *Toxocara canis* infection." Parasitic Nematodes. Londres: Taylor y Francis Ltd., 1991: 116-139.

Soriano, SV; Barbieri, LM; Pierángeli, NB; Giayetto, AL; Manacorda, AM; Castronovo, E; Pezzani, BC; Minvielle, MC; Basualdo, JA. "Intestinal parasites and the environment: frequency of intestinal parasites in children of Neuquén, Patagonia, Argentina" Rev. Latinoam. Microbiol. 2001; 43: 96-101.

Stewart, JM; Cubillan, LD; Cunningham, ET. "Prevalence, clinical features, and causes of vision loss among patients with ocular toxocariasis" Retina, 2005, 25:1005-1013.

Surgan, MH; Colgan, KB; Kennett, ST; Paffmann JV. "A survey of canine toxocariasis and toxocaral soil contamination in Essex Country, New Jersey". Am. J. Public. Health. 1980, 70:1207-1208.

Taranto, NJ; Passamonte, L; Marinconz, R; de Marzi, MC; Cajal, SP; Malchiodi, EL. "Zoonotic parasitosis transmitted by dogs in the Chaco Salteño, Argentina" Medicina (B. Aires) 2000; 60:270-272.

Teyssot, N; Cassoux, N; Lehoang, P; Bodaghi, B. "Fuchs heterochromic cyclitis and ocular toxocariasis" Am. J. Ophatalmol. 2005, 139: 915-916.

Tikhonov, VE; López Llorca, LV; Salinas, J; Hans Borje, J. "Purification and characterization of chitinases from the nematophagous fungi *Verticillium*

chlamydosporium and *V. suchlasporium*. Fungal Genetics and Biology 2002, 35:67-78.

Tiscornia, S; Lupo, S; Korenko, V; Bettuci, L "Fungi and nematodes occurring in different composts used in Uruguayan agriculture" J Environ Biol 2005, 26: 609-614.

Tonon, SA; Marucci, RS; Jerke, G; García, A "Mycoflora of paddy and milled rice produced in the region of northeastern Argentina and southern Paraguay" Int J Food Microbiol 1997, 37: 231-235.

Tunlid, A.; Johansson, T.; Nordbring-Hertz, B. "Surface polymers of the nematode trapping fungus *Arthrobotrys oligospora*. J. Gen. Microbiol. 1991, 137:1231-1240.

Uga, S; Minami, T; Nagata, K. "Defecation habits of cats and dogs and contamination by *Toxocara* eggs in public park sandpits". Am. J. Trop. Med. Hyg. 1996, 54: 122-6.

Vanparijs, O.; Hermans, L; van der Flaes, L. "Helminth and protozoan parasites in dogs and cats in Belgium" Vet. Parasitol. 1991, 38:67-73.

Vargas Terán, M.; Del Barrio Reyna, L. "Control de las parasitosis en América" I Congreso Panamericano de Zoonosis, V Congreso Argentino de Zoonosis, II Congreso Bonaerense de Zoonosis, 2006, Libro de resúmenes p. 46.

Vavilova, EA; Antonova, SV; Barsukov, ED; Vinetskii, I "Mechanism of overproduction of secreted enzymes in the mycelial fungus *Penicillium canescens*" Prikl Biokhim Mikrobiol 2003, 39: 284-292.

Veenhuis, M; Nordbring-Hertz, B; Harder, W. "An electron-microscopical analysis of capture and initial stages of penetration of nematodes by *Arthrobotrys oligospora*". *Antonie van Leeuwenhoek* 1985, 51: 385-398.

Vidal, JE; Sztajn bok, J; Seguro AC. "Eosinophilic meningoencephalitis due to *Toxocara canis*: case report and review of the literature". *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 2003, 69: 341-343.

Vidyasagar, GM; Hosmani, N; Shivkumar, D. "Keratinophilic fungi isolated from hospital and soils of public places at Gulbarga, India" *Mycopathologia* 2005;159:13-21.

Villena, GK; Gutiérrez.Corra, M "Production of cellulose by *Aspergillus niger* biofilms developed on polyester cloth" *Letters in App. Microbiol.* 2006, 43: 262-268.

Vimer, HF; Marasas, WF; Rheeder, JP; Joubert, JJ "*Fusarium dimerum* as cause of human eye infections" *Med Mycol* 2002, 40:399-406.

Viterbo, A; Haran, S; Friesem, D; Ramot, O; Chet, I "Antifungal activity of a novel endochitinase gene (chit 36) from *Trichoderma harzianum* Rifai TM" *FEMS Microbiol Letters* 2001, 200: 169-174.

Vujanovic, V; Hamel, C; Yergeau, E; St Arnaud, M "Biodiversity and biogeography of *Fusarium* species from northeastern North American asparagus fields based on microbiologica and molecular approaches" *Microb Ecol* 2006, 51: 242-255.

Waghorn, TS; Leathwick, DM; Chen, LY; Gray, RAJ; Skipp, RA. "Influence of nematophagous fungi, earthworms and dung burial on development of the free-living stages of *Ostertagia (Teladorsagia) circumcincta* in New Zealand". *Vet. Parasitol.* 2002, 104:119-129.

Waller, PJ; Faedo, M. "The prospects for biological control of the free-living stages of nematode parasites of livestock" *Int. J. Parasitol.* 1996, 26: 915-925.

Wang, B; Brubaker, L; Burdon, J "Fusarium species and fusarium wilt pathogens associated with native *Gossypium* populations in Australia" *Mycol. Res.* 2004, 108: 35-44.

Weber, Z; Kostecki, M; von Bargen, S; Gossman, M; Waskiewicz, A; Bocianowski, J; Knaflewski, M; Büttner, C; Golinski P. "Fusarium species colonizing spears and forming mycotoxins in field samples of asparagus from Germany and Poland" *J Phytopathology* 2006, 154:209-216.

Westphal, A; Becker, JO. "Biological suppression and natural population decline of *Heterodera schachtii* in a California field. *Phytopathology*, 1999, 89:434-440.

Wharton, DA. "Nematode egg-shells" *Parasitology* 1980, 81:447-463.

Wharton, DA; Murray DS. "Preparation of the nematode-trapping fungus, *Arthrobotrys oligospora*, for scanning electron microscopy by freeze substitution". *J. Micros.* 1990, 158: 81-85.

Whittaker, JW "Galactose oxidase" *Adv Prot Chem*, 2002, 60:1-49.

Xinou, E; Lefkopoulos, A; Gelagoti, M; Drevelegas, A; Diakou, A; Milonas, I; Dimitriadis, AS. "CT and MR imaging findings in cerebral toxocaral disease" *Am J Neuroradiol.* 2003, 24:714-718.

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1.	Estructura de la cubierta del huevo de <i>T. canis</i>	5
2.	Ciclo de vida de <i>T. canis</i>	7
3.	Área muestreada de la ciudad de La Plata	46
4.	Interacción <i>Chrysosporium merdarium</i> /huevos de <i>T. canis</i>	79
5.	Evolución de huevos de <i>T. canis</i> en presencia (GE)/ausencia (GC) de <i>Chrysosporium merdarium</i>	80
6.	Interacción <i>F. oxysporum</i> /huevos de <i>T. canis</i>	84
7.	Evolución de huevos de <i>T. canis</i> en presencia (GE)/ausencia (GC) de <i>F. oxysporum</i>	85
8.	Interacción <i>F. sulphureum</i> /huevos de <i>T. canis</i>	89
9.	Evolución de huevos de <i>T. canis</i> en presencia (GE)/ausencia (GC) de <i>F. sulphureum</i>	90
10.	Interacción <i>F. aff. semitectum</i> /huevos de <i>T. canis</i>	94
11.	Evolución de huevos de <i>T. canis</i> en presencia (GE)/ausencia (GC) de <i>F. aff. semitectum</i>	95
12.	Interacción <i>F. moniliforme</i> /huevos de <i>T. canis</i>	99
13.	Evolución de huevos de <i>T. canis</i> en presencia (GE)/ausencia (GC) de <i>F. moniliforme</i>	100
14.	Interacción <i>S. alba</i> /huevos de <i>T. canis</i>	105
15.	Evolución de huevos de <i>T. canis</i> en presencia (GE)/ausencia (GC) de <i>S. alba</i>	106
16.	Interacción <i>F. aff. acuminatum</i> /huevos de <i>T. canis</i>	110
17.	Evolución de huevos de <i>T. canis</i> en presencia (GE)/ausencia (GC) de <i>F. aff. acuminatum</i>	111
18.	Interacción <i>F. fusarioides</i> /huevos de <i>T. canis</i>	115
19.	Evolución de huevos de <i>T. canis</i> en presencia (GE)/ausencia (GC) de <i>F. fusarioides</i>	116
20.	Interacción <i>P. canescens</i> /huevos de <i>T. canis</i>	121
21.	Evolución de huevos de <i>T. canis</i> en presencia (GE)/ausencia (GC) de <i>P. canescens</i>	122
22.	Interacción <i>Monilia sp</i> /huevos de <i>T. canis</i>	126
23.	Evolución de huevos de <i>T. canis</i> en presencia (GE)/ausencia (GC) de <i>Monilia sp</i>	127
24.	Interacción <i>A. flavus sp</i> /huevos de <i>T. canis</i>	131
25.	Evolución de huevos de <i>T. canis</i> en presencia (GE)/ausencia (GC) de <i>A. flavus</i>	132
26.	Interacción <i>F dimerum</i> /huevos de <i>T. canis</i>	136
27.	Evolución de huevos de <i>T. canis</i> en presencia (GE)/ausencia (GC) de <i>F. dimerum</i>	137
28.	Interacción <i>M. minutus</i> /huevos de <i>T. canis</i>	140
29.	Evolución de huevos de <i>T. canis</i> en presencia (GE)/ausencia (GC) de <i>M. minutus</i>	141
30.	Interacción <i>T. harzianum</i> /huevos de <i>T. canis</i>	145
31.	Evolución de huevos de <i>T. canis</i> en presencia (GE)/ausencia (GC) de <i>T. harzianum</i>	146
32.	Interacción <i>A. niger</i> /huevos de <i>T. canis</i>	151

33. Evolución de huevos de *T. canis* en presencia (GE)/ausencia (GC) de *A. niger* 152

ÍNDICE DE FOTOS

FOTO	PÁGINA
1. <i>Arthrobotrys oligospora</i> (MicrobeLibrary.org, www.microbeworld.org).....	26
2. <i>Dactylaria candida</i> (science.scu.edu.tw/.../image 006.jpg)	26
3. Conidios adherentes de <i>H. rhossiliensis</i> (de www.cpes.peachnet.edu)	27
4. Zoosporas de <i>C. anguillulae</i> (agroecology.ifas.ufl.edu/nematophagous)	27
5. <i>V. chlamydosporium</i> (http://plpnemweb.ucdavis.edu/nemaplex/images/antago30.jpg)	28
6. Eliminación de la hojarasca superficial de un área de 20cm de lado	44
7. Toma de muestra de tierra... ..	45
8. Conservación de muestra de tierra en bolsa de polietileno rotulada....	45
9. Degranulación de la muestra de tierra.....	48
10. Tamizado de muestras.....	49
11. Lavado de muestras.....	49
12. Secado de la muestra por bomba de vacío.....	49
13. Muestra de tierra secada.....	50
14. Procesamiento de <i>T. canis</i>	52
15. Disección de <i>T. canis</i>	52
16. Filtrado de huevos de <i>T. canis</i>	53
17. <i>F. acuminatum</i> (colonia en AM).....	60
18. <i>F. acuminatum</i> (macroconidias 400x).....	60
19. <i>F. dimerum</i> (colonia en AM).....	61
20. <i>F. dimerum</i> (macroconidias 400x).....	61
21. <i>F. aff. semitectum</i> (colonia en AM).....	62
22. Microfotografía electrónica de <i>F. aff. semitectum</i> (macroconidias, clamidosporas).....	62
23. <i>F. aff. semitectum</i> (clamidosporas 400x).....	63
24. <i>F. sulphureum</i> (colonia en AM).....	64
25. Microfotografía electrónica de <i>F. sulphureum</i> (macroconidias).....	64
26. <i>A. flavus</i> (colonia en AM), http://www.mold.ph/images/a.flavus.gif	65
27. <i>A. flavus</i> (cabeza aspergilar 400x).....	65
28. <i>F. moniliforme</i> (colonia en AM).....	66
29. Microfotografía electrónica de <i>F. moniliforme</i> (macroconidias y microconidias).....	66
30. <i>F. fusarioides</i> (colonia en AM).....	67
31. <i>F. fusarioides</i> (macroconidias 400x).....	67
32. <i>F. oxysporum</i> (colonia en AM).....	68
33. <i>F. oxysporum</i> (microconidias 400x).....	68
34. <i>F. oxysporum</i> (clamidosporas 400x).....	68
35. <i>F. oxysporum</i> (macroconidias 400x).....	68
36. <i>C. merdarium</i> (colonia en AM).....	69
37. <i>C. merdarium</i> (conidias 400x).....	69
38. <i>P. canescens</i> (colonia en AM).....	70
39. <i>P. canescens</i> (fructificación 400x).....	70
40. <i>S. alba</i> (colonia en AM).....	71
41. Microfotografía electrónica de <i>S. alba</i> (conidios).....	71
42. <i>T. harzianum</i> (colonia en AM).....	72
43. <i>T. harzianum</i> (fructificación 400x).....	72
44. <i>A. niger</i> (colonia en AM).....	73

45. <i>A. niger</i> (cabeza aspergilar 400x).....	73
46. <i>M. minutus</i> (colonia en AM).....	74
47. <i>M. minutus</i> (esporangio 400x).....	74
48. <i>Monilia</i> sp. (colonia en AM).....	75
49. <i>Monilia</i> sp. (fructificación 400x).....	75
50. Huevo de <i>T. canis</i> no desarrollado (400x).....	77
51. Huevo de <i>T. canis</i> en desarrollo (400x).....	77
52. Huevo en estadio de larva 1 (L1 400x).....	78
53. Huevo en estadio de larva 2 (L2 400x).....	78
54. Microfotografía electrónica de <i>C. merdarium</i> (fructificación día 4)	82
55. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> colonizado y destruido por <i>C. merdarium</i> (día 21 postcultivo).....	82
56. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> colonizado y destruido por <i>C. merdarium</i> (día 28 postcultivo).....	83
57. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en la trama hifal de <i>F. oxysporum</i> (día 4)	86
58. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> con cubierta lisa en la trama hifal de <i>F. oxysporum</i> fructificado (día 14 postcultivo).....	87
59. Microfotografía electrónica de huevo deformado de <i>T. canis</i> en trama hifal de <i>F. oxysporum</i> (Día 28)	87
60. Microfotografía electrónica de huevo deformados y destruidos, con cubierta lisa en la trama hifal de <i>F. oxysporum</i> (Día 28)	88
61. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> y <i>F. sulphureum</i> (Día 7 post-cultivo)	92
62. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> sin la cubierta externa (Día 21)	92
63. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> destruidos por <i>F. sulphureum</i> en el día 28 de cultivo	93
64. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> en cultivo con <i>F. sulphureum</i> (Día 28)	93
65. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en la trama hifal de <i>F. aff. semitectum</i> (Día 4)	97
66. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> deformados y de cubierta lisa en contacto con <i>F. aff. semitectum</i>	97
67. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> colonizado por <i>F. aff. semitectum</i> (Día 28)	98
68. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> y <i>F. moniliforme</i> (Día 4 postcultivo)	102
69. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> con cubierta lisa en contacto con <i>F. moniliforme</i> (Día 7 postcultivo)	102
70. Microfotografía electrónica de superficie huevo de <i>T. canis</i> con abultamiento de hifa de <i>F. moniliforme</i> (Día 21 postcultivo)	103
71. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> formes en la trama hifal rodeados de conidias de <i>F. moniliforme</i> (Día 21 postcultivo)	103
72. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> deformados en la trama hifal de <i>F. moniliforme</i> (Día 28 postcultivo)	104
73. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en la trama hifal de <i>S. alba</i> (Día 4 postcultivo).....	107
74. Microfotografía electrónica de hifas adhesivas de <i>S. alba</i> sobre huevos de <i>T. canis</i> (Día 7 postcultivo)	108

75. Microfotografía electrónica de fructificación de <i>S. alba</i> sobre huevo deformado de <i>T. canis</i> (día 14 postcultivo)	108
76. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> destruidos en contacto con <i>S. alba</i> (día 28)	109
77. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en trama hifal de <i>F. aff. acuminatum</i> (Día 4 postcultivo)	112
78. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en trama hifal de <i>F. aff. acuminatum</i> (Día 7 postcultivo)	113
79. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en trama hifal de <i>F. aff. acuminatum</i> fructificado (Día 14)	113
80. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> sobre la red hifal de <i>F. aff. acuminatum</i> (día 28)	114
81. Microfotografía electrónica de <i>F. fusarioides</i> , hifas adhesivas sobre huevos de <i>T. canis</i> (día 4)	118
82. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> sobre trama hifal de <i>F. fusarioides</i> (día 7)	118
83. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en trama hifal de <i>F. fusarioides</i> (día 14)	119
84. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en trama hifal de <i>F. fusarioides</i> (día 21)	119
85. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> con cubierta lisa en trama hifal de <i>F. fusarioides</i> (día 28)	120
86. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en trama hifal de <i>P. canescens</i> fructificado con conidias adheridas (día 4)	124
87. Microfotografía electrónica de hifa adhesiva de <i>P. canescens</i> sobre la superficie de huevo de <i>T. canis</i> (día 7 post cultivo)	124
88. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en trama hifal de <i>P. canescens</i> (día 28)	125
89. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en trama hifal de <i>Monilia sp</i> (día 4)	129
90. Microfotografía electrónica de fructificación de <i>Monilia sp</i> (día 14 post cultivo)	129
91. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en trama hifal de <i>Monilia sp</i> con conidias adhesivas (día 14)	130
92. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> deformados en la trama hifal de <i>Monilia sp</i> (día 28 post cultivo)	130
93. Microfotografía electrónica de fructificación de <i>A. flavus</i> (día 4)	134
94. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en la trama hifal de <i>A. flavus</i> fructificado	134
95. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> con cubierta lisa sobre la red hifal de <i>A. flavus</i> (día 28)	135
96. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> sobre la red hifal de <i>A. flavus</i> (día 28)	135
97. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en la trama hifal de <i>F. dimerum</i> (día 7 post cultivo)	139
98. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en la trama hifal de <i>F. dimerum</i> (día 28 post cultivo)	139
99. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> rodeado de hifas de <i>M. minutus</i> (día 4)	143
100. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> rodeado de hifas de <i>M. minutus</i> con fructificación (día 7)	143

101. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> en trama hifal de <i>M. minutus</i> (día 7).....	144
102. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> en trama hifal de <i>M. minutus</i> (día 28).....	144
103. Microfotografía electrónica de <i>T. harzianum</i>	148
104. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> con hifas y conidias adheridas de <i>T. harzianum</i> (día 7).....	148
105. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> en trama hifal de <i>T. harzianum</i> (día 14).....	149
106. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> con hifas adheridas de <i>T. harzianum</i> (día 21).....	149
107. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i> en trama hifal de <i>T. harzianum</i> (día 28).....	150
108. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> en trama hifal débil con conidias adheridas de <i>A. niger</i> (día 4 post cultivo)	153
109. Microfotografía electrónica de cabeza aspergilar de <i>A. niger</i>	154
110. Microfotografía electrónica de detalle de hifas adhesivas de <i>A. niger</i> sobre huevos de <i>T. canis</i> (día 14 post cultivo)	154
111. Microfotografía electrónica de huevos de <i>T. canis</i> rodeados de conidias de <i>A. niger</i> (día 28 post cultivo)	155
112. Microfotografía electrónica de huevo de <i>T. canis</i>	155
113. Huevos de <i>T. canis</i> / <i>F. acuminatum</i> (día 4 post incubación).....	156
114. Microfotografía electrónica de <i>Sordaria sp</i>	157

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
1. Clasificación taxonómica de hongos nematofagos; Géneros y Clases representativos (modificada de Dijksterhuis, 1994)	29
2. Actividad enzimática de hongos nematofagos (Kunert, 1992).....	34
3. Distribución de las especies aisladas en paseos públicos de la ciudad de La Plata.....	59
4. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>C. merdarium</i> (GE)	81
5. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>F. oxysporum</i> (GE).....	85
6. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>F. sulphureum</i> (GE)	91
7. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>F. aff. semitectum</i> (GE)	96
8. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>F. moniliforme</i> (GE)	100
9. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>S. alba</i>	106
10. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>F. aff. acuminatum</i>	111
11. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>F. fusarioides</i>	117
12. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>P. canescens</i>	122
13. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>Monilia</i> sp.....	127
14. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>A. flavus</i>	133
15. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>F. dimerum</i>	138
16. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>M. minutus</i>	142
17. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>T. harzianum</i>	147
18. Análisis de varianza de huevos no desarrollados de <i>T. canis</i> (GC) y en presencia de <i>A. niger</i>	152
19. Especies fúngicas aisladas y su actividad ovicida sobre huevos <i>Toxocara canis</i>	158