



**AISLAMIENTO E IDENTIFICACION
MOLECULAR DE HONGOS CON POTENCIAL
ANTAGONISTA DE HUEVOS DE NEMATODOS
PATOGENOS DE GANADO OVINO**

Presentado por:

Juan Felipe Marín Grajales

Asesor Externo

Jimmy Jolman Vargas Duarte Ph,D

Asesor Interno

. Martha Lucia Posada Buitrago Ph,D



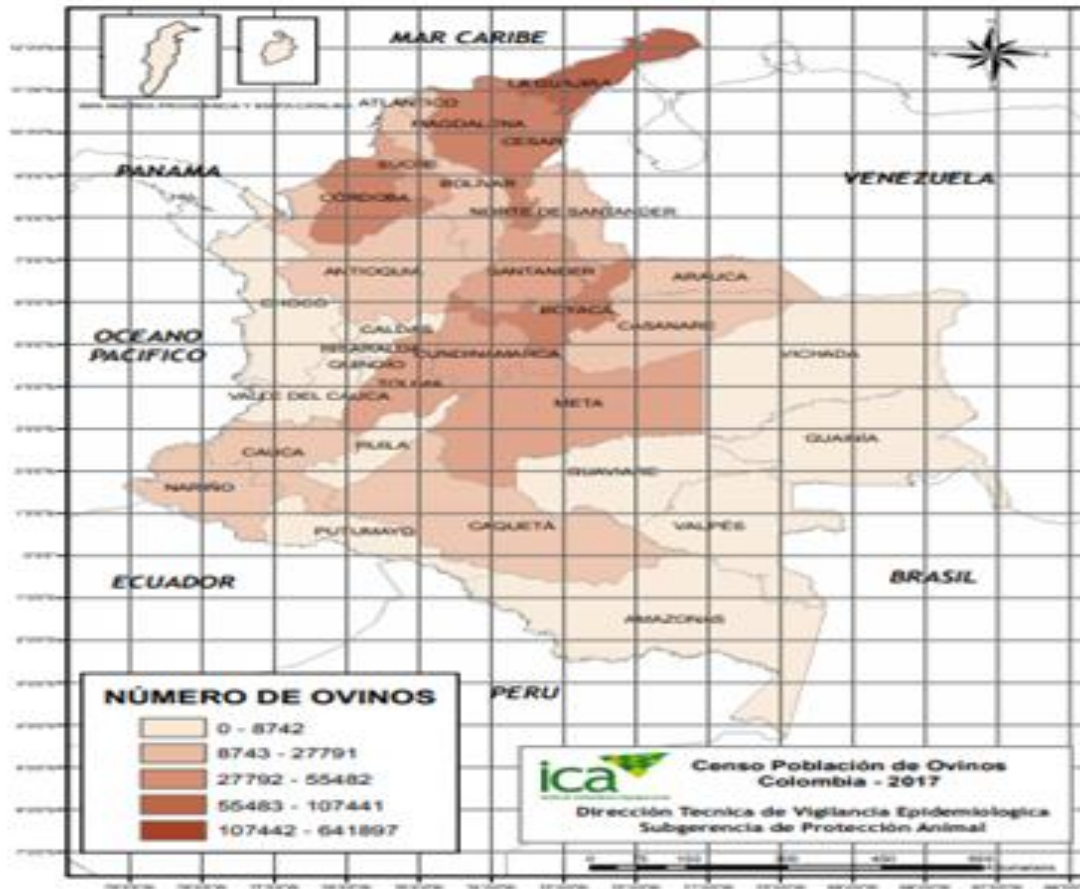
CIDTEO



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA



Introducción

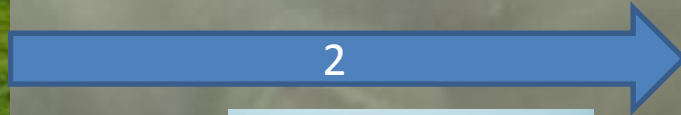


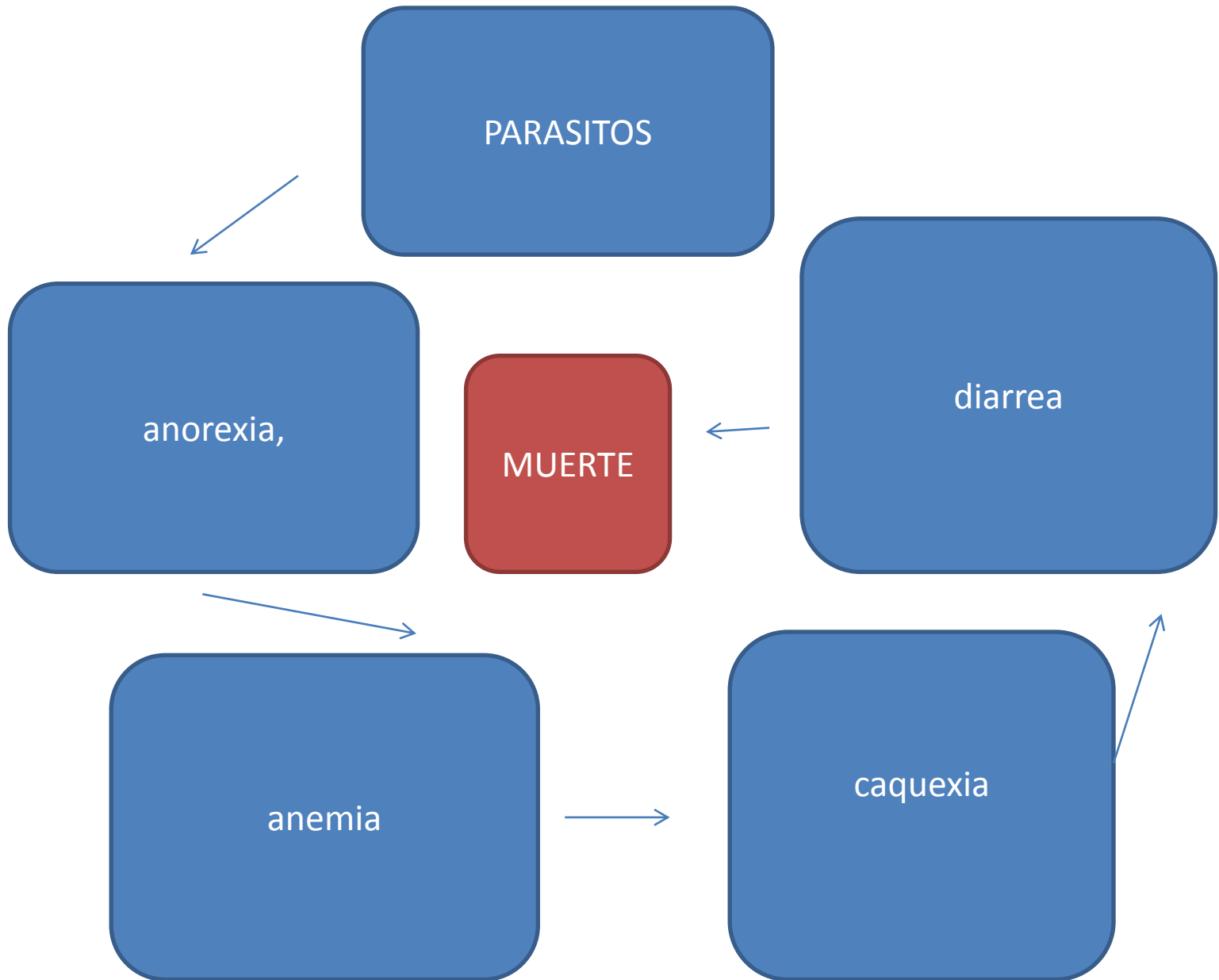
Guajira que aporta al inventario ovino un (29.5%) Boyacá (11,12%), Norte De Santander (10.8%), Magdalena (9,11%), Sucre (7.5%), Córdoba (7,23%), Cundinamarca (6,54%), Cesar (6,05%), Santander (4,0%), Tolima (3,52%), Casanare (2,38%) y Sucre (2,25%),

Figura1. (ICA) censo ovino Colombia 2017,
Elaborado por la dirección técnica vigilancia epidemiológica: población total 1.449.705
ovinos

Tabla 1. Clasificación taxonómica de los Ovinos.

Reino	Animal
Filum	Chordata
Clase	Mammalia
Orden	Ungulado
Suborden	Artiodáctyla
Familia	Bovidae
Tribu	Caprini
Género	<i>Ovis</i>
Especie	<i>Ovisaries</i>

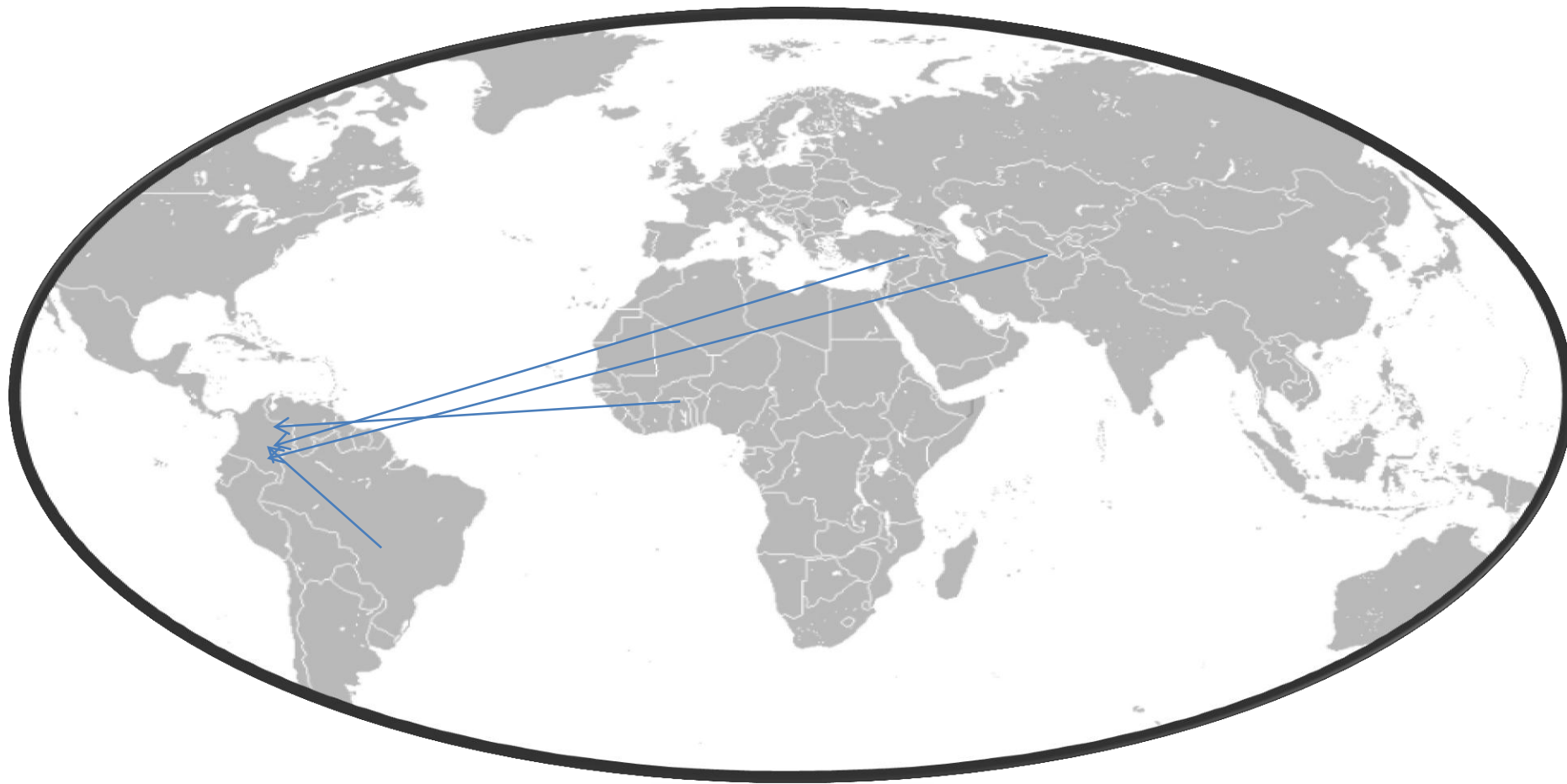


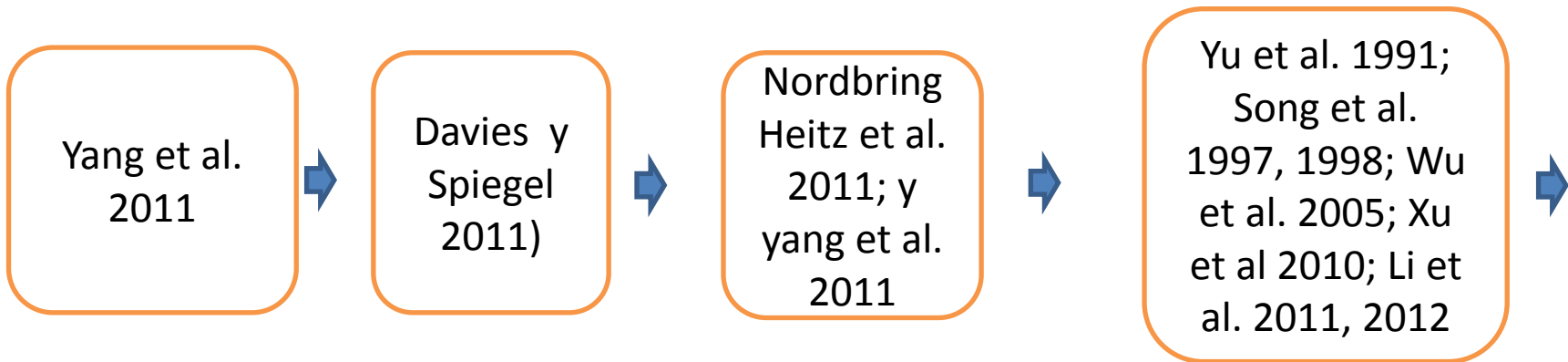
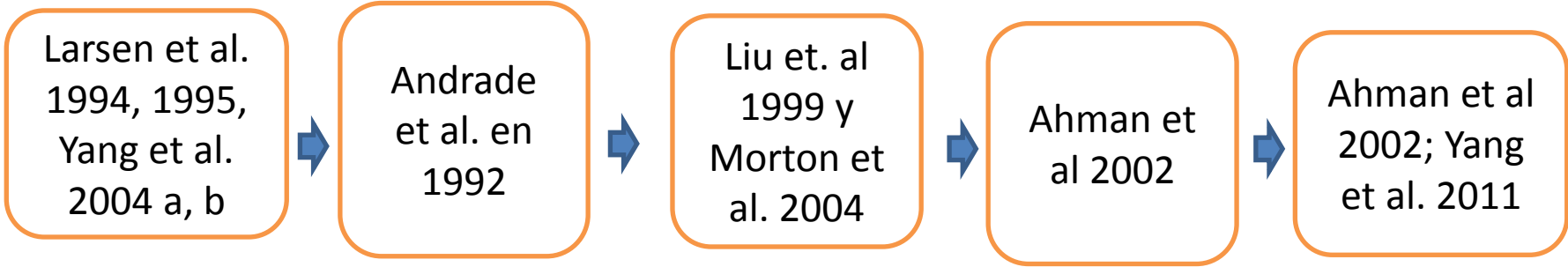


OBJETIVOS

- I OBJETIVO GENERAL
 - -Identificar hongos de suelo sub-paramuno con potencial antagonista sobre huevos de helmintos patógenos de ganado ovino.
- II OBJETIVOS ESPECÍFICOS
 - -Aislar hongos filamentosos de suelo semi-paramuno del municipio de Nemocón Cundinamarca.
 - -Determinar de manera cualitativa el efecto de los hongos aislados sobre los huevos de helmintos patógenos de ganado ovinos mediante el enfrentamiento de los huevos vs conidias obtenidas a partir de filtración.
 - -Identificar de manera molecular los hongos con mayor potencial antagonista.

ANTECEDENTES





HONGOS

Hongos
endoparásitos

Hongos
ovicidas

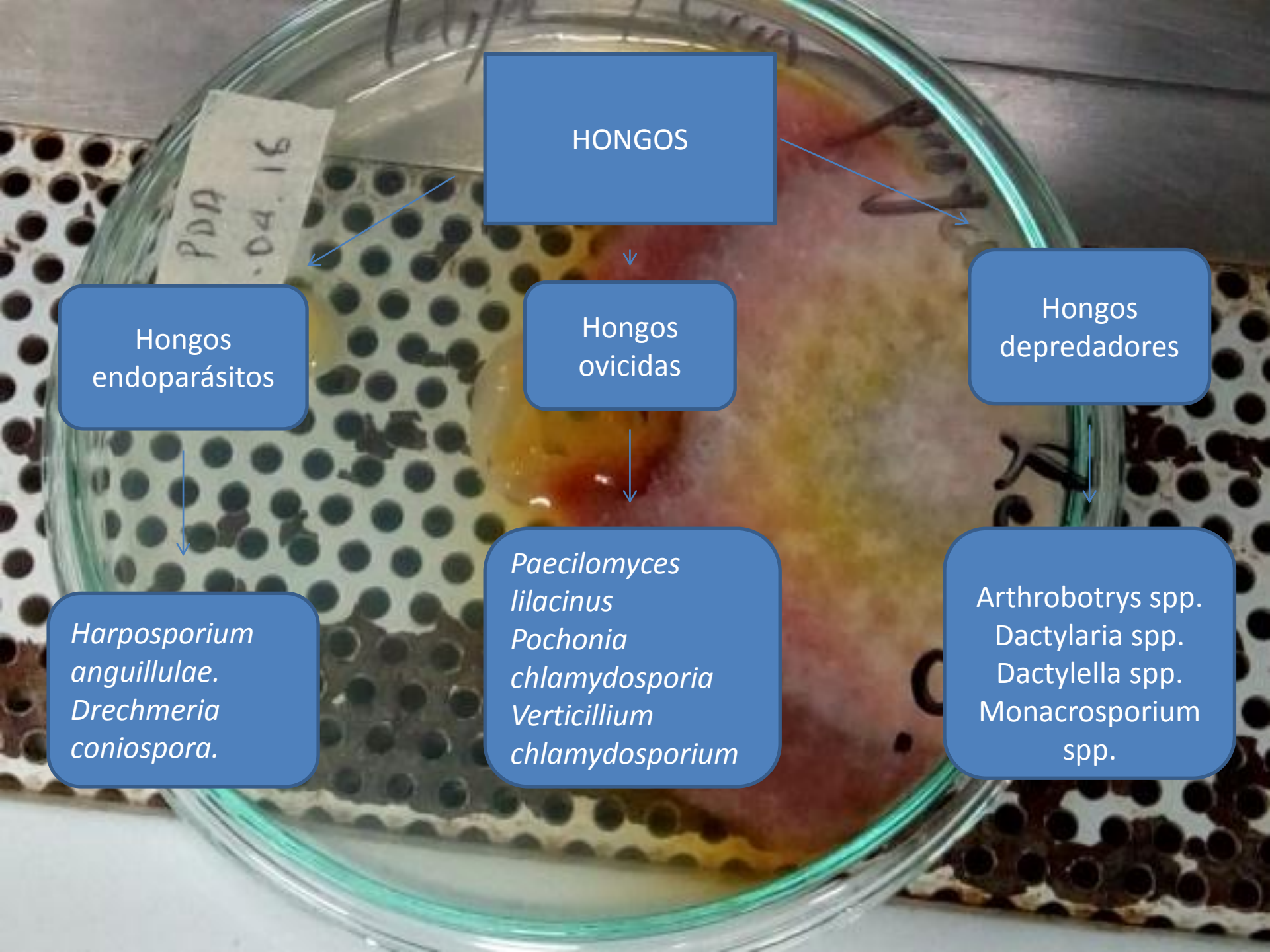
Hongos
depredadores

*Harposporium
anguillulae.*
*Drechmeria
coniospora.*

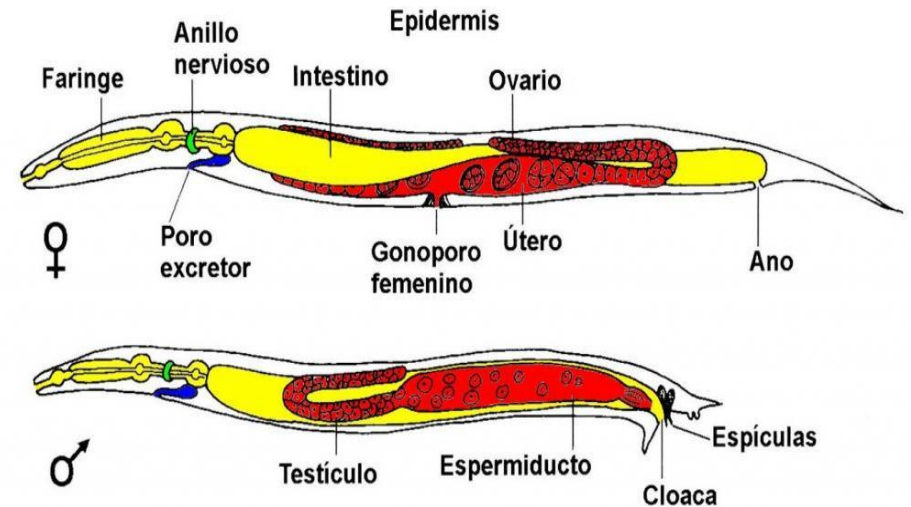
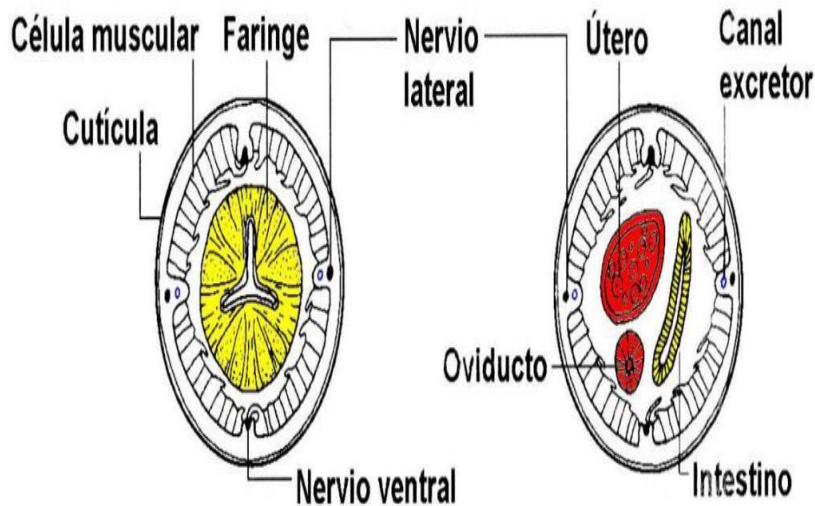
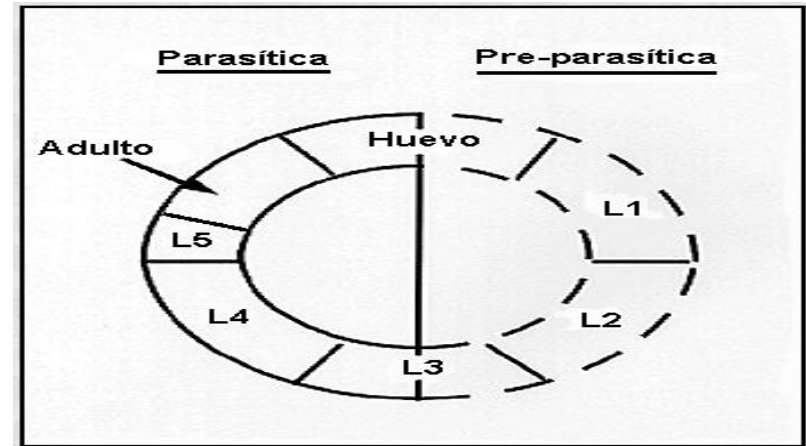
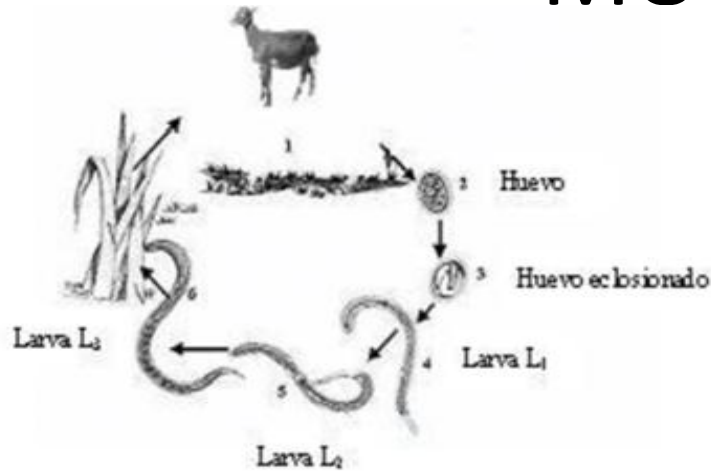
*Paecilomyces
lilacinus*
*Pochonia
chlamydosporia*
*Verticillium
chlamydosporium*

Arthrobotrys spp.
Dactylaria spp.
Dactylella spp.
Monacrosporium
spp.

PDA
04.16



PARASITOS :CICLO DE VIDA Y MORFOLOGIA



GENERO Y UBICACIÓN DE LAS PARASITOSIS MAS FRECIENTES EN OVINOS

ABOMASO	INTESTINO DELGADO	INTESTINO GRUESO	PULMONES
<i>Haemonchus contortus y similis.</i>	<i>Bronostomum sp. Trichocephallum</i>	<i>Oesophagostomum Columbianum .</i>	<i>Dictyocaulus .</i>
<i>Teladorsagia circumcinta, ostertagi.</i>	<i>Trichostrongylus columbriformis.</i>	<i>Chabertia</i>	<i>Diasocaulus.</i>
<i>Trichostrongylus axei.</i>	<i>Strongiloides papillosus.</i>	<i>Trichuris ovis, globulosa.</i>	
	<i>Cooperia curticei.</i>	<i>Skrajavinema ovis.</i>	
	<i>Toxocara.</i>		
	<i>Nematodirus battus, spathiger.</i>		<i>(Martines &Hidalgo 2015)</i>

Suelo sub-paramuno



Según Cuesta et al.
2008 Colombia posee
más de 1.443.425
hectáreas de
territorio paramuno
que representa el
47.65 % de paramos
a nivel Suramérica

2725 msnm

Temperatura
media de
12.5 °C

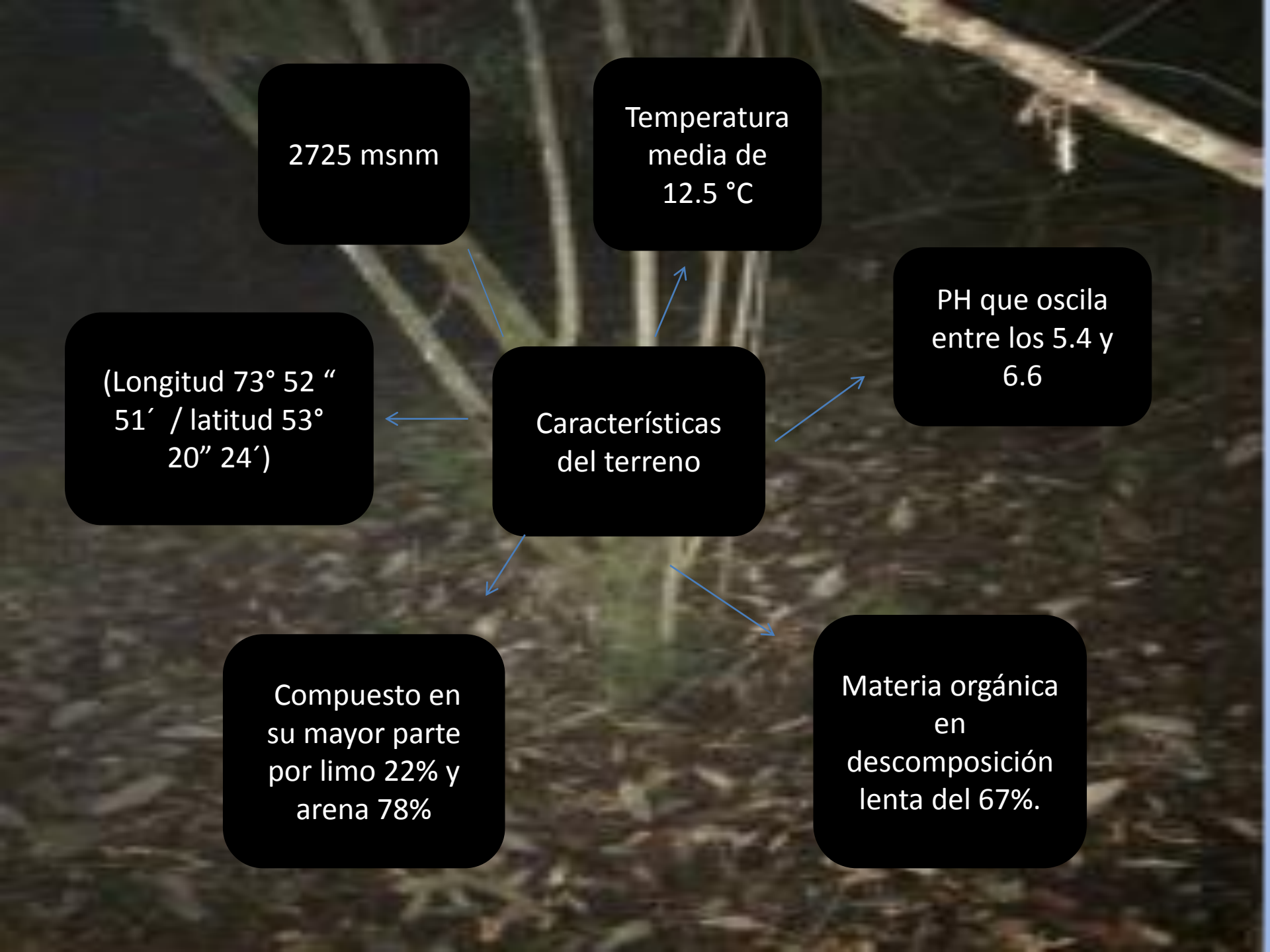
PH que oscila
entre los 5.4 y
6.6

(Longitud 73° 52 " 51' / latitud 53° 20" 24')

Características
del terreno

Compuesto en
su mayor parte
por limo 22% y
arena 78%

Materia orgánica
en
descomposición
lenta del 67%.



A photograph of a grassy field with a sheep and a dog, overlaid with the text "Diseño metodológico". The scene is a rural landscape with a green field in the foreground, a fence line, and trees in the background under an overcast sky. A utility pole is visible on the right side. The text is centered and written in a large, bold, black font.

Diseño metodológico

TIPO DE VARIABLE	NOMBRE DE LA VARIABLE	DEFINICION TEORICA	CLASIFICACION DE LA VARIABLE
Independiente	Cepas Fúngicas	El uso de especímenes fúngicos para determinar el porcentaje de reducción. Este se basa en su potencial para degradar diferentes tipos de sustratos , que se encontró en una revisión de bibliografía que habla sobre el metabolismo de los mismos y estudios previos que usan hongos como insumo principal para ejercer biocontrol de otros organismos.	Cualitativa
dependiente		Escala de daño en los huevos de nematodos	Cualitativa
Independiente		Concentración de conidias de las seis cepas fúngicas evaluadas.	Cuantitativa

METODOLOGIA

MUESTREO



DILUCIONES



SIEMBRA EN PROFUNDIDAD



PURIFICACION DE LAS CEPAS



FILTRACION DEL MICELIO



CONTEO DE CONIDIAS



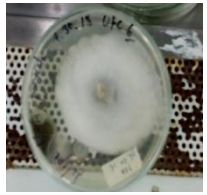
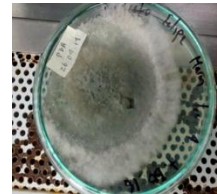
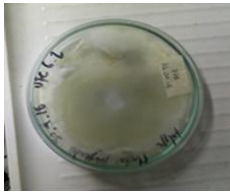
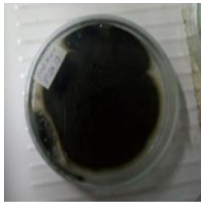
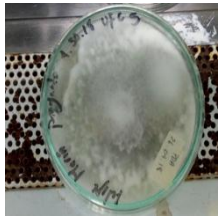
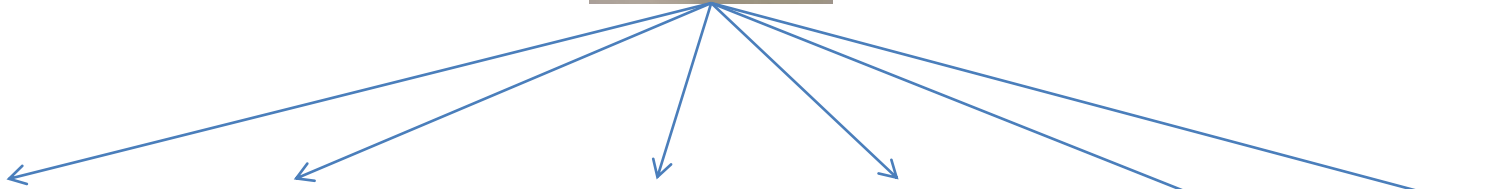
OBTENCION DE HUEVOS Y CONTEO EN CAMARA McMASTER



ENFRENTAMIENTOS



DIL



LA
V



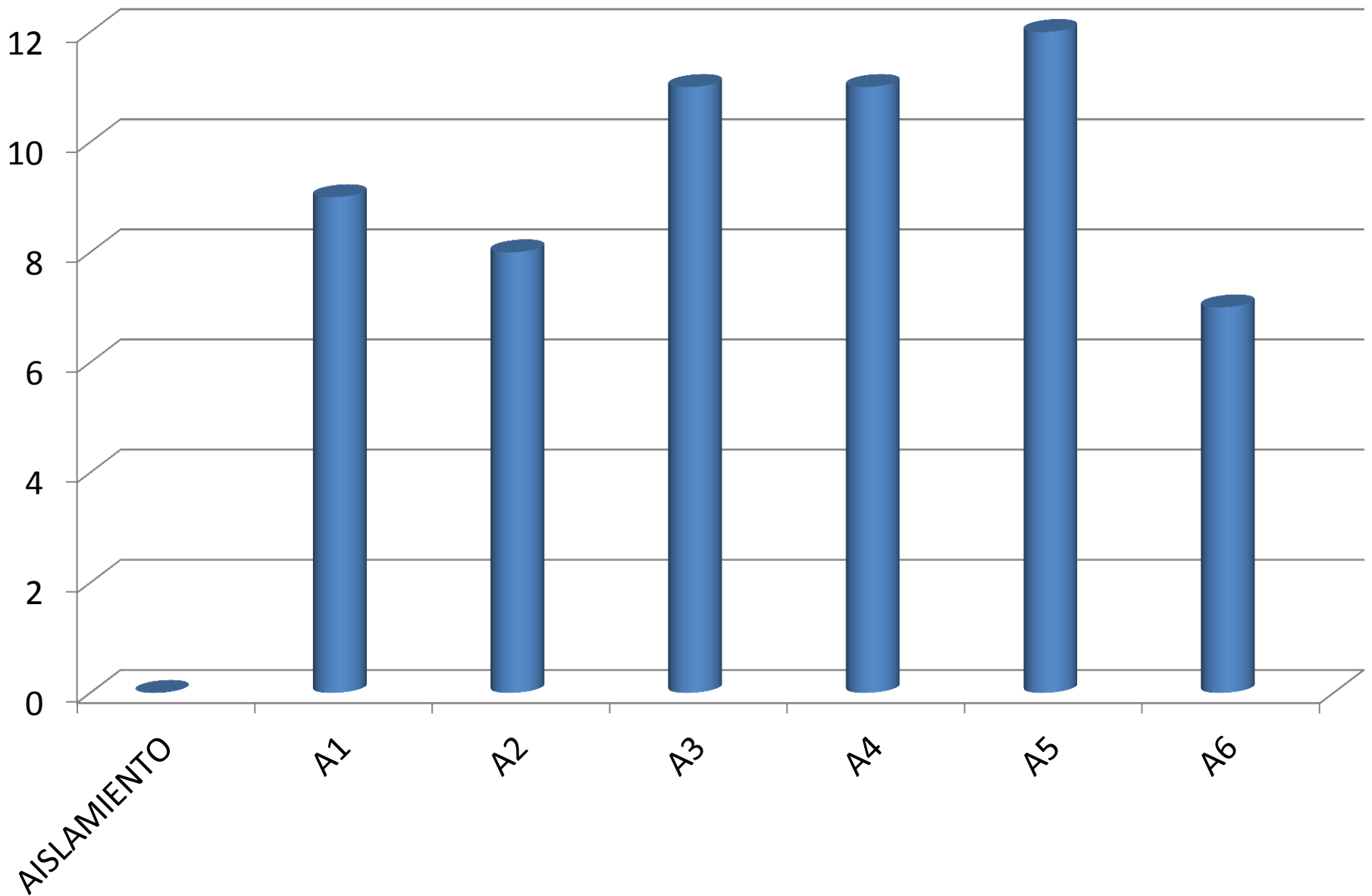
→



→



CRECIMIENTO EN DIAS DE LOS AISLAMIENTOS EN (PDA)



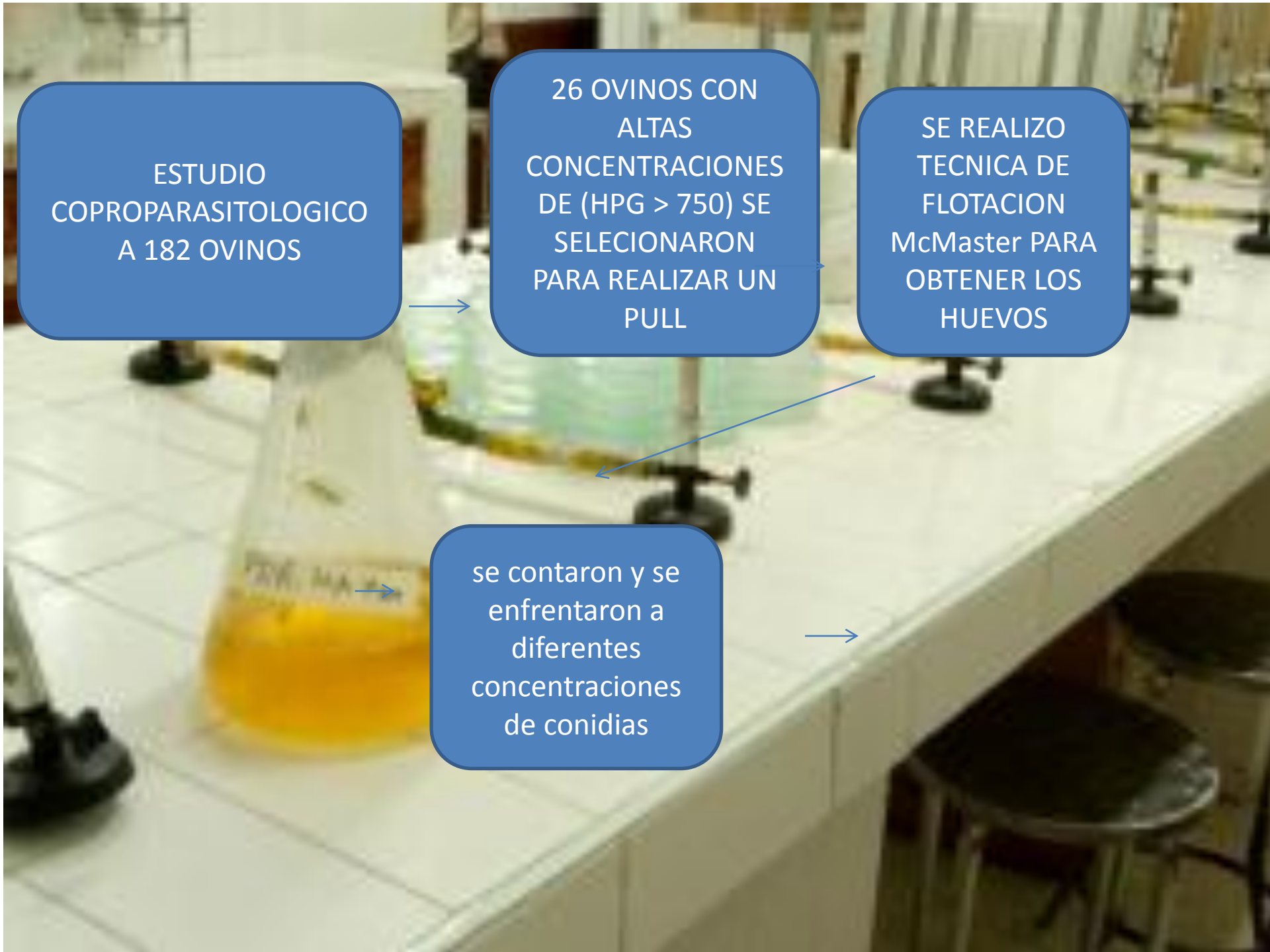
Hongo	Conteo	Formula	Total en 50 μ L
A1	19	19.40	760
A2	22	22.40	880
A3	25	25.40	1000
A4	19	19.40	760
A5	18	18.40	720
A6	27	27.40	1.080

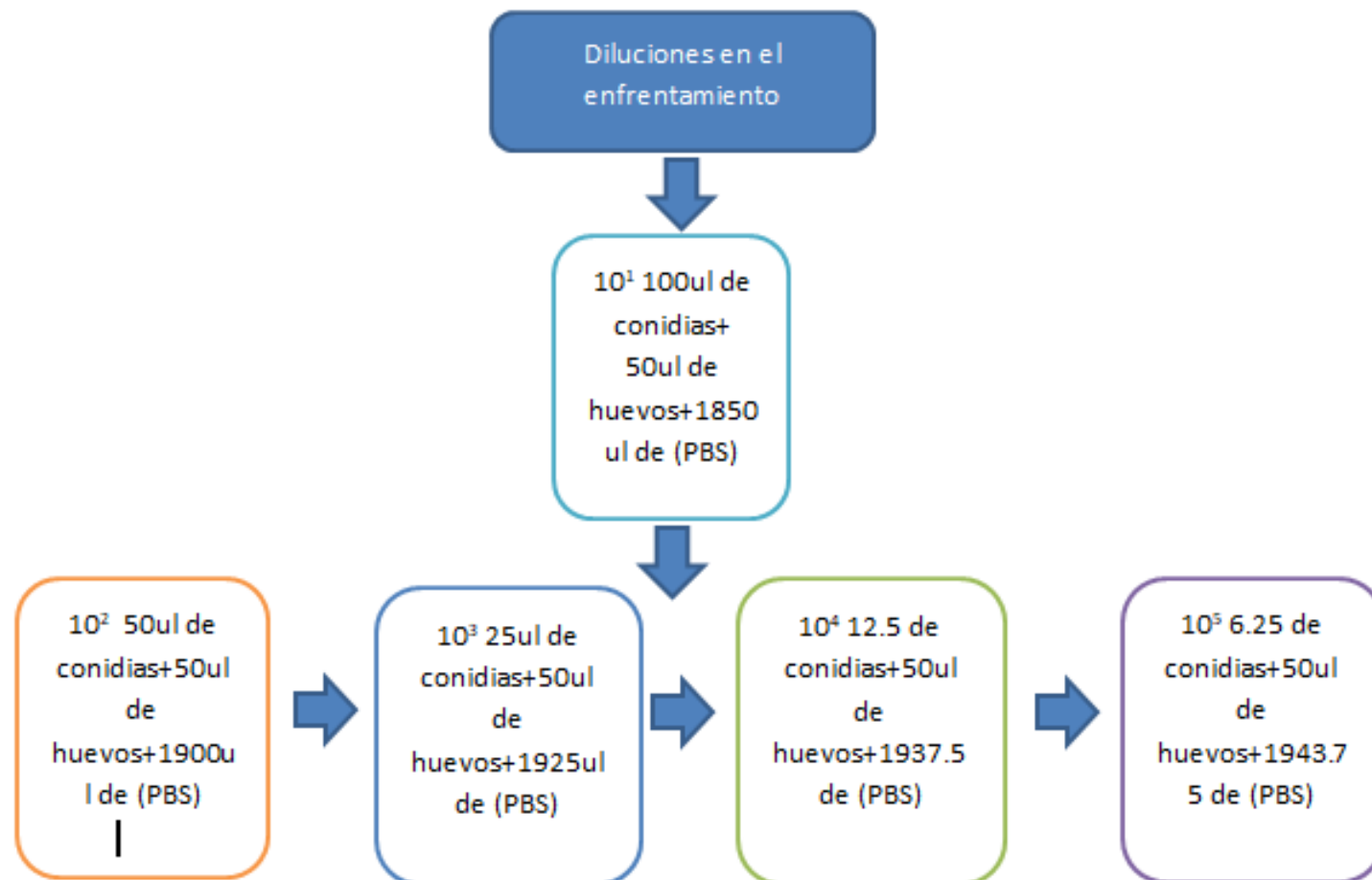
ESTUDIO
COPROPARASITOLÓGICO
A 182 OVINOS

26 OVINOS CON
ALTAS
CONCENTRACIONES
DE (HPG > 750) SE
SELECCIONARON
PARA REALIZAR UN
PULL

SE REALIZO
TECNICA DE
FLOTACION
McMaster PARA
OBTENER LOS
HUEVOS

se contaron y se
enfrentaron a
diferentes
concentraciones
de conidias





Diluciones de conidias enfrentadas en el experimento, esquema de diseño de los ensayos realizado por el investigador.

hours: 1 (C)
T (20)
A (10)
hours: 6

hours: 6

hours: 6

Lotus









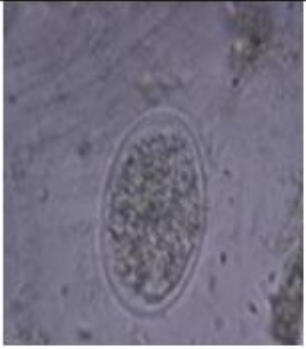





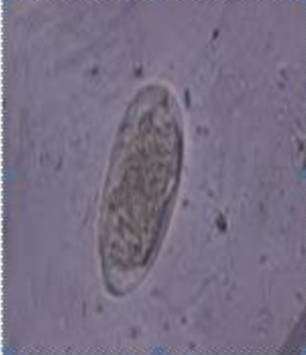


Nivel de daño	Característica morfológica
1	Alteración en la membrana externa del huevo
2	Alteración en la membrana interna del huevo
3	Alteración en la morfología de las mórulas
4	Eyección del contenido del huevo
5	Tres o más ítems de escala de daño


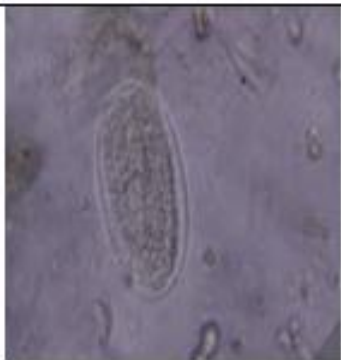

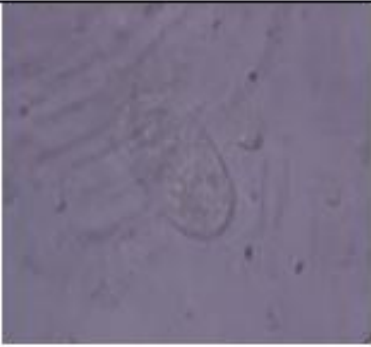



RESULTADOS

RESULTADOS

Hongo y controles	Fotografía micelio	Estructura en azul de algodón.
A1 (1)		
A2 (3)		
A3 (3)		

A4 (0)			
A5 (5)			
A6 (1)			

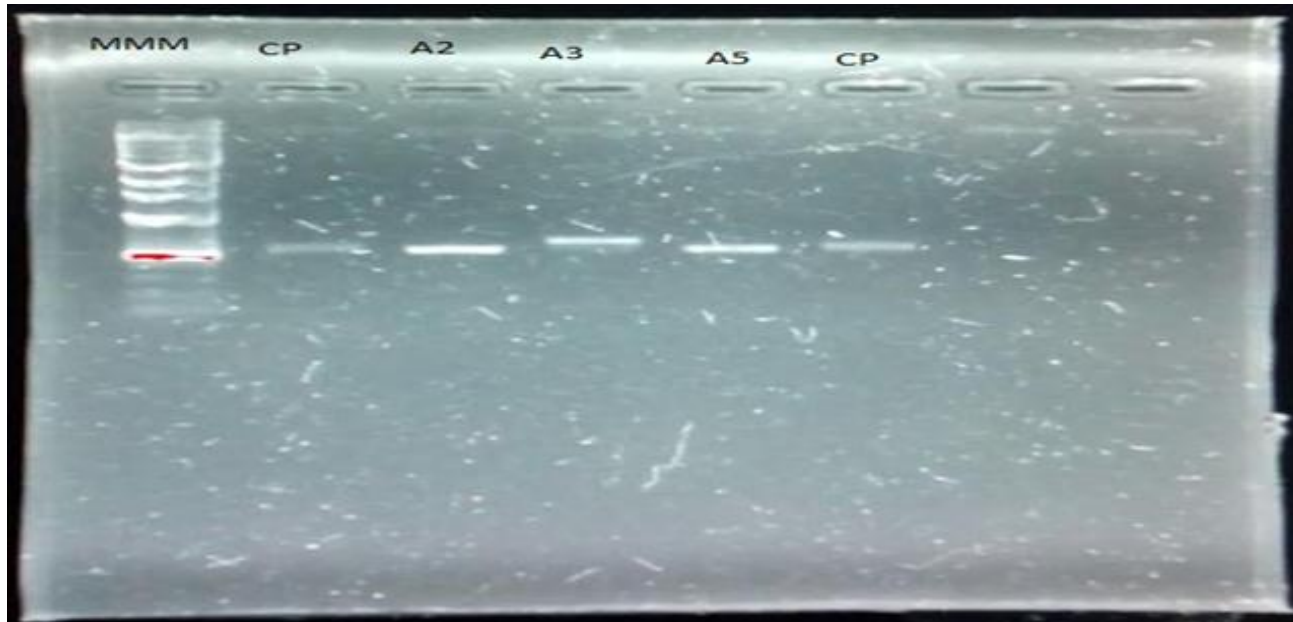
<p>Control negativo (PBS) (0)</p>			
<p>Control positivo (5)</p>		<p>Antihelmíntico comercial: Se observa un aclaramiento de la morfología del huevo evidenciando un daño sobre toda su estructura</p>	<p>(Levamisol)</p>
<p>Control Positivo (3)</p>		<p>Antihelmíntico comercial: Se observa que la morfología del huevo está siendo afectada en la parte superior donde se observa una compresión de la parte superior del mismo.</p>	<p>(Albendazol)</p>

Componente	Concentración para volumen final de 50,ul para seis muestras
OneTaq® Quick-Load® 2X Master Mix	150.0µL
Primer ITS1	6.0µL
Primer ITS4	6.0µL
Agua up	126µL
DNA (8ng/ul)	12µL

CONDICIONES

Desnaturalización	94°C, 30seg	
Desnaturalización	94°C, 15 seg	x35
Anillamiento	55.5°C, 30seg	
Extensión	68°C, 45seg	
Extensión final	72°C, 5 min	

Identificación de los hongos con capacidad antagonista



Electroforesis en gel de agarosa 1,5% y TBE
0.5x carril 1 marcador de masa molecular
GENELADER 1000 Pb, carril 2 control positivo, carril
3 A2, carril 4 A5, carril 6 A5, carril 7 control positivo.

A2

A2 ITS4 *Epicocum nigrum* (ITS) 93.67%

```
GGAAAGTAAAACTAAAAATGTAGACTTCGGTCTGCTACCTCTTACCCATGGTCT
TTTGAGTACCTTCGTTTCCTCGGCGGGTCCGCCCGCCGATTGGACAACATTCAA
ACCCTTTGCACTTGCAATCAGCGTCTGATAAACCCAGTAGCTACTACTTTCAAC
ACCGCATCTCTTGCTCCCGCACTCGCATGATCATTCTCGACGCATCTATGACCC
CCCGCTCCCGAGTCCCTACAATACGTGCGCTCATGTGATGCTACACAGTACTCG
CTGCTCGCAGCTGTCATCTCGCTACTTTCCGTTTTATACTGTGCTCTGCTCAAC
TTGTAAACTCAAGGCGCGCCCCCGGGTGCAGCGTTGAGGATACGCACACCCCGT
TGCTGTCATGCCCATGCTCTCCAAACACCGTTTGCCTCCTACCGCACTCAATAC
TCCGCCCGCCTCCATCATTCTAACGCTCGATACCACCATGTCTCGTCTAGAAG
TTCCATCCCGTATCTTGACAGACACACCAGATGAACCAAAAAAAAAAAGTCTCCCC
AAGGAAAAAATCATTACCTCGCATCTTTGTTCTCTTCCGGTCTGCTACCTCCTT
ACTCCCTGTTCTTTTGCGTTACCCTTCCTTTTCCTTTGCGTGTTCCTC
```

A3

A3 ITS4 *Mortierella minutissima* (ITS) 98.08%

```
GGGTAACAAAACAAAAGTTTTATGGCACTCCTTTAAAAATOCATATCCAC  
CTTGTGTGCAATGTTTGTGGGAAAGTCTTTTCTTTCCCTTCATAAATAT  
CAACCTATATCTTTAACAACATTTCGTCTGATAACATATTATGAATATACT  
TAATTCAAATATAACTTTCAACAACGGATCTCTTGGCTCTCGCATCGAT  
GAAGAACGCCACCAAATGCGATACATACTGACCAACTTGTCAACCACATA  
CATACATCACACCCAACCCTGGATCGCGCAGATCCCCTCACTATTCTAAT  
CCATTAGCAGCATCTCCGCCGCTACACCAAAGGCCCCCCCTCCGGCCGCC  
GCCACACATACATGTTCTATCTAGTATCTCGTACTAGCAATCTCTTCTTG  
CCCCACTCTCCGOCAGTCCTCGCCACCCACCACATATCTCACCCGGACTT  
CCGCCCCGCGCAACAGCCAACACCCCCCTGTCGTCAGTGAGACTTTAACT  
CCAGACCACCCATAACTATGCTCATCCGAGGGAATGTACGTACACAGAAA  
CAAGGGTGGACCACTTTGAGGAACGGGAAACCAAATGAGCTTTAGACGA  
CAAGACTTTGCGAAACACCGGTGGAATATGGAATTTATTTAAGAAGTGCC  
AATATAAGAAGTCTTTTGTGAATGGAATCTTTCACGCAGGTTACCCCT  
TACGGGAAAAAGATCTTTTCACCAAACGAGTGTTGTTATGGGCACTCCTT  
TAAAAAATCCCTAATCCCCCCTTGGTGTGGCCAATGATTTGTTTGGGGA  
AAATCCTTTTCTTTTCCCTCCACAAAATAGCTAACCTGGIATTCTTTTT  
ACTAACAATTCCGTCCGGAATAAGATAATTTTATGCAAATAATACCTCCA  
GATTTACAAGATATAAACCTTTTCATC
```

A5

A5 ITS4 *Chrysoportha austroafricana* (beta-tubulina) 87.47 %

```
CTAATTAAAATATGAAAGCTGTGATGCGTTGTGGATGTACCTCTAGATACAGGCAGGC  
ACTGCCGGACGCGACAGGGCGGTCTTGAGAGAGGAATGATGGTGGTGGCTTCAGTAAT  
GACGACGGCCGGCGGCAAACCATCTGTGAGGAGCACGGCCTTGGCAGCAGGGGGTAGT  
AACCATCCTCCTGCTGCAGCCGGCGGGCCGCGAGGATCTTCTGACCACCGCACAACA  
GCAACAACACCTCCGAGGTCCAGAGGAGCGCACAAGAACGACTTCAAAAAGAGGGTCT  
TCGGGACCACAGTGGGGGGTTCATATCGCGCGCGAACACCCCTGTGTGACCGAGATCT  
CGCGGACACGCTCCCGTCCACACGCGTCTGGCAACAAAATGTCTCCCGCGCCCTCCTC  
TTGGATATCGAGCCCGGCACCACGGAGGCCCTCCGTGCCGGCCCCCTCGGCCAGAGGT  
CTGCCCCGACAAAATCTCTCTGCCAT.
```

DISCUSIÓN

Liu K. et al. en el 2014

Rui Wang et al. 2015

Magnus k. et al. 2014

Condiciones del Buffer (PBS)

El daño es concentración - dependiente

CONCLUSIONES

1

- Se aislaron 6 hongos filamentosos de suelo subparamuno del municipio de Nemocón Cundinamarca.

2

- Se determino de manera cualitativa el efecto antagónico de los hongos sobre los huevos .

3

- Se identificaron de manera molecular dos de los seis aislamientos.

RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS

Realizar estudios cuantitativos

Buscar soluciones a los problemas de desarrollo del país por medio de los activos biológicos de nuestro territorio.

Estandarización de las técnicas moleculares

Comparación con otro tipo de tratamientos
Bacterias –hongos-
extractos.

Condiciones de Buffer

Pruebas piloto in vivo

REFERENCIAS

- 1. Gobernación de Antioquia; Manual técnico para la producción de carne ovina utilizando buenas prácticas ganaderas; Asociación de ganaderos ovinos ASOOVINOS; 2015; pag 86 ;(citado marzo 2018); disponible en : https://conectarural.org/sitio/sites/default/files/documentos/MANUAL%20OVNOCAPRINO_0.pdf
- 2. D. Moreno; H. Grajales; caracterización de los sistemas de producción ovina de trópico alto en Colombia ; manejo e indicadores productivos y reproductivos; 2017; (citado el 2019-abril) pagina 3-4 disponible en:
- <http://www.scielo.org.co/pdf/rfmvz/v64n3/0120-2952-rfmvz-64-03-00036.pdf>
- 3. Marques D. resistencia a los Antihelminticos , origen desarrollo, y control. Revista CORPOICA. 2003 (citado 2019-marzo) pagina 2-3 disponible en:
- <http://Dialnet-ResistenciaALosAntihelminticos-5624648.pdf>
- 4. Ministerio de salud y protección social ; dirección de promoción y prevención ; subdirección de enfermedades transmisibles ; publicado en mayo de 2013 pagina 7 numeral 4.12 (citado en marzo-2019) disponible en:
- <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ET/LINEAMIENTO%20DESPARASIT%20ANTIHELM%3%8DNTICA%20080122014.pdf7>
- 5. P. Medina; F. Guebara; resistencia antihelmíntica en ovinos una revisión de informes del sureste de México y alternativas disponibles para el control de nematodos gastrointestinales; pastos y forrajes vol. 37; matanzas julio-septiembre 2014 ;(citado mayo 2018): pag 3-4; disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942014000300001
- 6.6 (R. Ocampo) Caracterización genética de ovinos en Colombia por medio de marcadores micro satélites (para obtener el título de médico veterinario) Antioquia. Colombia. 2014. (citado febrero 2018) 10. Disponible en:
- <http://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/1902/1/CARACTERIZACI%3%93N%20GEN%3%89TICA%20DE%20OVINOS%20EN%20COLOMBIA%20POR%20MEDIO%20DE%20MARCADORES%20MICROSAT%3%89LITES.pdf>
- 7.7(D. Cruz et al.) serine proteases activity is important for the interaction of nematophagous fungus *Duddingtonia flagrans* with infective larvae of *Trichostrongylus axei* and free-living nematodes *Parangrellus* spp. *Fungalbiology* (2015) 119. 7; (citado julio 2018) disponible en:
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26228558>
- 8.8 (L. Liang et al.) A proposed adhesin (AOMad1) helps nematode-trapping fungus *Arthrobotrys oligospora* recognizing host signals for live-stileswitching. *Fungals Genetics and Biology* (2015). 81.10 (citado abril 2018); disponible en:
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25724687>
- 9.9(Y. Tezean et al.) cloning and characterization of cuticle-degrading serine protease from nematode trapping-fungus *Arthrobotrys musiformis*. *Micociencia*. (2016). (citado marzo 2019) 57. disponible en:
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25514608>
- 10. (P.J. Waller et al.) Biological control of sheep parasites using *Duddingtonia flagrans*: trials on commercial farms in Sweden. *Acta vet. Scand* (2006) 47. 23-32. (citado junio 2018) disponible en:
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16722303>
- 11. (B. Günsel et al.) Molecular diversity of LysM carbohydrate-binding motifs in fungi. *Review* (2015) 61.103-113 received :19 november 2014/ revised:18 december 20147 published on line 15 january 2015. (citado marzo 2018) disponible en:
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4392113/>
- 12. (L. Ling et al.) Effects of abscisic acid and nitric oxide on trap formation and trapping of nematodes by the fungus *Drechlerella stenobrocha* AS6.1. *Fungalbiology*. (2015) 101-115. 5; disponible en: [tps://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21315307](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21315307)
- 13. Depaula et al) first report of activity of predatory fungus on *Angiostrongylus cantonensis* (Nematoda: Angiostrongylidae) first stage larvae. *Acta tropica*. (2013) 127.187-190. disponible en:
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21120369>
- 14. (L. Keke et al) *Drechlerella stenobrocha* genome illustrates the mechanism of constricting rings and the origin of nematode predation in fungi. *Research article* (2015) 15:114; disponible en:
- <https://bmcgenomics.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2164-15-114>
- 15. (P. Prasad et al) whole genome annotation and comparative genomic analyses of biocontrol fungus *Purpureocillium lilacinum*. *Research article BMC genomics* (2015) 16 :1004; disponible en:
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4658809/>

- 16.(Y.Hsueh et al) Nematode- Trapping Fungi Eavesdrop on Nematode Pheromones. Current biology January 7 (2013) disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4047969/>
- 17.T. (Degenkolb, A. Vilcinskis) Metabolites from nematophagous fungi and nematicidal natural products from fungi as an alternative for biological control. Part I: metabolites from nematophagous ascomycetes. Mini-Review- Appl Microbiol Biotechnol (2016). 14 disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26715220>
- 18.(K.Magnus et al.) Interspecific and host-related gene expression patterns in nematode-trapping fungi. BMC Genomics 2014, 15:968. 15; disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25384908>
- 19.(J. Wang, R.Wang) Efficacy of an Arthrobotrys oligospora N mutant in nematode-trapping larvae after passage through the digestive tract of sheep. Veterinary Microbiology 161 (2013) 359–361.3 disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28098555>
- 20.(A Khana et al) Proteomic analysis of the knob-producing nematode-trapping fungus Monacrosporium lysipagum. mycological research 112 (2008) 1447–1452. 6 disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3754708/>
- 21.(Juan Li et al) New insights into the evolution of subtilisin-like serine protease genes in Pezizomycotina. BMC Evolutionary Biology 2010, 10:68.14; disponible en:
<https://bmcevolbiol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2148-10-68>
- 22.(R. Wang et al) The extracellular bioactive substances of Arthrobotrys oligospora during. Biological Control. 86 (2015) 60–65.6 disponible en :
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682009000300006
- 23.(L. Liang et al) the Woronin body in the nematophagous fungus Arthrobotrys oligospora is essential for trap formation and efficient pathogenesis. Fungal biology 2016- 1-10.(citado marzo 2018) Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/232956415_Arthrobotrys_oligospora_A_model_organism_for_understanding_the_interaction_between_fungi_and_nematodes
- 24.(Aguilar, M. L.) Microorganismos con uso potencial contra el nemátodo de ovinos Haemonchus contortus. Tesis presentada para obtener el grado de doctor en ciencias. Texcoco, México: Colegio de Posgraduados, Universidad Autónoma de Chapingo, 2012 (citado abril 2019). disponible en:
<https://www.redalyc.org/html/2691/269133036002/>
- 25.(Andrade, J., Cabrera M.) tipificación de parásitos intestinales, pulmonares y hepáticos en ovinos en los municipios de Chía, Cajicá y Zipaquirá. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina. Santafé de Bogotá, 1992.(citado abril 2018) Disponible en:
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/revsaludpublica/article/view/17744/0>
- 26.(O. Herrera et al.). (2013). Frecuencia de la infección por nemátodos gastrointestinales en ovinos y caprinos de cinco municipios de Antioquia. Revista MVZ Córdoba, 18(3), 3851-3860. Recuperado en 24 de agosto de 2018, (citado abril 2018) de
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012202682013000300015&lng=es&tlng=es
- 27.(Pulido M et al.) Pesquisa de parásitos gastrointestinales en pequeñas explotaciones ovinas del municipio de Toca, Colombia. Rev Salud Animales. [revista en la Internet]. 2014 Abr [citado 2015 Ago 24]; 36(1): 65-69. (citado abril 2018) Disponible en:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012202682014000100012&lng=es
- 28.(D.Marquez). (2003). Resistencia a los antihelmínticos: origen, desarrollo y control. de Revista Corpoica Sitio web: (citado noviembre 2018)
http://www.corpoica.org.co/SitioWeb/Archivos/Revista/8ResistenciaAntihelminticos_pp55-71_RevCorpo_v4n1.pdf. revisado el 10/08/15.
- 29.(O. Herrera et al.). (2013). Frecuencia de la infección por nemátodos gastrointestinales en ovinos y caprinos de cinco municipios de Antioquia. Revista MVZ Córdoba, 18(3), 3851-3860. Recuperado en 24 de mayo de 2015, (citado noviembre 2018) Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682013000300015&lng=es&tlng=es.
- 30.(A.Toro et al.)(2014). Resistencia antihelmíntica en nemátodos gastrointestinales de ovinos tratados con ivermectina y fenbendazol. Archivos de medicina veterinaria, 46(2), 247-252. (citado noviembre 2018) Disponible en:
http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2014000200010&lng=es&tlng=es.10.4067/S0301
- 31.(C.Barrios et al.) Guía práctica de ovinocultura. enfocada hacia la producción de carne. bacom Ltda. Bogotá, Agosto de 2007. Documento PDF. (citado noviembre 2018) Disponible en: http://www.asoovinos.org/archivos/articulos_tecnicos/manual_cria_ovinos_produccion_carne.pdf

- 32. (Waller PJ, Knox MR, Faedo M.) The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: feeding and block studies with *Duddingtonia* flagrans. *Vet Parasitol.* 2001; 102:321-30. (citado noviembre 2018) Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11731075>
- 33. (Esteban-Andres D et al.) Desarrollo de resistencia a nematodos gastrointestinales en ovinos de pelo desafiados con diferentes niveles de infección. *Rev. Med. Vet. Zoot [online].* 2013, vol.60, n.3 [citado 2015-07-30], pp. 169-181. (citado Diciembre 2018) Available from: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-29522013000300003&lng=en&nrm=iso>. ISSN 0120-2952.
- 34. C. Navasa, J. García, V. García. Fundamentos y técnicas de análisis bioquímico. 2006. international Thompson editores Spain, pag 32 (citado marzo 2019)
- 35. Esteban-Andres, D et al. Desarrollo de resistencia a nematodos gastrointestinales en ovinos de pelo desafiados con diferentes niveles de infección. *Rev. Med. Vet. Zoot [online].* 2013, vol.60, n.3 (citado noviembre 2018) pp. 169-181. Available from: <http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-29522013000300003&lng=en&nrm=iso>.
- 36. Aguilar, M. L. Microorganismos con uso potencial contra el nemátodo de ovinos *Haemonchus contortus*. Tesis presentada para obtener el grado de doctor en ciencias. Texcoco, México: Colegio de Posgraduados, Universidad Autónoma de Chapingo, 2012. (citado noviembre 2018) Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942014000300001
- 37. Vázquez-Pineda, Alejandro, Bravo-de-la-Parra, Alejandra, Mendoza-de-Gives, Pedro, Liébano-Waller PJ, Knox MR, Faedo M. The potential of nematophagous fungi to control the free-living stages of nematode parasites of sheep: feeding and block studies with *Duddingtonia* flagrans. *Vet Parasitol.* (citado noviembre 2018) 2001; 102:321-30. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11731073>
- 38. Barrios, Camilo. Guía práctica de ovinocultura. enfocada hacia la producción de carne. bacom Ltda. Bogotá, Agosto de 2007. (citado marzo 2019) Documento PDF. Disponible: http://www.asoovinos.org/archivos/articulos_tecnicos/manual_cria_ovinos_produccion_carne.pdf
- 39. Toro, A, Rubilar, L, Palma, C, & Pérez, R. (2014). Resistencia antihelmíntica en nematodos gastrointestinales de ovinos tratados con ivermectina y fenbendazol. *Archivos de medicina veterinaria*, 46(2), 247-252. (citado mayo 2018) Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2014000200010&lng=es&tlng=es.10.4067/S0301-732X2014000200010&lng=es&tlng=es
- 40. Herrera O, Liseth, Ríos O, Leonardo, & Zapata S, Richard. (2013). Frecuencia de la infección por nemátodos gastrointestinales en ovinos y caprinos de cinco municipios de Antioquia. *Revista MVZ Córdoba*, 18(3), 3851-3860. Recuperado y citado abril 2018), de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682013000300015&lng=es&tlng=es
- 41. Márquez Dildo. (2003). Resistencia a los antihelmínticos: origen, desarrollo y control. de *Revista CORPOICA*. pag 5-9 (citado abril 2019) Sitio web: http://www.corpoica.org.co/SitioWeb/Archivos/Revista/8ResistenciaAntiheminticos_pp55-71_RevCorpo_v4n1.pdf. (citado marzo 2019).
- 42. Pulido-Medellín Martín O, García-Corredor Diego, Díaz-Anaya Adriana, Andrade-Becerra Roy. Pesquisa de parásitos gastrointestinales en pequeñas explotaciones ovinas del municipio de Toca, Colombia. *Rev Salud Animal*. [revista en la Internet]. 2014 (citado 2018 dic 14); 36(1):65-69. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2014000100012&lng=es.
- 43. Herrera O, Liseth, Ríos O, Leonardo, & Zapata S, Richard. (2013). Frecuencia de la infección por nemátodos gastrointestinales en ovinos y caprinos de cinco municipios de Antioquia. *Revista MVZ Córdoba*, 18(3), 3851-3860. (Recuperado y citado septiembre de 2018), de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-02682013000300015&lng=es&tlng=es
- 44. Andrade, J., Cabrera M. tipificación de parásitos intestinales, pulmonares y hepáticos en ovinos en los municipios de Chía, Cajicá y Zipaquirá. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Medicina. Santafé de Bogotá, 1992. (citado junio 2018).
- 45. Aguilar, M. L. Microorganismos con uso potencial contra el nemátodo de ovinos *Haemonchus contortus*. Tesis presentada para obtener el grado de doctor en ciencias. Texcoco, México: Colegio de Posgraduados, Universidad Autónoma de Chapingo, 2012. (citado enero 2019)
- 46. L. Claudia. Taninos condensados y su efecto sobre los parásitos gastrointestinales de ovinos. Tesis (Médico Veterinario). -- Universidad de La Salle. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Programa de Medicina Veterinaria, 2009. (citado enero 2019) Disponible en: <http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/5651/T14.09%20L332t.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 47. Rodríguez Jorge Iván, Ligia Amira Cob. Manual técnicas diagnósticas en parasitología veterinaria Segunda Edición Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán. 2005 (citado mo 2018)
- 48. Manejo productivo y reproductivo en el bovino, caprino, ovino y equino; nutrición y alimentación de rumiantes y equinos; anatomía y fisiología del sistema digestivo; pag 90-94 (citado abril 2019) Disponible en
- 49. Manual de manejo productivo y reproductivo en el bovino, caprino, ovino, equino; Anatomía y fisiología del sistema digestivo de los rumiantes; pag 91- 100; (citado abril 2019) disponible en: https://www.jica.go.jp/project/nicaragua/007/materials/ku57pq0000224spz-att/Bovinos_y_Equinos_02.pdf

- 50.Crespo A.; Blanco O.; Tecnicas y metodos para la iniciación en el estudio de la evolución molecular con aplicaciones especiales para el analisis de hongos liquenizados; departamento de biología molecula II; facultad de farmacia; universidad complutense;E -28040; Madrid; pagina 24-27(citado abril 2019) ;Disponible en :
file:///C:/Users/Asus/Downloads/7276-7359-1-PB.PDF
- 51.Abarenkov K, Adams R, Laszlo I, Agan A, Ambrosio E, Antonelli A et al. Annotating public fungal ITS sequences from the built environment according to the MIxS-Built Environment standard – a report from a May 23-24, 2016 workshop (Gothenburg, Sweden) [Internet]. 2017 [cited 10 April 2017]. Available from: http://mycokeys.pensoft.net/articles.php?id=10000&display_type=list&eIepe=9
- 52Brandt M, Warnock D. Taxonomy and Classification of fungi. Manual of Clinical Microbiology, 11th Edition [Internet]. 2015 [cited 10 April 2017];(11): 1935-1943. Available form:
<http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555817381.mcm11.ch113>
- 53Abarenkov K, Henrik Nilsson R, Larsson K, Alexander I, Eberhardt U, Erland S et al. The UNITE database for molecular identification of fungi - recent updates and future perspectives. New Phytologist. 2010;186(2):281-285.
- 54Bellemain E, Carlsen T, Brochmann C, Coissac E, Taberlet P, Kausarud H. ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases. BMC Microbiology. 2010; 10(1):189.
- 55Abarenkov K, Tedersoo L, Nilsson H, Vellak K, Saar I, Veldre V et al. PlutoF—a Web Based Workbench for Ecological and Taxonomic Research, with an Online Implementation for Fungal ITS Sequences. Evolutionary Bioinformatics. 2010;:189.
- 56Conrad L, Schoch, Keith A, Seifert, Sabine Huhndorf, Vincent Robert, John L. Spouge, C. André Levesque, Wen Chen, and Fungal Barcoding Consortium. Nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) region as a universal DNA barcode marker for Fungi PNAS 2012 109 (16) 6241-6246; published ahead of print March 27, 2012, doi:10.1073/pnas.1117018109
- 57Ihrmark K, Bödeker I, Cruz-Martinez K, Friberg H, Kubartova A, Schenck J et al. New primers to amplify the fungal ITS2 region - evaluation by 454-sequencing of artificial and natural communities. FEMS Microbiology Ecology. 2012; 82(3):666-677.
- 58Bengtsson-Palme J, Ryberg M, Hartmann M, Branco S, Wang Z, Godhe A et al. Improved software detection and extraction of ITS1 and ITS2 from ribosomal ITS sequences of fungi and other eukaryotes for analysis of environmental sequencing data. Methods in Ecology and Evolution. 2013; 914-919. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/2041-210X.12073/full>.
- 59Duke University, United States of America - Conserved primer sequences for PCR amplification and sequencing from nuclear ribosomal RNA – (citado abril 2019) – disponible en: <http://sites.biology.duke.edu/fungi/mycolab/cebadores.htm#Internal>
- 60Edger P, Tang M, Bird K, Mayfield D, Conant G, Mummenhoff K et al. Secondary Structure Analyses of the Nuclear rRNA Internal Transcribed Spacers and Assessment of Its Phylogenetic Utility across the Brassicaceae (Mustards). PLoS ONE [Internet]. 2014 [cited 10 April 2017];9(7). Available from: <http://journals.plos.org/plosone/article/citation?id=10.1371/journal.pone.0101341>
- 61Bena, G., Jubier, M., Olivieri, I., & Lejeune, B. (1997). Ribosomal External and Internal Transcribed Spacers: Combined Use in the Phylogenetic Analysis of Medicago (Leguminosae). Journal Of Molecular Evolution, 2.
- 62Fungal Barcoding Database - About the project (citado abril 2019)
- 63Winfield D; Bernes I ; IMA genome –f5 draft genome sequences of *Ceratocystis eucalyptica* ,*Chrisoporthe cubensis* ,*C deuterocubensis* ,*Davidsoniella virescens*, *Fusarium temperatum*, *Graphilbum fragrans*, *Penicillium nordicum* , and *Thielabiopsis musarom*; pubmed ;2015; citado abril 2019; Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26734552>
- 64T. Ching; Production of arachidonic acid and dihomolinoleic acid from gricerol , oil-producing filamentous fungi *Mortierella* in the ARS culture collection ;2008; 35:501-506; industrial microbiology. Citado en abril 2019: Disponible en:
<https://naldc.nal.usda.gov>
- 6J Perez; Symtoms and identification of the causal agent of the guming stem blight in watermelon (*Citrolus lunatus*) in the isle of Youth; Revista de proteccion vegetal; 2012; la Habana; citado en marzo del 2018. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522012000100003