

GEOHONGOS EN AMBIENTES ACUATICOS: ONYGENALES QUERATINOFILICOS AISLADOS EN LA INTERFASE Y SEDIMENTO DEL RIO ACONCAGUA. V REGION (CHILE)

(Geofungi in aquatic environment: Keratinophilic Onygenales isolated from the interphase and sediment in the Aconcagua river. V Región (Chile)

*M. Alicia Toro S.M., *E. Piontelli L.
& **Dunny Casanova Z.

Universidad de Valparaíso, Escuela de Medicina
*Cátedra de Micología. **Catedra de Salud Pública
Casilla 92V, Valparaíso Chile.

Palabras clave: Onygenales queratinofilicos, indicadores fecales, parámetros físico-químicos, ambiente acuático.
Key words: Keratinophilic Onygenales, faecal bioindicators, physical and chemical parameters, aquatic environment.

RESUMEN

Mediante 6 muestreos efectuados en el período 1999-2000, se estudió la presencia de Onygenales queratinofilicos en el río Aconcagua utilizandocomo métodos de muestreo: trampas, interfase, sedimentos y tierras en dos estaciones, Juncal y Chagres, empleándose la técnica del anzuelo queratinico. Cada estación fue caracterizada por parámetros biológicos en la interfase y sedimento del río: presencia de hongos filamentosos y levaduriformes con la técnica de dilución y recuentos en placa e indicadores fecales (*Escherichia coli* y *Streptococcus faecalis*) a través del MPN /100 ml. Se consideraron también los parámetros físico-químicos: caudal, demanda bioquímica de oxígeno, nitratos, fosfatos, materia orgánica, pH, temperatura y metales pesados (Cobre, Zinc, Plomo y Cadmio.).

En Juncal se aislaron 327 cepas distribuidas en 9 géneros y 14 especies (n= 324), con los siguientes porcentajes en trampas: 31,2%, interfase, 30,9%, sedimentos 15%, tierras 22,3%. En Chagres se aislaron 611 cepas distribuidas en 12 géneros y 17 especies (n=590) con los siguientes porcentajes: en trampas 24,4%; interfase14,7%; sedimentos 36,8% y en tierras 24,1%. A nivel de trampas y sedimentos en ambas estaciones, *Aphanoascus keratinophilus* obtuvo porcentajes entre 10-34%, *Arthroderma quadrifidum* entre 8,9-38% y *Chrysosporium pannicola* entre 7,4-18%, constituyendo las principale especies aisladas toman-

do como referencia su mayor presencia en las trampas. Se destaca su importancia como indicadores del crecimiento total de Onygenales que han desarrollado una alternativa de dispersión y sobrevivencia en ambientes acuáticos con excedentes de materia orgánica. A pesar del comportamiento euritopo de estas especies su empleo como bioindicadores de contaminación ambiental es discutible debido a su notable capacidad de adaptación. Por su relación con los dermatofitos, algunas de las especies aisladas podrían constituir un potencial riesgo en salud pública, debido al oportunismo presente en este grupo, en especial *Microsporum gypseum* aislado entre un 2 a 6,5% . En Chagres, en los sedimentos, se detectó la mayor presencia de indicadores fecales.

ABSTRACT

The presence of keratinophilic Onygenales in the Aconcagua river was studied by means of six samplings during 1999-2000 in two localities, Juncal and Chagres, employing the following sampling methods: traps, interphase, sediments and soils (hair bait technique). Each locality was characterized in the interphase and sediments of the river by biological parameters: the presence of filamentous and yeast fungi (serial dilution and counting plaque technique) and faecal indicators (*Escherichia coli* and *Streptococcus faecalis*, MPN/100ml); physical and chemical parameters; flow, DBO, organic matter, nitrates,

phosphates, pH, temperatures, and heavy metals (copper, zinc, lead and cadmium).

Three hundred and twenty seven (327) strains were isolated in Juncal, distributed in 9 genera and 14 species (n=324) with the following percentages, in traps 31,2%, interphase 30,9%, sediments 15% and soils 22,3%. In Chagres 611 strains were isolated, distributed in 12 genera and 17 species (n=590) with the following percentages: 24,4% in traps, 14,7% in interphase, 36,8% in sediments and 24,1 % in soils. **Aphanoascus keratinophilus** (10-34%), **Arthroderma quadrifidum** (8,9-38%) and **Chrysosporium pannicola** (7,4-18%) were isolated in traps and sediments in both stations. Taking into account the mayor isolations in the traps, these were the principal species detected. It is noteworthy their importance as bioindicators of global growth of the **Onygenales** group that have displayed a dispersion and survival options in aquatic environment characterized by an exceeding organic matter. Nevertheless the euritope behaviour of these species and their use of them as bioindicators of environmental contamination is under discussion because of their notorius adaptation hability. Some isolated species, such as **Microsporium gypseum** (2-6,5%) related with dermatophytes, could be considered as a potential risk in public health, having in mind the opportunistic habilities of these organisms. The greatest presence of faecal indicators was observed in sediments in Chagres.

INTRODUCCION

Los **Onygenales** queratinofílicos, constituyen un grupo especial de geohongos caracterizados por su capacidad de desdoblar la escleroproteína presente en los residuos queratínicos de origen humano y animal (Caretta, 1975; Chmel & Vlacilikowa, 1975; Garg *et al.*, 1985; Gherbawy, 1996). Estos microorganismos forman parte de comunidades del suelo cuya composición cuantitativa y cualitativa es condicionada por una variedad de factores físico-químicos y biológicos (Ulfig, 2000), directamente asociados con la cantidad y calidad de la materia orgánica presente el ambiente (Mercantini *et al.*, 1993).

Escasa atención se ha prestado a la presencia de ellos en otros hábitats, como los ecosistemas acuáticos representados por ríos, mares y lagos, que pueden exceder la cantidad y calidad de materia orgánica generando un exceso de nutrientes en solución, especialmente en efluentes de aguas servidas, desechos municipales, de la agricultura e industria. Este transporte no sólo involucra los cuerpos de agua sino también los sedimentos (Davies *et al.*, 1995; Ulfig & Ulfig, 1990; Ulfig, 1991; Ulfig, 2000). Estudios realizados en aguas frescas y sistemas

de tratamiento de aguas servidas utilizando la técnica del anzuelo queratínico (Vanbreuseghem, 1952; Orr, 1969) han demostrado in vitro la presencia de hongos queratolíticos, asociada a la contaminación de las aguas, a las características de la cuenca, al nivel de eutroficación y al uso del agua recreacional o industrial, destacándose los estudios realizados por varios autores (Bertoldi, 1981; Mangiarotti & Caretta, 1984; Abdel Hafez & El Sharouny, 1990; Valiente 1993; Abdullah & Hassan, 1995; Ulfing *et al.*, 1996).

Es frecuente el caso de aguas cloacales que se drenan en playas, balnearios y ríos contaminándolos, deteriorando la calidad de vida del hombre al constituirse en potenciales fuentes de contagio de microorganismos patógenos (Unda *et al.*, 1982; Piontelli *et al.*, 1984; Campos & Lund, 1985; Campos *et al.*, 1986; Campos & Rios, 1989; Boiron *et al.*, 1983 a, b).

El curso fluvial del Río Aconcagua, objeto de este estudio, comprende una amplia extensión y recorrido desde su nacimiento en la sección andina (Nevado de Los Leones) hasta su desembocadura en Concón. La intensa labor agrícola de esta zona conlleva al uso de una gran cantidad de productos fitosanitarios, lo que representa un permanente riesgo de contaminación química y biológica de aguas y suelos, ejerciendo un impacto sobre la salud de la población y una vía de propagación de infecciones bacterianas entéricas. (Allesch & Constanzo, 1988; CONAMA 1995, 1996).

En base a los antecedentes expuestos, nuestros objetivos fueron: establecer la presencia y capacidad de sobrevivencia de los **Onygenales** queratinofílicos en dos sectores del Río Aconcagua, claramente diferentes en cuanto a contaminación química y biológica.

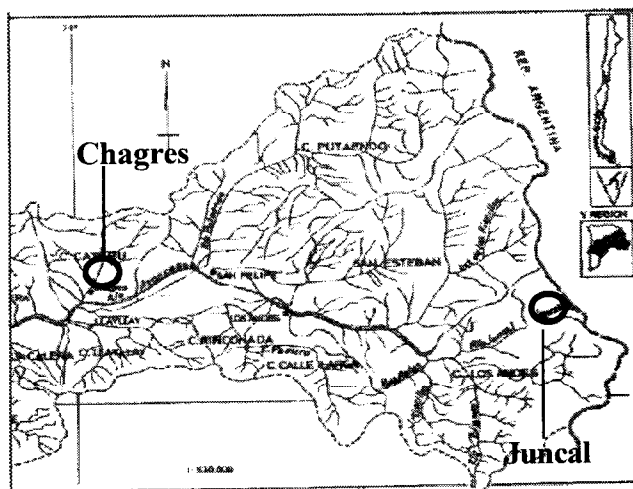


Figura 1. Ubicación geográfica de las localidades estudiadas (en círculos), Juncal y Chagres, V Región, Chile.

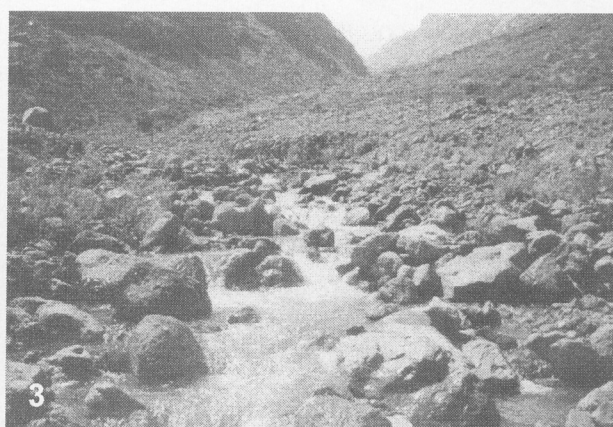
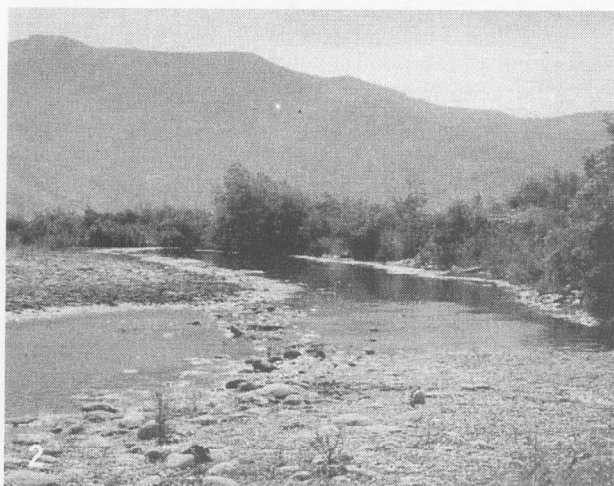


Figura 2-3.- Zonas de muestreo, panorama. 2.- Chagres. 3.- Juncal.

MATERIALES Y METODOS

1.- Localidades estudiadas

Para los efectos de nuestra investigación se seleccionaron dos estaciones atendiendo a la cantidad de materia orgánica de arrastre y al uso de las aguas del río Aconcagua. Estas fueron llamadas: estación **Juncal** y estación **Chagres** (Figura 1, 2, 3).

La estación Juncal se ubicó en el curso andino superior de alimentación fluvio-nival a 2.260 m.s.n.m, latitud 32° 52' S y longitud 70° 9' W, cuya localización geográfica corresponde al nombre Estero Ojos de Agua, carente de asentamientos humanos.

La estación Chagres se ubicó en el curso medio fluvial a 510 m.s.n.m, latitud 32° 45' S y longitud 70° 50' W, cuya localización geográfica corresponde a Puente Chagres, rodeada de asentamientos humanos. Ambas estaciones están separadas por una distancia de 88,25 km. A medida que el curso se aleja de Juncal hacia Chagres, este experimenta el incremento de materia orgánica alóctona proveniente de las poblaciones aledañas a sus riberas.

2.- Perfil biogeográfico.

El río Aconcagua se clasifica desde el punto de vista hidrográfico en la tipología correspondiente a ríos en torrente de régimen mixto de la zona mediterránea semi-árida de Chile. Su caudal medio oscila en los meses invernales y estivales desde 70 a 24 m³/s en la desembocadura, por consiguiente las lluvias se concentran en invierno, en tanto que en Primavera y Verano se produce una estación seca y calurosa. La temperatura media anual en Juncal es de 10° C y en Chagres es de 15,6 ° C.

La humedad relativa en el valle de Chagres alcanza un 55% y ésta va disminuyendo a medida que se

asciende. Ambas zonas se caracterizan por ser ventosas principalmente en Septiembre y Noviembre.

Los suelos cercanos al río tienen una baja capacidad de retención de agua por su textura areno-limosa y la pedregosidad propia de los terrenos, sin embargo los cursos de agua se deslizan por debajo de estos terrenos dando origen a napas subterráneas y aguas de escorrentía. La vegetación es azonal, fuertemente influenciada por acción antrópica. El río cruza la formación vegetal llamada matorral espinoso de la serranía, con predominio de hierbas como la teatina (*Avena barbata*) (Villaseñor, 1985). La fauna se caracteriza por la predominancia de diversas aves (Araya & Millie, 1991).

3.- Muestreo

En cada estación se efectuaron 8 muestras por ribera del río, en 6 tiempos: septiembre de 1999, marzo, mayo, julio - agosto, octubre y noviembre - diciembre del año 2000.

Se usaron los métodos de recolección siguientes:

Trampas (T). Diseñada para atrapar los conidios o propágulos fúngicos de los **Onygenales** queratinofilicos transportados por la corriente, constituidas por bolsas rectangulares (10 x 20 cm) de malla plástica rellenas con trozos de pelo humano (5 cm de longitud) estériles con un peso aproximado de 50 g, las cuales fueron ancladas y señalizadas en el lecho del río, cercanas a su orilla y aseguradas por medio de un cable al terreno. En cada estación se anclaron 3 trampas, en cada ribera del río. Estas fueron retiradas a los 60 días, transportadas en envases refrigerados al laboratorio donde se procedió a un lavado suave del anzuelo en agua destilada estéril. El anzuelo fue disgregado y depositado por duplicado en un set de 6 placas de petri estériles por cada ribera, donde se les dejó a temperatura ambiente en presencia de luz, y en observación por 30 a 40 días. A medida que el sustrato perdía humedad, se le agregaba gotas de agua destilada estéril.

Interfase (I). Se recolectaron 300 ml de sedimento - agua de cada ribera del lecho del río mediante propipetas en frascos de vidrio estériles, éstas se mantuvieron refrigeradas y se procesaron en el laboratorio en un plazo de 24 horas. Se distribuyeron 20 ml por cada una de 16 placas de Petri por ribera, con una base de arena y anzuelo queratínico: 8 fueron mantenidas con agua (condición de ambiente acuático, IA) y 8 se dejaron secar naturalmente (ambiente terrestre, IB) (Cooke, 1957; Orr, 1969; Booth, 1971; Ulfing & Ulfing, 1990). Las placas fueron incubadas a temperatura ambiente con luz diurna, por un periodo de 30 a 50 días.

Sedimento (S). Se recolectaron 50 a 100 g de sedimento por ribera a una profundidad no mayor de 5 cm. en un envase metálico. Este fue agitado vigorosamente y posteriormente se dejó escurrir el máximo de agua. Luego se guardó en bolsas de polietileno estériles las que se mantuvieron bajo refrigeración hasta su procesamiento en el laboratorio en un plazo de 24 horas. Se inocularon 16 placas de Petri por cada ribera, donde el sedimento fue dispersado en las placas, agregándoseles posteriormente el anzuelo queratínico estéril. Se incubaron a temperatura ambiente por un periodo de 30 a 40 días, para evitar la desecación se les mantuvo humedecidas con una solución de agua destilada estéril adicionada con cloranfenicol (0,25 g/l).

Tierra (t) Desde varios puntos de un área de 50 m², se recolectaron 50 a 100 g de suelo superficial en bolsas estériles de polietileno en ambas riberas, las que se mantuvieron refrigeradas hasta su procesamiento en el laboratorio en un plazo de 24 horas. Estas fueron distribuidas en 16 placas de Petri estériles por ribera, se les agregó el anzuelo queratínico (Orr, 1969; Vanbreuseghem, 1952) y para evitar su desecación se les agregó cada cierto tiempo una solución estéril de agua destilada adicionada con cloranfenicol (0,25 g/l). Las placas se incubaron a temperatura ambiente por un periodo de 30 a 40 días.

Todas las placas inoculadas fueron examinadas macroscópicamente con Lupa Estereoscópica cada 5 días a partir de la aparición de los primeros micelios visualizados sobre el anzuelo. Los aislamientos de las especies de **Onygenales** se efectuaron en Agar-Malta (A.M) y Agar-Papa-dextrosa (P.D.A) y se identificaron en base a los patrones morfológicos de sus estructuras sexuales y asexuales observadas microscópicamente con preparaciones teñidas con azul de algodón, según las claves taxonómicas respectivas (von Arx, 1986; Cano & Guarro, 1990; Currah, 1985, 1988; Domsch *et al.*, 1980; Malloch & Cain, 1971; van Oorschoot, 1980).

4.- Parámetros registrados.

Físico-Químicos. En cada estación de muestreo se registró: caudal, temperatura, pH, nitratos, fosfatos y metales pesados (Cobre, Zinc, Plomo y Cadmio). Demanda Bioquímica de oxígeno (DBO) y materia orgánica (A.P.H.A., A.W.W.A., 1992; DGTm y MM, 1994).

Biológicos. En cada estación se hizo registro de: indicadores bacterianos fecales (Coliformes totales, *Escherichia coli* y *Streptococcus faecalis*) y estimación indirecta de materia orgánica a través del recuento de hongos filamentosos y levaduriformes, mediante la técnica de dilución seriada en placas, efectuadas en los medios de cultivo Agar Papa dextrosa adicionado con cloranfenicol (PDA + caf) y Agar Papa Dextrosa, cloranfenicol y dichloran (PDA + caf + D), el primero destinado a inhibir las bacterias en tanto que el segundo reduce el diámetro de las colonias fúngicas, especialmente los **Mucorales**, facilitando el recuento (modificado de Andrews & Pitt, 1986). Los resultados fueron expresados en unidades formadoras de colonias (u.f.c) por ml y, a nivel de los sedimentos, en unidades formadoras de colonias por g.

Las placas inoculadas fueron incubadas por 7 días

Cuadro 1.- Onygenales queratinofílicos aislados en Juncal y Chagres según tiempo y método de recolección

	Trampas			Interfase			Sedimento			Tierra			Total
	Juncal	Chagres		Juncal	Chagres		Juncal	Chagres		Juncal	Chagres		
TIEMPO	Nº	Nº	REE	Nº	Nº	REE	Nº	Nº	REE	Nº	Nº	REE	REE
Septiembre	23	54	2,3	10	12	1,2	26	52	2	20	36	1,8	1,9
Marzo	22	14	0,6	0	0	0	13	69	5,3	18	30	1,7	2,1
Mayo	33	18	0,5	8	3	0,4	0	29	0	10	26	2,6	1,5
Julio-Agosto	5	25	5	39	35	0,9	3	48	16	11	29	2,6	2,4
Octubre	14	20	1,4	39	37	0,9	7	13	1,9	12	15	1,3	1,2
Nov.-Dic.	5	18	3,6	5	3	0,6	2	14	7	2	11	5,5	3,3
CEPAS	102	149	1,5	101	90	0,9	51	225	4,4	73	147	2,0	1,9

para la lectura de sus recuentos. Todas las muestras biológicas fueron sembradas en duplicados con un control de siembra y ambiente.

Para el análisis de los datos se usó básicamente el número y porcentaje de aislamientos de géneros y especies, la relación entre estaciones ($RRE = E.Chagres / E.Juncal$) y el índice de diversidad de Shannon & Weaver.

RESULTADOS

1º.- Caracterización de la comunidad queratinofílica.

En general se observó mayor número de aislamientos en la estación Chagres, ya sea en total, o para cualquier tiempo o sustrato, excepto la interfase y trampas, pero sólo en otoño. En total hubo 1,86 veces más aislamientos en Chagres que en Juncal. Estas diferencias fluctuaron en el año, entre un máximo en verano y un mínimo en primavera (Cuadro 1, Figura 4)

En Juncal se aislaron 327 cepas: de tierras 22,3%; de interfase 30,9%, de sedimentos 15,6 % y de trampas 31,2%. En Chagres se aislaron 611 cepas: de tierras 24,1%, interfase 14,7%; sedimentos 36,8% y trampas 24,4%. (Cuadro 1).

Las cepas aisladas se distribuyeron en 9 géneros y 14 especies en la estación Juncal y con 12 géneros y 17 especies en Chagres, observándose una mayor distribución de aislamientos en esta última estación (Cuadro 2). Los géneros y las especies más representativos correspondieron en los 4 métodos a los géneros: *Aphanoascus*, *Arthroderma*, *Chrysosporium*, *Malbranchea* y *Myceliophthora*. Las principales especies capaces de sobrevivir en el hábitat acuático basándose en su mayor frecuencia de aislamiento en las trampas fueron en Juncal *Arthroderma quadrifidum* (38%), *Chrysosporium*

pannicola (18%) y *Aphanoascus keratinophilus* (10%). En Chagres las mismas especies, con los porcentajes siguientes: 22,1%, 17,2% y 22,1% respectivamente. De estas 3 especies sólo la última se encuentra más representada en Chagres que en Juncal. Además es la única que conserva su dominancia de aislamiento con cualquiera de los métodos usados (Cuadro 2).

Considerando que las trampas in situ es el método que mejor detecta la sobrevivencia y crecimiento de éstos organismos en el río, se observa que en Juncal las mejores condiciones se dan para *Arthroderma quadrifidum* (anamorfo de *Trichophyton terrestre*), que se aisló en un 38% en las cepas de trampa, seguido de *Chrysosporium pannicola* (18%), en tanto que en Chagres este rol es compartido por *Aphanoascus keratinophilus* (anamorfo de *Chrysosporium keratinophilum*) y *Arthroderma quadrifidum* (22,1%) (Cuadro 2).

En general, la diversidad de especies fue mayor en la estación Chagres, mayor en la tierra que en los otros métodos de muestreo y más alta en otoño-invierno que en primavera-verano. En cambio, las menores diversidades se observaron en la interfase en Chagres (Cuadro 3). Sólo en septiembre la diversidad fue menor en Chagres que en Juncal (Figura 5) y en sedimento, fue mayor en Chagres únicamente en primavera (Figura 5).

2º.- Caracterización de la comunidad de hongos filamentosos y levaduriformes

La distribución de los hongos filamentosos y levaduriformes detectados en la interfase y sedimentos del Río Aconcagua en ambas estaciones y en los seis muestreos permitió apreciar que el número de cepas aisladas fue mayor en Chagres y éstas se incrementaron a nivel de los sedimentos.

A nivel de interfase.

En Juncal, de un total de 199 cepas, el 41,20 % correspondió a hongos filamentosos y el 58,79 % a levaduras. Los 4 taxa aislados a este nivel se distribuyeron en un 100% en la División *Asco-Deuteromycotina*.

En Chagres, de un total de 306 cepas, el 55,60% correspondió a hongos filamentosos y un 44,40 % a levaduras. Los 17 géneros de hongos filamentosos se distribuyeron en un 1,30 % en *Zygomycotina* y un 98,7% en *Asco-Deuteromycotina*.

A nivel de sedimentos

En Juncal, se obtuvieron 777 cepas, de las cuales el 50,5 % correspondió a taxa filamentosos y el 49,55 % a levaduras. El 3,88% de los 28 taxa filamentosos aislados se ubicaron en la División *Zygomycotina*, en tanto

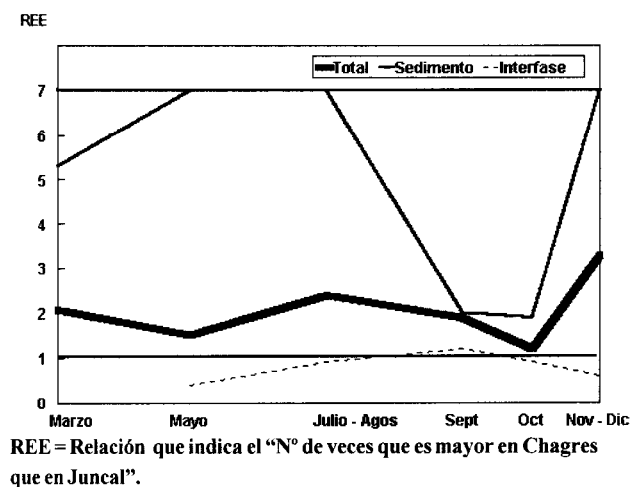


Figura 4.- Relaciones Entre Estaciones (REE) para número de aislamientos

Cuadro 2.- Frecuencia relativa de los *Onygenales* queratinofílicos, según estación, variación estacional y método de recolección.

Estaciones	O-I (May-Jul-Ago)										P-V (Sept, Mar, Oct, Nov, Dic)									
	Juncal					Chagres					Juncal					Chagres				
	T	I	S	t	n	T	I	S	t	n	T	I	S	t	n	T	I	S	t	n
Taxa aislados																				
<i>Amauroascus mutatus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Aphanoascus keratinophilus</i>	0	8	1	7	16	7	11	20	14	52	10	17	14	15	56	25	16	54	27	122
<i>Aph. fulvescens</i>	0	3	0	0	3	1	1	0	1	3	3	6	11	6	26	9	5	8	13	35
<i>Arthroderma gypseae</i>	0	0	0	0	0	2	0	6	7	15	3	0	1	3	7	11	2	8	6	27
<i>Arth. quadrifidum</i>	16	1	1	5	23	6	0	7	4	17	22	2	10	6	40	26	0	12	7	45
<i>Arth. uncinatum</i>	1	18	0	2	21	0	16	10	9	35	3	9	2	8	22	6	8	20	7	41
<i>Auxarthron conjugatum</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
<i>Chry indicum</i>	3	6	1	2	12	6	5	3	4	18	8	5	3	5	21	3	9	11	4	27
<i>Chry pannicola</i>	8	8	0	3	19	7	5	6	3	21	10	3	0	2	15	18	5	10	3	36
<i>Chry. tropicum</i>	0	3	0	0	3	0	0	1	0	1	2	1	2	1	6	0	2	1	8	11
<i>Chrysosporium</i> sp.	0	0	0	0	0	4	0	1	3	8	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2
<i>Gymnoascus reessii</i>	0	0	0	0	0	2	0	0	1	3	1	0	1	1	3	2	0	0	0	2
<i>Gymnoascoideus petalosporus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	3	0	0	0	0	0
<i>Malbranchea dendritica</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	1	0	1
<i>M. fulva</i>	0	0	0	0	0	1	0	5	2	8	0	0	0	0	0	1	1	3	2	7
<i>Malbranchea</i> sp.	2	0	0	1	3	0	0	2	3	5	0	0	0	0	0	0	0	4	2	6
<i>Myceliophthora vellerea</i>	8	0	0	1	9	4	0	8	1	13	0	11	0	3	14	4	4	13	5	26
<i>Myxotrichum deflexum</i>	0	0	0	0	0	0	0	3	1	4	0	0	0	0	0	0	0	1	2	3
<i>Oncocladium flavum</i>	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<i>Spiromastix warcupii</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1
<i>Uncinocarpus reesii</i>	0	0	0	0	0	1	0	3	2	6	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5
Totales	38	47	3	21	109	43	38	77	55	213	64	54	48	52	218	106	52	148	92	398

Método de recolección: T= trampa I= interfase S= sedimento t= tierra

que el 96,12% correspondió a la División *Asco-Deuteromycotina*.

En Chagres, se aislaron 2.225 cepas, el 63,30% correspondió a taxa filamentosos y el 36,71% a levaduras. Los 33 taxa filamentosos se distribuyeron en *Zygomycotina* en 1,83 % y en *Asco-Deuteromycotina* en un 98,7%.

Los registros de los géneros de hongos filamentosos y levaduras se expresaron en función de su variación estacional (Cuadro 4).

Se destaca el género *Cladosporium* cuyos aislamientos en Juncal en O-I alcanzaron un 62,3% (48/77)

y en Chagres un 56,1% (64/114). En cambio en P-V el mayor porcentaje de aislamientos en Juncal en sedimento correspondió a *Cladosporium* 5,4% (41/886) y en Chagres a *Penicillium* con un 31% (674/2295).

3.-Parámetros físicos y químicos y biológicos.

De los 11 parámetros fisicoquímicos considerados, sólo caudal, nitratos y plomo tuvieron menor presencia en Chagres que en Juncal y solo DBO y temperatura en interfase, mientras nitratos y fosfatos en sedimento aumentaron su diferencia REE desde otoño-invierno a primavera-verano (Figuras 6 y 7). En particular, el

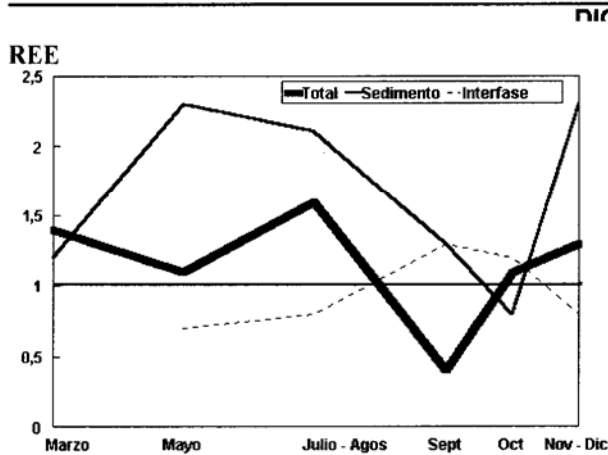


Figura 5.- Relaciones entre estaciones (REE) para diversidades promedio

caudal aumentó en juncal 1,8 veces en primavera-verano, en tanto que en Chagres no cambió, con velocidades de entre 3,7 y 5,6 veces menores (Cuadro 5). Se destaca la gran diferencia en contenido de Cobre entre ambas estaciones, la que llega a ser superior en Chagres; en sedimento 30 veces en otoño-invierno y 18 veces en primavera-verano. También fue alta la diferencia en la demanda bioquímica de oxígeno que fue 5,2 a 6,5 veces superior

en Chagres (Cuadro 5, Figura 7).

En lo que respecta al recuento de indicadores bacterianos, estos fueron siempre más altos en la estación Chagres que en Juncal, con mayores diferencias en el período otoño-invierno donde llegó a ser hasta 4,2 veces mayor en sedimentos (Cuadro 6, Figura 6,7).

También los hongos filamentosos y levaduriformes se observaron más en Chagres, tanto en otoño-invierno como en primavera-verano (Cuadro 4, Figuras 6,7).

Los parámetros que sobrepasaron las normas establecidas por las autoridades, fueron los nitratos, fosfatos y cobre.

DISCUSION

1.- *Onygenales queratinofílicos*.

La metodología aplicada en las trampas, permitió observar la presencia y capacidad de sobrevivencia de los *Onygenales* queratinofílicos en el río Aconcagua en las dos estaciones seleccionadas. Esta metodología al parecer no había sido aplicada por otros investigadores, según las referencias consultadas (Mangiarotti & Caretta, 1984, Abdel *et al.*, 1990, 1992; Abdel & El-Sharomy, 1990, Ulfing & Ulfing, 1990, Ulfing, 1991, Abdullah &

Cuadro 3.- Diversidad de Shannon & Weaver según tiempo y métodos en cada estación.

Método	JUNCAL							CHAGRES						
	Sept.	Marzo	Mayo	Jul -Ago	Oct.	Nov -Dic	Total (x)	Sept.	Marzo	Mayo	Jul -Ago	Oct.	Nov -Dic	Total (x)
Trampa	2,748	1,546	1,686	1,522	2,182	1,922	2,700	2,19	2,807	2,611	2,999	2,646	2,288	3,100
Interfase	1,485	0,000	1,406	2,435	2,283	1,922	2,700	1,89	0,000	0,918	1,884	2,366	1,585	2,600
Sedimento	2,153	2,412	0,000	1,585	1,950	0,000	2,700	2,740	2,918	2,568	3,357	1,489	2,261	3,100
Tierra	2,466	2,441	2,503	1,617	1,888	1,000	3,000	2,91	2,842	2,284	2,831	2,733	1,686	3,300
\bar{x}	2,200	2,100	1,900	1,800	2,100	1,600		1,000	2,900	2,100	2,800	2,300	2,000	

Cuadro 4.- Principales géneros de hongos filamentosos y levaduriformes en interfase y sedimento en ambas estaciones según variación estacional (Técnica de dilución en placa).

Estación Géneros Aislados	Otoño - Invierno (Mayo, Julio, Agosto)										Primavera - Verano (Sept, Mar, Oct, Nov-Dic)									
	Juncal					Chagres					Juncal					Chagres				
	I	%	S	%	n	I	%	S	%	n	I	%	S	%	n	I	%	S	%	n
	ufc/ml		Ufc/g			ufc/ml		Ufc/g			ufc/ml		Ufc/g			ufc/ml		Ufc/g		
<i>Aureobasidium</i>	0		1	3,0	1	1	0,9	1	0,81	2	0		1	0,13	1	4	2,1	31	1,5	35
<i>Cladosporium</i>	48	62,3	17	51,5	65	64	56,1	13	10,7	77	1	0,82	40	5,4	41	17	8,9	174	8,3	191
<i>Fusarium</i>	1	1,3	0		1	0		5	4,1	5	1	0,82	22	3	23	3	1,6	42	2,0	45
<i>Microspheeropsis</i>	0		0		0	0		2	1,6	2	0		38	5,1	38	1	0,5	13	0,62	14
<i>Penicillium</i>	2	2,6	2	6,1	4	21	18,4	30	24,6	51	2	1,6	26	3,5	28	22	11,5	652	31	674
<i>Trichoderma</i>	0		0		0	1	0,9	5		6	0		57	7,7	57	1	0,5	11	0,5	12
Otros	25	32,5	10	30,3	35	12	10,5	46	4,1	58	2	1,6	178	23,9	180	23	11,9	383	18,2	406
Levaduras	1	1,3	3	9,1	4	15	13,2	20	16,4	35	116	95,1	382	51,3	498	121	63,0	797	37,9	918
Total	77		33		110	114		122		236	122		744		866	192		2103		2295

Cuadro 5.- Parámetros físico-químicos según método en cada estación

Juncal												
		C. (m ³ /seg)	DBO (mg/l)	T° (°C)	M.O. (%)	pH	N. (mg/l)	F. (mg/l)	Cu (mg/l)	Zn (mg/l)	Pb (mg/l)	Cd (mg/l)
Interfase	O - I	8,30	2,40	8,80	0,00	8,30	18,70	0,04	0,02	0,25	0,10	0,00
	P - V	14,90	0,77	9,10	0,00	7,68	14,60	0,05	0,20	0,41	0,93	0,03
Sedimentos	O - I				1,53	7,25	87,27	100,2	0,32	0,98	0,20	0,00
	P - V				4,81	7,45	27,03	0,81	0,39	1,28	0,21	0,00
Chagres												
		C. (m ³ /seg)	DBO (mg/l)	T° (°C)	M.O. (%)	pH	N. (mg/l)	F. (mg/l)	Cu (mg/l)	Zn (mg/l)	Pb (mg/l)	Cd (mg/l)
Interfase	O - I	2,25	12,52	13,30	0,00	8,20	16,13	0,13	0,19	0,53	0,10	0,00
	P - V	2,64	4,97	18,30	0,00	8,62	8,68	0,10	0,25	0,65	0,10	0,00
Sedimentos	O - I				2,01	7,30	46,93	17,5	9,75	1,41	0,35	0,00
	P - V				5,80	7,30	53,94	0,69	7,19	1,67	0,28	0,00

C = Caudal; DBO = Demanda Bioquímica de Oxígeno; T° = Temperatura; M.O. = Materia Orgánica; N. = Nitratos; F. = Fosfatos; Cu = Cobre; Zn = Zinc; Pb = Plomo; Cd = Cadmio

Cuadro 6.- Parámetros biológicos

		Juncal		Chagres	
(*)		C.F. (MPN/ml)	S.F. (MPN/ml)	C.F. (MPN/ml)	S.F. (MPN/ml)
Interfase	O - I	0,00	0,50	2,68	1,40
	P - V	0,00	0,62	1,52	1,52
Sedimentos	O - I	0,00	0,00	3,15	4,21
	P - V	0,94	2,15	2,26	2,84

(*) Las cifras estan expresadas en log10.

Hassan, 1995, Ulfig et al. 1997 a, b, c.) y la mayoría de los estudios se han basado en el aislamiento in vitro de estos organismos. Los geohongos generalmente cuando crecen en ambientes acuáticos dejan de producir esporas y su sobrevivencia es mediada por un estado vegetativo.

En nuestra metodología su desarrollo en el substrato queratinico en las trampas generó agregados de hifas miceliales intermezclados con otros microorganismos constituyéndose una matriz que representaría un nicho ecológico selectivo (Lewis & Gattie, 1991; Kendrick, 1985). Los propágulos fúngicos retenidos en el anzuelo queratinico de la trampa al ser llevados al laboratorio e incubados a temperatura ambiente, iniciaron su desarrollo entre 48 a 72 horas, indicando que corresponden a un estado activo del organismo (Ulfig et al. 1997,c).

En los *Onygenales* aislados en las trampas y en las diferentes metodologías, *Arthroderma quadrifidum* es calificado como una especie xeroalcalina, sensible a las temperaturas altas y pH ácido; no es afectada por la altura, siendo citada con frecuencia en zonas alpinas sobre 3.400 m.s.n.m. (Piontelli & Caretta, 1974; Domsch et al. 1980). Citada como una especie propia de aguas

limpias a ligeramente contaminadas (Ulfig & Ulfig, 1990; Ulfig et al. 1997 a,b), lo que explicaría la disminución estacional de ésta en Chagres (Figura 4c y d.) Además, en la interfase en Chagres se detectaron altos valores de coliformes y estreptococos fecales (Cuadro 6), esto unido a la abundancia de los géneros *Penicillium* y *Cladosporium* (Cuadro 4), señalan la habilidad competitiva saprofítica reducida de esta especie frente a una microbiota más adaptada y de rápido crecimiento (Caretta 1975; Christensen 1981, Kornilowicz 1993, 1994, 1995).

Por el contrario *Aphanoascus keratinophilus* ha sido ratificado en diversos estudios como una de las especies más resistentes a la acción de los contaminantes industriales y desechos orgánicos (Abdullah & Hassen 1995, Ulfig et al., 1996; Ulfig 2000; Alí et al., 2000), registrándose con una mayor presencia en Chagres.

El pH junto a las temperaturas registradas en este estudio, podrían ser los factores condicionantes de la prevalencia de algunas especies y del desplazamiento de otras. Este es el caso de *Arthroderma uncinatum* y su anamorfo, que es favorecido por las bajas temperaturas (Chmel & Vlacilicova 1975); y a pesar de su carácter acidófilo fue registrado en ambas estaciones (Interfase) a pH alcalinos (7.68-8.60).

Aphanoascus keratinophilus y *Chrysosporium pannicola* son especies neutrófilas y alcalinas con respecto al pH, aislándose entre rangos de 7,07 a 10,75 (Garg et al., 1985; El-Nagdy & Hafez 1990) en ambas estaciones. La baja frecuencia de *Chrysosporium tropicum* se atribuye a su carácter acidófilo no compatible con la alcalinidad de los sectores muestreados.

Diversos autores han señalado en la literatura que

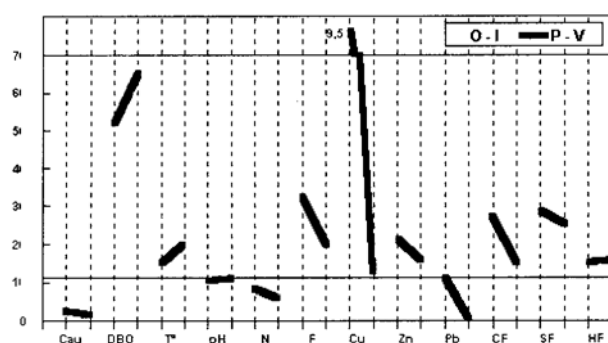


Figura 6.- REE para parámetros físico-químicos y biológicos en interfase

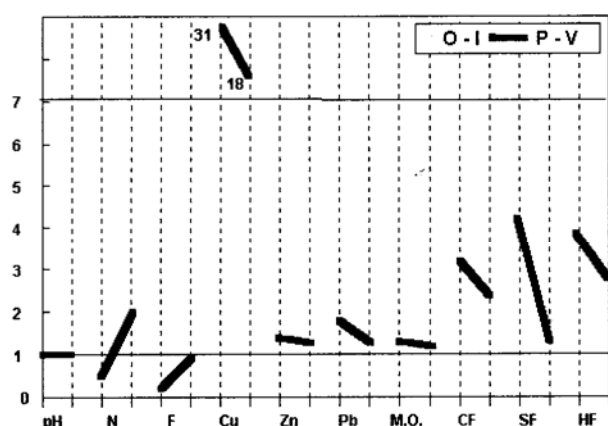


Figura 7.- REE para parámetros físico-químicos y biológicos en sedimento

bajo condiciones restringidas, algunos compuestos orgánicos como proteínas e hidratos de carbono en el lecho del río pueden generar condiciones especiales de pH y de esta manera algunos geohongos pueden progresar. Bajo estos antecedentes se consideran los aislamientos de *Aphanoascus keratinophilus* en P-V y *Chrysosporium pannicola* en O-I que junto a los parámetros biológicos indican un aumento de materia orgánica de origen fecal (Cuadro 6, Figuras, 6,7) (Booth, 1971; Ulfig et al., 1996, a).

Comparando la presencia de los *Onygenales* queratinofílicos en su ambiente terrestre con los aislamientos obtenidos en el agua, se observa que en Juncal, en los sedimentos, la presencia de éstos disminuye con respecto a las tierras probablemente por el caudal más rápido y por ser un área relativamente más limpia carente de asentamientos humanos. El incremento en Chagres (coincidente con el de la interfase), puede atribuirse al pH alcalino, el caudal más reducido, la población humana aledaña a las riberas del río y las actividades agrícolas y ganaderas del sector (Allesch & Constanzo, 1988; CONAMA, 1995, 1996).

En Juncal, en las trampas se obtuvo un porcentaje de aislamiento de un 28 % sobre las tierras, por el impacto del agua sobre las trampas, favoreciendo la retención de los propágulos fúngicos, la presencia de una comunidad microbiana más reducida y menos competitiva y al incremento de los nitratos y fosfatos. En Chagres éstos sólo fueron detectados en un 6%, debido a las actividades humanas en esta localidad. (Cooke 1979; Garg et al. 1985; Allesch & Constanzo, 1988; Garraway et al. 1986; Cooke & Whipps, 1993).

La información aportada por los parámetros físico-químicos (Cuadro 5) en ambas estaciones, señalan que Chagres representaría un medio más rico en materia orgánica, aportando una mayor fuente nutricional a la micota presente (Cooke, 1957). Frente a estos aportes, el factor limitante del ecosistema se manifiesta en la disponibilidad de oxígeno dependiente de la actividad de las poblaciones planctónicas que migran hacia la interfase generándose una competencia en la cual sobreviven los mejor adaptados al sistema (Caretta, 1975; Wetzel, 1981; Christensen, 1981; Mangiarotti & Caretta 1984; Rheinheimer, 1991), lo que explicaría el incremento de *Aphanoascus keratinophilus* en Chagres.

El aumento de estos organismos en O-I, en Juncal (Interfase y Trampas) y Chagres (Tierra, Interfase y Sedimentos) se fundamenta en el aporte natural de materia orgánica al ecosistema. En cambio el incremento en P-V en Juncal (Tierras y Sedimentos) y en Chagres (Trampas) estaría señalado por la disminución de la D.B.O., la crecida del río por el deshielo, el tiempo cálido, la ausencia de lluvias y por actividad antrópica, tránsito de ganado, entre otros, sumándose en Chagres los desagües municipales provenientes de San Felipe (Caretta, 1975, Rheinheimer, 1991, Ulfig 1997, a; b, c; Allesch & Constanzo 1988).

Diversos investigadores han coincidido que los *Onygenales* queratinofílicos en suelos contaminados con materia orgánica y desechos químicos, en plantas de tratamientos de aguas servidas y últimamente el riego de suelos agrícolas con este tipo de aguas, no altera mayormente la biodiversidad de las comunidades fúngicas propias de este habitat, pero si aumenta la densidad de la población ante la mayor oferta de nutrientes (Ulfig, 1991; Ulfig et al. 1996 a; Kornilowicz, 1993; Ulfig, 2000; Shtayeh & Jamous 2000).

Los hongos queratinofílicos constituyen un grupo ecológicamente importante por su distribución mundial, éstos desempeñan un importante papel en la degradación natural de los residuos queratinizados y comparten muchas propiedades con los dermatofitos, y como ellos probablemente pueden originar bajo determinadas condiciones infecciones en el hombre y en los animales. De esta manera *Arthroderma gypsea* y su anamorfó

Microsporium gypseum ha sido reportado en la literatura como agente causal de micosis en el hombre y en los animales (Valiente 1983, Mangiarotti & Caretta 1984; Piontelli et al., 1991; Abdullah & Hassan 1995; Ulfing et al., 1996; Gherbawy 1996 a,b; Ulfing et al., 1997 a,b,c; Katiyar & Kushwaha, 2000). Es necesario acotar que este organismo es sensible a las alturas, lo que explicaría su bajo número en Juncal (Piontelli & Caretta, 1974; Domsch et al., 1980).

Las especies de *Chrysosporium* inoculadas en animales de experimentación si bien es cierto no corresponden al concepto de "patógenos", se ha podido comprobar que sus conidios permanecen viables por varias semanas en el cuerpo de estos animales infectados artificialmente (Rippon, 1974; Gherbawy, 1996). Se les aísla ocasionalmente en muestras clínicas de piel, pelos o uñas en humanos (De Vroey, 1970).

Aphanoascus fulvescens ha sido reportado como patógeno oportunista en perros. Por lo tanto es necesario tener presente su posible oportunismo en los animales superiores.

2.- Hongos filamentosos y levaduriformes

La presencia de estos organismos terrestres en el ambiente acuático fue detectada a través de la técnica de dilución y recuento en placa. Los estudios realizados por Caretta, (1975), Kornilowicz (1993, 1994, 1995) y Talbot (1997), han demostrado que participan en la degradación de la materia orgánica y la eutrofización en aguas, lagunas y ríos, adaptándose morfológica y funcionalmente a estos ambientes. Generalmente a través de esta metodología no se aíslan *Onygenales* o sus anamorfos (Shtayeh & Jamous, 2000), en nuestro caso se aisló el género *Malbranchea* sólo en Chagres en O-I (sedimentos) y P-V (interfase) (Cuadro 4).

La micota levaduriforme es considerada propia de la filosfera y otros ambientes vegetales, siendo calificada de habitat terrestre, por consiguiente su aislamiento en los ríos y sus afluentes, se relaciona principalmente con la presencia de sustratos vegetales colonizados por ellos. Otros autores han sugerido que su presencia en lagos y ríos podrían servir como indicadores de contaminación, dado que constituyen la mayor parte de la micota fúngica en las aguas servidas, asociándose su presencia en cantidad y calidad a descargas de residuos domésticos o industriales. (Cooke, 1957; Simard & Blackwood, 1971; Simard 1971; Spencer et al., 1974; Cooke, 1979; Valiente 1993; Kornilowicz, 1994).

3.- Parámetros biológicos

La norma chilena (1978), ha establecido que los coliformes fecales (*E.coli*) no deben exceder a 1000/100 ml, considerándose en las aguas recreacionales el rango

de 501 a 1000 *E. coli* /100 ml. como discutible (Castillo, 1979). Los valores registrados en Chagres sobrepasaron los límites permitidos en la norma (Figura 5). Los coliformes fecales (*E. coli*) y *Streptococcus faecalis* se incrementaron en los sedimentos en ambas estaciones en P-V. Se ha señalado que este sustrato puede albergar microorganismos de origen fecal en una proporción de 100-1000 veces por lo que su sobrevivencia en estos medios es importante desde el punto de vista sanitario (Cooke, 1957; Davies et al., 1995). En Juncal el escaso número de microorganismos fecales obedece a causales referidas en la literatura consultada como: el aumento de la radiación solar (Chamberlain & Mitchell, 1978), las bajas temperaturas (Simard & Blackwood 1970), agentes tóxicos (Jones, 1964), predación-parasitismo (Enzinger & Cooper, (1976) y escasez de nutrientes (Gaunthier et al., 1989). (Wetzel, 1981; Unda et al., 1982; Gebauer & Donoso, 1988; Rheinheimer, 1991).

CONCLUSIONES

Aphanoascus keratinophilus y su anamorfo fue la especie con mayor frecuencia de presencia principalmente en Chagres, lo que confirma su mayor adaptación y tolerancia en este medio. Esto puede asociarse a factores ambientales más favorables, en especial la temperatura y el aporte de materia orgánica.

El hallazgo de *Aphanoascus keratinophilus*, *Arthroderma quadrifidum* y *Chrysosporium pannicola*, a nivel de las trampas, amerita un estudio más profundo por su crecimiento en condiciones que difieren de su hábitat natural y su presencia podría ser de utilidad complementaria en los estudios de contaminación con materia orgánica.

En los sedimentos la frecuencia de las tres especies seleccionadas demuestran que sus propágulos fúngicos se diseminan por el agua y se acumulan en éstos, conservando su capacidad de germinación en el tiempo; tanto en las trampas como in vitro.

Los parámetros físico químicos y biológicos indican que Chagres con respecto a Juncal presenta una contaminación expresada mayoritariamente a nivel de *coliformes* y *Streptococcus faecalis*.

REFERENCIAS

- Abdel - Hafez, A.I., Khalil, A.M. (1992). Occurrence of zoospore and other moulds in water and mud from a slaughter house and tanyard at Assiut, Egypt. P. Zentralblatt für Mikrobiologie 147: 513-528
- Abdel -Hafez, A.I. & El-Sharouny, H.M.M. (1990). The occurrence of keratinophilic fungi in sewage sludge from Egypt. Journal of Basic Microbiology. 30:29-43.
- Abdullah, S.K. & Hassan, D.A. (1995). Isolation of dermatophytes and

other keratinophilic fungi from surface sediments of the Shatt Al Arab river and its creeks at Basrah Irak.. Mycoses 38: 163-166

Allesch, I.R. & Constanzo, C.V. (1988). Problemas Ambientales en la cuenca del Río Aconcagua, V Región, su incidencia en el manejo de los recursos y desarrollo regional.. Revista Geográfica de Valparaíso, 19: 30-65

Andrews, S. & Pitt, J.I. (1986). Selective medium for isolation of *Fusarium* species and dematiaceous Hyphomycetes from cereals. Appl. Environ. Microbiol. 51:1235-1238

Araya, M.B. & Millie, G.H. (1991). Guía de campo de las Aves de Chile. Editorial Universitaria.

Armada de Chile, Dirección General del Territorio Marítimo y Marina Mercante. (1994). Ordinario N° 12600/322, VRS. Decreto Regulador de las Descargas de Residuos Líquidos a los cuerpos de agua de jurisdicción de la D.G.T.M. y M.M.

A.P.H.A.; A.W.W.A.; W.P.C.F. (1992). Métodos normalizados para el Análisis de agua potable y residuales. Edición Díaz de Santos, España. Capítulo 5010:5-30.

Arx Von, J.A. (1986). The Ascomycete Genus *Gymnoascus*. Persoonia. 13: 173-183

Bertoldi, D.M. (1981). Pathogenic fungi associated with land application of sludge.. W.H.O. Regional Office for Europe, 6: 320-365.

Boiron, P.; Agis, F.; Nguyen, V. (1983a). Etude de la flore levuriforme d'intérêt médicale de la plage Sainte-Anne en Guadeloupe. Bull. de la Soc. de Pathol. Exp. 76:351-356

Boiron, P. & Agis, F. (1983b). Etude Preliminaire de la flore levuriforme d'intérêt médicale. Observée en milieu marin littoral en Guadeloupe. Bull. de la Soc. de Pathol. Exp. 77:272-278

Booth, C.D. (1971). Methods in Microbiology. 6.a. Edición Academic Press, London. Commonwealth Mycological Institute Kew, Inglaterra. Capítulo II: 51-177p, Capítulo XII :335-365 p. Aquatic Fungi VI Fungi in polluted waters, sewage, and sewage treatment systems :359-365 p.

Campos, V. & Ríos, R. (1989). Composición de la microbiota alóctona y autóctona en cuerpos de agua con distinto grado de contaminación en playas de Viña del Mar. Bol. Micol. 4:109-118.

Campos, V. & Lund, F. (1985). Calidad bacteriológica del agua en las playas de Arica (Chile) Bol. Micol. 2:103-108.

Campos, V.; Zahr M.; García-Tello, P.; Ríos R. (1986). Calidad bacteriológica del agua en playas de Valparaíso y Viña del Mar. III. Contaminación Ambiental. Bol. Micol. 3:93-98

Cano, F.J. & Guarro, J. (1990). The Genus *Aphanoascus*. Mycol. Res. 94:355-377

Caretta, G. (1975). Considerazioni ecologiche su alcuni geofungi e idrofungi. Giorn. Bot. Ital. 109: 275-290

Castillo, G. (1979) Métodos para Análisis Bacteriológico de Aguas. Ministerio de Obras Públicas, Servicio Nacional de Obras Sanitarias. Publicación 04.79.: 1-293.

Chmel, L., Vlacilikowa, A. (1975). The ecology of keratinophilic fungi at different depths of soil Sabouraudia 13: 185-191.

Christensen, M. (1981). Species diversity and dominance in The Fungal Communities. Eds. Wicklow D. & Carrol G. Series Micológicas, II. Marcel Dekker Inc. Capítulo 12 : 201-232

Comisión Nacional Del Medio Ambiente (CONAMA). (1995). Pre-informe final: Estudio de Impacto Ambiental de las descargas de aguas servidas, industriales, domésticas y otras en la cuenca del Río Aconcagua. Tareas n°s 2-3: 1-302

Comisión Nacional Del Medio Ambiente (CONAMA) (1996). Contaminación en el Río Aconcagua. Nuevo Ambiente 9. 12-15

Cooke, B.W. (1957). Use and value of fungi as biological indicators of pollution. The Biology of Water Pollutions: Transactions of the Seminar of Biological Programs in Water Pollution held at R.A. Taft. Sanitary Engineering Center: 84-93

Cooke, B.W. (1979). The ecology of fungi. C.R.C. Press Inc. Florida U.S.A. II: 129-155

Cooke, R.C. & Whipps, J.M. (1993). Ecophysiology of fungi. Blackwell Scientific Publications, London, University Press, Cambridge. Capítulo 6: 143-160

Currah, R.S. (1985). Taxonomic of the *Onygenales*, *Arthrodermataceae*, *Gymnoascaee*, *Myxtrichaceae* and *Onygenaceae*. Mycotaxon 24: 1-216

Currah, R.S. (1988). An annotated key to the genera of *Onygenales* Systema Ascomycetum, 7:1-12

Davies, M.C.; Long, J.A.H.; Donald, M. & Ashbott, M.J. (1995). Survival in faecal microorganisms in marine and fresh water sediments. Applied & Environmental Microbiology 61: 1888-1896

De Vroey, C. (1970). Contribution a l'étude des dermatophytes et d'autres *Gymnoascaee*. Ann. Soc. Belg. Med. Trop. 50: 1-74

Domsch, K.H.; Gams, W. & Anderson, T.H. (1980). Compendium of soil fungi. Academic Press, London. I:1-859

El-Nagdy, M.A. & Abdel-Hafez, S.I.I. (1990). Occurrence of zoospore and terrestrial fungi in some ponds of Kharga Oases, Egypt. Journ. Of Basic. Microbiol. 30: 233-240

Garraway, M.O. & Evans, C.R. (1986). Fungal Nutrition and Physiology. Editorial John Wiley and Sons. New York. Cap. 1:1-21. Cap. 5 :124-162

Garg, A.P., Condotra, S.; Mukerji, K.G. & Pugh, J.F.G. (1985). Ecology of keratinophilic fungi. Acad. Sci. 94:143-163

Gebauer, M.T. & Donoso, T.G. (1988). Contaminación bacteriológica de los Ríos Rahue y Damas, Osorno, Chile.. Bol. Inst. Salud Pública de Chile, 27: 65-71

Gherbawy YAM. (1996). Keratinolitic and keratinophilic fungi of mangrove soil and air in the city of Qena and their response to garlic extract and onion oil treatments. Acta Mycologica 31: 87-99

Katiyars, S. & Kushwaha, R.K.S. (2000). Human hair colonizing fungi in water sediments of India. Mycopathologia 152: 81-84

Kendrick, B. (1985). The fifth Kingdom. Mycologue Publications, Waterloo, Ontario. Capítulo 11: 163-173

Kornilowicz, T. (1993). Occurrence of geophilic keratinophilic fungi in bottom sediments of lakes of various trophicity. Acta Mycologica, 28:

171-184

- Kornilowicz, T.** (1994). The dynamics of quantitative changes of mycoflora in two lakes differing in trophicity (Poland). II. *Acta Mycologica*, 29: 159-168
- Kornilowicz, T.** (1995). Changes in species composition and physiological activity of fungi associations in two lakes, differing in trophicity. *Acta Mycologica*, 30: 233-253
- Lewis, L.D. & Gattie, K.D.** (1991). The ecology of quiescent microbes. *ASM News*, 57: 27-32
- Malloch, D., Cain R.F.** (1971). New genera of the *Onygenaceae*. *Can. Journ. Of Bot.* 49: 839-846
- Mangiarotti, A.M. & Caretta, G.** (1984). Keratinophilic fungi isolated from a small pool. *Mycopath.* 85:9-11
- Mercantini, R. ; Marsella, R.; Moretto, D. & Finoti E.** (1993). Keratinophilic fungi in the antarctic environment. *Mycopath.* 122: 169-175
- Norma Oficial Chilena (NCH 1333).** (1978). Requisitos de calidad de agua para diferentes usos. 1a. Ed. Instituto Nacional de Normalización. Matías Cousiño n° 64, 6° piso, Santiago. Inscripción n° 49.092
- Orr, G.F.** (1969). Keratinophilic fungi isolated from soils by a modified hair bait technique. *Sabouraudia* 7: 129-134
- Oorschoot Von, C.A.N.** (1980). A revision of *Chrysosporium* and allied genera. *Studies in Mycology*, 20: 1-89
- Piontelli, L.E. & Caretta, G.** (1974). Considerazioni ecologiche su alcuni geomiceti isolati su substrati cheratinici in località montagnose delle Ande del Chile. *Riv. Pat. Vegetale* 10:261-314
- Piontelli, E.; Toro M.A. & Casanova, D.** (1984). Diversity-dominance and succession of fungal communities in sandy soils (a beach of V Región, Chile) on keratinic substrata. I. *Bol. Micol.* 2:73-89
- Piontelli, E.; Toro, M.A. & Casanova, D.** (1990). Latitudinal distribution on *Onygenales* and related *Hyphomycetes* in soils of northern Chile between 18- 34° of south latitude. *Bol. Micol.* 5: 79-106
- Piontelli, E.; Toro, M.A.; Casanova, D. & Jara, D.** (1991). Micosis superficiales en pacientes de servicios dermatológicos de la V Región. Estudio de prevalencia en el período 1984-1989. *Bol. Micol.* 6: 63-68
- Rheinheimer, G.** (1991). *Aquatic Microbiology*. 4.a. Ed. Editorial John Wiley & Sons. New York. :1-845
- Rippon, J.W.** (1974). *Medical Mycology*. Philadelphia W.B. Saunders Co.
- Shtayeh, M.S.A. & Jamous, M.F.R.** (2000). Keratinophilic fungi and related dermatophytes in polluted soil and water habitats. In: Kushwaka, R.K.S. & Guarro, J. (eds.). *Biology of Dermatophytes and other keratinophilic fungi* pp. 51-59
- Simard, R.E. & Blackwood, A.C.** (1971). Ecological studies in the Saint Lawrence river. *Can. Jour. Microbiol.* 17: 353-357
- Simard, R.E.** (1971). Yeasts as an indicator of pollution. *Marine Pollution Bulletin*, 2: 123-125
- Spencer, J.F.T.; Gorin P.A.J., Gardner N.R.** (1974). Yeast isolated from some lakes and rivers of Saskatchewan. *Can. Journ. Microbiol.* 20: 949-954
- Talbot, N.J.** (1997). Fungal Biology: Growing into the air. *Current Biology*. 7: 78-81
- Ulfig, K. & Ulfig, A.** (1990). Keratinophilic fungi in bottom sediments of surface waters. *Journ. of Med. Veterin. Mycology* 28: 419-422
- Ulfig, K.** (1991). Keratinophilic fungi in waste water sediments. *Roczniki Panswowego Zakladu Higieny*. 42: 309-315
- Ulfig, K.; Terakowski, P.G. & Kosarewicz, O.** (1996 a). Keratinophilic fungi in sewage sludge. *Mycopath.* 136: 41-46
- Ulfig, K.; Lukasik W. & Plaza, G.** (1996. b). Further statistical evaluation of the occurrence of keratinophilic fungi in damp sediments. *Intern. Journ. Environmen. Health Research*. 6: 39-47
- Ulfig, K.; Guarro, J.; Cano, J.; Gene, J.; Vidal, P.; Figueras, M.J.; Lukasik, W.** (1997 a). The occurrence of keratinophilic fungi in sediments of the river Tordera (Spain) .. *FEMS Microbial Ecology*. 22: 11-117
- Ulfig, K.; Guarro, J.; Cano, J.; Gene, J.; Vidal, P.; Figueras, M.J.** (1997 b). General Assesment of the occurrence of keratinophilic fungi in river and marine beach sediments of catalonian waters (Spain). *Water, Air and Soil Pollution* 94: 275-287
- Ulfig, K.; Lukasik, W.; Guarro, J.; Cano, J.; Gene, J.; Vidal, P.; Figueras, M.J.** (1997 c). The seasonal change of keratinolitic fungi in sediments of catalonian rivers (Spain).. *Water, Air and Soil Pollution*, 96: 269-290
- Ulfig, K.** (2000.) The occurrence of Keratinolytic fungi in waste and waste-contaminated habitats. In: Kushwaka, R.K.S. & Guarro, J. (eds.). *Biology of Dermatophytes and other keratinophilic fungi* pp. 44-50
- Unda, O.F.; Segura, P.E. & Salinas, C.S.** (1982). Investigación, contaminación y autopurificación Río Aconcagua. *Bol. Inst. De Salud Pública de Chile* 23: 100-121
- Valiente, A.C.** (1993). Caracterización micológica de aguas " crudas " y filtradas en la planta de tratamiento de tres rios . Costa Rica.. *Rev. Biol. Trop.* 41: 417-422
- Vanbreuseghem, R.** (1952.) Technique biologique pour l' isolement des dermatophytes du sol. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop.* 32: 173-178
- Wetzel, R.G.** (1981). *Limnología*. Ediciones Omega S.A. Casanova 220 Barcelona 36: 1-679
- Villaseñor, R.C.** (1985). Guía para el reconocimiento de las especies arbóreas y arbustivas más frecuentes en el Parque Nacional "La Campana". Editorial Corporación Nacional Forestal (CONAF). & Universidad de Playa Ancha, Ciencias de la Educación.