



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

**"Bipolaris sp. Shoem, AGENTE POTENCIAL
PARA EL CONTROL DEL LIRIO
ACUÁTICO Eichhornia crassipes
(Mart) Solms. "**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO
INGENIERA AGRÍCOLA
P R E S E N T A :
ISADORA JIMÉNEZ HIDÁLGO

ASESOR : BIOL. GLORIA ZITA PADILLA

COASESOR: BIOL. MARCOS ESPADAS RESÉNDIZ

CUAUTITLÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO 1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
 UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
 DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

FACULTAD DE ESTUDIOS
 SUPERIORES

UNIVERSIDAD NACIONAL
 AVENIDA DE
 MEXICO

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DEPARTAMENTO DE
 EXAMENES PROFESIONALES

DR. JAIME KELLER TORRES
 DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
 P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
 Jefe del Departamento de Exámenes
 Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Bipolaris sp. Shoem, agente potencial para el
control del lirio acuático Eichhornia crassipes
(Mart) Solms.

que presenta la pasante: Isadora Jiménez Hidalgo
 con número de cuenta: 8935051-1 para obtener el TITULO de:
Ingeniero Agrícola

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI FAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlan Izcalli, Edo. de Méx., a 12 de Noviembre de 1997

PRESIDENTE	M.C. M.M. Ofelia Grajales Muñiz	<u>Jefe</u>
VOCAL	M.C. Yazmin Cuervo Usan	<u>[Firma]</u>
SECRETARIO	Biol. Gloria Zita Padilla	<u>[Firma]</u>
PRIMER SUPLENTE	Ing. Angel López Cortes	<u>[Firma]</u>
SEGUNDO SUPLENTE	Ing. Salvador del Castillo Rabadan	<u>[Firma]</u>

A MI MADRE Y HERMANO

AGRADECIMIENTOS

A todas las personas que contribuyeron en mi formación.

Al ingeniero Juan Rafael Garibay Bermúdez y al M.C. Armando Aguilar Márquez por ayudarme en el análisis estadístico.

FE DE ERRATAS

Página 22, tercer párrafo
dice: Trichodrema sp
debe decir: Trichoderma sp.

Página 26, Estado perfecto
(telemorfo)
dice: Cochiobolus Drechsler
debe decir: Cochliobolus
Drechsler

Página 38, ALL=
dice: porcentaje de la longitud
de las lesiones
debe decir: promedio de la
longitud de las lesiones

Página 79
dice: Grados de Libetad
debe decir: Grados de Libertad

ÍNDICE

RESUMEN	i
I. INTRODUCCIÓN	1
Justificación	4
Objetivos	4
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	5
2.1 Elementos Propicios para el desarrollo del lirio acuático	5
2.2 Condiciones que influyen en el desarrollo de hongos	9
2.3 Control biológico	22
2.4 Descripción de <i>Bipolaris sp Shoem.</i>	25
2.5 Medición de síntomas de las plantas	37
III. MATERIALES Y MÉTODOS	38
3.1 Capacidad infectiva de <i>Bipolaris sp</i> sobre <i>Eichhornia crassipes</i>	40
3.2 Rango de hospederos de <i>Bipolaris sp</i>	41
3.3 Respuesta de <i>Bipolaris sp</i> a distintos factores físicos	42
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	44
4.1 Capacidad infectiva de <i>Bipolaris sp</i> sobre <i>Eichhornia crassipes</i>	44
4.2 Rango de hospederos de <i>Bipolaris sp</i>	49
4.3 Respuesta de <i>Bipolaris sp</i> a distintos factores físicos	55
V. CONCLUSIONES	65
VI. BIBLIOGRAFÍA	67
VII. GLOSARIO	71
VIII. ANEXO	79

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Ciertos nutrientes necesarios para la reproducción	11
Cuadro 2.	Procesos promovidos por luz	17
Cuadro 3.	Grupos de hongos de acuerdo a los requerimientos de temperatura	20
Cuadro 4.	Metabolitos secundarios y toxinas producidas por <i>Bipolaris</i>	36
Cuadro 5.	Descripción de síntomas del lirio acuático	44
Cuadro 6.	Severidad a los 40 días	46
Cuadro 7.	Severidad a los 50 días	47
Cuadro 8.	Descripción de síntomas del sorgo y del pasto Sudán	49
Cuadro 9.	Severidad en el sorgo a los 30 días	50
Cuadro 10.	Severidad en el pasto Sudán a los 30 días	52
Cuadro 11.	Comportamiento de <i>Bipolaris sp.</i> bajo distintos factores físicos	55
Cuadro 12.	Análisis de varianza (ANADEVA)	77

INDICE DE GRÁFICAS Y FIGURAS

Gráfica 1.	Efecto del medio de cultivo y la intensidad de luz sobre la esporulación de <i>Bipolaris sp.</i>	56
Gráfica 2.	Prueba de Tukey. Efecto del medio de cultivo sobre la esporulación de <i>Bipolaris sp.</i>	58
Gráfica 3.	Efecto del medio de cultivo y el fotoperíodo sobre la esporulación de <i>Bipolaris sp.</i>	59
Gráfica 4.	Efecto del medio de cultivo y la intensidad de luz sobre el crecimiento micelial de <i>Bipolaris sp.</i>	61
Gráfica 5.	Efecto del medio de cultivo y el fotoperíodo sobre el crecimiento micelial de <i>Bipolaris sp.</i>	62

Figura 1.	<i>Bipolaris bicolor.</i>	29
Figura 2.	<i>Bipolaris zeicola.</i>	29
Figura 3.	<i>Bipolaris hawaiiensis.</i>	31
Figura 4.	<i>Bipolaris maydis.</i>	31
Figura 5.	<i>Bipolaris oryzae.</i>	33
Figura 6.	<i>Bipolaris sorokiana.</i>	33
Figura 7.	<i>Bipolaris sacchari.</i>	35
Figura 8.	<i>Bipolaris sorghicola.</i>	35

RESUMEN

El lirio es la maleza acuática más importante en México ya que puede duplicar su biomasa en 7-64 días. Por su amplia distribución, existen numerosos organismos que la afectan insectos, hongos, vertebrados, etc. En el Valle de México, *Bipolans sp.* mostró ser capaz de provocar severos daños al lirio acuático.

Para demostrar la capacidad infectiva de *Bipolans sp* se inocularon hojas sanas y jóvenes con una suspensión de 5.75×10^5 y 1.1×10^6 conidios/ml., observando los síntomas por 50 días. Los lirios presentaron los primeros síntomas 7-10 días después como pequeñas puntuaciones café claro. A los 24 días, éstas aumentaron de tamaño formando manchas oscuras, 42 días después las lesiones traspasaron al envés y las hojas más dañadas comenzaron a enrollarse. A los 50 días las hojas recién formadas tenían manchas oscuras, las otras poseían como máximo 30% de tejido verde. También, se evaluó el comportamiento en distintos medios de cultivo (hojas de betabel - agar, clavel, - dextrosa - agar, papa - dextrosa - agar, jugo V-8 - agar y hojas de zanahoria - agar), intensidades de luz (39, 78 y 117 watts) y fotoperíodos (12 y 16 horas). Todos los medios se expusieron a 4 días de luz. La valoración fue hecha al séptimo día considerando el número de conidios por mililitro y la superficie fungal en la caja de petri. Al analizar los resultados, se observó que tanto en el crecimiento vegetativo como en la reproducción, el medio de cultivo es el determinante debido a que existe diferencia altamente significativa entre éstos. Para la abundante formación de esporas el mejor tratamiento fue el hojas de zanahoria expuesto a 117 watts por 16 horas, mientras que, en el crecimiento micelial lo fue el clavel - dextrosa - agar con 12 horas de luz y 39 watts. Así mismo, se delimitó el rango de hospederos de *Bipolans sp.* para lo cual se inocularon con suspensiones de 1.125×10^6 y 1.983×10^6 esporas/ml., plantas cultivadas y maleza. De las especies estudiadas sólo el pasto Sudán y el sorgo fueron susceptibles al hongo.

I. INTRODUCCIÓN

Durante las últimas décadas como consecuencia del crecimiento acelerado de los principales centros de población, se han registrado diversos problemas, resaltando aquéllos que repercuten sobre las áreas aledañas a los mismos puesto que estas últimas son las receptoras de los desechos generados en tales centros. Un ejemplo de ello es la contaminación de la zona lacustre de Xochimilco en el D.F., el Lago de Guadalupe y la Laguna de Zumpango en el Estado de México, las Presas Requena y Endhó en Hidalgo, Trigomil y Miraplanes en Jalisco, la Laguna de Yuriria en Guanajuato, entre otros.

En los anteriores casos, como consecuencia de las actividades antropogénicas (industriales, agrícolas y urbanas) se han modificado las características físicas, químicas y biológicas de los cuerpos de agua, tales cambios son el resultado de la incorporación de nutrientes y materia orgánica, lo cual ha favorecido el crecimiento excesivo de maleza acuática. El incremento en la concentración de nutrientes -principalmente Fósforo y Nitrógeno- es conocido como eutroficación (Gutiérrez, L.E.D., 1995). El término eutroficación se refiere al proceso lento y natural a través del cual los sistemas acuáticos aumentan gradualmente su productividad (evolucionan) conforme los nutrientes se acumulan con el paso del tiempo, finalmente regresa a la condición terrestre debido a la poca profundidad de los mismos producto de la sedimentación (Freedman, B., 1989). En el proceso de eutroficación se alcanza un punto en el que la depositación orgánica excede la capacidad de descomposición, pudiendo incrementarse rápidamente el proceso de sedimentación y presentar un cambio acelerado hacia el sistema terrestre (Wetzel citado por Gutiérrez, L.E.D., 1995). La eutroficación cultural más frecuente es la causada por el uso de detergentes y fertilizantes, y la incorporación de desechos humanos y animales. En éstos el Fósforo y el Nitrógeno son los elementos predominantes y que más afectan la

calidad del agua, debido a que hay lixiviación o descarga directa de ambos (INEGI, 1995) especialmente en su forma inorgánica PO_4^{3-} y NH_4^{+1} o NO_3^{-2} respectivamente (Freedman, B., 1989).

El acelerado crecimiento de maleza acuática ha afectado en forma negativa la calidad del agua, la operatividad de las obras de irrigación y de abastecimiento, así como las actividades que dependen de éstos

Dentro de la maleza acuática de mayor importancia en México se encuentran: el lirio acuático *Eichhornia crassipes*, hidrila *Hydrilla verticillata*, tula *Typha sp* y lentejilla o chichicastle *Lemna sp* (Gutiérrez, E., 1994) Dada la gran capacidad de adaptación a diversas condiciones ambientales y la alta tasa de crecimiento reflejada en su reproducción vegetativa, el lirio acuático es considerada como la principal maleza.

El lirio acuático se ubica en altitudes de 0 a 2 500 m s.n.m. En casos extremos, puede arraigarse al sedimento y sobrevivir con poca humedad en áreas someras o bien permanecer a la deriva en zonas más profundas (Gutiérrez, L.E.D., 1995). En un estudio realizado por la Comisión Nacional del Agua se estimó que de las 62 000 hectáreas detectadas con maleza acuática en 114 presas y lagos, 40 000 ha. corresponden al lirio acuático (Gutiérrez, L.E.D., Uribe, G.E. et al 1994), esto puede explicarse si se toma en cuenta que dos plantas producen vegetativamente 30 retoños en 23 días y 1 200 en cuatro meses (Holm citado por Gutiérrez, L.E.D., 1995). A nivel nacional se ha determinado un tiempo de duplicación de la biomasa de 7 a 64 días (Gutiérrez, L.E.D., Uribe, G.E. et al 1994).

Las características antes señaladas han limitado el uso de distintos métodos de control a corto plazo (los cuales van dirigidos al efecto, es decir, a la aminoración de la cantidad de plantas), ya que los comúnmente utilizados – mecánicos, manuales y químicos- son poco aceptados, costosos y no logran reducir de manera significativa la población de maleza. A partir de ello se han

buscado métodos alternativos como el biológico, que a través del uso de microorganismos es capaz de disminuir el número de individuos.

El lirio acuático por su adaptabilidad a varios hábitats tiene distintos enemigos naturales (bacterias, hongos, insectos, etc.) que pueden emplearse como agentes de control. Algunos ejemplos de hongos son: *Alternaria sp.*, *Bipolaris sp.*, *Cephalotrichum sp.*, *Cercospora rodmani*, *Cladosporium sp.*, *Curvularia sp.*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium sp.*, *Helminthosporium sp.*, *Mycosphaerella sp.*, *Nigrospora oryzae*, *Trichoderma sp.*, *Pestalotia sp.*, *Rhizoctonia sp.* y *Stemphylium vesicarium* (Farr, D.F. et al 1989). Entre los insectos están: el escarabajo moteado *Neochetina bruchi* y *N. eichhorniae* (Gutiérrez, E. et al 1994). Ambos están siendo utilizados en la Laguna de Yuriria, Guanajuato.

Para que un controlador sea usado a gran escala debe ser de rápido crecimiento (en corto tiempo), abundante esporulación, agresivo y persistente en condiciones adversas. Sumado a ello es conveniente identificar los puntos débiles del ciclo de vida de la maleza para tener mayor efecto sobre la misma.

Estudios realizados durante los últimos cinco años en el área lacustre de Xochimilco, en el Lago de Guadalupe y en la Laguna de Zumpango, se han reportado como patógenos del lirio acuático entre otros a los géneros: *Bipolaris*, *Cylindrocladium* y *Fusarium* (Fernández, M.R., 1995). Debido a que fueron los más agresivos en cuanto a severidad. En el presente trabajo se estimó el grado de daño que *Bipolaris sp.* puede ocasionar a la maleza.

Una vez establecida la patogenicidad del hongo, se procedió a evaluar la respuesta del mismo ante distintas condiciones ambientales y así poder conocer que factores estimulan el crecimiento y la reproducción teniendo de esta manera una producción a gran escala tanto de esporas como de micelio. Por último se realizaron pruebas de seguridad para limitar las plantas hospederas de *Bipolaris sp.* Todo fue hecho con la finalidad de saber más acerca del posible uso de este fitopatógeno como controlador del lirio acuático.

JUSTIFICACIÓN

Las alteraciones ecológicas de que ha sido objeto los diferentes cuerpos de agua del país favorecieron el crecimiento excesivo del lirio acuático, siendo actualmente una de las problemáticas más importantes.

Es por ello que se han establecido distintos métodos de control, cuyos resultados (en su mayoría) no son satisfactorios primordialmente por no tomar en cuenta las condiciones ambientales en que se desarrollan tanto el lirio acuático como los organismos relacionados a las áreas lacustres.

A partir de lo anterior y a que recientemente se han implementado medidas para proteger el ambiente, el uso de microorganismos como reguladores de la población de tal maleza es una alternativa viable puesto que al disminuir el número de ésta pueden aplicarse otras técnicas de control, lo cual aumentaría la efectividad del mismo.

El estudio y valoración de los microorganismos en el ámbito local ofrece grandes ventajas por que se estará trabajando con especies endémicas. *Bipolans sp* es un patógeno que por sí solo perjudica al lirio acuático, lo que representa un enorme potencial para evaluar las características de crecimiento y esporulación para su futura utilización como biocontrolador de la maleza.

OBJETIVOS

1. Demostrar la capacidad infectiva de *Bipolans sp* sobre *Eichhornia crassipes*.
2. Precisar la especificidad al lirio acuático de *Bipolans sp*.
3. Evaluar el comportamiento de *Bipolans sp* en diversos medios de cultivo, bajo distintas intensidades de luz y fotoperiodos.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 ELEMENTOS PROPICIOS PARA EL DESARROLLO DEL LIRIO ACUÁTICO

La maleza acuática *Eichhornia crassipes* es originaria de Sudamérica. Por su gran adaptabilidad a distintos hábitats se localiza, a nivel mundial, en más de 50 países entre los 40° de Latitud Norte y los 45° de Latitud Sur. En México se ubica entre los 0 y 2 600 msnm (Gutiérrez, L.E. *et al* 1994); su presencia se ha registrado en: Aguascalientes, Campeche, Chiapas, Colima, Distrito Federal, Guanajuato, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tabasco, Tamaulipas y Veracruz (Gutiérrez, L.E.D. *et al* 1994). Los estados más perjudicados son Jalisco, Estado de México, Hidalgo, Guanajuato, Michoacán, Veracruz y Sinaloa (Contreras y Carlos, 1981; citados por Gutiérrez, L.E.D. *et al* 1994). En el estado de Sinaloa se ha determinado que el incremento de la biomasa de la maleza depende del número de individuos, de tal forma que a partir de un lirio cuyo peso es de 354 gr., aumentó su biomasa en un 600.82% en un período de 30 días; mientras que 6 lirios equivalentes a 2 738 gr., en el mismo lapso de tiempo, aumentaron en un 322.58% su biomasa (Bojórquez, B.G. *et al* 1997).

Algunas de las cualidades que contribuyen a la distribución cosmopolita del lirio acuático se mencionan a continuación.

Fotosíntesis y Crecimiento

El lirio acuático es una planta C-3 en la que el Bióxido de Carbono (CO_2) es fijado por la enzima Ribulosa Bifosfato Carboxilasa / Oxigenasa (rubisco) en el ciclo de Calvin durante la fase oscura de la fotosíntesis. En dicho ciclo el CO_2 se une a la Ribulosa Bifosfato (RuBP), gracias a la rubisco, para formar dos PGA (fosfogliceratos) que son esenciales para la formación de la Fructuosa 6-Fosfato (base de la síntesis de los carbohidratos), pero si el Oxígeno (O_2) está presente, también se puede unir a la RuBP, lo cual hace que el CO_2 y el O_2 compitan en la rubisco. Por ello se establece que el O_2 es un inhibidor de la fijación del CO_2 ya que reduce la actividad de la rubisco al causar una inhibición competitiva, que a su vez, disminuye la actividad fotosintética (Sharkey, T.D. 1993). Este modelo fotosintético se caracteriza por tener un alto punto de compensación de CO_2 , dado que aumenta la actividad fotosintética al incrementarse los niveles de CO_2 y por inhibirse al existir concentraciones de Oxígeno mayores que 21% (Spencer and Bowes, 1990).

Cuando el lirio crece bajo elevadas concentraciones de CO_2 , la producción de biomasa se acrecenta porque hay una gran actividad de la enzima rubisco, traduciéndose en una mayor área foliar y en mayor número de hojas pero no de plantas. Posterior al aumento inicial de la tasa fotosintética las plantas se aclimatan a los niveles de CO_2 debido a que la rubisco alcanza su punto de saturación, por lo que disminuyen la actividad fotosintética, luego entonces al área foliar producida es suficiente para mantener una alta fijación de CO_2 y promover el crecimiento (Spencer and Bowes, 1990).

Otro aspecto limitante de la fotosíntesis es la temperatura. Esta maleza sobrevive entre temperaturas de 20 y 34 °C (Knippling, West y Haller, 1979 citados por Gutiérrez, L.E.D. 1995). En lugares donde la temperatura es elevada, la transpiración de la planta es capaz de enfriar las hojas lo suficiente como para

permitir que la actividad fotosintética permanezca constante (Spencer and Bowes, 1990).

Nutrientes y pH

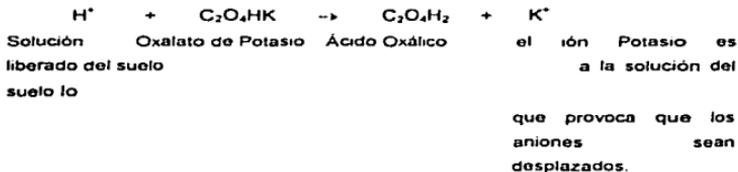
Se ha comprobado que en sistemas ricos en nutrientes el lirio tiene la capacidad de producir 200 ton/ha/año. Lo anterior es posible ya que en ambientes eutróficos con altas adiciones de Nitrógeno y Fósforo la fijación de CO₂ es maximizada. La fertilización nitrogenada no sólo incrementa la tasa fotosintética sino también el crecimiento (Spencer and Bowes, 1990).

Por otra parte, la absorción de nutrientes en *Eichhornia crassipes* ocurre casi exclusivamente a través de las raíces a pesar de que en estudios se ha reportado absorción por vía foliar. La biomasa radicular aumentará si el suministro de nutrientes, especialmente Nitrógeno y Fósforo, es escaso siendo reducida en aquéllos medios eutróficos (Spencer and Bowes, 1990). Las plantas pueden absorber mayores cantidades de Fósforo en pH de 4.0 y más Nitrógeno y Potasio en pH de 7.0 (Gutiérrez, L.E.D. 1995).

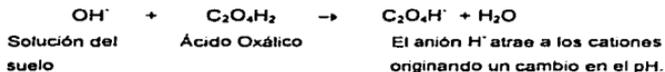
Como se observa el pH del agua influye en el abastecimiento de nutrientes por lo que existe un rango óptimo en el cual el lirio acuático produce la máxima biomasa, éste es entre 4.0 y 8.0 (Spencer and Bowes, 1990). En un estudio realizado por Delgado *et al* (1994) la mayor tasa de crecimiento fue en pH de 6.7 y 7.3. En el mismo se encontró que el lirio es capaz de neutralizar el ambiente, es decir, la planta tiene un efecto amortiguador al proveer elementos alcalinos cuando el medio es ácido y viceversa. El fenómeno puede explicarse por la presencia de compuestos tales como: Oxalato de Potasio y Ácido Oxálico; ambos reguladores del pH. La planta excreta estas sales a través de las raíces gracias al fenómeno de exósmosis (Francois 1969 citado por Delgado *et al* 1994).

El ion Potasio del Oxalato de Potasio es intercambiado en medios ácidos y el ion Hidrógeno del Ácido Oxálico en los alcalinos de la manera siguiente:

Ácido



Alcalino



En pH 6.7 y 7.3 la planta produce mayor materia celular dado que no necesita regular y mantenerlo neutro (Delgado *et al* 1994).

Reproducción

La reproducción vegetativa es el principal método mediante el cual el lirio coloniza las áreas lacustres. La producción de ramets o plantas hijas a partir de las áreas meristemáticas del rizoma de la planta madre es tal que el número de ramets se duplica cada 3-10 días bajo condiciones óptimas de crecimiento. Así,

en tres meses se producen 1610 plantas de una población original de 10 lirios (Spencer and Bowes, 1990). En México se ha determinado un tiempo de duplicación de la biomasa de 7 a 64 días (Gutiérrez L.E D. *et al* 1994).

Durante los meses de invierno la población disminuye drásticamente, las plantas son pequeñas y casi no hay crecimiento, por lo que el rebrote en la estación cálida dependerá de la producción de ramets a partir de los individuos que sobrevivieron a las bajas temperaturas (Spencer and Bowes, 1990).

La reproducción sexual además de ser importante para la formación de nuevos genotipos (Fernández, O.A. *et al* 1990) también lo es en áreas donde el nivel del agua es somero. Si el lirio acuático crece en profundidades de 10 cm., tiene la capacidad de producir mayor número de flores y semillas viables en comparación con lugares más hondos (Spencer and Bowes, 1990). En estudios realizados por Lallana (1984 y 1987) citada por Fernández, O.A. *et al* 1990, encontró que el número de semillas por metro cuadrado varía de 400 a 3 400 en función del lugar y época del año muestreados. Asimismo observó que una gran proporción de flores y frutos son destruidos o dañados por insectos, caracoles y microorganismos diversos, por ello sólo el 65% de los frutos analizados contenían semillas.

2.2 CONDICIONES QUE INFLUYEN EN EL CRECIMIENTO DE HONGOS

El crecimiento de los microorganismos depende en gran medida de los factores ambientales y de su efecto sobre éstos.

En el caso del cultivo *in vitro* deben tomarse en cuenta aspectos nutricionales, lumínicos, térmicos, hídricos, etc. con mayor atención que en campo, de lo contrario los resultados obtenidos quizás no sean los esperados, puesto que las necesidades varían de acuerdo a la fase de crecimiento de cada hongo.

Nutrición

Los hongos, como todo organismo, requieren como necesidad básica alimentarse para cubrir cada una de las etapas de su ciclo biológico.

En condiciones de laboratorio los hongos se cultivan, frecuentemente, en medios con nutrientes en demasía, concentraciones que en la naturaleza es difícil encontrar (Cooke and Whipps, 1993), como consecuencia hay exceso de biomasa y el metabolismo puede originar la acumulación de sustancias tóxicas, como amoníaco (NH_3), en cantidades mayores a las que el organismo halla comúnmente. Por consiguiente, cuando los niveles nutricionales han bajado para dar paso a la esporulación, ésta no se lleva a cabo por las condiciones desfavorables (Carlile and Watkinson, 1994)

Durante el período vegetativo, el balance nutricional es esencial para que la esporulación ocurra. Una alta relación C:N facilita la acumulación de materiales de reserva, por ejemplo el glicógeno, el cual puede utilizarse como fuente de energía durante la reproducción (Cuadro 1) (Carlile and Watkinson, 1994).

Así mismo, la relación C:N puede afectar la viabilidad, longevidad y virulencia de los hongos en cultivo. Toussoun *et al* citado por Boyette *et al* (1991) demostró que el crecimiento vegetativo de *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* fue en aumento por una alta relación C:N, mientras que la virulencia aminoró. En

contraste, una baja relación C:N resultó en un incremento de la virulencia y una disminución del crecimiento micelial.

Los mismos autores señalan que para inducir la esporulación es necesario alterar dicha relación o bien compensar el medio con otros nutrientes: Calcio, agentes quelatantes y aminoácidos; las fuentes de Carbono también realizan la producción de esporas (Boyette *et al*, 1991)

Igualmente, la provisión de medios de cultivo bajos en nutrientes permite la esporulación, a pesar de que el crecimiento vegetativo sea escaso, aunque en algunos casos el abundante crecimiento de los hongos, inducirá una esporulación temprana dado que los nutrientes son utilizados con mayor rapidez (Carlile and Watkinson, 1994, Moore-Landecker, 1990).

Cuadro 1. CIERTOS NUTRIENTES NECESARIOS PARA LA REPRODUCCIÓN

Nutriente	Proceso	Especie
Orgánicos		
Fosfolípidos	El metabolismo del Fósforo tiene una relación cercana con la respiración y el metabolismo de los carbohidratos.	<i>Phytophthora cactorum</i>
Vitaminas, Biotina y Tiamina	Las vitaminas funcionan como coenzimas que catalizan reacciones. La Tiamina regula el metabolismo del Carbono. La Biotina interviene en la síntesis del ácido aspártico.	<i>Aspergillus nidulans</i> <i>Chaetomium convulutum</i> <i>Ophistoma spp.</i>
Inorgánicos		
Ca ⁺²		<i>Chaetomium globosum</i> <i>Penicillium notatum</i>

<p>Mn⁺² NH⁺⁴ o Glicina Zn⁺²</p>	<p>Activa las enzimas del Ciclo de Krebs.</p> <p>Activa las enzimas del Ciclo de Krebs</p>	<p><i>Phytophthora parasitica</i>, también demanda NO-3 <i>Aspergillus nidulans</i></p> <p><i>Tricoderma viride</i> <i>Neurospora spp</i></p>
---	--	---

Fuente: Cooke, R.C. and Whipps, J.M. 1993 ; Moore - Landecker, 1990

Algunas fuentes de Carbono

Una vez que el micelio* entra en la fase reproductiva, los materiales sintetizados por éste son transportados a las estructuras reproductivas en desarrollo. Los compuestos que están en el micelio y que pueden servir como fuente de energía incluyen proteínas y carbohidratos (disacáridos) tetrahalosa, (polisacáridos) glicógeno, que se acumula en el citoplasma, y glicón, almacenado en la pared celular (Moore-Landecker, 1990)

Otros carbohidratos como la glucosa, favorecen el crecimiento micelial por lo que la producción de esporas puede ser reprimida por tal hexosa. En concentraciones de 0.2% de glucosa el número de peritecios* formados por *Magnaporthe salvinii* decrece (Tsuda *et al*, 1982 citado por Moore-Landecker, 1990). En cambio *Ophiobolus graminis* requiere una concentración mínima de 0.75% para tener peritecios fértiles, el número de éstos será mayor si el porcentaje del monosacárido aumenta a 1.5%, pero en medios con 10% de glucosa no habrá peritecio alguno a pesar de que el crecimiento vegetativo sea máximo y la pigmentación del mismo ocurra (Moore- Landecker, 1990).

Tanto la fuente como la concentración de Carbono pueden afectar el comportamiento y morfología de las estructuras reproductivas. Las zoosporas de

Chytromyces hyalinus son más largas al crecer en celobiosa que en fructuosa (Hasija and Miller, 1971 citados por Moore-Landecker, 1990). Del mismo modo, un incremento en Carbono provoca disminución en el tamaño de los picnidios* de algunos Deuteromycetos y es posible que haya mayor longitud y curvatura de las esporas (Nitimargi, 1973 citado por Moore- Landecker, 1990).

Algunas fuentes de Nitrógeno

Los hongos difieren en su habilidad para utilizar distintas fuentes de Nitrógeno, éstas varían en función de la etapa en que se encuentre el microorganismo. Los compuestos de aspargina y amonio son buenos recursos de Nitrógeno durante el crecimiento micelial pero por lo general suprimen la reproducción. El efecto inhibitorio de dichos compuestos probablemente se deba a la acumulación de amoniaco durante la fase vegetativa, por lo cual se alcaliniza el medio e impide la reproducción, o a que el amoniaco puede estar como gas tóxico. *Venturia inaequalis* no puede formar peritecios en medios que contienen sales pero si se agrega Carbonato de Calcio para controlar el pH, habrá producción de ellos (Moore-Landecker, 1990)

El nitrato, la urea y los aminoácidos favorecen la esporulación aunque los diversos géneros de hongos muestran preferencia por una fuente de Nitrógeno en especial. Algunas especies de *Sporangiella* son capaces de utilizar nitratos y ciertos aminoácidos durante la maduración de peritecios (Asina *et al* citados por Moore-Landecker, 1990). En *Cordyceps militans*, un parásito de insectos, la producción de peritecios es favorecida por compuestos nitrogenados complejos

*Para una mayor comprensión del termino se recomienda ver el glosario.

(hemoglobina, caseína o peptona) más no por aminoácidos (Moore-Landecker, 1990).

Las fuentes de Nitrógeno pueden afectar aspectos específicos de la reproducción o la morfología de las estructuras reproductivas. Los picnidios de *Phyllosticta antirrhini* son casi el doble de largos al crecer en medios con sales de amonio que en medios con alanina (Mafello and Cappellini, 1976 citados por Moore-Landecker, 1990).

La cantidad mínima de Nitrógeno que permita la esporulación es ligeramente superior a la que da lugar a un crecimiento vegetativo poco denso. La concentración óptima de éste elemento también varía con la fuente, por ejemplo, la reproducción más efectiva de *Venturia inaequalis* es en concentraciones de nitrato y de urea de 30 partes por millón (ppm) de Nitrógeno. Un abundante número de peritecios se obtienen en concentraciones de 100 ppm de Nitrógeno al utilizar valina y ácido glutámico como fuentes del mismo (Moore-Landecker, 1990).

Otros nutrientes

La formación de estructuras reproductivas requiere concentraciones de minerales y/o vitaminas mayores a las que permiten el crecimiento micelial. *Sordaria fimicola* crece vegetativamente en medios libres de biotina pero es indispensable que ésta sea adicionada para la formación de peritecios (Moore-Landecker, 1990).

El nivel de deficiencia de vitaminas puede ser determinada por la concentración de otros nutrientes disponibles o por el tipo de carbohidratos. La cantidad de tiamina requerida para el desarrollo de peritecios por *Ceratostomella fimbriata* aumenta conforme al incremento de los carbohidratos (Moore-Landecker, 1990).

Por otro lado, la reproducción también es impulsada por la adición al medio de cultivo de factores de crecimiento. Ciertas especies de *Phytophthora* y *Pythium* requieren esteroides tanto para la reproducción sexual como para la asexual (Hendrix, 1970 citado por Moore-Landecker, 1990). Los ácidos grasos promueven la formación de peritecios en *Ceratocystis spp.* La reproducción de los fitopatógenos es engrandecida por la adición de materiales provenientes de las plantas (Moore- Landecker, 1990).

Fases de Crecimiento

En situaciones adecuadas de crecimiento *in vitro*, es posible diferenciar las etapas de desarrollo por zonas. La zona extensiva es la región en la que las hifas* avanzan hacia el medio sin explotar. Detrás de ella está la zona productiva, en la que ocurre el mayor incremento de biomasa. En la zona fructífera las esporas se forman sobre hifas que salen de la superficie del medio de cultivo y por último, la zona improductiva que corresponde a la fase de envejecimiento de la cepa (Carlile and Watkinson, 1994).

En cultivos donde la inoculación se hizo en la parte central, el consumo de nutrientes es heterogéneo, por lo que la zona de fructificación puede ser limitada nutricionalmente. La producción de esporas requiere rutas metabólicas y actividades biosintéticas distintas a las de las células miceliales por diferir en estructura, composición y algunas veces en demanda de nutrientes. Por ello, al distribuir de manera homogénea el inóculo se tiene una superficie de cultivo uniforme, otorgando condiciones satisfactorias a ambos procesos, crecimiento y esporulación (Carlile and Watkinson, 1994).

Luz

La luz interviene en diferentes procesos de los hongos, durante la reproducción la presencia de este factor la puede estimular o inhibir.

Entre estos microorganismos la necesidad de luz es amplia por lo que es posible dividirlos en 5 grupos con base en la respuesta que tienen hacia la luz: A) aquéllos que son aparentemente indiferentes a ésta, B) los que ven impedida o reducida la esporulación cuando son expuestos a la luz, C) los que requieren luz y oscuridad alternas para esporular, D) aquéllos capaces de producir esporas viables en completa oscuridad pero que esporulan abundantemente al exponerlos a la luz, y E) los que requieren luz para formar estructuras reproductivas y esporas (Moore-Landecker, 1990)

Gran número de hongos que requieren luz para iniciar la esporulación, necesitan períodos de oscuridad para completarla con éxito. *Helminthosporium oryzae* en condiciones de luz da inicio a la formación de conidióforos* y en la de oscuridad a la de conidios*. De igual forma *Stemphylium botryosum* produce esporas copiosamente al alternar luz y oscuridad, pero si está en constante oscuridad formará pocas esporas o no esporulará, y en luz continua los conidióforos serán estériles, por lo tanto, se dice que es un "esporulador diurno" porque la luz ultravioleta (UV) es necesaria para la producción de conidióforos, mientras que la oscuridad para la de conidios (Moore- Landecker, 1990). Ciclos de luz y oscuridad incitan la producción de cuerpos fructíferos en *Coprinus macrorhizus* y *Gelatinospora reticulospora* (Cralile and Watkinson, 1994, Cooke and Whipps, 1993). En el Cuadro 2 se muestran algunos otros ejemplos.

Cuadro 2. PROCESOS PROMOVIDOS POR LUZ

Requerimiento	Proceso	Especie
Exposición a luz visible	Esporulación asexual	<i>Physarum polycephalum</i>
	Inicio de la formación de basidiocarpos	<i>Schizophyllum commune</i>
Exposición a radiación ultravioleta	Inicio de la formación de ascocarpos	<i>Pleospora herbarum</i>
	Inicio de la formación de conidióforos	<i>Botrytis cinerea</i>
Oscuridad	Producción de conidios	<i>B. cinerea</i>
	Producción de esclerocios	<i>B. squamosum</i>

Fuente: Carlile, M. J. and Watkinson, S.C. 1994.

La calidad, intensidad y fase de exposición (duración) requeridos por cada tipo de hongo para la inducción, puede cambiar con el tiempo y la etapa de morfogénesis (Cooke and Whipps, 1993)

En ciertos fitopatógenos la exposición a la luz o bajas intensidades de ésta, por pocos segundos es suficiente para estimular la esporulación, mientras que otros requieren periodos prolongados o altas intensidades. Por ejemplo muchos Basidiomycetes demandan luz tanto para inducción como para maduración de basidiocarpos*. En los Deuteromycetes, *Botrytis cinerea* y *Helmithosponum sp.*, la esporulación es promovida por la luz cercana a UV, pero puede ser inhibida por la azul (Carlile and Watkinson, 1994; Cooke and Whipps, 1993).

Los resultados de la luz sobre la reproducción de los hongos son extremadamente complejos, por lo cual entre especies cercanas o distintas

variedades de la misma especie, la respuesta a la luz puede diferir de manera significativa (Moore-Landecker, 1990).

Los efectos en la reproducción pueden cambiar con los factores ambientales (Cooke and Whipps, 1993). Para definir las condiciones de luz, nutrientes, temperatura, etc que afectan el comportamiento de estos microorganismos, se han realizado múltiples ensayos en los que la germinación de esporas es valorada.

Raza, T. *et al* (1991) observaron que el crecimiento y esporulación de *Stemphylium botryosum*, agente causal de la mancha foliar del ajo y la cebolla, fue exitosa en el medio hecho a base de harina de maíz- agar a 25°C, pH 7 y un fotoperíodo de 16 horas por día. Matsumiya, E. *et al* (1992) también estudió por 4 a 6 días un fotoperíodo de 16 horas en el que a una temperatura de 25°C, el patógeno *Plasmodiophora brassicae* formó esporangios* en los pelos radiculares del tulipán japonés. Durante dicho análisis se siguió el desarrollo y liberación de esporas primarias y secundarias. Las últimas poseían dos flagelos, uno largo y otro corto; para su liberación el pH debió mantenerse en 5.5.

Por otro lado, Mengistu, A. *et al* 1993 al igual que Chahal, S. *et al* 1993, evaluaron 12 horas de fotoperíodo. El primer autor trabajó con ascosporas* producidas *in vitro* de *Leptosphaeria maculans*. La incubación de las mismas fue por 7 días a 24°C con luz fluorescente continua. La producción de pseudotecios* y ascosporas fue estimulada después de purificarlos y colocarlos en medio de cultivo V-8, posteriormente se incubaron por cuatro semanas con un fotoperíodo de 12 horas; las ascosporas no se liberaron por mecanismos naturales sino por prácticas de laboratorio. Chahal *et al* examinaron la germinación de *Tilletia barclayana*, uno de los tantos hongos que dañan al arroz, en medios como agua - agar al 2% y extracto de suelo - agar, concluyendo que la mayor germinación ocurrió al exponer las esporas a luz artificial por 12 horas y con temperatura de

29 °C. Del mismo modo *Cercospora rodmanii* en medio de cultivo V-8 esporula bien, pero al combinar ciclos de 12 horas de luz cercana a la U.V. y 12 horas de luz fluorescente seguidas de 12 horas de oscuridad, aumenta la esporulación (Conway, K.E., 1975).

Dichos autores como otros han observado que los patógenos responden positivamente al someterlos a fotoperiodos de 12 a 16 horas

Temperatura

La temperatura es uno de los factores físicos más importantes que afectan la reproducción por influir en diversos procesos fisiológicos y metabólicos. El cultivo de *Neurospora tetrasperma* en altas temperaturas (37°C) imposibilita la formación de peritecios, además eleva hasta 6 veces el nivel normal de aminoácidos, lo cual demuestra que la alta temperatura provoca un disturbio en el metabolismo del Nitrógeno (Viswanath-Reddy and Turian, 1975 citado por Moore-Landecker, 1990).

Entre los hongos existen categorías basadas en las necesidades de temperatura con la finalidad de evitar posibles alteraciones que perjudique su crecimiento y desarrollo. La mayor parte de ellos se ubican en el grupo de los mesofílicos (Cuadro 3), quienes tienen un rango óptimo de crecimiento micelial o producción de biomasa entre 15 y 40°C por ejemplo *Cercospora rodmanii* tiene un crecimiento máximo en los 20°C (Cooke and Whipps, 1993, Conway, K.E., 1975). Para la reproducción de la mayoría de los hongos el rango es de 20 a 25°C, teniendo un límite de ± 5 -10°C, aunque algunos poseen una temperatura óptima de 10 a 15°C para la formación de estructuras, como *Monilinia* que produce apotecios en tal categoría. Las especies de *Thelebolus* son tolerantes al frío por lo que pueden tener apotecios fértiles a 0°C a pesar de que la temperatura óptima

sea entre 15 y 20°C (Wicklow and Malloch, 1971 citados por Moore-Landecker, 1990).

En caso de existir competencia entre los organismos, la temperatura también tiene un efecto controlador de las poblaciones mesofílicas. Por ejemplo, diferentes especies de *Trichoderma* muestran patrones de abundancia estacional divergentes, *T. polysporum* y *T. vinde* compiten mejor entre los 5 y 10°C, mientras que *T. koningii* y *T. hamatum* lo hacen entre 15 y 25°C (Cooke and Whipps, 1993).

Cuadro 3. GRUPOS DE HONGOS DE ACUERDO A LOS REQUERIMIENTOS DE TEMPERATURA

Grupo	Rango de temperatura para el crecimiento (°C)	Temperatura óptima para el crecimiento (°C).	Ejemplos
Psychrofilico	< 0 - 20	0 - 17	<i>Mucor psychrophilus</i> <i>M. strictus</i> <i>Sclerotinia borealis</i>
Mesofilico	0 - 50	15 - 40	Mayoría de hongos
Termotolerante	0 - >50	15 - 40	<i>Aspergillus candidus</i> <i>A. fumigatus</i>
Termofilico	20 - >50	> 35	<i>Mucor miehei</i> <i>Sporotrichum thermophile</i> <i>Rhizomucor pusillus</i> <i>Thermomyces lanuginosus</i>

Fuente: Cooke, R. C. and Whipps, J.M. 1993

Por otra parte, muchas especies de estos microorganismos pueden tolerar durante su crecimiento micelial, niveles mayores al 0.3% de CO₂ que existe en el aire e incluso superiores. Contrariamente la esporulación es muy sensible al CO₂ por ello es común que sea suprimida (Moore-Landecker, 1990).

Estos patógenos están adaptados a regímenes específicos para el crecimiento y reproducción pero si las condiciones prevaecientes son distintas a las demandadas, los hongos poseen flexibilidad inherente para reaccionar a los cambios ambientales, y así formar estructuras que permitan completar su ciclo (Cooke and Whipps, 1993).

* Para comprender mejor los términos se recomienda consultar el glosario.

2.3 CONTROL BIOLÓGICO

El biológico, es uno de los métodos de control de maleza acuática que ofrecen más ventajas ya que es específico y de bajo costo.

Enemigos Naturales

Por su distribución cosmopolita, *Eichhornia crassipes* es atacada por múltiples organismos que en su mayoría son hongos, seguidos en segundo término por los insectos. Entre los primeros destacan: *Acremonium zonatum*, *Alternaria eichhorniae*, *Cercospora rodmanii* y *C. piaropi*; entre los insectos: *Neochetina bruchi* y *N. eichhorniae* aunque también se menciona a: *Acigona infusella*, *Arzama densa*, *Sameodes albiguttalis* (Lepidóptera) y *Gesonula punctifrons* (Ortóptera) (Farr, D.F. et al 1989; Pieterse et al 1990).

El daño por insectos facilita la entrada a distintos hongos, tal es el caso de: *Mucor sp* y *Rhizopus sp* (Zigomycotina), *Chaetomium sp* y *Mycosphaerella sp* (Ascomycotina), *Cladosporium sp*, *Epicoccum nigrum*, *Fusanum sp*, *Nigrospora oryzae*, *N. Sphaerica*, *Penicillium sp*, *Pestalotia sp* y *Trichodrema sp* (Deuteromycotina) (Farr, D.F. et al 1989).

El mismo autor ha reportado otros géneros que actúan por sí mismos como: *Aspergillus flavus*, *A. niger*, *Bipolaris sp*, *Phoma sp* y *Rhizoctonia sp* (Deuteromycotina), *Pythium sp* (Mascomycotina) y *Melanospora zamiae* (Ascomycotina). Cabe indicar que Pieterse et al (1990) señalan a *Bipolaris oryzae* como patógeno del lirio acuático.

Experiencia en el Uso de Enemigos Naturales como Método de Control

Al considerar que el control de una maleza acuática se refiere a la reducción a un nivel aceptable del número de organismos o de biomasa por unidad de área, de una población de plantas estimadas como indeseables en un cuerpo de agua (Gutiérrez, L.E. *et al* 1994), en diferentes países, aprovechando la diversidad de microorganismos que perjudican al lirio, han evaluado a endopatógenos como agentes de control biológico

En 1973 en Florida se descubrió que *Cercospora rodmanii* inducía manchas y necrosis foliares así como pudrición de raíces en el lirio acuático (Smith, R.J., 1991). Charudattan (1991) señala que el hongo incita un debilitamiento a las hojas afectadas hasta causarles la muerte. Las plantas severamente dañadas se tornan cloróticas y estresadas; las hojas presentan manchas necróticas café oscuro y por consiguiente mueren, provocando que la planta se hunda junto con ellas (Charudattan, 1990). Si las condiciones son favorables para el desarrollo de la enfermedad y el lirio produce menos de 1 hoja cada tres semanas, *C. rodmanii* puede matarlas con mayor rapidez que la planta producirías (Smith, R.J., 1991)

El patógeno fue evaluado en 85 plantas de 22 familias para conocer su rango de hospederos, pero únicamente el lirio fue altamente susceptible (Charudattan, 1990).

Al aplicar herbicidas (2,4 D) 3 semanas después de la aspersión del hongo, el grado de control aumenta pero no es suficiente como para su comercialización (Charudattan, 1991; Smith, R.J., 1991) ya que la eficacia de *C. rodmanii* es menor que la requerida, debido a la especificidad de los factores ambientales que el patógeno necesita para su desarrollo (Boyette *et al*, 1991).

Investigaciones realizadas en Haryana, India dan a conocer que el hongo *Fusarium clamydosporum* en campo provoca durante su fase inicial pequeñas

manchas foliares con centros grisáceos que más tarde adquieren formas elípticas o irregulares. En condiciones de invernadero, un mes después de inocular las hojas el daño varió entre 25 y 54% advirtiéndose que las hojas jóvenes fueron menos susceptibles a la infección (Aneja, K.R. *et al* 1993).

En Egipto, tras aislar 200 hongos, *Alternaria alternata* resultó ser el mejor candidato para el control biológico, tanto en invernadero como en campo. El patógeno es específico y se disemina por el viento. Dada su característica de fácil cultivo, fue evaluada una preparación micoherbicida en aplicaciones a gran escala, con lo que se pudo observar que la patogenicidad de ésta se mantiene activa por más de 12 meses a 20°C (Elwakil, M.A. *et al* 1990).

En el ámbito nacional, concretamente en Guanajuato, se está empleando a *Neochetina bruchi* como controlador de la maleza (Gutiérrez, L.E.D., 1995). Los estudios realizados por Fernández, M.A.R. (1995) revelan que en el Valle de México 14 distintos patógenos están asociados al lirio acuático entre ellos sobresalen los hongos *Bipolaris sp.*, *Cylindrocladium sp.* y *Fusarium equiseti* por causar un mayor daño a la planta.

Pruebas de Seguridad

Una consideración fundamental en el desarrollo de agentes de control biológico para el control de maleza es la determinación del rango de hospederos (Weidemann, 1991).

Wapshere citado por Weidemann (1991) recomienda evaluar pequeños grupos taxonómicamente relacionados con la maleza a controlar y gradualmente expandir el número de especies valoradas incluyendo plantas distantes para así establecer la especificidad del organismo. Las plantas cultivadas también deberán probarse. El número de plantas muestreadas dependerá de que tan específico es el patógeno. De igual forma debe tomarse en cuenta que la edad de la planta

puede influir en la severidad y susceptibilidad del hospedero ya que el patógeno suele atacar en determinadas etapas de desarrollo.

Así mismo es recomendable realizar dos fases de evaluación en laboratorio para después llevarlas a cabo en campo durante 2-3 estaciones (Weidemann, 1991). En dichas clases de pruebas Daniel et al citados por Weidemann (1991) evaluó 30 especies de plantas y otras 46 de importancia económica, encontrando que sólo la maleza objetivo *Aeschynomene virginica* y *A. indica*, maleza relacionada a ésta, fueron susceptibles.

En el caso de los bioherbicidas, dado que son empleados en un lugar en especial, y están presentes en forma natural (endémicos) en la región que se pretenden usar, no siempre se requiere una estricta especificidad puesto que se espera que exista una autoregulación de la población. *Colletotrcum gloeosponodes* f. sp *aeschynomene* (COLLEGO) ha sido utilizado exitosamente para el control de la leguminosa *A. virginica* porque las leguminosas susceptibles y de importancia económica no crecen en las áreas donde se aplica. *Phytophthora palmivora* (De Vine) tiene dentro de su rango de hospederos numerosas plantas cultivadas por lo que su uso es limitado a los huertos citrícolas (Weidemann, 1991).

2.4 DESCRIPCIÓN DE *Bipolaris* sp. Shoem¹

Ubicación Taxonómica

División: Eumycota

Subdivisión: Deuteromycotina

Clase: Hyphomycetes

¹ Para una mayor comprensión de los términos se sugiere revisar el glosario.

Orden: Moniliales

Familia: Dematiaceae

Género: *Bipolaris* (Shoemaker) (Barnett and Hunter, 1972; Sivanesan, 1987).

Morfología

Especie tipo: *B. maydis* (Nisikado and Miyake) Shoem.

Estado perfecto (teleomorfo): *Cochiobolus* Drechsler.

Micelio.-

De color café, gris o negro.

Conidióforos.-

Rectos o flexibles, multiseptados, usualmente simples, lisos, formados por una sola hifa, macronematosos, con frecuencia geniculados y algunas veces cilíndricos (Sivanesan, 1987).

Estroma.-

Presente en *B. australiensis*, *B. hawaiiensis* y *B. papendorffii*.

Células conidiógenas.-

Cilíndricas, integradas, terminales o intercaladas, de crecimiento simpodial y cicatrizada (Sivanesan, 1987).

Conidios acropleurógenos -

Los conidios poseen dos capas, una externa pigmentada, la cual se resquebraja bajo presión, y otra interna, hialina y gruesa. Ésta es menos evidente por lo que las células parecen estar traslapadas.

Son de forma variada, fusiformes, obpiriformes, naviculares, oblongos, cilíndricos, obclavados, clavados y ovoides. Suelen ser solitarios, de curvos a rectos y mayoritariamente lisos. Existen con dos o más distioseptos, en ocasiones los septos son delgados y oscuros, también hay café claro, café oscuro, café olivo y café rojizo.

El primer septo se forma en la parte media del conidio separando a las dos primeras células, el segundo delimita a la célula basal y el tercero a la distal (Sivanesan, 1987).

Germinación conidial -

La germinación del conidio es por una o ambas células polares, el tubo germinativo basal se origina cerca del hilo y es de crecimiento semiaxial. El hilo resalta ligeramente como dos manchas lenticulares.

En las especies *B. cynodontys*, *B. oryzae*, *B. maydis*, *B. papendorfii* y *B. stenospila*, las células finales algunas veces se hinchan para formar vesículas o grupo de éstas globosas de pared delgada a partir de las cuales uno o más tubos germinativos crecen (Alcorn, 1983 citado por Sivanesan, 1987).

Estado sexual -

Sivanesan (1987) menciona que el estado perfecto del género puede obtenerse al utilizar los medios de cultivo PDA, jugo V-8 y Sach's agar, e incubar las cajas a 20 – 26 °C en la oscuridad o en luz fluorescente. Más tarde se expondrán a luz cercana a la UV con ciclos de 12 horas luz/oscuridad. En estas condiciones la formación de conidios es abundante en muchas especies.

Conidiogénesis -

Existe gran controversia en cuanto al origen de los conidios. Para autores como Lutrell (1963, 1977), Shoemaker (1959,1962) y Madelin (1979), todos citados por Sivanesan (1987), es enteroblástico por que la pared externa del conidióforo no está completamente envuelta en la formación de la pared conidial, mientras que Brotzman *et al* (1975) y Alcorn (1983), también citados por Sivanesan, indican que es holoblástico por el rasgo distintivo del hilo.

Especies Representativas

B. bicolor* (Mitra) Shoem** Fig (1) **Telemorfo *C. bicolor

Conidios - rectos o raramente curvos, cilíndricos o anchos en la parte media, ahusados en la terminal, en ocasiones obclavados y redondeados hacia el ápice, es común que sean truncados en la base, tienen de 3 – 14 distioseptos. Las células centrales de los conidios maduros son café oscuro o ligeramente opacos, las células terminales son hialinas o muy claras estando delimitadas por un septo muy oscuro

Hospederos - *Andropogon*, *Brachiana*, *Eragrostis*, *Oryza*, *Panicum*, *Paspalum*, *Pennisetum*, *Sorghum* y *Zea* También ha sido aislado del suelo y de una amplia variedad de plantas

Distribución - Australia, Brasil, Canadá, Etiopía, India, Malasia, Nueva Zelanda, Taiwan y Estados Unidos

Puede provocar manchas zonadas en hojas de *Pennisetum clandestinum* (Sivanesan, 1987).

B. zeicola* (Stout) Shoem.** Fig (2) **Telemorfo *C. carbor

Conidios - curvos o rectos, casi cilíndricos pero usualmente anchos en la parte media y delgados hacia los extremos, éstos redondeados, de 6 – 12



Fig. 1. *Bipolaris bicolor*. Conidióforos y conidios x 595.



Fig. 2. *Bipolaris zeicola*. Conidios x 650.

distioseptos (por lo general son de 7 – 8) De color oscuro, café muy oscuro o café oliváceo, las células finales son algunas veces claras La superficie es granulosa

Hospederos - *Zea mays* (maíz), ocasionalmente *Sorghum spp.*, otros pastos y una gran variedad de plantas (Sivanesan, 1987)

En el maíz causa manchas foliares aunque los síntomas varían de acuerdo a la raza de que se trate. La raza 1 produce las lesiones más grandes en el menor tiempo y la raza 2 las menores (Farr, D.F. *et al* 1989, Traut, E J. y Warren, H L. 1993)

Distribución - En las regiones donde se cultiva maíz. Argentina, Canadá, Colombia, Francia, Honduras, Jamaica, Rumania y Estados Unidos (Farr, D.F. *et al* 1989, Sivanesan 1987).

B. hawaiiensis* (Alcorn) Tsuda and Ueyama** Fig (3)Telemorfo: ***C. hawaiiensis

Conidios rectos, elipsoidales, oblongos, o cilíndricos; redondeados en las puntas, de color café claro o medio. Poseen de 2 – 7 (mayoritariamente 5) distioseptos

Hospederos: *Andropogon*, *Avena*, *Cenchrus*, *Chloris*, *Cynodon*, *Digitaria*, *Hordeum*, *Oryza*, *Pennisetum*, *Saccharum*, *Sorghum*, *Triticum* y *Zea*. Se ha aislado de un amplio tipo de plantas, del aire y del suelo (Sivanesan, 1987)

Distribución En regiones tropicales y subtropicales. Cuba, India, Pakistan, Hawai (Farr, F.D., 1989; Sivanesan, 1987).

Se puede encontrar en semillas o plántulas de arroz, maíz y caña de azúcar entre otros, pero no como un importante fitopatógeno (Sivanesan, 1987).

B. maydis* (Nisikado and Miyake) Shoem** Fig (4)Telemorfo: ***C. heterostrophus

Conidios.- curvos, fusiformes, café claro o café dorado, lisos; con 5 – 11 distioseptos



Fig. 3. *Bipolaris hawaiiensis*. Conidióforos y conidios x 650.



Fig. 4. *Bipolaris maydis*. Conidios x 650.

Hospederos - *Zea mays*, *Sorghum sp* y otros pastos.

Distribución - Regiones tropicales y subtropicales (Farr, D.F. *et al* 1989, Sivanesan, 1987)

Causa el tizón sureño del maíz, las lesiones pueden tener una longitud de 2.5 cm. En un inicio son elípticas, después se alargan hasta tener aspecto rectangular, a veces se tiñen de púrpura con margen café rojizo (Farr, D.F. *et al* 1989; Sivanesan 1987) Duan, Tsai y Tu (1992) inocularon 10 cultivos y 10 pastos con dicho patógeno, 9 de los cultivos (avena, arroz, centeno, cebada, caña de azúcar, sorgo trigo, etc), y el pasto *Echinochloa colonum* fueron dañados. Los síntomas variaron de manchas café a café rojizo con o sin halos amarillos

B. oryzae* (Breda de Haan) Shoem** Fig (5) Telemorfo ***C. miyabeanus

Conidios - generalmente curvos, naviculares, fusiformes u obclavados, en ocasiones casi cilíndricos; de color café pálido o café dorado, lisos y con 6 - 14 distioseptos.

Hospederos - *Oryza sativa* (arroz) y otros pastos

Distribución - Cosmopolita

Origina manchas café y tizones en plántulas de arroz. Las manchas foliares son ovoides, de color café al inicio y después el centro cambia a blanco grisáceo (Farr, D.F. *et al* 1989 ; Sivanesan, 1987).

B. sorokiana* (Sacc) Shoem** Fig (6) Telemorfo ***C. sativus

Conidios - curvos, por lo común en cultivo son rectos, fusiformes, anchos y elipsoidales. Pueden ser de color café olivo, lisos, distioseptados con 3 - 12 (frecuentemente de 6 - 10) septos.

Hospederos - *Agrostis*, *Avena*, *Buchloe*, *Chlons*, *Cynodon*, *Dactylis*, *Digitana*, *Eragrostis*, *Hordeum*, *Lolium*, *Medicago*, *Panicum*, *Poa*, *Triticum*, *Secale*, *Sorghum* y *Zea*

Distribución - En zonas templadas (Farr, D.F. *et al* 1989, Sivanesan, 1987).



Fig. 5. *Bipolaris oryzae*. Conidióforos y conidios x 650.



Fig. 6. *Bipolaris sorokiana*. Conidióforos y conidios x 650.

Causa manchas foliares, pudriciones de la raíz y de la corona, y tizón de la espiga (Zillinsky, F.J., 1984). En hojas jóvenes ocasiona manchas lenticulares oscuras de tamaño variable (Sivanesan, 1987) En el pasto Sudán produce pudrición de la raíz y tizón en plántulas (Lenné, J.M., 1990), En avena provoca tizón en plántulas, pudrición de la corona y de la raíz (Farr, D.F. et al 1989)

Tiene la habilidad de sobrevivir en residuos del suelo y puede resistir bajas temperaturas (Duczek, L. J., 1995, Zillinsky, F. J., 1984)

***B. sacchari* (E. Butler) Shoem** Fig (7)

Conidios - Ligeramente curvos, cilíndricos, elipsoidales y angostos. De color amarillo medio a café dorado, con 5 – 9 distioseptos

Hospederos - *Cynodon*, *Saccharum*, *Panicum*, *Pennisetum* y *Zea*

Distribución - En regiones tropicales y subtropicales (Farr, D.F. et al 1989; Sivanesan, 1987)

Provoca manchas y tizones en las plántulas de caña de azúcar. En el pasto guinea ocasiona manchas foliares, las lesiones son comúnmente de 1-2 mm. de diámetro, de color negro provocando áreas necróticas oscuras (Sonoda and Turner, 1992).

Éstos autores reportan daños severos en plántulas de dicho pasto infectadas con una suspensión de $5-7 \times 10^5$ conidios/ml, entre un 25 y un 40% de las plántulas (de 2 a 3 hojas) inoculadas murieron a causa del patógeno

***B. sorghicola* (Lefebvre and Sherwin) Alcorn** Fig (8)

Conidios - ligeramente curvos, fusiformes, de color café pálido a café dorado, lisos, con 3 – 8 distioseptos aunque por lo general son 6

Hospederos - *Sorghum*, *Zea*

Distribución - En las regiones donde se cultivo sorgo (Farr, D.F. et al 1989; Sivanesan, 1987).



Fig. 7. *Bipolaris sacchari*. Conidióforos y conidios x 585.



Fig. 8. *Bipolaris sorghicola*. Conidióforos y conidios x 610.

Ocasiona manchas foliares en *Sorghum* (Farr, D.F. *et al* 1989; Lenné, 1990).

***B. victoriae* (Meehan and Murphy) Shoem** Telemorfo: *C. victoriae*

Conidios. - escasamente curvos, fusiformes, obclavados, lisos; de color café pálido a café dorado y con 4 – 11 distioseptos, en su mayoría tienen de 8 a 10 septos.

Hospederos. - *Avena*, *Chons*, *Dactylis*, *Hordeum*, *Panicum*, *Paspalum*, *Oryza*,

Sorghum y *Zea*

Distribución - Cosmopolita

Causa tizones en plántulas (Farr, D.F. *et al* 1989; Sivanesan, 1987).

Metabolitos Secundarios y Toxinas

Las micotoxinas producidas por las diversas especies de *Bipolaris* pueden ser específicas de un hospedero determinado o no específicas (cuadro 4).

Cuadro 4. METABOLITOS SECUNDARIOS Y TOXINAS PRODUCIDAS
POR *Bipolaris*

Especie	Sustancia
<i>B. sacchan</i>	Helminthosporoside (t) (HE)

<i>B. maydis</i> raza T	T – toxina (HE)
<i>B. eichlamiae</i> , <i>C. victoriae</i>	Cynodontin (ms) (HE)
<i>C. sativus</i> , <i>C. victoriae</i>	Victotoxinine (t) (HN)
<i>C. miyabeanus</i>	Ophiobolin (t) (HN)
<i>C. carbonum</i>	Carbotoxine (t) (HN)

Fuente: Sivanesan, A. 1987

t= toxina, ms= metabolito secundario, HE= específica del hospedero, HN= no específica del hospedero.

2.5 MEDICIÓN DE SÍNTOMAS DE LAS PLANTAS

La gran variedad de enfermedades que afectan a las plantas se manifiestan en formas distintas, algunas como tizones, marchitamientos; otras provocan amarillamientos, achaparramientos, etc., lo que originó métodos diversos para cuantificar los síntomas. Autores como Boyette, C. D. (1991) han diseñado escalas numéricas que engloban los daños que causa un patógeno en particular, desde pequeñas lesiones (2 mm.) hasta la muerte de la planta. Algunos otros, al considerar que la incidencia se refiere a la proporción de unidades enfermas en una muestra (plantas por área, hojas por planta, frutos por planta) y que la severidad al grado de daño en las unidades enfermas (Strange, 1993), idearon la manera de calcular el porcentaje de esta última.

Riahi *et al* citado por Strange (1993), propuso la fórmula mediante la cual es posible calcular el índice de infección lineal (L.I.):

$$L.I.I. = \frac{NL \times ALL}{SL} \times 100$$

Donde:

NL = número de lesiones

ALL = porcentaje de la longitud de las lesiones

SL = longitud del tallo

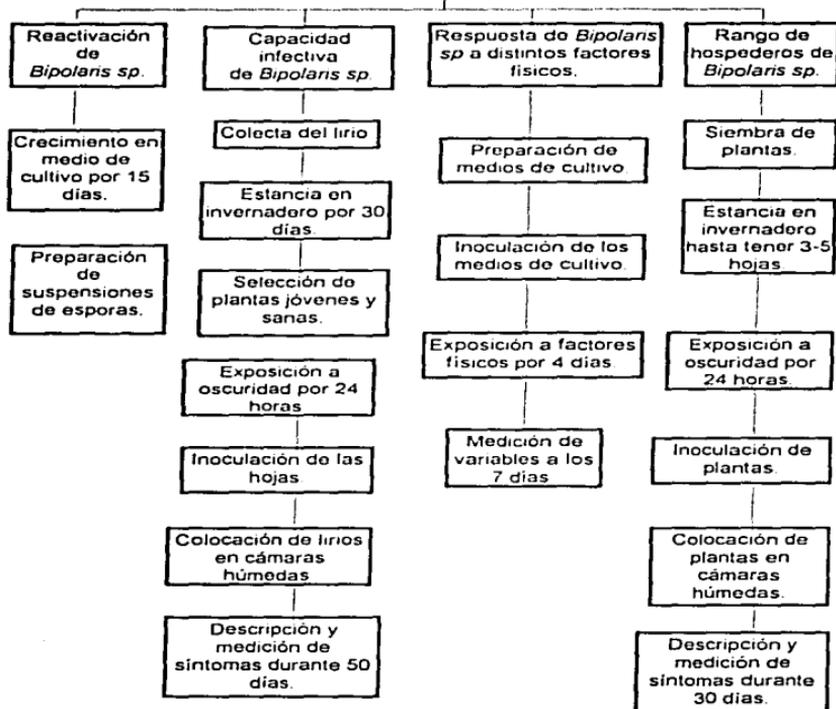
III. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de fitopatología y en uno de los invernaderos de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

En dicho laboratorio se cuenta con un cepario a partir del cual fue obtenido el hongo *Bipolaris sp.* Debido a que estaba en conservación a baja temperatura (3°C) fue necesaria su reactivación, por ello se transfirieron porciones del patógeno a medio de cultivo V-8 exponiéndolos a temperaturas entre 20°C y 25°C, durante 10-15 días para asegurar su total recuperación (Fernández, M.R., 1995; Martyn and Freedman, 1978).

La metodología empleada en los tres experimentos se representa de manera sencilla en el diagrama de flujo.

METODOLOGÍA



3.1 CAPACIDAD INFECTIVA DE *Bipolaris* sp SOBRE *Eichhornia crassipes*

Durante el invierno de 1996 se colectó lirio acuático de los canales de riego de Cuautitlán, Estado de México y del área lacustre de Xochimilco. Las hojas con daño aparente fueron eliminadas en campo (Fernández, M. R., 1995).

Por ser época de bajas temperaturas los lirios colectados eran pequeños, razón por la cual se dejaron por un mes bajo condiciones de invernadero para promover el crecimiento de plantas nuevas (Martyn and Freedman, 1978). Posteriormente se seleccionaron plantas jóvenes, las cuales fueron inoculadas con suspensiones conidiales entre 5.75×10^5 y 1.1×10^6 conidios/militro (Charudattan, 1990), estimadas con la cámara Neubauer.

La inoculación de las hojas se realizó con un pincel esparciendo la suspensión por toda el área foliar. Previo a la inoculación se calculó el área foliar de cada hoja; la superficie foliar promedio fue de 16.911 cm^2 lo que corresponde a plantas medianas según la clasificación de Martyn and Freedman. Tanto los lirios infectados como los testigos fueron colocados en cámaras húmedas (para aumentar la humedad relativa, y así evitar que el hongo se deshidrate), dejándolos bajo esas condiciones por 50 días (Fernández, M.R., 1995).

Las lesiones fueron medidas y descritas cada diez días. El porcentaje de infección o severidad se calculó con la fórmula modificada de Riahi *et al* (1990) citado por Strange (1993).

$$\text{L.I.I.} = \frac{\text{NL} \times \text{ALS}}{\text{LS}} \times 100$$

Donde: NL= número de lesiones.
ALS= promedio del tamaño de las lesiones (cm^2)
LS= tamaño de la hoja (cm^2)

3.2 RANGO DE HOSPEDEROS DE *Bipolaris* sp

Diez especies de diferentes familias botánicas fueron evaluadas para determinar los posibles hospederos de *Bipolaris* sp (Charudattan, 1990; Weidemann, 1991). Se infectaron plantas tanto de valor comercial como maleza:

- Alfalfa *Medicago sativa* var. Velluda
- arroz *Oryza sativa* var. Milagro Filipino Depurado y la Línea experimental 1R-10781-75-3-2-2
- avena *Avena sativa* var. Chihuahua
- frijol *Phaseolus vulgaris* criollo tipo Veracruz
- maíz *Zea mays* criollo de Villa Nicolás Romero y Guanajuato.
- malva *Malva parviflora*
- pasto Sudán *Sorghum sudanensis* Var. Kirapo
- quelite cenizo *Chenopodium amaranticolor*
- ray - grass *Lolium* sp y
- sorgo *Sorghum bicolor* var Hyazer (Charudattan, 1990).

Las especies anteriores fueron sembradas en vasos de unicel, colocando 3 semillas por vaso y se dejaron en condiciones de invernadero hasta tener de 3 a 5 hojas verdaderas (Boyette C.D., 1991). En esta etapa fueron inoculadas con suspensiones conidiales entre 1.125×10^6 y 1.9833×10^6 conidios/militilitro (Charudattan, 1990).

El inóculo, esporas-agar, se distribuyó homogéneamente en la superficie de las hojas con un pincel (Martyn and Freedman, 1978).

Las plantas una vez infectadas fueron puestas en cámaras húmedas y se observaron los síntomas por 30 días (Boyette C.D., 1991). Las lesiones se midieron y describieron cada semana.

El porcentaje de severidad o índice de infección lineal se calculó por medio de la fórmula de Riahi *et al* (1990) citado por Strange (1993).

$$L.I.I. = \frac{NL \times ALL}{SL} \times 100$$

Donde: NL= número de lesiones
ALL= promedio de la longitud de las lesiones (cm)
SL= longitud del tallo, hoja, etc (cm).

3.3 RESPUESTA DE *Bipolaris sp* A DISTINTOS FACTORES FÍSICOS

Para promover el crecimiento y esporulación a gran escala de *Bipolaris sp.* se evaluó el comportamiento de tal hongo bajo distintos factores físicos (luminicos y nutritivos); para ello se probaron diversos medios de cultivo sólidos: (hojas de betabel – agar, clavel – dextrosa – agar (CDA); papa - dextrosa - agar (PDA), jugo V-8 - agar (V-8) y hojas de zanahoria – agar (HZA) (Dhingra, 1987; Dias y Ferraz, 1993). Dichos medios de cultivo fueron sometidos durante cuatro días a diferentes intensidades de luz (39,78 y 177 watts) por 12 y 16 horas (Boyette, C.D 1991; Mengistu *et al*, 1993 y Boyette *et al*, 1991), a fin de conocer el efecto que tienen sobre el patógeno de manera individual y combinada.

El llenado de las cajas de petri se realizó de la forma usual. Al inocular las cajas fue necesario preparar suspensiones conidiales, para lo cual se colocaron porciones de hongo en tubos de ensayo con agua estéril; el número de conidios por mililitro fue determinado con el hematocitómetro. La concentración de esporas varió entre 5×10^4 y 7.5×10^4 conidios por mililitro, siendo el inóculo para cada caja 0.3 ml. de la suspensión. Ésta se procuró distribuir homogéneamente en toda la superficie de la caja (Carlile and Watkinson, 1994).

Las variables que se tomaron en cuenta fueron:

- Número de conidios por mililitro y
- Superficie ocupada por *Bipolaris sp.*

Las lecturas se hicieron al séptimo día.

El experimento fue montado en un dispositivo adaptado a las condiciones del laboratorio y debido a que no existió control de la temperatura, ésta se midió diariamente.

Los resultados se analizaron como un diseño factorial completamente al azar.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 CAPACIDAD INFECTIVA DE *Bipolaris* sp SOBRE *Eichhornia crassipes*

Los síntomas se describen en forma abreviada en el Cuadro 5.

Cuadro 5. DESCRIPCIÓN DE SÍNTOMAS DEL LIRIO ACUÁTICO

Días	Síntomas
5 - 10	Puntuaciones café claro
20 - 25	Puntuaciones oscuras. Manchas claras de 9 mm ² .
30 -32	Manchas café oscuro, no traspasan al envés. Área foliar afectada entre 2.90% y 14.84%.
40 - 42	Manchas traspasan al envés. Coloración de lesiones café claro-grisáceo rodeadas por un halo café ocre. Manchas más avanzadas con puntuaciones oscuras y puntas enrolladas. Daño entre 9.309% y 41.578% de área foliar.
50	Hojas más enfermas casi secas, 30% de tejido verde. Hojas menos dañadas con manchas oscuras. Puntas de hojas nuevas café oscuro y un poco enrolladas

Las plantas de lirio presentaron los primeros síntomas a los 5-10 días como puntuaciones café claro, tanto en el limbo como en el peciolo.

Entre los 20-25 días después de la inoculación, se observó que había un mayor daño en aquellas hojas menos desarrolladas cuya coloración era más clara. Las puntuaciones aumentaron de tamaño y se tornaron café oscuro.

Algunas de éstas coalescieron formando manchas claras desde 9mm^2 (1.013%) hasta 20mm^2 lo que representa 1.103% del área foliar.

Al comparar los síntomas del lirio acuático observados durante el presente trabajo con los reportados previamente por Fernández, M. R. (1995), existen ciertas corroboraciones en lo referente a la capacidad de infección de *Bipolaris*, puesto que al cabo de 10 días un 60% de las hojas inoculadas presentaron algún tipo de daño (puntuaciones café claro) tanto en la superficie foliar como en el peciolo. En la coloración de las puntuaciones y de las manchas existió muy poca variación por lo que hay acuerdo, en términos generales, con lo descrito por el autor al inicio de la infección (de los 5 a los 20 días).

A los 30–32 días, las manchas eran de color café oscuro; en su mayoría no traspasaban al envés aunque en pocas hojas (2 – 3) era posible observarlas también en el envés. En las zonas donde el daño era más severo, por ejemplo en la base del limbo donde nace el peciolo, había mayor número de puntuaciones café rojizas. Ciertas manchas, igualmente, las mostraban.

El porcentaje de área afectada era de un 2.90% en las hojas menos enfermas a un 14.84% en las más, es decir de 0.72cm^2 y de 2.91cm^2 respectivamente.

La severidad de los síntomas mencionados por Fernández no concuerdan en su totalidad con los advertidos por que al cabo de este tiempo (30 días) el porcentaje de daño no llegaba a originar el enrollamiento de las hojas a pesar de que el 65 –70% de las mismas estaban enfermas. Tal síntoma se reconoció 10 días después, es decir, a los 40 días de inoculados.

Para los 40-42 días las lesiones cruzaban al envés. En este período se distinguieron tres coloraciones de manchas en función del grado de daño de las hojas, en un inicio las lesiones son oscuras en el centro y en la periferia café claro-grisáceo; posteriormente la parte central cambia a café claro-grisáceo y la rodea un halo café ocre, por último el centro se torna café grisáceo cuya

circunferencia es café oscuro la cual está rodeada a su vez por una zona ligeramente amarilla. Las manchas más avanzadas tenían puntuaciones lóbregas en el centro de las mismas. Las lesiones con centro café-grisáceo rodeadas por un borde café oscuro y por un halo ligeramente amarillo, coinciden con lo encontrado en condiciones de campo en la Laguna de Zumpango y en la Presa de Guadalupe, Estado de México, por Fernández en 1995.

En las hojas de mayor daño comenzó a haber enrollamiento del limbo, mientras que en las de reciente formación se apreciaban tanto puntuaciones café oscuras como manchas café ocre que atravesaban al envés.

La severidad de las hojas inoculadas con *Bipolaris* (cuadro 6) variaba ampliamente de acuerdo a la relación existente entre la superficie afectada y el área foliar de cada una de las hojas.

Cuadro 6. SEVERIDAD A LOS 40 DÍAS

Área Foliar (cm ²)	Superficie Dañada (cm ²)	Porcentaje de Daño
15.36	1.43	9.309
19.60	2.940	15.000
24.78	10.00	40.355
21.93	5.30	24.167
11.40	4.74	41.578
8.88	3.55	39.977

Para este período el porcentaje de plantas infectadas (incidencia) era entre 75 y 80%; lo anterior no significa que todas tengan la misma superficie foliar dañada ya que eso depende de la relación antes señalada. Fernández indica que el porcentaje de daño en las hojas disminuyó porque no todas las puntuaciones

desarrollaron manchas foliares, lo cual se contrapone con lo observado, dado que la severidad iba en aumento.

Cabe hacer notar que el peciolo de una de las hojas infectadas se secó a causa del patógeno, impidiendo el flujo tanto del agua hacia la hoja como de la savia elaborada hacia el resto de la planta, lo que le provocó la muerte. Esto difiere con lo observado por Fernández.

Cincuenta días después de la inoculación, las lesiones café claro de las hojas menos perjudicadas, se tornaron oscuras; en las otras el daño generalizado provocó que se secarán casi en su totalidad; había un máximo de tejido vivo del 30% aproximadamente (cuadro 7).

Cuadro 7. SEVERIDAD A LOS 50 DÍAS

Área Foliar (cm ²)	Superficie Dañada (cm ²)	Porcentaje de Daño
19.60	14.20	64.751
24.78	24.03	96.973
21.93	14.00	71.428
11.40	10.60	92.982
15.36	7.97	51.888
8.888	5.92	66.666

El enrollamiento de las hojas continuó y ya comenzaba en las hojas recién formadas en las cuales la punta era café negruzca. En la parte central de algunas hojas nuevas se notaban manchas cuyo centro era grisáceo y la periferia café ocre, las puntuaciones se juntaron y dieron origen a pequeñas lesiones lóbregas. Éstas al igual que las puntuaciones eran más oscuras en comparación a las hojas inoculadas. Dichos síntomas fueron, posiblemente, debidos a que durante la inoculación existió escurrimiento de la suspensión conidial a través de

los peciolos y hasta la base de las hojas. Aunque con el método de inoculación la infección de las hojas fue más lenta, los resultados fueron favorables dado que las nuevas hojas tuvieron daños. Es probable que la dilación haya sido porque la forma de inoculación utilizada por Fernández elevó la humedad relativa de manera significativa puesto que asperjó la suspensión uniformemente sobre toda la superficie de la hoja. Tal como lo indica Wiedemann (1991) se comprobó que el método de inoculación influye en el desarrollo de la enfermedad.

En términos generales las hojas con menor desarrollo parecieron ser las más susceptibles al hongo, por lo que es probable que las hojas jóvenes sean menos resistentes a la enfermedad en el caso de *Bipolaris*, no como en *Acremonium zonatum* en el que no hay diferencia entre tipos de plantas según Martyn and Freedman (1978).

Por otro lado, el tiempo que tardaron en enfermarse los lirios fue mayor a lo reportado por Fernández ya que la cepa estuvo en almacenamiento por más de 5 meses, lo que provocó reducción en la virulencia, además se realizaron siembras subsecuentes en medios ricos que favorecen el crecimiento vegetativo ayudando a que ésta fuera aún menor. Sin embargo, se establece que es un fitopatógeno agresivo por que a pesar de estar bajo condiciones especiales logró causar daños graves al lirio acuático. Así mismo es considerado como un hongo resistente por soportar baja temperatura 3°C por un periodo de casi 6 meses y siembras consecutivas en medios específicos. Dichas propiedades señalan la fortaleza de *Bipolaris* para adaptarse a condiciones adversas que le permiten ser considerado como un potencial micoherbicida.

4.2 RANGO DE HOSPEDEROS DE *Bipolaris* sp

Los síntomas más sobresalientes se resumen en el cuadro 8.

Cuadro 8. DESCRIPCIÓN DE SÍNTOMAS DEL SORGO Y DEL PASTO SUDÁN

Días	Sorgo	Pasto Sudán
7	Puntas café oscuro, casi secas	Puntas cafés.
19	Puntas necróticas y tejido inmediato café ocre	Manchas foliares irregulares con centro café oscuro y halo café rojizo
25	Puntuaciones negras en áreas necrosadas.	Puntuaciones negras en áreas necrosadas
30 -32	Daño por planta de 14.37% (4.4 cm) a 57.97% (20 cm) Porcentaje de daño por planta 24.968% (3.3 cm) en una planta con 13.396 cm. de tejido foliar.	Daño por planta de 0.93% a 28.02% (0.3 - 10.2 cm) Porcentaje promedio de daño por planta de 11.209% (1.99 cm) en una planta con 8.890 cm de tejido foliar

En general para el desarrollo de agentes de control biológico es conveniente conocer el rango de hospederos de los organismos propuestos, en este caso de las 10 especies evaluadas, dos de ellas resultaron ser susceptibles a *Bipolaris*: el pasto Sudán y el sorgo.

Ambos, dos días después de inocularlos tenían en las hojas puntuaciones rojizas en el haz.

A los siete días las puntas de las hojas del sorgo eran café oscuro – negruzcas y estaban casi secas; en el Sudán el daño no era tan severo. Para el día 19, el sorgo tenía las puntas necrosadas, el tejido inmediato era café ocre, le

seguía una zona café oscuro, a éste una rojiza y finalmente había una franja amarilla junto al tejido verde. En el pasto Sudán también se formaron manchas foliares de color café oscuro en el centro rodeadas por un halo rojizo y otro amarillo, eran de figura irregular y algunas de las hojas presentaban la sintomatología de las puntas del sorgo pero menos severa.

Veinticinco días después en las puntas de los 2 cultivos se observaban puntuaciones negras en el área necrosada, aunque en el sorgo había mayor número de éstas

A los 30-32 días el porcentaje de daño en el sorgo variaba enormemente porque en ciertas plantas era del 14.37% (4.4 cm), mientras que en otras era del 57.97% (20 cm), lo anterior es en función del número de hojas afectadas por planta y de la longitud de ambas, hojas y lesiones (cuadro 9) No obstante el promedio de daño causado por *Bipolaris* es de 24.96% por planta lo que equivale a 3.344 cm en un sorgo que tiene en promedio 13.396 cm. La población media de hojas enfermas fue de 2.777 hojas por planta, teniendo por hoja un promedio de 23.610% de daño.

Cuadro 9 SEVERIDAD EN EL SORGO A LOS 30 DÍAS

Planta	Longitud de hoja (cm.)	Longitud de lesiones (cm.)	Severidad por hoja (%)	Porcentaje de daño por planta	Valor Absoluto de daño por planta
1	17.3	4.3	24.85	18.73	38.81
	22.2	3.1	13.96		
2	16.5	11.5	69.96	57.97	169.96
	8.5	8.5	100.00		
	9.5	0.0	0.0		
3	10.3	0.0	0.0		

	13.2	3.5	26.51		
	13.1	0.7	0.531		
	7.3	7.3	100.00	26.19	127.044
5	16.3	7.2	44.17		
	16.8	1.2	7.14		
	5.5	0.5	9.09	23.05	60.40
10	11.6	0.0	0.0		
	19.0	4.4	23.15	14.37	23.15
13	4.4	0.5	11.36		
	18.9	6.4	33.86	29.61	45.22
16	15.9	4.3	27.04		
	15.2	5.9	38.81	32.79	65.85
15	13.9	3.9	28.05		
	11.1	0.0	0.0		
	12.6	3.6	28.57	19.94	56.62
Promedio ²	13.396	1.908	23.610	24.968	65.583

En el caso del pasto Sudán la variación fue alta, ya que se registraron porcentajes entre 0.937% (0.3 cm.) y 28.02% ó 10.2 cm. (cuadro 10). Los valores de severidad se calcularon siguiendo el mismo criterio que en el sorgo; de tal forma que el número promedio de hojas por planta infectadas fue de 2.842 y el valor medio de daño por planta de 11.209%, es decir, 0.996 cm. de tejido foliar.

² Se determinó con base en una población total de 18 plantas

Cuadro 10. SEVERIDAD EN EL PASTO SUDÁN A LOS 30 DÍAS.

Planta	Longitud de hoja (cm.)	Longitud de lesiones (cm.)	Severidad por hoja (%)	Porcentaje de daño por planta	Valor absoluto de daño por planta
4	11.9	0.0	0.0	0.0	0.00
	9.7	0.0	0.0		
	4.0	0.0	0.0		
6	9.0	2.1	23.33	10.60	23.33
	4.3	0.0	0.0		
	6.5	0.0	0.0		
8	8.2	1.2	14.63	17.85	35.56
	8.6	1.8	20.93		
10	8.6	0.0	0.0	0.937	2.27
	13.2	0.3	2.27		
	10.2	0.0	0.0		
11	9.4	1.4	14.89	8.86	19.70
	8.3	0.4	4.81		
	2.6	0.0	0.0		
13	12.2	4.3	35.24	28.02	85.56
	11.2	4.0	35.71		
	13.0	1.9	14.61		
14	13.2	0.9	6.81	7.25	6.81
	13.0	1.0	0.0		
17	11.0	2.9	26.36	10.80	28.28
	10.4	0.2	1.92		
	7.3	0	0.0		

Prome- dio ³	8.890	0.639	8.218	11.209	23.948
----------------------------	-------	-------	-------	--------	--------

A pesar de que el sorgo y el Sudán son del mismo género, este último presentó mayor daño. Si se parte de que en promedio la longitud de las hojas del sorgo era de 13 396 cm sólo 1.908 cm ó 14 243% de esa largueza foliar se enfermó, lo que no implica que todas las hojas hayan tenido lesiones o bien las que las presentaron hayan sido afectadas severamente; el promedio de la severidad por planta fue de 24 968%. En el pasto Sudán los valores fueron menores, el promedio de la longitud de las hojas era de 8 890 cm. siendo perjudicado el 7.187% (0 639 cm), que corresponde a la mitad del tejido dañado en comparación con el sorgo. También contrasta respecto al sorgo, la severidad media por planta de 11 209% ya que en ambos casos el número promedio de las hojas enfermas fue de aproximadamente 3, lo anterior insinúa que las lesiones hayan sido menos numerosas y/o severas.

Cabe resaltar que las cifras están en centímetros, es decir, hacen mención a la longitud de hojas y lesiones, y no al área foliar, por lo que la relación tejido sano – tejido enfermo está calculada con base en una sola dimensión, que de forma sencilla da la idea de la magnitud de la enfermedad.

En el presente estudio del 100% de especies evaluadas como hospederos de *Bipolans*, el 20% de ellos mostró cierto grado de susceptibilidad al hongo. Este porcentaje es elevado si se toma en cuenta que el fitopatógeno se pretende utilizar con fines herbicidas para el control del lirio acuático.

De las 10 plantas estudiadas sólo el sorgo y el pasto Sudán fueron afectados por *Bipolans* a pesar de que el 60% de la población pertenece a la familia Gramineae; lo que sugiere que el género *Sorghum* sea menos resistente al patógeno *Bipolans*, o bien, que se trate de una especie que dañe únicamente a

³ Es un valor calculado a partir de una población total de 18 plantas

las plantas de este género, que es muy probable porque Boyette *et al* (1991) señalan a *Bipolans sorghicola* como biocontrolador del pasto Johnson (*Sorghum halepense*). Suponiendo que si sea *B. sorghicola*, el género *Zea* también está contemplado como posible hospedero según Farr, D.F. *et al* (1989) y Sivanesan (1987), por lo cual el maíz pudiera haber presentado alguna muestra de daño, no siendo así tal vez porque se versa sobre maíces criollos de zonas específicas.

Otro factor que favoreció la resistencia de varias plantas (alfalfa, arroz, avena, frijol, malva y quelite cenizo) fueron los tricomas en sus hojas que dificultaron en gran medida la inoculación de las mismas debido a que parecían ser casi impermeables. Weidemann (1991) menciona que el método de inoculación influye en el desarrollo de la enfermedad, esto quedó confirmado en dichas plantas ya que al ser tan localizada la aplicación del patógeno las características morfológicas de ellas les permitieron limitar la entrada de *Bipolans*. Lo anterior sumado a que con el método de infección utilizado no se elevó significativamente la humedad relativa, impidieron que el desarrollo de la enfermedad se efectuara

El Ray-grass pudo no haberse enfermado porque al ser sus hojas muy angostas, semejantes a una aguja, hubo poco tejido foliar expuesto al inoculo reduciendo el área de acción del microorganismo, además la consistencia de las hojas era más dura al cotejarse con las otras gramíneas, por ello la penetración del fitopatógeno se vio obstaculizada

El que se hayan enfermado el sorgo y el Sudán implica, de manera preliminar, la restricción del uso de *Bipolans* a las zonas donde se cultiven o se encuentren plantas afines a ellos, no sin antes identificar la especie y cerciorar que efectivamente el género *Sorghum* es el único afectado tanto en laboratorio como en campo tal como lo indica Weidemann (1991).

4.3 RESPUESTA DE *Bipolaris sp* A DISTINTOS FACTORES FÍSICOS

Tomando como base el planteamiento de Boyette *et al* (1991) de que las unidades infectivas más adecuadas de los hongos son las esporas, durante la investigación se dio mayor importancia a las condiciones ambientales promotoras de la reproducción de *Bipolaris*. Debido a que dichas estructuras tienen mayor longevidad, viabilidad y virulencia en comparación con los fragmentos miceliales.

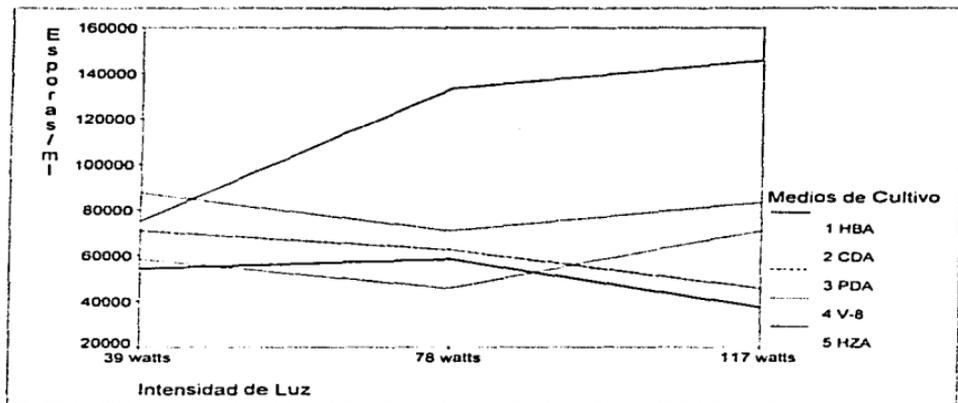
Los resultados obtenidos se resumen en el cuadro 11.

Cuadro 11. COMPORTAMIENTO DE *Bipolaris sp* BAJO DIFERENTES FACTORES FÍSICOS

	Medios de Cultivo			Intensidad			(watts)	Fotoperiodo	(horas)	
	HBA	CDA	PDA	V-8	HZA	39	78	117	12 hrs.	16 hrs.
X										
	X				X	X				X
		X			X		X	X	X	
			X				X	X		X
				X			X			X

El experimento resaltó que de los tres factores evaluados (medios de cultivo, intensidad de luz y fotoperiodo), el aspecto nutricional es el que más influye en el desarrollo vegetativo coadyuvando ligeramente el fotoperiodo (Anexo ANADEVA); mientras que en la formación de conidios, sólo el medio de cultivo es el significativo; éste afecta el comportamiento de *Bipolaris*.

En la reproducción del patógeno el efecto del medio de cultivo con la intensidad de luz (gráfica 1) resulta significativa en el medio hojas de zanahoria –



Gráfica 1. Efecto del medio de cultivo y la intensidad de luz sobre la esporulación de *Bipolaris sp.*

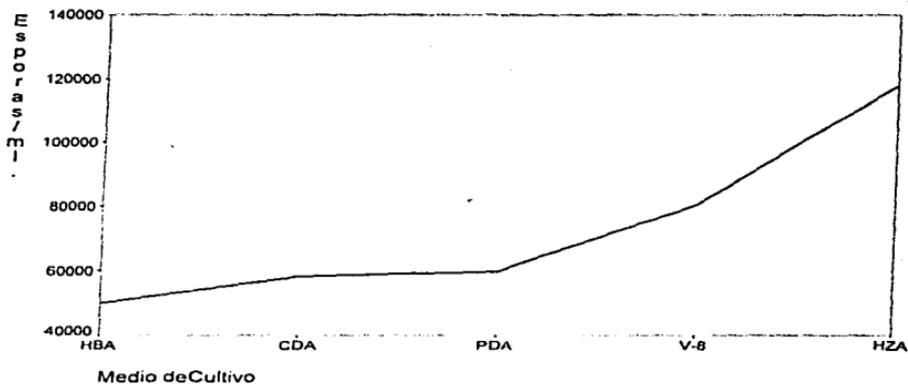
agar (HZA), ya que al acrecentar la intensidad de 39 watts a 78 watts, el número de esporas por mililitro asciende de 75 000 a 140 000, en este medio al aumentar en un 100% la intensidad de luz, la producción de conidios se incrementa al doble por lo que existe una relación directa entre la intensidad de luz y la reproducción. No así el PDA (papa - dextrosa - agar) ni en el de hojas de betabel - agar (HBA) dado que en ellos el resultado fue contrario existiendo una relación inversa, es decir, al haber mayor intensidad de luz la producción de conidios decrece. De igual manera, también en el jugo V-8 - agar (V-8) disminuye la esporulación pero ligeramente, tiene una tendencia constante

En clave - dextrosa - agar (CDA) la formación de esporas es poco significativa manteniéndose casi constante en las tres intensidades. La prueba de Tukey (anexo) corroboró que el medio de cultivo con diferencia significativa es el HZA, lo cual se observa claramente en la gráfica 2 al separarse éste de los demás

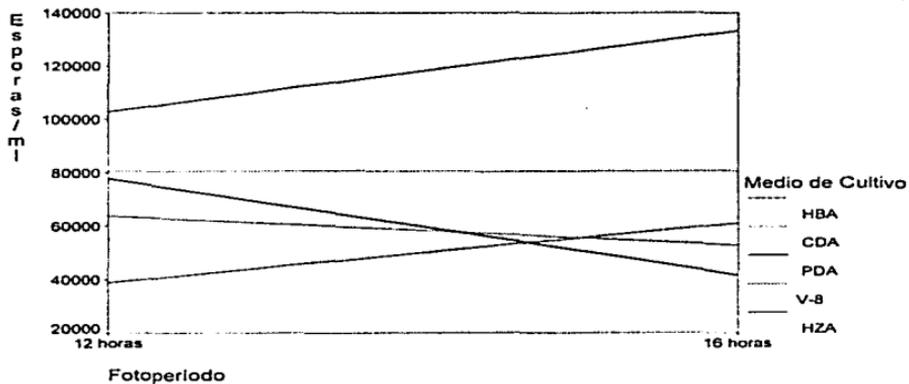
Al observar la conducta de *Bipolans* con los dos fotoperíodos (gráfica 3) se tiene que la diferencia sigue siendo significativa en HZA con respecto al resto de los medios de cultivo, tanto en 12 como en 16 horas de luz. El incremento en el número de horas luz estimula una mayor esporulación en HZA y HBA, ambos tuvieron un comportamiento similar, el fotoperíodo en HBA logró tener un efecto positivo ya que aun con sus carencias nutricionales, con mayor tiempo de exposición a la luz se consiguió elevar en un 33 33% (20 000 conidios/ml) la formación de esporas.

Por su parte el V-8 fue indiferente al fotoperíodo no registrando cambio alguno en la reproducción asexual CDA redujo la producción conidial escasamente al haber más horas luz PDA la disminuyó drásticamente al ser sometido a una exposición prolongada de luz. En dicho medio parece ser que la reproducción es favorecida por la escasa o nula exhibición a la luz.

En cuanto a crecimiento micelial, se observó que el medio más apropiado para obtener tejido vegetativo fue el CDA, puesto que es el más rico



Gráfica 2. Prueba de Tukey. Efecto del medio de cultivo sobre la esporulación de *Bipolaris sp.*



Gráfica 3. Efecto del medio de cultivo y el fotoperiodo sobre la esporulación de *Bipolaris* sp.

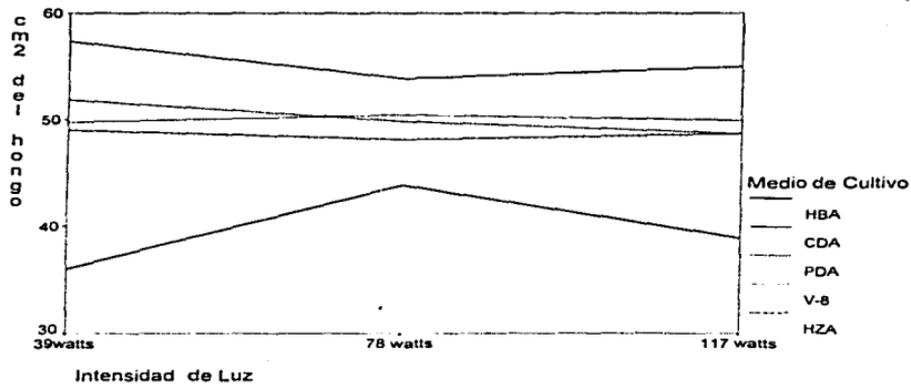
nutricionalmente. En las tres intensidades, consiguió los valores más altos (gráfica 4). En contraste HBA fue en el que menos micelio desarrolló el hongo debido a la presencia de cristales tóxicos para el microorganismo. CDA y HBA tuvieron comportamientos contrarios siendo estos los que marcaron las diferencias significativas (anexo, Tukey). En los tres restantes medios la diferencia entre los mismos no es significativa ya que la superficie ocupada es similar en los tres, aunque cabe hacer notar que en V-8 no hubo diferencia entre las intensidades de luz, mientras que en PDA y HZA, el incremento en la intensidad reduce el crecimiento vegetativo.

En lo referente a medios de cultivo con fotoperiodo (gráfica 5) de la misma manera el CDA registró el mayor crecimiento micelial, cercano a 60 cm^2 (90.07 % de la superficie de la caja de petri), siendo el caso extremo HBA que tuvo 45 cm^2 aproximadamente, es decir 22.5% menos que CDA. No obstante HBA fue ayudado a tener mayor área fungal al elevar el número de horas luz de 12 a 16, del mismo modo que PDA y V-8. En esos últimos la conducta de *Bipolaris* fue similar.

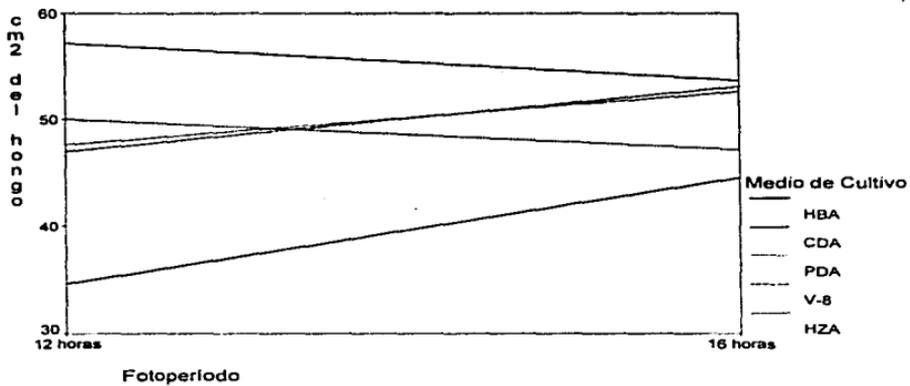
El HZA tuvo una respuesta al fotoperiodo semejante a la de CDA, de tal forma que más horas luz contrarrestan el crecimiento del hongo en ambos casos. Las diferencias entre ellos estuvieron dadas en función de las características de los medios.

A diferencia de la esporulación en el crecimiento vegetativo, el fotoperiodo influye ligeramente sobre el comportamiento del hongo (aunque no existe diferencia significativa entre los mismos). En un periodo de luz de 12 horas el medio más estimulado fue CDA, teniendo PDA, V-8 y HZA resultados similares, tales medios ocupaban un 65% de la caja.

Al incrementar el fotoperiodo la generalidad acrecentó su crecimiento micelial; los medios ricos en nutrientes CDA, PDA y V-8 tuvieron una conducta casi igual, no así HBA y HZA en los que sus características restringen el crecimiento de *Bipolaris* pero no su reproducción.



Gráfica 4. Efecto del medio de cultivo y la intensidad de luz sobre el crecimiento micelial de *Bipolaris sp.*



Gráfica 5. Efecto del medio de cultivo y el fotoperíodo sobre el crecimiento micelial de *Bipolaris sp.*

Todo lo anterior indica que el comportamiento del hongo está en función de las características del recurso, así al haber excedente en nutrientes como en CDA, PDA y V-8 el patógeno formará únicamente tejido vegetativo, porque de cierta forma está asegurado su crecimiento, en contraste en los medios pobres nutricionalmente el fitopatógeno buscará preservar la especie teniendo un escaso crecimiento micelial y una alta esporulación

Si se comentan por separado cada uno de los medios utilizados, es posible tener una idea más clara de los efectos que tuvieron sobre éstos los distintos factores físicos.

El medio hecho a base de hojas de betabel fue el que menos condiciones favorables otorga para el desarrollo de *Bipolaris*, lo anterior se debió a la presencia de cristales, probablemente tóxicos, que limitaron el crecimiento del microorganismo; lo cual denota una autorestricción del propio medio. Sin embargo el incremento en el fotoperíodo permitió que existiera una mayor diferenciación celular tanto en la fase vegetativa como la reproductiva. En este caso se observó una relación directa entre el fotoperíodo y la esporulación.

En CDA existe una conexión inversa entre el área fúngal y la formación de conidios, esto es, el que haya una mayor área ocupada por el hongo (más micelio) no necesariamente representa una alta esporulación. Lo que pudo suceder en CDA es que al haber un exceso de biomasa se acumularon sustancias nocivas que acortaron notablemente la producción de esporas. Tal consecuencia al combinarse con las intensidades de luz fue superada cortamente, en particular bajo 117 watts por 12 horas porque quizá el micelio no afectado por las sustancias tóxicas fue estimulado para formar conidios.

Los resultados obtenidos en el crecimiento vegetativo en ambos, intensidades de luz y fotoperíodos, conservan la misma tendencia durante la esporulación, lo cual resalta las características propias del medio de cultivo.

PDA mostró un comportamiento opuesto a lo esperado, ya que la producción de esporas es reducida por los dos factores, intensidad de luz y

fotoperíodo. Tal vez se deba a que la exposición a la luz tenga una reacción negativa para la esporulación, puesto que al aumentar el fotoperíodo la superficie fungal también es mayor, lo que indica que *Bipolaris* deja la fase reproductiva para dar paso a la vegetativa.

En la intensidad de luz se da un fenómeno semejante pero no tan marcado. Con base en lo anterior no se justifica el uso de luz para inducir la reproducción en PDA.

El V-8 se puede considerar como un medio en el que el balance nutricional del mismo permitió el crecimiento vegetativo y la esporulación. En esta última, el hongo gracias a la influencia del medio se comportó indiferente al fotoperíodo, mientras que el primero fue promovido por dicho factor; esto señala una diferenciación constante a pesar del medio. El crecimiento del patógeno en V-8 fue el de respuesta más homogénea en cuanto a formación de conidios tanto en intensidades de luz como en fotoperíodos. Puede ser que se trate del recurso más estable.

Finalmente el medio de cultivo HZA se obtuvo la mayor producción de conidios debido a los pocos nutrientes que aportó al microorganismo, éste esporuló abundantemente con el fin principal de preservar la especie. A pesar de que el crecimiento micelial fue constante (50 cm² de la caja de petri en promedio), la formación de esporas se disparó al incrementarse la intensidad de luz y el fotoperíodo; puesto que tuvo lugar una mayor diferenciación celular por efecto de la luz. HZA es un ejemplo de los medios de cultivo bajos en nutrientes que permiten la esporulación no importando que el crecimiento vegetativo sea superficial y poco denso.

Los medios de cultivo preparados con residuos de cosecha como HBA y HZA ofrecen la posibilidad de disminuir los costos de producción de los agentes de control. Además, al existir una baja relación C.N se incrementa la formación de estructuras reproductivas lo que a su vez, probablemente, origine que la virulencia también aumente.

Bipolaris sp a diferencia de *Cercospora rodmanii*, no requiere condiciones demasiado específicas para el crecimiento vegetativo ni para la esporulación; lo cual resalta la capacidad de adaptación del hongo al medio, siendo su respuesta a éste en función de las características del recurso.

V. CONCLUSIONES

CAPACIDAD INFECTIVA DE *Bipolaris sp* SOBRE *Eichhornia crassipes*

- Las suspensiones conidiales entre 5.75×10^5 y 1.1×10^6 esporas/ml, afectan severamente al lirio acuático.
- Entre más jóvenes sean las hojas más susceptibles son al daño por *Bipolaris*; esto es, existe una relación directamente proporcional entre la juventud de los lirios y la severidad.
- El método de inoculación influye notablemente en el desarrollo de la enfermedad por lo que deben buscarse métodos más efectivos. Del mismo modo, la utilización de cepas jóvenes y más virulentas reducen el periodo de infección.
- *Bipolaris sp* es capaz por si mismo de producir daños foliares severos al lirio acuático. Es agresivo y resistente a condiciones adversas, lo que resalta su gran potencial para ser utilizado como agente de control de *Eichhornia crassipes*.

RESPUESTA DE Bipolaris sp A DISTINTOS FACTORES FÍSICOS

- La esporulación de *Bipolaris* depende en gran medida del medio en donde se desarrolle. Una producción masiva de conidios (desde 100 000 hasta 140 000 esporas/ ml.) se obtendrá al sembrar a *Bipolaris* en el medio de cultivo hecho con hojas de zanahoria y exponiéndolo a una intensidad de 117 watts por 16 horas. Si no se contara con tal material, puede sustituirse con jugo V-8 que es indistinto al fotoperíodo pero responde favorablemente en bajas intensidades de luz (produce 90 000 conidios/ml. en 39 watts).
- Si sólo se manejan intensidades de luz entonces para los 39 watts el mejor medio es el V-8; seguido de HZA. Tanto para los 78 como para los 117 watts HZA es el que más esporula.
- En el caso de los dos fotoperíodos, 12 y 16 horas, HZA tiene la esporulación más abundante. El V-8 también reacciona al efecto de la luz, produce esporas en cantidades similares en los dos períodos de luz.

RANGO DE HOSPEDEROS DE Bipolaris sp

- El pasto Sudán *Sorghum sudanensis* y el sorgo *Sorghum bicolor* son susceptibles en diferente grado a *Bipolaris sp.*, el primero es más resistente que el sorgo.
- Para delimitar de manera más certera el rango de hospederos de *Bipolaris* conviene realizar estudios posteriores.

VI. BIBLIOGRAFIA

- Aneja, K. R.; Srinvas, B.; Manpreest-Kaur and Kaur, M 1993. Evaluation of *Fusarium clamydosporum* as a biocontrol agent of water hyacinth *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms Indian Society of Weed Science International Symposium. Hisar, India, 18 -20 Nov. Vol. : 11 pp. 145-149.
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B. 1972. Illustrated genera of imperfect fungi Burgess Publishing. pp. 1-166.
- Bojórquez, B.G.; Palazuelos, N.J.; Gutiérrez, G.J.A.; Aguilar, Z.J.A. y Camarena, M.O. 1997. Estudio de la tasa de crecimiento del lirio acuático *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms en el Distrito de riego 010 de Sinaloa XVIII Congreso Nacional de la Maleza pp. 16.
- Boyette, C.D. 1991. Host range and virulence of *Colletotrichum truncatum*, a potential mycoherbicide for hemp sesbania *Sesbania exaltata* Plant Disease Vol. 75 No. 1. pp. 62, 63
- Boyette, C.D.; Quimby, P.C.; Connick, W.J.; Daigle, D.J. and Fulgham, F.E 1991. Progress in production, formulation and application of mycoherbicides En: Tebeest, David, O. Microbial Control of Weeds. Chapman and Hall. pp. 209-219.
- Chahal, S. S.; Aulakh, K.S. and Mathur S. B. 1993. Germination of teliospores of *Tilletia barclayana*, the causal agent of kernel smut of rice, in relation to some physical factors Journal of Phytopathology. 137: 4. pp. 301-308.
- Charudattan, R. 1990. Biological control of aquatic weeds by fungi En: Pieterse and Murphy. Aquatic Weeds: The Ecology and Management of Nuisance Aquatic Vegetation. Oxford University Press. pp. 186-200.
- Charudattan, R. 1991. Biological control of weeds En: Tebeest, David O. Microbial Control of Weeds. Chapman and Hall pp. 36-37.

- Carlile, M.J. and Watkinson, S.C. 1994. The fungi Academic Press, Great Britain. pp. 114-119, 158-165
- Conway, K.E. 1975. Cercospora rodmanii, a new pathogen of water hyacinth with biological control potential Canadian Journal Bot 54: pp. 1079-1083.
- Cooke, R.C. and Whipps, J.M. 1993. Ecophysiology of the fungi primera Edición. Cambridge University Press. Great Britain pp. 91-97, 104-110, 118-131.
- Delgado, M. M.; Bigeriego, M.; Walter, I. y Guardiola, E. 1994. Optimization of conditions for the growth of water hyacinth in biological treatment. Revista Internacional de Contaminación Ambiental 10 (2) pp. 63-68
- Dhingra, O.D. and Sinclair, J.B. 1987. Basic plant pathology methods C.R.C. Press. pp. 186-200
- Dias, W.P., Ferraz, S. 1993. Crecimiento e esporulacao de *Arthrobotrys spp* em diferentes substratos, meios de cultura, pH e niveis de temperatura Nematologia Brasileira Vol. 17, No. 12 pp. 168-181.
- Duan, C.H.; Tsai, W.H. and Tu, C.C. 1992. Some host plants of *Bipolaris maydis* in Taiwan. Plant- Pathology- Bulletin Vol. 1 No. 3 pp. 156-157.
- Duczek, L.J. 1995. Evidence of cold hardening in *Bipolaris sorokiana* Canadian Journal of Plant Pathology. 17 :4 pp. 342-345.
- Elwakil, M.A.; Sadik, E.A.; Fayzalla, E.A. and Shababana, Y.M. 1990. Biological control of water hyacinth with fungal plant pathogens in Egypt. VII International Symposium on Biological Control of Weeds. pp. 483-497.
- Farr, D.F.; Bills, G.F.; Chamuris, G.P. and Rossman, A.Y. 1989. Fungi on plants and plants products in U.S. American Phytopathological Society Press. pp. 3, 372-374; 441, 588-589
- Fernández, M.A.R. 1995. Hongos asociados a *Ficthornia crassipes* (Mart) Solms. como micoherbicida potencial en el Valle de México pp. 114.
- Fernández, O. A.; Sulton, D.L.; Lallana, V.H.; Sabbatini, M.R. and Ingoyen, J.H. 1990. Problems and management in South and Central America En: Pieterse and Murphy. Aquatic Weeds: The Ecology and Managements of Nuisance Aquatic Vegetation. Oxford University Press. pp. 420-425.

- Freedman, Bill. 1993. Eutrophication of fresh water. En: Environmental Ecology. Academic Press. San Diego, California. pp. 159-179.
- Gutiérrez, L.E.; Arreguín, C.F.; Huerto, D.R. y Saldaña, F.P. 1994. Control de malezas acuáticas en México. Ingeniería Hidráulica en México. Vol. 9 No. 3. pp. 15-34.
- Gutiérrez, L.E.D., Uribe, G.E. y Ruiz, F.E. 1994 Control de malezas acuáticas manual No. 1: Control del lirio acuático Primera Edición IMTA. pp. 1-100.
- Gutiérrez, L.E.D. 1995. Experiencias sobre el control del lirio acuático *Eichhornia crassipes* en México. Tesis Maestría U N A M pp. 177
- INEGI. 1995. Estadísticas del medio ambiente México 1994 México. pp. 301.
- Lenné, Jillian M. 1990. A world list of fungal diseases of tropical pasture species. Fitopatología 10 :31 CIAT International Mycological Institute, University Press. pp. 130-132
- Martyr, R.D. and Freedman, T.E. 1978. Evaluation of *Acremonium zonatum* as a potential biocontrol agent of waterhyacinth. Plant Disease Reporter Vol. 62 No. 7. pp. 604-608.
- Matsumiya, E.; Suzuki, K.; Ueno, Y. and Mizutani, J. 1992. Secondary zoospores of *Plasmadiophora brassicae* in host of root hairs. Annals of the Phytopathological Society of Japan 58 :2 pp. 310-316
- Mengistu, A., Rimmer, R.S., Williams, P.H. 1993. Protocols for *in vitro* sporulation, ascospore release, sexual mating and fertility in crosses of *Leptosphaeria maculans*. Plant Disease. Vol. 77 No. 5 pp. 538-540.
- Moore-Landecker, E. 1990. Fundamentals of the fungi. Tercera Edición, Prentice Hall. pp. 339-350.
- Pieterse, H. A. and Murphy, J.K. 1990. Aquatic weeds: The ecology and management of nuisance aquatic vegetation. Oxford University Press. pp. 436-441.

- Raza, T.; Ayub, M.A.; Ilyas, M.B. and Shakir, A.S. 1991. Physiological studies on *Stemphylium botrysum* causing leaf spot of garlic and onion. Pakistan Journal of Phytopathology 137 :4. pp. 301-308
- Sharkey, T.D. 1993. Fotosíntesis, Metabolismo del Carbono en cloroplastos de plantas C-3. En: Azcon- Brieto, J. Y Talon, M. Fisiología y Bioquímica Vegetal De Mc Graw-Hill Pp 113-134.
- Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their teleomorphs. CAB International Mycological Institute. pp 12-16, 18-23, 26-105, 154-157, 160-161
- Smith, Roy J. 1991. Integration of biological control agents with chemical pesticides. En: Tebeest, David O. Microbial Control of Weeds Chapman and Hall. pp 200-203
- Sonoda, R.M.; Turner, B.M. and Schubert, T.S. 1993. *Bipolaris sacchari* on *Panicum maximum* in Florida. Plant Disease Vol 77 No 1. pp. 101.
- Spencer, W. and Bowes, G. 1990. Ecophysiology of the world's most troublesome aquatic weeds. En: Pieterse and Murphy. Aquatic Weeds: The Ecology and Management of Nuisance Aquatic Vegetation. Oxford University Press. pp 39-73
- Strange, Richard N. 1993. Plant disease control: Towards environmental acceptable methods. Primera edición. Chapman and Hall. pp 92-105
- Traut, E.J. and Warren, H.L. 1993. Expansion of lesions induced by races 1, 2 and 3 of *Bipolaris zeicola*. Maydica 38 3. pp 215-221
- Ulloa, Miguel. 1991. Diccionario ilustrado de micología. U.N.A.M. pp. 309
- Weidemann, G.J. 1991. Host - range testing: Safety and science. En: Tebeest D. O. Microbial Control of Weeds. Chapman and Hall. pp. 83-93
- Zillinsky, F.J. 1984. Guía para la identificación de enfermedades en cereales de grano pequeño. CIMMYT. pp 21-34

VII. GLOSARIO*

1. **Acropleurógeno**: (ápice - costado - origen). Se origina en el ápice y después se vuelve hacia un costado debido al crecimiento indeterminado del ápice. Ejemplo: conidios de *Trichothecium* (Moniliales) (fig a).
2. **Anastomosis**: (fusión, conexión) Fusión de dos células en contacto que reabsorbiendo sus partes llegan a confundirse en una (fig. b)
3. **Apotecio**. (granero - pérdida de alguna cosa) Cuerpo fructífero parecido al peritecio, pero que en la madurez se abre ampliamente y por lo común adquiere forma de copa, de plato o de disco
4. **Asca**: (saco). Célula en forma de saco o bolsa que contiene un número indefinido de ascosporas, típicamente 8
5. **Ascospora** (saco - espora). Espora haploide propia de los hongos Ascomycetes, que nace en el interior del asca como resultado de un proceso de reproducción sexual
6. **Ascostroma**: (saco - colchón). Fructificación estromática que produce ascas en el interior de lóculos o cavernas.
7. **Basidio**: (pequeña base). Célula especial característica de los Basidiomycetes, sobre la que se forman las basidiosporas.
8. **Basidiospora** : Espora haploide propia de los Basidiomycetes que se forma como resultado de un proceso de reproducción sexual.
9. **Blástico**: (brote, yema). El conidio blástico se desarrolla a partir de sólo una porción de la célula conidiógena y sufre un notorio agrandamiento del primordio del conidio antes de que dicho primordio sea delimitado por un septo.
- 10 **Biomasa**: Masa o peso total de los seres vivos

* La generalidad de los conceptos se obtuvieron de Ulloa, M. 1991. DICCIONARIO ILUSTRADO DE MICOLOGÍA U.N.A.M.

11. **Célula conidiógena:** Célula fértil especializada para la producción de conidios. Existen diversos tipos de células conidiógenas según las especies, por ejemplo el ámpula de *Bipolaris*, la triáide de *Aspergillus*, entre otros.
12. **Conidio:** Espora asexual, no móvil, generalmente formada en el ápice o en un lado de una célula esporógena especializada. Los conidios pueden ser uni, bi, o pluricelulares, secos y mucosos, pero nunca se producen dentro de alguna estructura con pared celular rígida
13. **Conidióforo:** (polvo- portador) Hifa simple o ramificada que se diferencia morfo y fisiológicamente por producir y sostener conidios.
14. **Control:** El control de la maleza acuática se refiere a la reducción a un nivel aceptable del número y del vigor, o de ambos, de organismos o biomasa por unidad de área, de una población de plantas acuáticas consideradas como indeseables en un cuerpo de agua (Gutiérrez, L E *et al* 1994).
15. **Discreto** (separado, discontinuo) Célula conidiógena que no está sustentada por un conidióforo
16. **Distioseptado** (separado - septo). Conidio pluricelular en el que cada una de las células se halla rodeada por una pared parecida a un saco o bolsa distinta a la pared externa o periférica del conidio, de manera que no existen verdaderos septos entre célula y célula, como ocurre en el caso de *Helminthosporium velutinum* y *H rostratum* (fig. c) (Ulloa, M., 1991). Luttrell (1963) citado por Sivanesan (1987) lo define como, conidio con doble pared en el que los septos se forman sólo por la pared interna. Un conidio distioseptado tiene las células rodeadas por capas individuales diferentes al estrato exterior
17. **Enteroblasto.** La capa externa de la pared de la célula conidiógena es perforada durante la formación del conidio y no contribuye en el síntesis de la pared del mismo.
18. **Esclerocio:** (duro). Estructura dura que resiste condiciones desfavorables del medio; los esclerocios están compuestos de plecténquima, con un corteza

firme, frecuentemente cutinizada. Son capaces de germinar y reiniciar un crecimiento vegetativo.

19. **Esporangio** (espora - recipiente). Estructura de diversas formas que produce esporas de origen asexual y endógeno; todo el contenido protoplasmático se convierte en un número indefinido de esporas
20. **Esporangióforo**: (espora - portador). Hifa especializada que produce y sostiene uno o varios esporangios
21. **Esporóforo** (semilla, espora - portador) Cualquier estructura portadora de esporas, ya sea sexuales o asexuales
22. **Estroma**: (colchón, almohadilla) Masa compacta de hifas somáticas, constituidas de plecténquima (prosénquima, pseudoparénquima o ambos) sobre la cual o dentro de la cual se producen comúnmente hifas fértiles que generan órganos reproductores sexuales o asexuales
23. **Euseptado** (verdadero - tabicado). Tipo de conidio pluricelular en el que las células que lo componen se hallan separados por septos verdaderos, los que consisten en láminas (diafragmas) que se unen periféricamente con la pared lateral del conidio (fig. d) (Ulloa, M., 1991) Para Luttrell (1963) citado por Sivanesan (1987), es un conidio rodeado por pared simple que forma un septo verdadero debido a una invaginación. El término euseptado según Sivanesan es contradictorio porque Luttrell lo define en su glosario como conidio con septos verdaderos consistentes den diafragmas unidos periféricamente a la pared lateral. Lo anterior sugiere que el conidio sea bicapa
24. **Eutroficación**. Proceso natural y lento mediante el cual los cuerpos de agua jóvenes e improductivos gradualmente aumentan su productividad conforme los nutrientes se van acumulando con el paso del tiempo, por ello la sedimentación tiene lugar y el nivel del agua disminuye. (Freedman, Bill, 1989).
25. **Fusiforme** (huso -forma). Como huso, de extremos aguzados como los conidios de *Fusarium* (Moniliales) (fig. e).

26. **Geniculado:** (rodilla). Se aplica a la parte de una hifa o de un conidióforo que forma codos debido a los cambios de dirección por el crecimiento simpodial del mismo, como puede observarse en *Helmithoponum*, *Alternaria*, *Drechslera*, *Cercospora*, entre muchos Moniliales (fig. f).
27. **Hifa:** (tejido). Filamento tubular que representa la unidad estructural de la mayoría de los hongos. Pueden ser somáticas o fértiles, por ejemplo, los rizoides, estolones, haustorios, apresorios, y los esporóforos asexuales o sexuales.
28. **Hilo:** (cicatriz). Punto o marca de las esporas que indica el sitio de unión al esporóforo. El hilo es una estructura distintiva por ejemplo en los conidios de los Moniliales. *Alternaria*, *Drechslera*, *Helminthosporium* (fig. g).
29. **Holoblástico** (entero). Todas las capas de la pared de la célula conidiógena están involucradas en la síntesis de la pared del conidio.
30. **Holomorfo.** Se aplica a un hongo en todas sus formas o fases.
31. **Integrada.** Se aplica a una célula conidiógena que está sustentada por un conidióforo, el que puede ser de una o varias células.
32. **Intercalar:** (inserto). Que está interpuesto entre el ápice y la base, es decir, que no es basal terminal. Se refiere a estructuras resistentes o reproductoras como clamidosporas, esporangios, etc., cuando confinan por ambos extremos con células vegetativas (fig. h).
33. **Macronematoso:** (largo, ancho, grande - filamento). Conidióforo especializado que se distingue morfológicamente de las hifas asimilativas adyacentes en el resto del micelio.
34. **Micelio:** (hongo). Conjunto o masa de hifas que constituye el cuerpo de un hongo.
35. **Mononematoso:** (sólo, único - filamento). Constituido de una sola hifa o filamento como los conidióforos de la mayoría de los géneros del orden Moniliales.
36. **Navicular:** (barca). En forma de barca. (fig. i).

37. **Obclavado:** (invertido - clava - forma). Figura de clava con la parte más ancha en la base.
38. **Oblongo:** Más largo que ancho, alargado con los dos lados casi paralelos y los extremos medianamente aplanados.
39. **Obpiriforme:** (invertido - forma de pera) Con la parte más ancha en la base (fig j)
40. **Ovoide:** (huevo, óvulo - semejante) En forma de huevo, colocado de tal manera que su parte más ancha corresponde a la parte inferior de la estructura.
41. **Peritecio** (alrededor - caja) Cuerpo fructífero en forma de pera, generalmente posee un ostiolo (orificio) por donde libera las ascosporas.
42. **Plecténquima:** (entrelazado -relleno). Término que se utiliza para designar a todos los tipos de tejido fúngico.
43. **Prosénquima:** (cerca, junto a - relleno). Tipo de plecténquima en el que las hifas que lo componen se disponen paralelamente unas a otras, entrelazándose o anastomosándose, pero conservando su individualidad (fig. k).
44. **Pseudotecio:** Contracción de pseudoperitecio.
45. **Seudoparénquima:** (falso). Tipo de plecténquima compuesto de células ovales o isodiamétricas íntimamente unidas, las hifas involucradas pierden su individualidad. Este tejido se presenta en esclerocios, estromas, cuerpos fructíferos y otras estructuras fúngicas (fig l).
46. **Seudoperitecio:** (falso - casco). Ascostroma unilocular peritecioide, característico de varios géneros de Loculoascomycetes
47. **Simpodiai, simpódico:** (pie, soporte) Tipo de ramificación en el que un eje semeja un tallo simple pero que está formado de las bases de varios ejes originados sucesivamente como ramas una de la otra. Una estructura con ramificación simpodial o simpódica adopta la forma de zig-zag como el conidióforo de *Cercospora* y *Helmithosponum* (fig m).

48. Truncado: (mutilar). Se aplica a las estructuras que rematan en un borde o plano transverso como si hubieran sido cortadas (fig. n).



Fig. a. Conidios
acropleurógenos



Fig. b. Anastomosis



Fig. c. Conidios
diatiseptados



Fig. d. Conidios
euseptados



Fig. e. Conidios
fusiformes



Fig. f. Conidióforo
geniculado



Fig. g. Hilo



Fig. h. Conidios
intercalares



Fig. i. Conidios
naviculares



Fig. j. Obpiriforme



Fig. k. Proaénquima

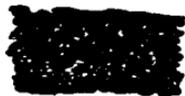


Fig. l. Seudoparénquima



Fig. m. Conidióforo
simpódico



Fig. n. Truncado

VIII. ANEXO

Cuadro 12. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANADEVA)

Área	Del	Hongo	(cm ²)			
Fuente de	Suma de	Grados	Cuadrado	Fc	Significan	
Variación	Cuadrados	de	Medio		-cia	
		Libelad				
Med. Cult.	2385.845	4	596.461	12.613	0.000	**
Int. Luz	14.511	2	7.256	0.153	0.858	
Fotoper.	192.837	1	192.837	4.078	0.048	*
M.C. * I. Luz	248.202	8	31.025	0.656	0.727	
M.C. * Foto.	621.084	4	155.271	3.283	0.017	*
I. Luz * Foto	54.127	2	27.63	0.572	0.567	
M.C. * I. Luz * Foto.	76.46	8	9.559	0.202	0.989	
Número	De	Esporas	Por	Milili-		
				tro		
Med. Cult.	54125000000	4	13531250000	6.539	0.000	**
Int. Luz	875000000	2	437500000.0	0.211	0.810	
Fotoper.	277777778	1	27777777.77	0.13	0.908	
M.C. * I. Luz	22458333333	8	2807291666	1.357	0.234	
M.C. * Foto.	12819444444	4	3204861111	1.549	0.200	
I. Luz * Foto.	12638888889	2	631944444.4	0.305	0.738	
M.C. * I. Luz * Foto.	27638888889	8	345486111.1	0.167	0.994	

* Diferencia significativa

** Diferencia altamente significativa

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

PRUEBA DE TUKEY

COMPARACIÓN DE MEDIAS

Área del Hongo (cm²)

Medios de Cultivo	Promedio
Hojas de betabel - agar	39.5426 a*
Hojas de zanahoria - agar	48.5792 b
Jugo V-8 - agar	50.0304 b
Papa - dextrosa -agar	50.1129 b
Clavel - dextrosa - agar	55.4018 c

Número de Esporas por ml

Medios de Cultivo	Promedio
Hojas de betabel - agar	50000.0
Clavel - dextrosa - agar	58333.3
Papa - dextrosa -agar	59722.2
Jugo V-8 - agar	80555.5
Hojas de zanahoria - agar	118055.5 a

* Las letras iguales indican que no hay diferencia estadísticamente significativa.