



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CAMPUS IZTACALA

ETIOLOGIA DE LA MUERTE DESCENDENTE,  
RESINOSIS Y PUDRICION NEGRA DEL MEZQUITE  
(*Prosopis laevigata* L.) EN ZAPOTITLAN DE LAS  
SALINAS, PUE.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
B I O L O G O  
P R E S E N T A :  
FABIOLA MARIBEL COTA TRUJILLO

DIRECTOR Y ASESOR: DR. RODOLFO DE LA TORRE ALMARAZ



IZTACALA

LOS REYES IZTACALA, TLALNEPANTLA EDO. DE MEXICO, JUNIO DEL 2003.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

*" No importa tanto donde estemos,  
sino hacia donde vamos.  
Para arribar a puerto seguro a veces  
navegamos con el viento a favor  
y a veces en contra , pero la cuestión  
es navegar, no derivar sin rumbo  
ni permanecer anclados..." ..." O.Wendell*

## *Dedicatoria*

*A mi hermana por estar siempre a mi lado, por compartir tantos momentos difíciles, por apoyarme, por darme siempre todo lo que estuvo a tu alcance y sobre todo porque gran parte de este trabajo es gracias a ti*

*A mis abuelos por brindarme su cariño, por siempre estar conmigo, por dedicarme su tiempo y recibirme con los brazos abiertos.*

*A mi Padre por haberme enseñado a luchar, a ser fuerte para enfretar todos los problemas que se encuentren en mi camino, y por haberme enseñado cosas que jamás voy a olvidar.*

*En memoria de una gran mujer que aunque no esta conmigo, siempre se encuentra en mi mente y mi corazon mi Madre.*

## AGRADECIMIENTOS

*Al Dr. Rodolfo de la Torre por la ayuda brindada en la realización de este trabajo, por toda la comprensión y por todos los momentos vividos dentro del laboratorio y en el campo.*

*Al Biol. Alejandro Monsalvo por ser el mejor profesor, compañero y amigo, por todas las enseñanzas, gracias por ser un hombre admirable y por brindarme siempre ayuda incondicionalmente.*

*A los profesores Saul Flores, Irene Frutis y Maria Elena Huidogro por las aportaciones hechas al presente trabajo, las más sinceras gracias por el tiempo y conocimientos brindados.*

*Gracias, a todos los compañeros del Laboratorio de Microbiología Pedro, Josefina, Cilia, Adrian e Israel por compartir todos los momentos, risas, preocupaciones y tristezas, sin su estancia en ese laboratorio nada hubiese sido igual.*

*A todos los integrantes del laboratorio de Bioquímica de la UBIPRO por soportar mi presencia durante tanto tiempo.*

*Muchísimas gracias a mi querido equipo conejo, sin ustedes la carrera nunca hubiera sido tan interesante y divertida, gracias por soportarme y por hacerme pasar momentos tan agradables, gracias por haber sido los mejores compañeros Yesenia, Romeo, Jorge, y Pocabontas.*

*A la Bióloga Cilia Martínez por ayudarme y estar conmigo en momentos tan difíciles, por asesorarme dentro del laboratorio y por considerarme parte de su familia.*

*A Wendy y a Jennie por ser mis amigas escucharme y comprenderme aunque no siempre estuviésemos de acuerdo gracias por estar ahí.*

*A todos mis compañeros de la carrera con los que compartí una infinidad de momentos muchas gracias a Angel, Edgar, Hector, Eduardo, Miguel, Santiago, Liliana, Ruth, Erick, Jose, Alberto, Nickte, Elisa, Alfredo, Andres, Benjamín, Almendra, Raúl, Irving, Ricardo, Claudia, Manuel, Monica, Israel, etc,*

*Un muy especial agradecimiento a todos mis Tíos y primos que me apoyaron durante mi formación académica, gracias por toda su ayuda y cariño, ustedes saben que siempre los llevo en mi corazón.*

*A una gran persona que me ha apoyado en todos los momentos difíciles y me ha hecho sonreír gracias por ocupar gran parte de mi vida y por estar ahí siempre que he necesitado apoyo a ti Ivan.*

*Gracias a MILLCO por darme la oportunidad de formarme profesionalmente al Ing. Siegfried, a Martin, Roberto, Gaby, Eduardo, etc.*

## RESUMEN

Durante el año de 2001, muerte descendente de ramas, pudrición negra y resinosis del tronco fueron observadas en mezquite (*Prosopis laevigata* L.) en Zapotitlan de las Salinas, Puebla, (18°15'N, 97°25'W) y debido a que el mezquite es un recurso natural de gran importancia económica en todas las regiones áridas y semiáridas del mundo. Sobre éstos síntomas se desarrolló tejido fungoso, de color café claro, formado de conidioforos y conidios hialinos, elipsoides, con extremo truncado. Posteriormente los conidioforos y los conidios formaron un estroma conspicuo de peritecios globosos a subglobosos, con una abertura peritecial prominente, ascosporas de color café oscuras, unicelulares, elipsoides-inequilaterales con extremos redondeados y abertura germinal sobre el lado convexo. La perispora fue dehiscente en solución de KOH al 10%. La reproducción sexual fue inducida con palillos de madera esteriles en PDA, EMA y V8-Agar. El hongo fue identificado como *Hypoxyton diatrypeoides* Rehm, en su forma sexual y *Nodulosporium*-like como su anamorfo. Durante el verano del 2002, plántulas de mezquite con 25cm de altura fueron inoculadas con diversos tratamientos para comprobar los postulados de Koch. Los síntomas se reprodujeron en tratamientos inoculados con palillos y con aspersión de esporas, el hongo fue reaislado y presento las mismas características que el inoculo original. Previamente esta especie ha sido reportada en el hemisferios sur (Brazil y Nueva Zelanda), por lo tanto éste sería el primer reporte en México y en el hemisferio norte.



## INDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS	
2.1. Objetivo General.....	4
2.2. Objetivos particulares.....	4
3. ANTECEDENTES	
3.1. Descripción Botánica de la especie.....	5
3.2. Reproducción.....	5
3.3. Importancia y usos.....	6
3.4. Centro de Origen y distribución.....	8
3.5. Problemas Fitosanitarios.....	9
3.5.1. Plagas.....	9
3.5.2. Enfermedades.....	9
4. MATERIALES Y METODOS	
4.1. Descripción de la zona de Estudio.....	10
4.2. Colecta del material enfermo.....	11
4.3. Aislamiento de Organismos Patógenos.....	11
4.3.1. Siembra directa en medios de cultivo artificiales.....	11
4.3.2. Cámaras Húmedas.....	12
4.3.3. Aislamiento directo de organismos.....	12
4.3.4. Evaluación de medios de cultivo.....	13
4.3.5. Inducción de la fase sexual en medios de cultivo artificial.....	13
4.4. Pruebas de patogenicidad.....	14
4.4.1. Obtención de plantas de mezquite.....	14
4.4.2. Inoculación.....	14
4.5. Caracterización, Identificación y Clasificación de patógenos.....	15
5. RESULTADOS	
5.1. Aislamiento de Organismos Patógenos.....	16
5.1.1. Resinosis de Ramas y Tronco.....	16
5.1.1.1. Siembra directa en medios de cultivo artificial.....	16
5.1.1.2. Cámara Húmeda.....	17
5.1.2. Pudrición Negra del Tronco.....	17
5.1.2.1. Siembra directa en medios de cultivo artificial.....	17
5.1.2.2. Cámara Húmeda.....	17
5.1.3. Muerte descendente de ramas.....	18
5.1.3.1. Siembra directa en medios de cultivo artificial.....	18
5.1.3.2. Cámara Húmeda.....	18
5.1.3.3. Aislamiento directo de organismos.....	20
5.2. Inducción de la fase sexual en medios de cultivo artificial.....	21
5.2.1. Velocidad de crecimiento.....	21
5.2.2. Descripción de la colonia.....	25
5.3. Inducción de la fase sexual en medios de cultivo artificial.....	28
5.4. Pruebas de Patogenicidad.....	34
5.5. Caracterización, Identificación y clasificación de organismos patógenos.....	36
6.0. DISCUSIÓN.....	44
7.0. CONCLUSIONES .....	47
8.0. LITERATURA CITADA.....	48

---

## 1.- INTRODUCCIÓN.

El género *Prosopis* en México se conoce con el nombre común de mezquite, que proviene del náhuatl "micuít", nombre que probablemente les dieron a estas plantas los aztecas durante su expansión militar, al sur y sudoeste de Mesoamérica (Granados, 1996).

El género *Prosopis* contiene poco más de 40 especies nativas de regiones áridas y semiáridas de Norte y Sudamérica, África y Asia, que varían de arbustos de 40 cm a árboles de hasta 20 m de altura, pudiendo crecer en zonas con lluvias menores a los 100 mm anuales y soportando temperaturas máximas promedio en verano de más de 40°C. ([www.spmesquite.com](http://www.spmesquite.com), ).

El mezquite es un recurso natural de gran importancia económica en las regiones áridas y semiáridas del mundo, ya que su madera se utiliza como combustible y sus vainas como forraje, además de que sirve de alimento para el hombre, construcción de cercas, producción de miel, fabricación de pegamentos, barnices, etc. (Buckart, 1976).

En México existen diez especies y tres variedades de mezquite (*P. palmeri*, *P. reptans* var. *cineroscens*, *P. pubescens*, *P. articulata*, *P. laevigata*, *P. tamaulipana*, *P. velutina*, *P. juliflora*, *P. glandulosa* var. *típica*, *P. glandulosa* var. *torreyana* y *P. mexicanum*), las que se distribuyen en las diferentes regiones semiáridas y áridas de nuestro país.

En las regiones altas semiáridas de los Valles Centrales de México se distribuye principalmente *P. laevigata*, especie que ha sido intensamente utilizada como fuente de alimento para el hombre y animales domésticos, combustible y para la fabricación de muebles (Rzedowski, 1988).



---

*P. laevigata* forma parte importante de la flora nativa del Valle de Tehuacán, en el estado de Puebla, región que es considerada como una de las 12 principales reservas de la biosfera a nivel mundial. (Dávila *et al.*, 1995).

Recientemente se comenzó a observar diversas clases de daños, que están afectando a numerosas plantas de mezquite, entre los que destacan una pudrición seca, de color negro de las ramas jóvenes, que causa la pérdida de hojas y finalmente su muerte. Los daños por esta enfermedad se inician por la parte apical de las ramas y descienden hacia el centro del árbol, por lo que a este daño se le describió como “muerte descendente” (Figura 1 A) . Otro síntoma que afecta a las ramas intermedias, fue la presencia de manchas redondas o alargadas de color negro opaco de aspecto húmedo, que causan el rompimiento de la corteza, de la cual escurre abundante goma o resina de color rojizo y que se describió como “resinosis (Figura 1 B). Finalmente, el tronco o las ramas muy gruesas, presentan manchas redondas o alargadas de color negro intenso, de aspecto húmedo y con escurrimiento de resina. Los daños eventualmente abarcan hasta el duramen, el cual puede presentar una mancha gris a negra, causando la muerte de la planta, daños que se denominaron preliminarmente como “pudrición negra del tronco” (Figura 1 C) .

Los daños por “muerte descendente y resinosis afectan a numerosos individuos de mezquite, y se desconocen las causas y las condiciones ambientales que los originan. Sin embargo, por el tipo de síntomas observado, es probable que estos sean causados por alguna clase de patógenos desconocidos.

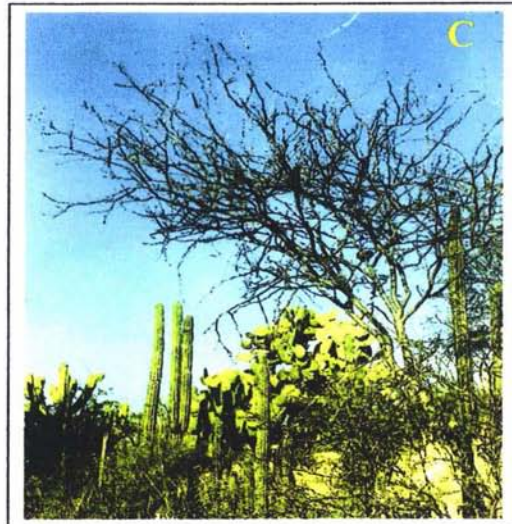
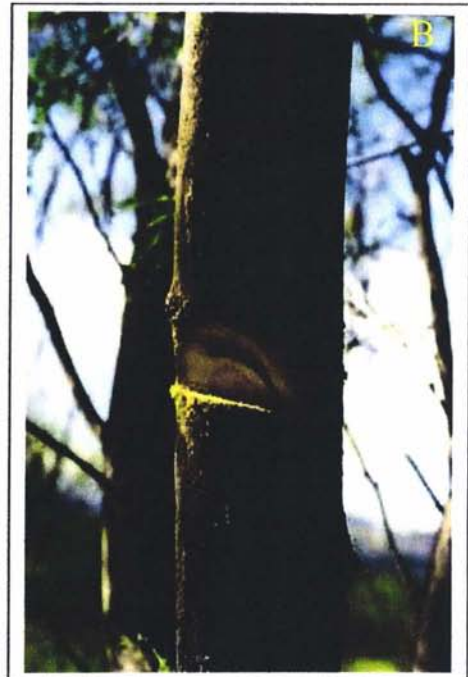


Fig.1 Síntomas observados en Mezquite (*Prosopis laevigata*) en Zapotitlán Salinas, Puebla. A) Resinosidad presente en las partes del tronco B) Pudrición negra en el duramen del mezquite C) Muerte descendente en ramas.

---

## **2.-OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo General:**

Determinar la etiología de las enfermedades de la muerte descendente, resinosis y pudrición negra del mezquite en la región de Zapotitlán Salinas, Puebla.

### **2.2. Objetivos Particulares:**

- 1.- Aislar y caracterizar los organismos que causan la muerte descendente, la resinosis y la pudrición negra de *Prosopis laevigata* en Zapotitlán Salinas, Puebla.
- 2.- Demostrar la capacidad patogénica de los organismos
- 3.- Ubicar en categorías taxonómicas a los organismos causantes de estas enfermedades

---

### 3.-ANTECEDENTES

#### 3.1. Descripción botánica de la especie.

*Prosopis laevigata* (Humb et Bonpl.) Johnst

La especie se caracteriza por tener arbustos de tamaño medio o árboles frondosos de tronco pequeño aunque en sitios de buena disponibilidad de agua pueden alcanzar hasta 20m de altura y diámetros mayores a 1m (Granados 1996). Corteza gruesa de color café-negrusco, algo fisurado, copa más ancha que alta; ramas glabras o pilosas armadas de espinas estipulares de 1 a 4 cm de largo. Hojas pecioladas que van de 1 a 3 pares de pinas, cada una con 10 a 20 pares de foliolos sesiles oblongados, de 5 a 15 mm de largo por 1 a 2 mm de ancho, ápice obtuso, margen entero, base obtusa, glabros o ligeramente pubescentes, flores dispuestas en espigas densas de 5 a 10 cm de largo, flores amarillentas, sesiles o casi sesiles, cáliz de 1mm, glabro o pulverulento; corola de 2.5 a 3 mm de largo, pétalos agudos tometuosos en el margen y en el interior; estambres de 4 a 5 mm de largo; Generalmente producen un aroma y néctar agradables para la polinización (Simpson, 1977; [www.semarnap.gob.mx.htm](http://www.semarnap.gob.mx.htm)).

El fruto es una vaina indehisciente, correosa frecuentemente algo dura, de 7 a 20 cm de largo por 8 a 15 mm de ancho, comprimida, glabra con septo articulado en el endocarpio, mesocarpio pulposo y epicarpio coriáceo, algo constreñida entre las semillas; de 8 a 10 mm de largo de color blanco amarillento.

#### 3.2. Reproducción

*P. laevigata* es una planta que básicamente se reproduce por semilla y existen evidencias morfológicas de que es una planta alógama, ya que primero se expande el estigma y después

---

los estambres, segregando abundante néctar y aportando flores más o menos vistosas, que favorecen la alogamia y los cruzamientos naturales (Buckart, 1976).

Este tipo de reproducción se ve muy afectada por las sequías prolongadas, ratas e insectos que afectan al fruto, perforando la semilla; la supervivencia de la especie no se ha visto afectada por este factor debido a su resistencia y adaptabilidad, no obstante existen zonas en donde la tala inmoderada y la influencia que ha tenido el hombre sobre las comunidades vegetales ha ocasionado en diversos lugares la erosión del suelo y la escasez de especie (Castro *et al.*, 2000).

### **3.3. Importancia y usos**

Esta especie y algunas otras pertenecientes al género *Prosopis* puede considerarse como un recurso natural de importancia económica principalmente en el continente Americano, ya que muchas comunidades indígenas de éste ocupaban gran parte de la planta, utilizándola como combustible, forraje, alimento, construcción, en algunos lugares del mundo se le ha utilizado como sustituto de café y muchos otros utilizan su madera para hacer una diversa cantidad de instrumentos y muebles (Rzedowski, 1988).

En México el mezquite ha constituido una fuente potencial de diversos productos para los pobladores de las zonas áridas y semiáridas, el fruto ha sido empleado desde épocas prehispánicas como alimento, la flor o el fruto es ocupado para la elaboración de diversos productos como; harina, sustituto de azúcar, pan, pasteles, pinole, miel, bebidas refrescantes, etc. (García-Moya, 1986).

Los Seris utilizan la goma para mascar y en otras zonas del país acostumbran mascar las vainas por su sabor dulce; En otros sitios pueden comer las vainas secas o molidas para



---

preparas un tipo de masa y hasta se elabora una especie de queso, son muchos los productos comestibles que se han elaborado; pero adquieren una mayor importancia en épocas de sequía cuando otros cultivos no abastecen a las pequeñas poblaciones (Granados, 1996).

Una utilidad potencial para el género *Prosopis* es la madera, debido a que es muy compacta, resistente a la pudrición, y ha sido comparada con el nogal y la caoba, se utiliza para la elaboración de muebles, implementos agrícolas, parquet, artículos torneados, hormas para zapatos y carpintería en general (Hernández, 1992). La madera del mezquite fue una de las materias primas más importantes para la construcción de las ruedas de carreta, cimbrado de túneles, alimento para las locomotoras de vapor, etc. (Gómez, 1970).

Como forraje el fruto del mezquite adquiere importancia, así como las semillas enteras o procesadas en forma de harina han sido utilizadas tradicionalmente como complemento alimenticio del ganado (Hernández, 1992).

El mezquite en algunos grupos indígenas se ha utilizado como enjuague del cabello para dar brillo, como pintura facial, para la elaboración de cuerdas para la caza, y algunos otros hasta fabricaban tintes de diversos usos (Cantú, 1990). El uso medicinal que se le ha dado al mezquite en diversas ocasiones como remedio para el dolor de ojos, como purgante, para limpiar el sistema digestivo, para la garganta, diarrea, heridas, etc. (Granados, 1996).

Las especies de *Prosopis* no solo tienen una importancia económica sino también ecológica debido a que algunos autores las consideran como las primeras candidatas para el control de la erosión, estabilizar el avance de desiertos o dunas de arena, como barreras rompivientos, cercas de protección y para reforestar desoladas tierras áridas, incluyendo suelos salinos, por otro lado es considerado indicador de mantos freáticos (Granados, 1996; Hass y Dodd 1972; Simpson, 1977).



---

### 3.4 Centro de origen y distribución.

Determinar con exactitud el centro de origen de un género, siempre ha sido discutido, en el caso del mezquite se considera a Sudamérica y más preciso a Argentina como el más viable lugar de origen, aunque algunos autores como Buckart (1943) menciona que el género *Prosopis* es originario de México y es introducido al resto de los países, descubrimientos más recientes señalan a Argentina como el país que posee semillas fosilizadas más antiguas, esto aunado a la gran cantidad de especies con que cuenta (Granados, 1996).

El género *Prosopis* es un género panotropical, es decir que se presenta tanto en zonas tropicales como subtropicales de ambos hemisferios, que por la influencia del hombre se ha extendido a zonas áridas y semiáridas y hasta el momento se han localizado 40 especies distribuidas en Asia, África y América, siendo esta última en donde se localizan la mayor cantidad de especies y la mayor diversidad morfológica (Rzedowski, 1988)

Del total de las especies de mezquite conocidas en América, 10 pertenecen a México: encontrándose entre ellas *Prosopis laevigata*, siendo esta especie conocida como el mezquite típico del Centro y sur de México, distribuyéndose desde zonas de tierra caliente hasta altitudes cercanas a los 2500 msnm, hacia el norte formando parte de los matorrales xerófilos, donde la precipitación pluvial apenas llega a los 300 mm, localizadas en estados de Guerrero, Jalisco, Michoacán, Oaxaca, Tlaxcala y Puebla (Castro *et al.*, 2000).

---

### 3.5. Problemas Fitosanitarios

El cultivo del mezquite presenta grandes ventajas ante las adversidades del clima y las condiciones del suelo aunque, también existe una gran problemática que en ocasiones limita la reproducción y el buen desarrollo de la especie como lo son las enfermedades y las plagas.

#### 3.5.1. Plagas.

Debido al olor característico y el sabor dulce de las vainas existen insectos que se alimentan de los frutos y las semillas de esta especie encontrándose entre ellos una gran cantidad de hemípteros, lepidópteros, pero principalmente coleópteros, siendo la más importante plaga un insecto conocido como conchuela (*Chlorochroli gata say*), encontrándose además diversas chinches olorosas *Pachilis gigans* (Granados, 1996; [www.semarnat.gob.mx](http://www.semarnat.gob.mx))

#### 3.5.2. Enfermedades

IZT.

Se han realizado diversas investigaciones del genero *Prosopis* por la importancia económica y ecológica que tiene en zonas áridas y semiáridas , sin embargo se han realizado pocos estudios referentes a las enfermedades que afectan a esta genero.

Los reportes donde se menciona la presencia de organismos patógenos corresponde a las especies *Prosopis juliflora* y *Prosopis grandulosa*, estas investigaciones se han realizado en el continente Asiático y Africano; sin embargo no se reporta ningún síntoma o enfermedad. En un estudio realizado en México con *P. juliflora* se reportan dos hongos *Asterina prosopidis* y *Erisiphe taurica*; y para *P. grandulosa* el hongo *Erysiphe taurica* y *Ravenelia arizonica*, ([www.nt.ars-in.gov](http://www.nt.ars-in.gov)) .



---

#### **4.- MATERIALES Y METODOS**

El Valle de Zapotitlán Salinas, Puebla. Es considerado una de las reservas naturales con la mayor riqueza, diversidad y endemismo florístico en el mundo y el mezquite es una de las especies vegetales dominantes que ocupa un extenso territorio en la zona, en donde proporciona alimento y abrigo a innumerables especies de animales y plantas, incluido el hombre, por lo que desde el punto de vista ecológico y económico es muy importante. Sin embargo, los daños al parecer por enfermedades, están coadyuvando a la reducción de la población del mezquite.

##### **4.1. Descripción de la zona de estudio**

El Valle de Zapotitlán Salinas Puebla, es una región de mezquiales y comunidades vegetales localizadas en la terrazas aluviales de la subcuenca del Río salado, y se localiza en la porción suroeste del Valle de Tehuacan (18°20'N y 97° 29'W). De acuerdo con la clasificación de Köppen modificada por García (1973), el clima es semiárido del tipo BShw<sup>w</sup>(e)g con una precipitación media anual de 400 mm. Las lluvias están concentradas entre junio y septiembre. La aridez que presenta se debe a la influencia de la Sierra Madre Oriental que impide el libre acceso de la humedad proveniente de los vientos alisios del Golfo de México. La temperatura media anual es de 21.4°C oscilando entre los 16.5° en enero y los 24.2°C en mayo. El tipo de vegetación presente en la zona es el matorral xerófilo y se reconocen cuatro unidades fisonómicas de vegetación: matorral espinoso, tetechera, cardonal e izotal. Los suelos son rocosos, originados por rocas sedimentarias y metamórficas; están

---

representados por las siguientes categorías: calcáreos, salino y calcareo- yesíferos, los cuales son producto del intemperismo *in situ*. (Álvarez y Montaña 1997, Dávila 1995).

#### **4.2. Colecta de material enfermo.**

Para determinar la etiología de las enfermedades del mezquite, durante el 2001 se realizó un muestreo en diversas zonas del Valle de Zapotitlan Salinas, tomando ramas apicales con los síntomas de “muerte descendente”, así como ramas gruesas y tronco con los síntomas de pudrición negra o resinosis. La colecta de muestras fue en la mayoría de los casos del tipo semidestructivo, ya que se colectaron secciones o partes de las plantas afectadas. El material recolectado se colocó en bolsas de polietileno para su traslado al Laboratorio de Microbiología de la UBIPRO (Echandi, 1971).

#### **4.3. Aislamiento de Organismos Patógenos**

##### **4.3.1. Siembra directa en medios de cultivo artificiales**

El material colectado en campo y con síntomas, se corto en fragmentos de 1 cm de largo, cuidando que estos contuvieran parte del tejido enfermo y sano. Los trozos fueron colocados en cajas de Petri y lavados con hipoclorito de sodio al 2% por 2 minutos, posteriormente se lavaron con agua destilada estéril para eliminar el hipoclorito y se dejaron secar en papel filtro estéril en la cámara de flujo laminar. Cada trozo fue cortado con un bisturí estéril en secciones de 0.5 mm de largo. Se colocaron cuatro trozos en cajas de Petri conteniendo medio de Papa dextrosa agar (PDA), hasta tener un total de diez cajas, que se mantuvieron a temperatura de laboratorio. (López,1981; Stakman,1977).

---

Cuando se observó el crecimiento de hongos o bacterias en el medio de cultivo y en las inmediaciones de los trozos de madera, se transfirieron a otras cajas con medio de cultivo nuevo, procedimiento que se repitió hasta obtener un solo tipo de colonia (Da Silva 1982).

#### 4.3.2. Cámaras Húmedas

Trozos de madera de mezquite con los diferentes síntomas observados, de 2 a 5 cm de largo, fueron colocados en cajas de Petri que contenían papel filtro estéril, que previamente se humedeció con agua destilada estéril. Las cajas se mantuvieron a temperatura de laboratorio (15-18°C) y diariamente se observaron bajo el microscopio estereoscópico hasta la aparición de organismos en su superficie, los que se transfirieron a cajas de Petri con medio de cultivo con ayuda de una asa de siembra bacteriológica y en la cámara de flujo laminar. Se prepararon 10 cámaras húmedas con cinco trozos cada una. El experimento se repitió hasta en 10 ocasiones (Stakman, 1977).

#### 4.3.3. Aislamiento directo de organismos

Las ramas, corteza y tronco frescos, con alguno de los síntomas de probables enfermedades, fueron analizados directamente bajo el microscopio estereoscópico, buscando estructuras o signos de probables patógenos. Las estructuras de los organismos fueron separadas con una asa bacteriológica o bien realizando cortes con una navaja de rasurar y colocando las secciones obtenidas en medio de cultivo PDA en condiciones de esterilidad. Las cajas se mantuvieron a temperatura de laboratorio (Guzmán 1979).

Para el proceso de diagnóstico adecuado se realizaron cortes histológicos de los cuerpos fructíferos bajo el microscopio estereoscópico con ayuda de una hoja de doble filo con el

---

objetivo de obtener cortes muy finos en los que pudiesen observarse estructuras de microorganismos, los cortes fueron depositados en portaobjetos con agua destilada estéril ó lactofenol azul de algodón (French *et al.*, 1982) para obtener preparaciones fijas y semifijas, para su posterior observación bajo el microscopio óptico y registro fotográfico.

#### 4.3.4. Inducción de la fase sexual en medios de cultivo artificial

A los diferentes medios de cultivo se les adicionó palillos estériles, para añadir alguna fuente de celulosa y obtener la fase sexual de los patógenos en los medios artificiales y cuerpos fructíferos (Mengistu 1996).

Se evaluó el crecimiento y desarrollo de los organismos aislados de las partes enfermas del mezquite en diferentes medios de cultivos artificiales (con la adición o no de palillos de madera estériles). Los medios utilizados fueron Papa Dextrosa Agar (PDA), Extracto de Malta Agar (EMA) y Medio V-8 Agar complementado con Cloruro de Calcio al 10% (V8-A).

Se evaluó Velocidad de crecimiento (Vc), midiendo diámetro de la colonia en mm (D) vs Tiempo en horas (T); color y textura de la colonia , Cuerpos Fructíferos (CF) en cada medio, sin palillos (SP) y el mismo parámetro en los medios de cultivo suplementandos con palillos estériles (CP). Las cajas de Petri se mantuvieron a temperatura de laboratorio, con la alternancia natural de luz-oscuridad de 12 horas (Mengistu, 1996).

Los tratamientos incluyeron cinco repeticiones y los resultados fueron analizados como un diseño completamente al azar, con un ANOVA multifactorial.



---

#### **4.4. Pruebas de patogenicidad**

##### 4.4.1. Obtención de plantas de mezquite

Se colectaron vainas de mezquite en algunos sitios del Valle de Tehuacán separando las semillas y seleccionando aquellas que no mostraron ninguna clase de daño, las cuales fueron sembradas en almácigos o charolas de plástico negro de 25 pozos, utilizando como sustrato una mezcla estéril de arena, tierra de hoja y negra (2:1:1 v/v). En cada pozo se colocaron cuatro semillas, cubriéndolas con más sustrato, humedeciendo la charola a saturación y después se cubrió la charola con una bolsa de plástico negro para mantener la humedad hasta la germinación de las semillas. Cuando las plántulas alcanzaron una altura de 10 cm de altura se transplantaron a vasos de unicel de 1 Litro de capacidad, utilizando el mismo tipo de sustrato estéril. Las plántulas fueron mantenidas en condiciones de invernadero hasta que alcanzaron una altura de 30 a 40 cm, lo que ocurrió aproximadamente a los 5 meses después de la siembra.

##### 4.4.2. Inoculación

Para la inoculación e inducción de los síntomas observados en mezquite en condiciones de campo, se utilizó el método de inoculación de palillos de madera, cocultivados en el medio en el que se obtuvo la mayor cantidad de cuerpos fructíferos y el organismo que fue el más frecuente de aislar del material enfermo.

Se realizó la inoculación con diversos tratamientos, como se describe a continuación.

A) Se insertó un palillo de madera con cuerpos fructíferos entre la corteza y el duramen en la parte media del tallo asegurándolo firmemente con parafilm; B) Se realizaron heridas en el tallo del mezquite con un palillo esterilizado y posteriormente se asperjaron esporas suspendidas en aceite mineral; C) Se realizó aspersión de esporas suspendidas en aceite

---

mineral estéril sin inducir ninguna herida; D) Se colocó un palillo con cuerpos fructíferos en el tallo de la plántula asegurándolo firmemente con parafilm sin provocar ninguna clase de herida; E) Se insertó un palillo estéril sin cuerpos fructíferos realizando una herida en la parte media del tallo; F) Se realizó una herida en el tallo asperjando después agua destilada estéril.

Todos los tratamientos tuvieron 15 repeticiones, se cubrieron las plantas con una bolsa de plástico hasta la aparición de síntomas. Todas las plantas se colocaron en condiciones de invernadero (20-30°C) y se cubrieron con una bolsa de polietileno, además de mantenerlas en condiciones de sombra por 15 días. Cuando aparecieron síntomas en las plantas inoculadas se realizaron re-aislamientos del patógeno en medios de cultivos y se comparó con el aislamiento original.

#### **4.5. Caracterización, Identificación, y Clasificación de patógenos**

Los organismos aislados fueron fotografiados y descritas todas sus características morfológicas, color y tamaño, tanto de las obtenidas en medio de cultivo artificial como de las obtenidas y observadas directamente en los tejidos dañados, para después identificar con claves taxonómicas de diferentes tipos de patógenos (Barnett y Hunter, 1997; Hanlin, 1997; Hanlin, 1998; Ulloa y Hanlin, 1978; Ulloa y Hanlin, 2000).

Para poder observar bajo el microscopio y describir las características de los microorganismos se utilizó agua destilada estéril y después tinción con Azul de Lactofenol, eventualmente se utilizó el reactivo de Yodo y solución KOH 10%, para destacar algunos detalles morfológicos que se utilizan en la clasificación. Se midieron con micrómetro ocular y objetivo; largo, ancho, de diversas estructuras como: cuerpos fructíferos, esporas, etc., (Sarasola y Rocca, 1975).

---

## 5.-RESULTADOS

### 5.1. Aislamiento de Organismos Patógenos en:

#### 5.1.1. Resinosis de ramas y tronco.

El síntoma de Resinosis observado en *Prosopis laevigata* se caracteriza por presentar diversas rupturas en la corteza y ramas del mezquite, escurriendo abundante goma, resina de color rojizo, y pequeños escurrimientos en ramas. Sin embargo no se observó *in situ* ninguna estructura que evidenciara la presencia de organismos como bacterias u hongos.

##### 5.1.1.1. Siembra directa en medios de cultivo artificiales

El crecimiento del micelio en medios de cultivo artificial, mostró un crecimiento irregular de forma filamentosa en un principio y algodonosa después, con una coloración grisáceo-verdosa y posteriormente el color se torna miel; conforme el micelio fue desarrollándose se comenzaron a formar pequeños colchones de micelio que se integran en estructuras redondas de color café-rojizo, con muchos filamentos en su alrededor, y en su interior esporas libres, unicelulares, alargadas, café-oscuras, inequilaterales y con extremos redondeados (Figura 2A). Se utilizaron claves específicas para hongos (Barnet y Hunter ,1997; Hanlin ,1997; Hanlin, 1998), pero no se encontró ninguna estructura que coincidiera con la descripción del hongo que fue aislado.

##### 5.1.1.2. Cámara húmeda

Se realizaron cámaras húmedas para desarrollar y encontrar formas maduras, así como inducir la esporulación, sin embargo no se lograron las condiciones para poder aislar el patógeno.

---

### 5.1.2. Pudrición Negra del tronco.

La pudrición negra fue un síntoma que se observó cerca del duramen de la planta y en partes de la corteza, presentando pequeñas manchas negras de aspecto húmedo, pero no se observó ninguna estructura en el exterior que indicara la presencia de alguna clase de organismo; al igual que el síntoma de resinosis se realizaron diferentes pruebas para aislamiento.

#### 5.1.2.1. Siembra directa en medios de cultivo artificiales

De las muestras cultivadas en los medios se obtuvo un hongo cuyo micelio fue de una coloración blanquecina al principio y en forma de anillos concéntricos, cambiando posteriormente a color miel. El cultivo se dejó envejecer para encontrar algún tipo de estructura, o alguna espora; finalmente después de algunos días se encontraron inmersos en el micelio, pequeñas estructuras globosas; En su interior presentaron esporas café-oscuras, con extremos redondeados, lisas, con una ranura en la parte ventral de las esporas y características similares a las encontradas en el síntoma de resinosis (Figura 2 B).

#### 5.1.2.2. Cámara húmeda

En este ensayo no se obtuvo ninguna estructura, esporulación que indicara la presencia de algún patógeno.

---

### 5.1.3. Muerte descendente de ramas

Esta enfermedad se caracteriza por presentar una pudrición seca que afecta ramas jóvenes, iniciándose en su parte apical, causando la caída de hojas, hasta que cada rama afectada queda totalmente seca, para finalmente secar el árbol por completo.

#### 5.1.3.1. Siembra directa en medios de cultivo artificiales

Se realizaron cultivos en los medios PDA, Agar bacteriológico, etc. sembrando directamente pequeños trozos de ramas, aislando un hongo que creció con micelio algodonoso color blanco que conforme se desarrolló adquirió una coloración miel-canela y al madurar, tiñó el medio de cultivo con una pigmentación rojiza. Posteriormente se formaron pequeñas esferas de micelio de color café-oscuro constituidas por tejido filamentoso, con una pared celular gruesa de color café; y en el interior se formaron pequeñas esporas libres de color café-claro hasta café-oscuro, semiesféricas, lisas, con extremos redondeados, inequilaterales y con una línea en la parte ventral. (Figura 2 C).

#### 5.1.3.2. Cámaras húmedas

Las ramas con muerte descendente y con la presencia de cuerpos fructíferos se colocaron en cámaras húmedas logrando obtener al cabo de 24 y 48 horas en diferentes ramas, la liberación por la parte superior de un líquido de color negro, viscoso que al analizarse en preparaciones, se encontraron esporas café-oscuras, con extremos redondeados, y lisas.



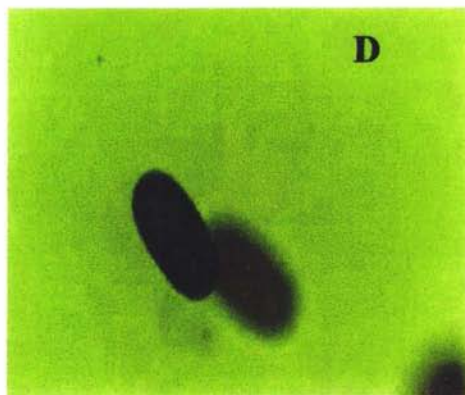
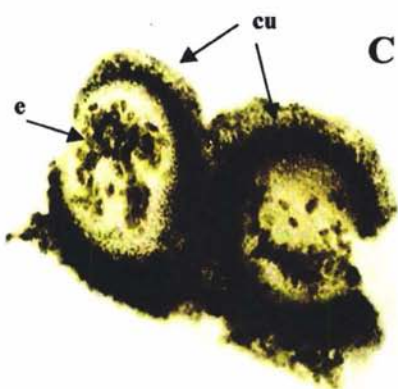
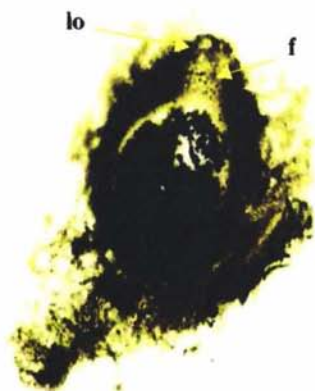
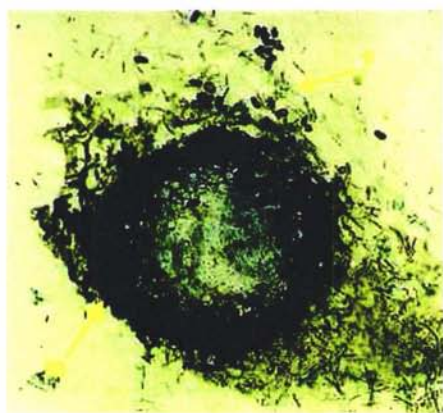


Fig. 2. Cuerpos fructíferos obtenidos de medios de cultivo artificial en donde se observan varias estructuras como esporas, micelio, etc. A) Cuerpo fructífero del aislamiento de resinosis con micelio (m) y esporas (e) a 40x, B) Corte de cuerpo fructífero obtenido del aislamiento de pudrición seca del tronco en 40x, en donde se observa el ostiolo y el labio ostiolar (lo) y los filamentos (f). C) Cuerpo fructífero aislado de la muerte descendente de ramas 40x, indicando cuerpos fructíferos unidos (cu), y esporas libres (e). D) Espora obtenida del medio artificial 100x.



### 5.1.3.3. Aislamiento directo de organismos

Sobre las ramas afectadas se observó una capa afelpada color salmón posteriormente, se desarrollaron cuerpos redondos de color salmón cambiando posteriormente a color gris, de forma redonda u olliforme, agrupados o individuales, unidas por un tejido café rojizo que se encuentra por debajo y entre cada una de estas estructuras (Fig. 3) .

Estos cuerpos redondos son en su interior de color negro brillante y de textura cerosa, en la parte superior se presenta una abertura en la que pueden observarse pequeños filamentos. En la base y en el interior se localiza una capa de estructuras en forma de sacos, alargados, hialinos, que en su interior presentan 8 esporas hialinas cuando inmaduras y café-oscuras en estado maduro, lisas, esféricas, con extremos redondeados, inequilaterales, con una línea en la parte ventral.

De acuerdo a las características encontradas en los diferentes aislamientos correspondientes a cada uno de los síntomas, es posible que se trate del mismo patógeno, sin embargo no fue posible obtener cuerpos fructíferos definidos en los medios de cultivo.

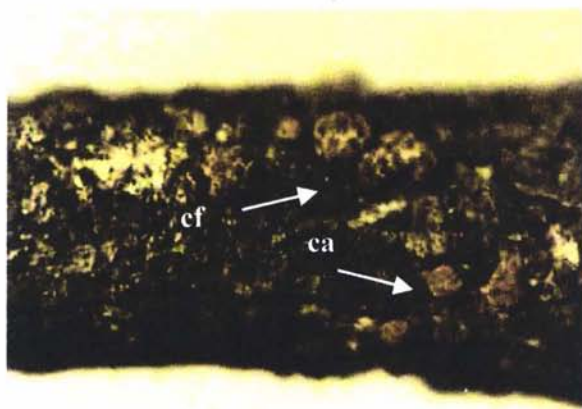


Fig. 3. Cuerpos fructíferos encontrados en el síntoma de muerte descendente en donde se observan, cuerpos fructíferos (cf), redondos, agrupados, y sobre los mismos una capa algodonosa (ca), color salmón.

---

## 5.2. Inducción de la Fase sexual en medios de cultivo artificial

Para obtener tanto la fase sexual (teleomorfica) como la fase asexual (anamorfica), se realizaron diversos tratamientos con el objetivo de obtener estructuras en medio de cultivo artificial ; se utilizaron 3 medios de cultivo; PDA debido a que es el medio de cultivo que se utiliza generalmente para aislar hongos, EMA es un medio recomendado para hongos que crecen sobre madera, y el V8-A por que es un medio de cultivo para aislar hongos y es recomendado junto con la adición de palillos de madera estériles para obtener la fase sexual en medio artificial, no obstante se adicionaron palillos a los 3 medios de cultivo, debido a que los palillos proporcionan una fuente de celulosa, además de ser este un hongo que crece sobre la madera del mezquite (Mengistu ,1996).

### 5.2.1. Velocidad de crecimiento

Se presento crecimiento de micelio en los medios de cultivo PDA, EMA y V8-A , siendo el EMA el medio donde se obtuvieron capas miceliales más compactas y definidas. El crecimiento miceliar se presentó en todos los medios a las 48 horas de haber sido incubado y al 5to día los tratamientos con palillos ya habían invadido las cajas de micelio, a pesar de ello, no existió una diferencia significativa entre los tratamientos hechos con los tres medios de cultivo pero sí existió una diferencia desde las primeras 48 horas entre los medios a los que se les adicionó palillos y los que no contenían palillos (Grafica 1).

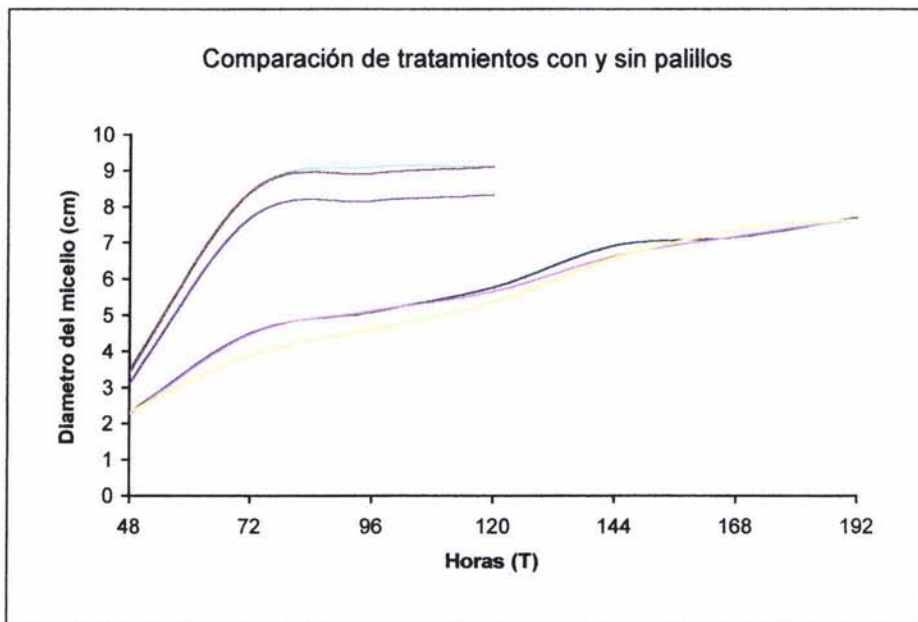
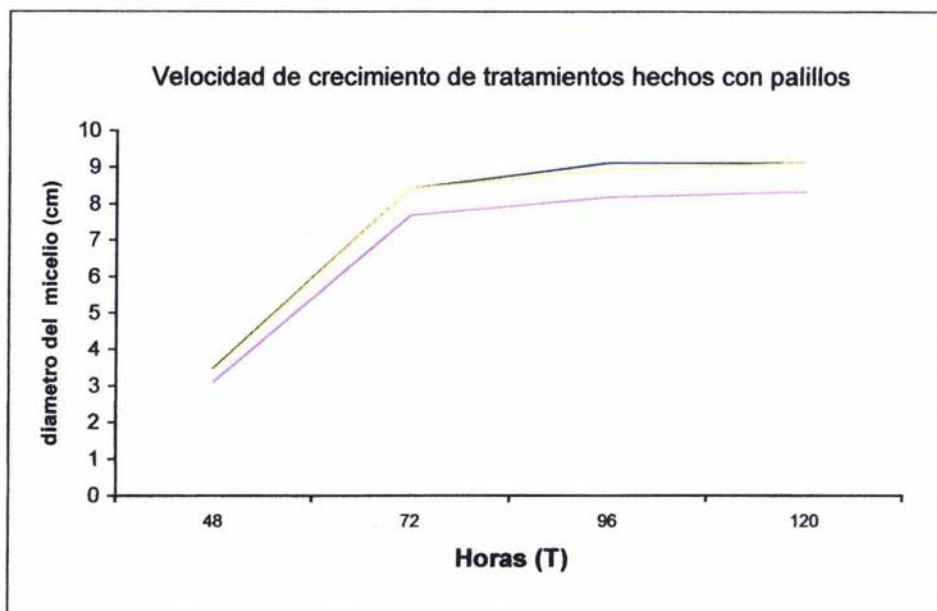


Grafico 1. Velocidad de crecimiento de los 6 tratamientos hechos en medio de cultivo artificial, utilizando 3 medios de cultivo diferentes y comparando los tratamientos hechos con y sin palillos. \* PDA SP, \* V8-A SP, EMA SP, PDA CP, \*V8-A CP,\* EMA CP.

Aunque no se obtuvo una diferencia significativa entre los tratamientos hechos con palillos se realizó una comparación entre los tres medios de cultivo (Grafico 2); En el PDA y el EMA se observó una misma velocidad de crecimiento; existiendo un gran avance a las 72 horas en donde se encontró un crecimiento de 8.5 cm de diámetro del micelio y el V8 presentó menor crecimiento e incluso no alcanzó a invadir todo el medio de cultivo a lo largo de las mediciones; Se observó que el PDA y EMA, el micelio presentó una misma velocidad de crecimiento sin embargo, en el medio EMA tiene una velocidad de crecimiento más lenta y además presenta un micelio mucho más disperso y no muy bien definido.



Grafica 2: Velocidad de crecimiento de los tratamientos con la adición de palillos estériles, en 3 medios de cultivo \*PDA, \*V8-A<sub>2</sub>, \*EMA.

Se realizó una grafica comparativa de los tratamientos sin palillos encontrando que, el tratamiento con el medio EMA es el que tuvo un crecimiento más lento, mientras que en los medios PDA y V8-A son tratamientos en los que el micelio creció en la misma velocidad (Grafico 3), no obstante a los 8 días (192hrs) de incubación el crecimiento del micelio en EMA se emparejó con los otros dos medios de cultivo.

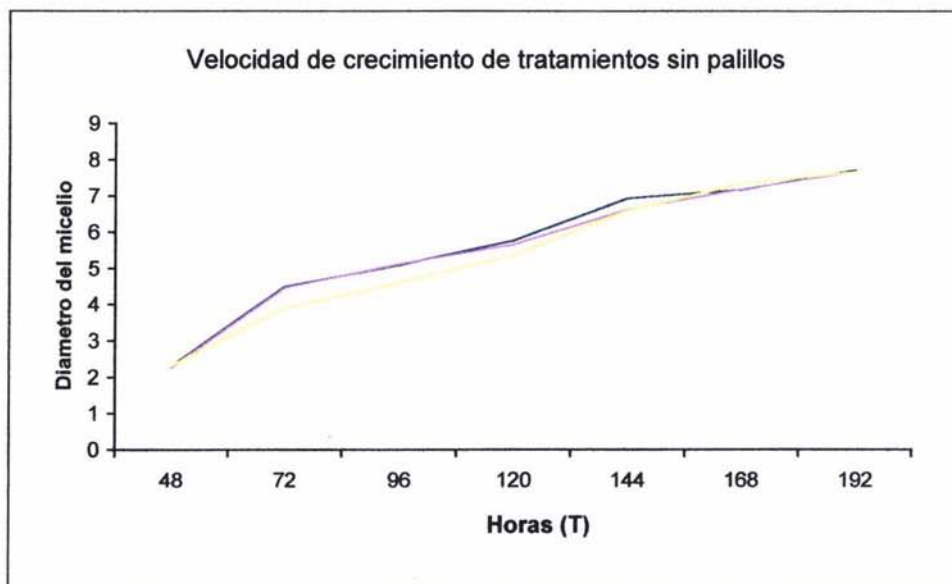


Gráfico 3: Velocidad de crecimiento de tratamientos sin la adición de palillos y 3 medios de cultivo \*PDA, \*V8-A<sub>2</sub> EMA.

Los medios de cultivo que tuvieron el mayor crecimiento o el crecimiento más acelerado fueron el PDA y EMA con palillos, y el tratamiento que tuvo un crecimiento más lento fue el EMA sin palillos, Los tres tratamientos que se realizaron con Palillos presentaron un crecimiento mucho más acelerado que los realizados sin palillos.

---

## 5.2.2. DESCRIPCIÓN DE LA COLONIA

### **PDA sin palillos**

En este medio de cultivo creció un micelio algodonoso color blanco, conforme la colonia fue creciendo se formó en el centro pequeños espacios grisáceos; el día 12 surgieron manchas grises que contenían en el centro un líquido color negro con consistencia viscosa. A los 16 días de haber cultivado el hongo se generaron pequeños cuerpos fructíferos que se encontraron alrededor de las cajas de petri, aunque fue hasta el día 21 cuando se observó una estructura mejor formada de los cuerpos fructíferos.

### **PDA con palillos**

Se formaron colonias con micelio algodonoso produciendo en el centro una coloración gris verdosa que en el séptimo día de la incubación llenó los palillos de micelio y el día 9 se observaron pequeños cuerpos fructíferos. el micelio al encontrarse un poco más desarrollado presentó una coloración gris en el centro y color miel en los extremos, con pequeñas manchas grises en la superficie. en el día 12 se presentan ascosporas pero muchas de ellas se encuentran todavía en un estado inmaduro.

### **V8 Sin Palillos**

Se desarrollaron colonias blancas con apariencia filamentosa que fueron tiñiendo el medio de color rojo a rosa (Figura 4 A), mostrando posteriormente una coloración del medio cada vez más intensa, al día 12 se observan pequeños cúmulos de micelio con una apariencia muy inmadura, hasta el día 22 no se encontró ninguna ascospora ni cuerpo fructífero maduro.

### **V8 con palillos**

La colonia presentó micelio blanco con apariencia afelpada y con presencia de anillos en el medio de cultivo que van desapareciendo conforme la colonia madura y desarrollando



---

cuerpos fructíferos bien definidos desde el día 9, aunque inmaduros pues todavía no se observaron esporas, hasta el día 14, tardando más de 20 días en madurar todos los cuerpos fructíferos, ya que al mirarse bajo microscopio solo se encontraron esporas inmaduras e incoloras.

#### **EMA sin palillos**

Las características que se presentaron en este medio de cultivo, fueron micelio algodonoso que adquirió coloraciones grises fuerte hasta verdes; en el centro se fueron definiendo coloraciones verdosas, y alrededor blanquecinas. Se forman muchos cuerpos fructíferos que tiene ascosporas y que además la mayoría de ellos se encontraron en un estado maduro y bien definidos.

#### **EMA con palillos**

Micelio algodonoso blanco que originó diferentes tonos verdosos, que llenaron a cada uno de los palillos hasta formar cúmulos de micelio sobre ellos que después se definieron y formaron cuerpos fructíferos de color gris, que en su interior hasta el día 12 contenían esporas sobre de los cuerpos fructíferos, se produjo una gran cantidad de líquido oscuro y negro que fue observado bajo el microscopio como una gran cantidad de esporas oscuras; los cuerpos fructíferos invadieron la gran mayoría de la caja.

En los tres medios de cultivo se observó crecimiento de micelio con características parecidas aunque en algunos casos se diferenciaba la coloración de cada una de ellas, se obtuvieron cuerpos fructíferos en los 6 tratamientos, obteniendo pseudotecios y ascosporas aunque en V8-A se presentaron estas estructuras como formas inmaduras. (Figura 4 B)



Fig 4. Crecimiento en medios de cultivo artificial con los tratamientos hechos con y sin palillos en donde se observa el crecimiento del micelio sobre el medio y sobre los palillos. A) Crecimiento del micelio en los primeros días de desarrollo. B) Crecimiento del micelio y cuerpos fructíferos cuando ya se encontraban en un estado maduro y con presencia de ascosporas.

---

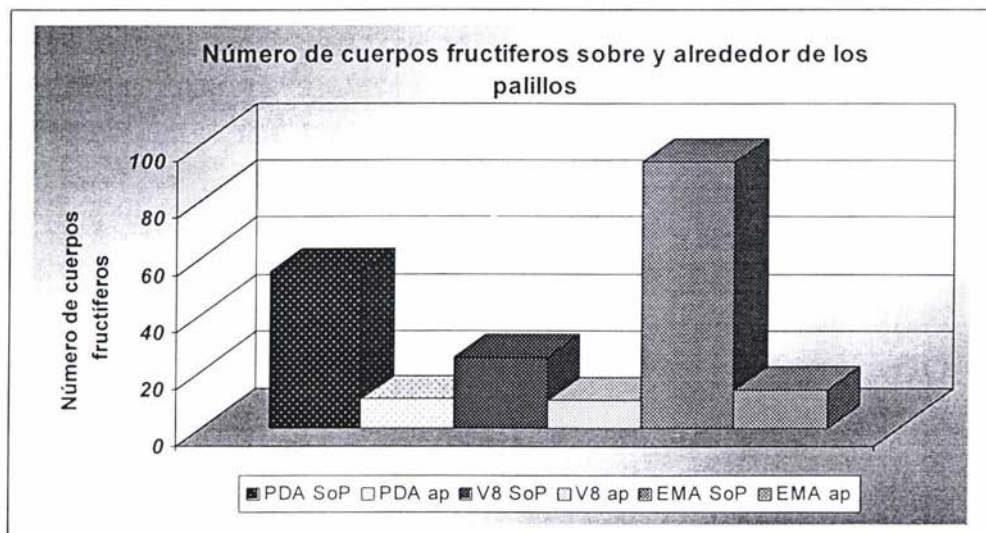
### 5.2.3. Numero de cuerpos fructíferos

Se evaluó el número inicial de cuerpos fructíferos desarrollados sobre los palillos en los medios de cultivo (día 9) finalizando el conteo de estos, hasta el día 21 cuando la mayoría de los cuerpos fructíferos se encontraban en estado de madurez

#### **Primeros días del desarrollo de los cuerpos fructíferos.**

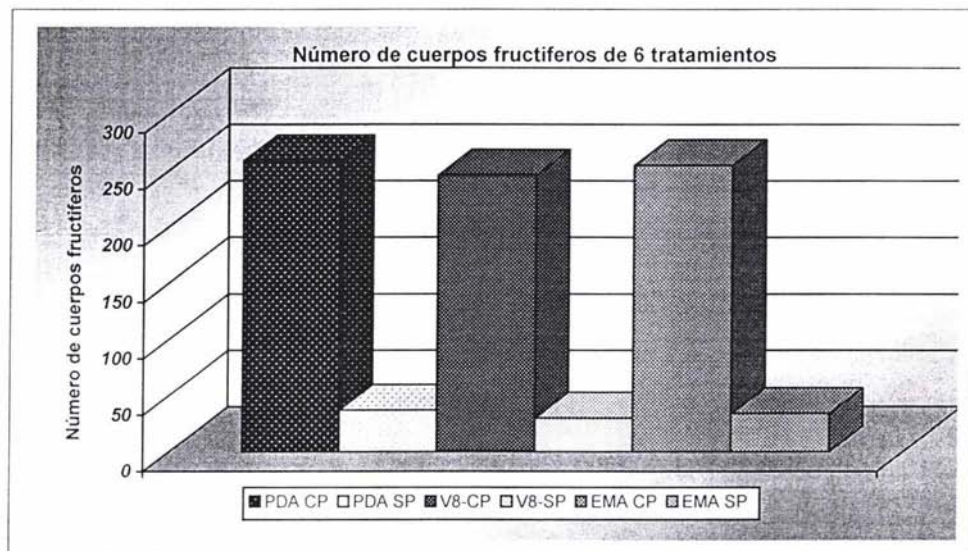
El número de cuerpos fructíferos en cada uno de los medios de cultivo fue diferente, y se realizó un conteo diariamente; además de una comparación entre los cuerpos fructíferos que crecieron sobre los palillos y los que crecieron alrededor de los mismos; obteniendo la mayor cantidad de cuerpos fructíferos sobre los palillos que se encuentran en el medio de cultivo de EMA con un promedio de 94 cf observando cuerpos fructíferos bien definidos. El medio en donde se contaron una menor cantidad de cuerpos fructíferos fue en V8-A con una promedio de 9.6 ap. (Grafico 4), esto nos puede indicar que cuando inicia el desarrollo de los cuerpos fructíferos hay una preferencia significativamente mayor en el crecimiento sobre los palillos que en el medio de cultivo así que se realizó una comparación del número total de cuerpos fructíferos (Grafico 5) en cada uno de los medios de cultivo durante los primeros días de desarrollo de los cuerpos fructíferos.

El medio que presentó la mayor cantidad de cuerpos fructíferos es el EMA con un promedio de 108 cf. en cada caja de petri y el medio V8 es el medio de cultivo que presenta una menor cantidad de cuerpos fructíferos, existiendo una diferencia significativa entre cada uno de los tratamientos.



Grafica 4. Número de cuerpos fructíferos sobre el medio y sobre los palillos a los 9 días del cultivo., comparando el número de cuerpos fructíferos que se encuentran sobre los palillos y alrededor de los mismos.

El EMA es el tratamiento con la mayor cantidad de cuerpos fructíferos y es el medio en donde se localizan los cuerpos fructíferos mejor definidos de igual manera sobre y alrededor de los palillos.



Grafica 5. Número total de cuerpos fructíferos en los primeros días de desarrollo, comparando los tratamientos hechos con y sin palillos.



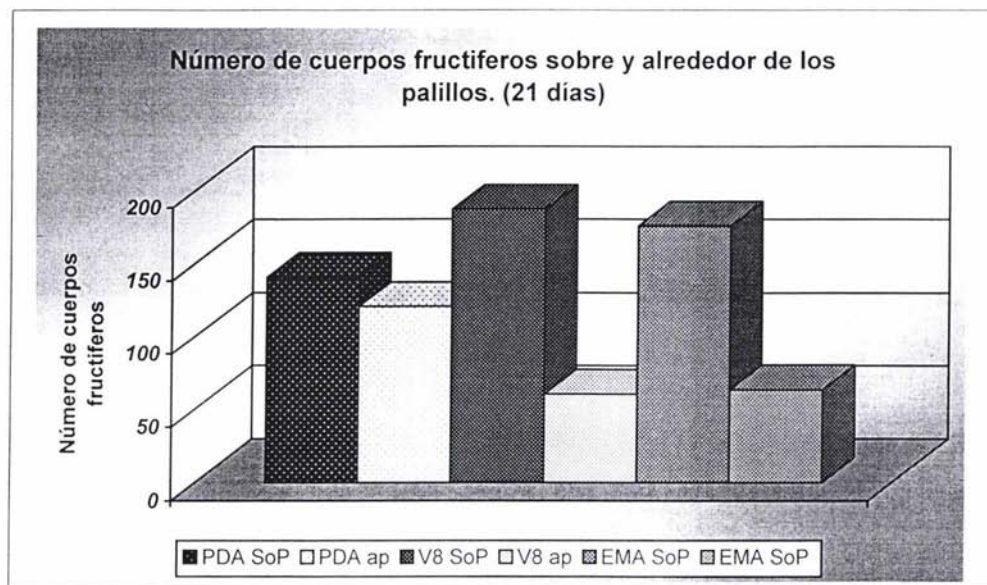
---

Los medios a los que no se les adiciono los palillos esterilizados todavía no se les encontraba ninguna evidencia de cuerpo fructífero ya que la aparición de estas estructuras fue hasta el día 12 por lo que no se pudo comparar con los resultados obtenidos con los tratamientos con palillos

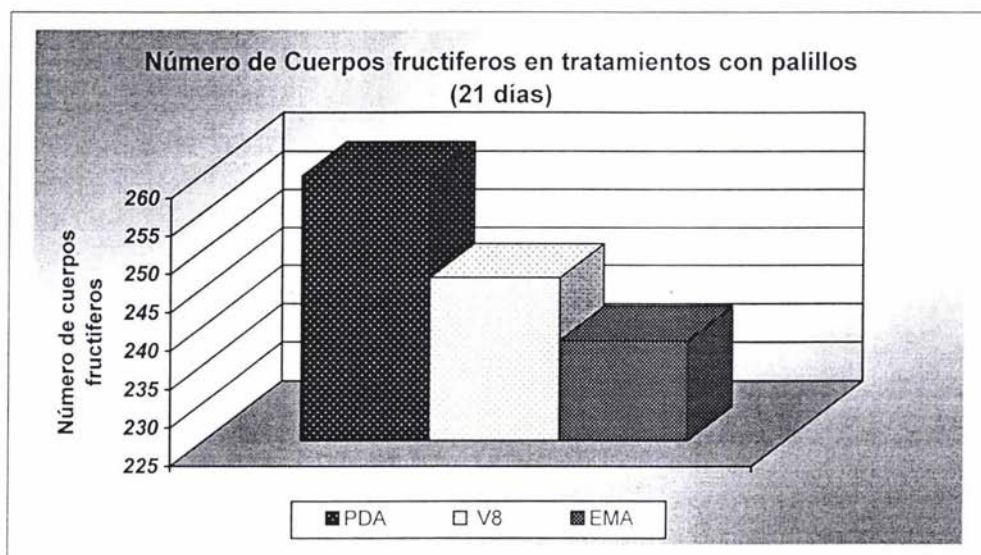
### **Madurez de los Cuerpos fructíferos**

La mayor cantidad de cuerpos fructíferos observados en esta fase, fue en los tratamientos con palillos de V8-A y EMA. El medio de V8-A con un promedio de 186.2 cf y el que presenta la menor cantidad de cuerpos fructíferos es alrededor de los palillos en el mismo medio de V8-A con un por medio de 60 cf (Gráfico 6), esto coincide con lo reportado por Mengistu (1995) en el que reporta una diferencia significativa entre los cuerpos fructíferos que se desarrollan sobre los palillos y los que se encuentran alrededor de los mismos. Esta misma situación la presentó el tratamiento con EMA en el que se encontró una diferencia significativa entre los cuerpo fructíferos que se encuentran sobre los palillos y los que se encontraron alrededor de los mismos. Sin embargo el tratamiento con PDA no presentó la misma situación ya que se formaron 139 cf sobre los palillos y 119 cf alrededor de los palillos, no presentando este medio una diferencia significativa.

La grafica 7 muestra los resultados de los tratamientos con palillos: en donde crecieron la mayor cantidad de cuerpos fructíferos fue en el PDA con 259 cf. por cada caja Petri. Pero, no existió una diferencia significativa al comparar con los demás medios ya que el medio que contenía la menor cantidad de cuerpos fructíferos es el medio V8, con 238 cf, a pesar de eso el medio EMA fué el medio de cultivo en el que se encontró la mayor cantidad de cuerpos fructíferos maduros y bien definidos y el V8-A en donde se encontraron la menor cantidad total y un 90% de ellos en un estado inmaduro con esporas inmaduras e incoloras.



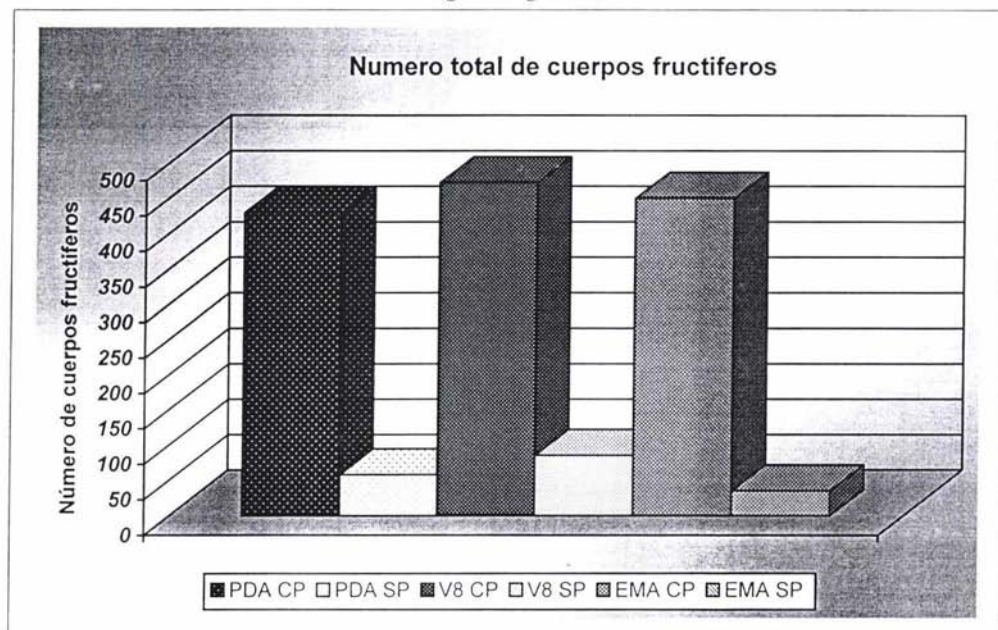
Grafica 6. Numero de cuerpos fructíferos en los tratamientos con la adición de palillos comparando la cantidad de cuerpos sobre los palillos (SoP) y alrededor de los palillos (ap) a los 21 días del cultivo.



Grafica 7. Comparación del número de cuerpos fructíferos que se encuentran en los tratamientos con palillos en 3 medios de cultivo, en el día 21.



Es importante destacar que a pesar de no existir una diferencia significativa entre la cantidad de cuerpos fructíferos pero si podemos decir que si existe una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos hechos con palillos y los que se realizaron sin ellos como lo muestra la siguiente gráfica.



Gráfica 8. Número total de cuerpos fructíferos en los tratamientos con los 3 medios de cultivo y los realizados con y sin palillos de madera a los 21 días del cultivo.

Esta gráfica nos puede mostrar el resultado de los tratamientos hechos con y sin palillos, en el que podemos observar que sí existe una diferencia estadística significativa entre los tratamientos que se realizaron con palillos y los que se realizaron sin ellos, en donde encontramos que el tratamiento con palillos, con el medio V8-A se obtienen 470 cf. por caja Petri y el que menos cuerpos fructíferos mostró, es el tratamiento hecho con EMA y sin palillos. Sin embargo, los cuerpos fructíferos obtenidos el medio V8-A, no alcanzaron la madurez necesaria y se encuentran algunos cuerpos fructíferos sin ascas, y los cuerpos fructíferos que se encontraron en el EMA bien desarrollados.

---

Se realizaron cortes de los cuerpos fructíferos que crecieron sobre los palillos encontrando, estructuras mejor desarrolladas, y con características similares a las observadas en campo, estructuras olliformes con una pared mejor definida y formando en la parte superior algunos filamentos, a pesar de los tratamientos realizados no se encontraron esporas unidas o dentro de estructuras en forma de saco; con los tratamientos sí se lograron obtener estructuras bien definidas y las esporas con una coloración café-oscuro, como las esporas encontradas en campo. Sin embargo, no se lograron obtener las condiciones de campo, ya que se esperaba encontrar cuerpos fructíferos iguales a los encontrados en la muerte descendente; algunos hongos necesitan de ciertas condiciones para lograr desarrollar sus estructuras, y Ju –Ming y Rogers 1996 recomiendan realizar tratamientos con luz fluorescente durante 12h, o diferentes períodos de luz para lograr desarrollar todas las estructuras.

---

#### 5.4. Pruebas de Patogenicidad

Se realizaron 6 tratamientos obteniendo dos síntomas: una defoliación de las plántulas a los 15 días de la inoculación (Figura 5 E), acompañadas de una muerte descendente en las plantas a partir de la incisión hacia arriba (Figura 5 D) y provocando que las hojas se encontraran totalmente secas, con una apariencia similar a la muerte descendente que se presenta en campo.

Los tratamientos en los que se obtuvo plantas con síntomas fueron: la inoculación con palillos con cuerpos fructíferos obteniendo un 100% de plántulas con síntomas, y la inoculación hecha con una herida con palillo estéril asperjando esporas con un 50% de síntomas, el resto de los tratamientos no presento ninguna sintomatología.

Se realizo el reaislamiento del hongo presentando las mismas características que se presentaban en el inóculo original.

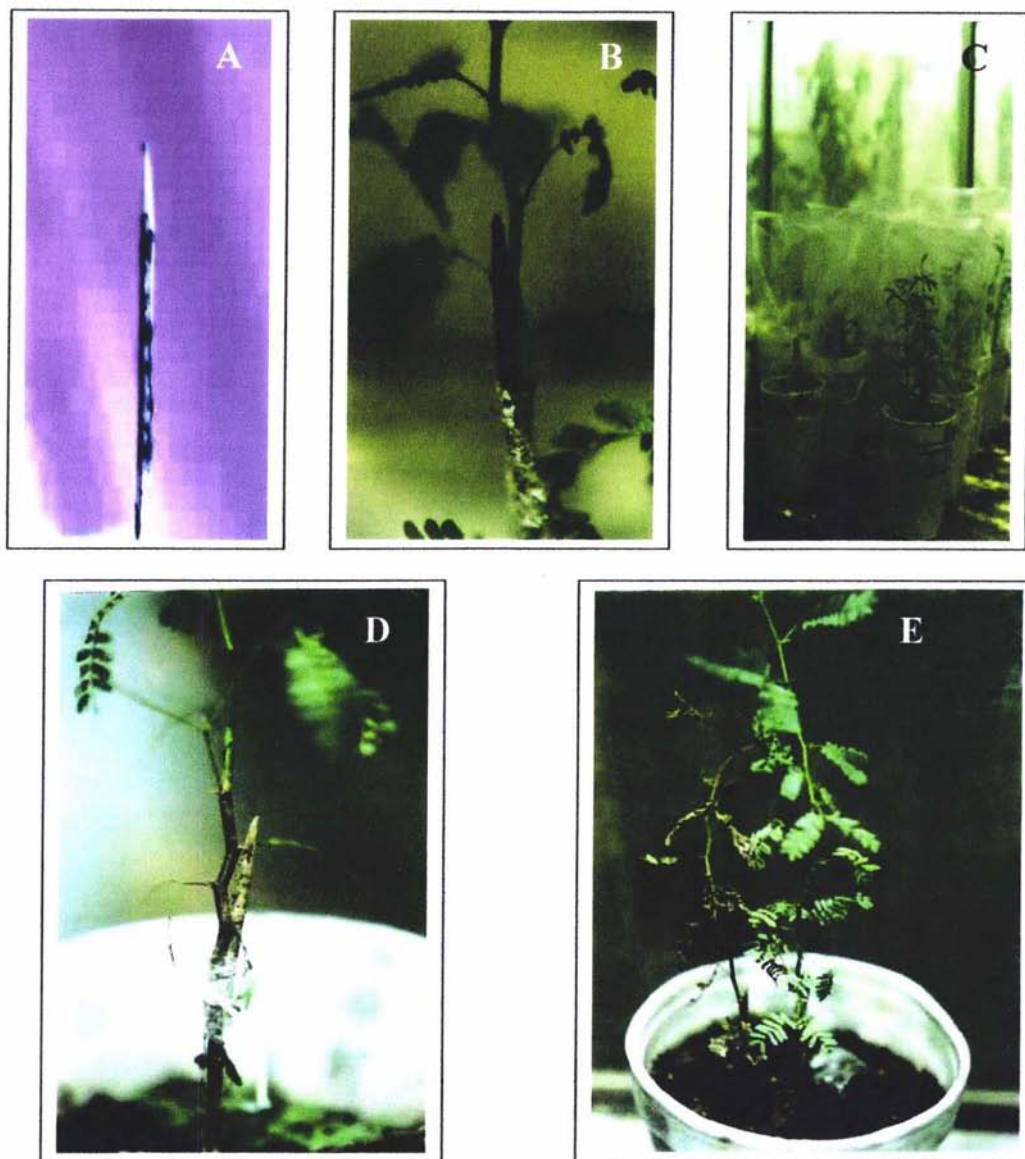


Fig. 5. Inoculación de plantas de mezquite con el hongo aislado en medio de cultivo artificial de los síntomas de resinosidad, pudrición negra y muerte descendente de *Prosopis laevigata* con diferentes tratamientos. A) Palillo obtenido del medio de cultivo con presencia de cuerpos fructíferos. B) Inoculación hecha con palillos, cubiertos con parafilm. C) Inoculación con diferentes tratamientos, cubriendo las plantas con bolsas de polietileno para conservar la humedad. D) Síntomas de muerte ascendente en pequeñas plantas de mezquite. E) Defoliación de *Prosopis laevigata* en condiciones de invernadero.

---

## 5.5. Caracterización, Identificación y Clasificación de organismos patógenos

Se determinó que los tres tipos de síntomas encontrados en diversos árboles de mezquite era el mismo tipo de patógeno, se realizó una misma caracterización e identificación del patógeno, además de describir el estado perfecto (sexual) e imperfecto (asexual) del hongo, logrando identificar éstas dos fases del ciclo de vida.

La fase perfecta del hongo, se encontró formado por estructuras redondas olliformes llamados peritecios, los cuales se encontraron en forma individual o en conjunto, unidos por un tejido café rojizo que se encuentra por debajo y entre cada uno de los peritecios (Figura 6 B). Los peritecios midieron 0.32 mm de diámetro con un valor mínimo y 0.48 mm el valor máximo; con el reactivo de KOH al 10% se presentó una coloración café-naranja 7 de la escala de Rayner's (1970). Estos peritecios poseen en la parte superior una abertura u ostiolo en los que se pueden observar pequeños filamentos o perefisis tapizando el ostiolo se observaron labios periteciales prominentes (Figuras. 7 y 9), y en la parte inferior se localizaron una capa de ascas, hialinas alargadas con una longitud total de 153.1-173.37  $\mu\text{m}$  y 10.2-12.83  $\mu\text{m}$  de ancho, además de presentar un tallo ascas de 59.08-83.36  $\mu\text{m}$  de largo (Figura 10A) ; No se observó ninguna reacción amiloide con el reactivo de yodo, en la parte apical de las ascas . En el interior de cada asca se localizan 8 ascosporas, lisas, con extremos redondeados, y con una abertura germinal en la parte ventral; Las ascosporas fueron hialinas cuando inmaduras, y en estado maduro presentaron una coloración café-obscura. (Figura 10 B) Con el reactivo de KOH al 10% se observo el desprendimiento de la epispora por lo que se clasificó como ascospora dehiscente Las ascosporas midieron (13.56-) 14.90 (-16.24)  $\mu\text{m}$  de largo x (-6.99) 8.04 (-9.08)  $\mu\text{m}$  de ancho (Fig. 11). (De la Torre *et al.*,2003)



---

La capa algodonosa observada sobre la rama de mezquite de color salmón (Figuras. 7 y 8), se identificó como la fase asexual del hongo, cuyas características fueron células conidiogénicas de 13.04-19.2µm de largo y 2.47-5.11µm de ancho, y los conidios presentes se observan hialinos y midieron 5.14-6.66 x 4.13-4.86 µm (Figura 13).

De acuerdo con las características morfológicas del estado perfecto e imperfecto del hongo aislado de *Prosopis laevigata* en Zapotitlán Salinas Puebla, se determinó que el hongo es un Ascomyceto que por el número y forma de las ascosporas, se trata de un hongo perteneciente al género *Hypoxylon*, (Hanlin, 1997; Martínez, 2002), perteneciente a la especie *H. dyatripeoides* REM (Phylum ascomycota, Orden Xylariales, Familia: Xylariaceae Genero *Hypoxylon* Sección: *Hypoxylon* Especie *Hypoxylon dyatripeoides* (Ulloa y Hanlin 2000).

Considerando los criterios de Ju y Rogers (1996), San Martín *et al.*, (1998) y Katleen Van der Gucht *et al.*, (1997), la especie se caracterizó de la siguiente manera:

Estroma pulvinado al principio y aglomerado cuando maduro, con labios periteciales conspicuos, (-1.5) 2 mm de largo x 2 mm de ancho (-3.5); superficie de color negro grisáceo. Peritecios globosos a subglobosos, aislados o en conjunto, unidos por gránulos rojizos a negruzcos dispersos inmediatamente abajo y entre los peritecios, con pigmentos de color rojo oscuro, el tejido bajo la capa peritecial conspicuo, peritecios de 0.32-0.48 mm diámetro. Ostiolos umbilicados (Figura 8). Ascas de 153.1-173.37 µm de longitud total x 10.2-12.83 µm de ancho, la parte del alineamiento de esporas de 82.37-99.96 µm; el tallo de la asca de 59.08-83.36 µm de largo (Figura 11A);



---

anillo apical ausente o muy reducido, sin almidón; ascosporas café-oscuras, unicelulares, elipsoides-inequilaterales, con extremos ligeramente redondeados, (13.56-) 14.90 (-16.24) x (-6.99) 8.04 (-9.08)  $\mu\text{m}$  (Figura 12), con la longitud de la abertura germinal alargada del lado convexo; epispora dehiscente en KOH al 10% (Figura 12). La epispora lisa.

La capa algodonosa con aspecto afelpado que se observó en campo de color café-claro a salmón es el anamorfo, con conidioforos y células conidiogénicas hialinas del tipo *Nodulosporium* 13.04-19.2 x 2.47-5.11. (Figuras 7 y 9A) Conidias hialinas, anaranjado a café claro en masa, elipsoides con un extremo truncado de 5.14-6.66 x 4.13-4.86  $\mu\text{m}$ . (Fig. 13) (Ju y Rogers (1996), San Martín *et al.*, (1999) y Katleen Van der Gucht *et al.*, (1997)

### Versión Ingles

Stromata glomerate to pulvinate, with conspicuous perithecial mounds, (-1.5) 2 mm long x 2 mm broad; surface black; blackish to reddish granules dispersed immediately beneath surface and between perithecia, with KOH-extractable pigments **orange** (7); the tissue below the perithecial layer inconspicuous to conspicuous.

Perithecia globose to subglobose, 0.32-0.48 mm diam. Ostioles umbilicate. Asci 153.1-173.37  $\mu\text{m}$  total length x 10.2-12.83  $\mu\text{m}$  broad, the spore-bearing parts 82.37-99.96  $\mu\text{m}$  long, the stipes 59.08-83.36  $\mu\text{m}$  long; apical ring absent or highly reduced, inamyloid. Ascospores dark-brown, unicellular, ellipsoid-inequilaterally with narrowly rounded ends, (13.56-) 14.90 (-16.24) x (6.99) 8.04 (-9.08)  $\mu\text{m}$ , with straight germs slit spore-length on convex side; perispore dehiscent in 10% KOH; epispore smooth.

---

Anamorph in nature with conidiospores and conidiogenous cells *Nodulisporium*-like  
13.04 -19.20 x 2.47-5.11, the conidia hyaline, green in mass, ellipsoid with one end truncate,  
5.14 -6.66 x 4.13-4.86  $\mu\text{m}$ .

El material fue depositado en el herbario de Julian. H. Miller en la Universidad de Georgia (GAM16048) con los siguientes datos SPECIMENS EXAMINED: Puebla state, Zapotitlán municipality, Río Seco, Tehuacan- Valley. Alt. 1460 m, 18 VIII 2001, De La Torre PLHsGs (*Prosopis leavigata*. *Hypoxylon* Granjas sample), on young branch and trunk from mesquite trees (*Prosopis leavigata*), induced died back in young branch and black rot in trunk with resinosis, in median subdeciduous xerophytic tropical forest (RDT, HOLOTYPE (Terrazas As);RDT, TOPOTYPE FES-IZTACALA-UNAM; RDT ISOTYPES (Granjas, Barranca).

IZT.



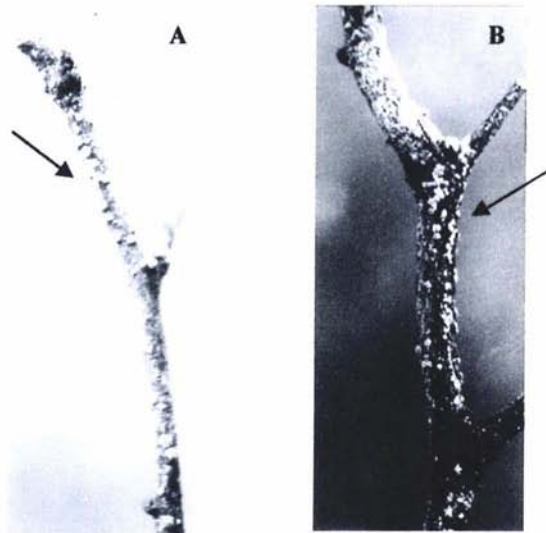


Figura 6. A) Cuerpos fructíferos de *Nodulosporium-like* de aspecto afelpado o algodonoso e B) *Hypoxylon* con cuerpos redondos en ramas de mezquite.

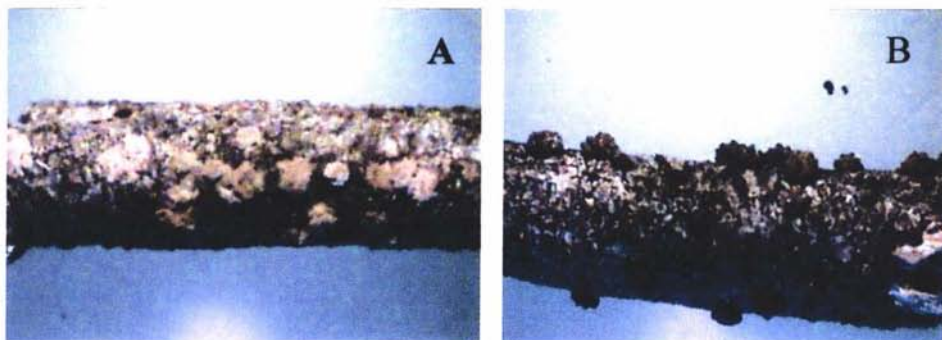


Figura 7. A) Masas costrosas de color café salmón, de conidios de *Nodulosporium-like* de *Hypoxylon diatrypeoides* y B) Peritecios oscuros de *H. diatrypeoides* sobre ramas de mezquite (*Prosopis laevigata* L.)

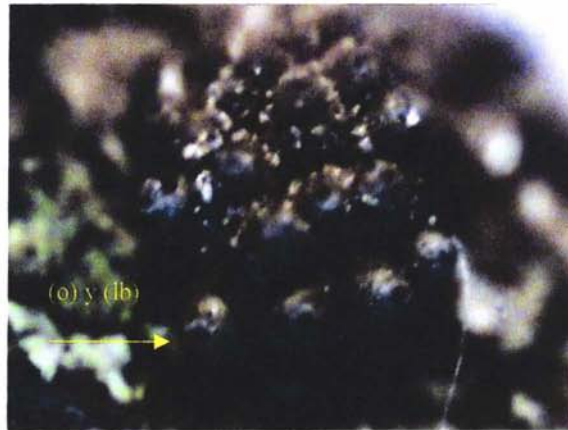


Figura 8. Peritecios agregados, olliformes, de *Hypoxylon diatripeoides* mostrando ostiolos (o) y labios peritesoides (lb) prominentes.

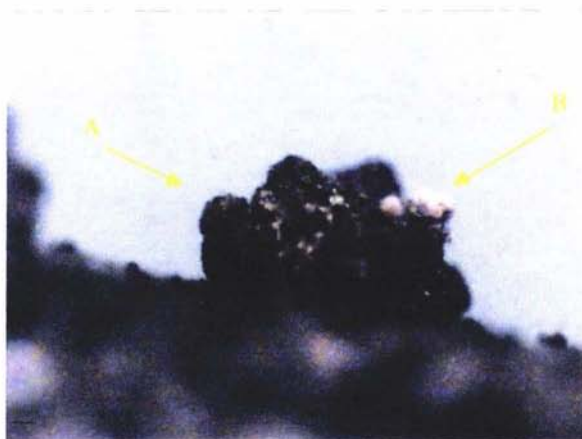


Figura 9. A) Peritecios agregados y olliformes de *H. diatripeoides* mostrando ostiolos y labios peritesoides prominentes. B) Crecimiento de *Nodulisporium* sobre los peritecios.

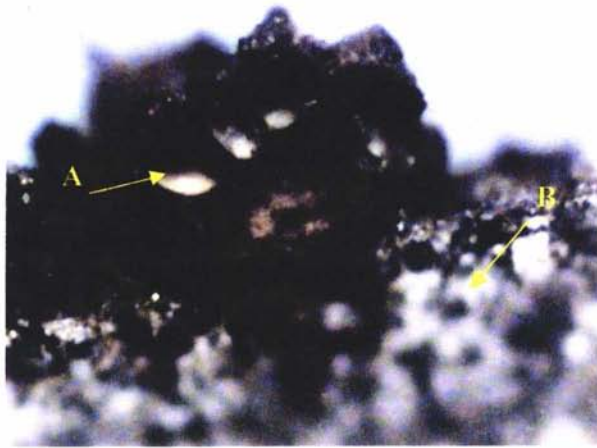


Figura 10. Corte transversal de peritecios de *H. diatrypoides*. A) Centrum tipo Xylaria. B) Sustrato. Rama de Mezquite.

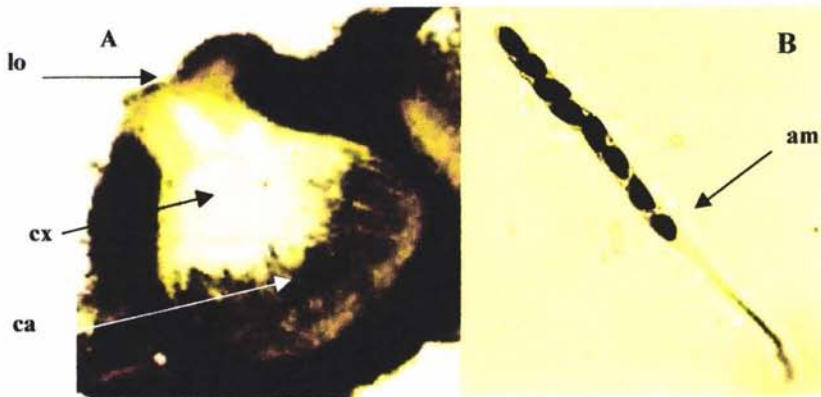


Figura 11. A) Cuerpo fructífero de *H. diatrypeoides*, Mostrando el labio ostiolar (lo) y el centrum tipo xylaria (cx), con la capa ascál (ca) en la parte inferior 10x. B) Asca con ascosporas maduras (am) 40x.

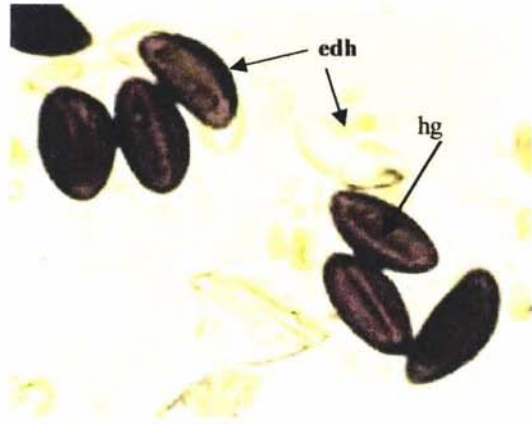


Figura 12. Ascosporas maduras de *H. diatrypeoides*. Hendidura germinativa (hg) en el lado ventral de la ascospora de *H. dyatripeoydes*. Epispora dehiscente (edh) en solución de KOH al 10%. 40x.

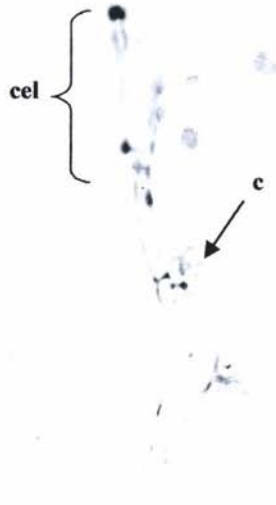


Figura 13. Fase anamorfica *Nodulosporium-like*, mostrando conidios (c), celulas conidiogenas (cel) 40x.



---

## 6.0. DISCUSIÓN

Se describieron tres síntomas para árboles de Mezquite (*Prosopis laevigata*), localizados en Zapotitlán Salinas, Puebla, se realizaron aislamientos de cada uno de los síntomas encontrando un hongo con características muy similares en los tres aislamientos realizados. Se considero la misma caracterización e identificación, y se realizaron diferentes tratamientos en medios de cultivo artificial con el objeto de obtener la fase sexual y asexual de hongo, realizando estos aislamientos con medios de cultivo que lograran las condiciones apropiadas para el desarrollo del hongo.

El tratamiento que fue considerado como el más efectivo fue el EMA, estos resultados probablemente sea porque el EMA es considerado como un medio que favorece el crecimiento de hongos degradadores de madera y además por los componentes como la malta combinados con la celulosa que proporcionan los palillos se obtuvo una buena fuente para esta especie de hongo.

No obstante los medios de cultivo no presentaron una diferencia significativa, aunque cada uno de ellos presenta diferentes características y el EMA fue el medio en el que se observaron los cuerpos fructíferos mejor desarrollados. Las diferencias estadísticamente significativas que si se presentaron fueron los tratamientos hechos con y sin palillos, presentando la mayor cantidad de cuerpos fructíferos los 3 tratamientos con palillos.

La germinación de las semillas se hizo de una forma muy sencilla ya que no se aplicó ningún tratamiento y se obtuvo un gran porcentaje de germinación 99%, aunque Juárez *et al.*, (2001) menciona que el mezquite es una planta que presenta un porcentaje muy bajo de

---

germinación en condiciones de invernadero en la escarificación, y obtiene un 66% de germinación de las semillas con diversos tratamientos.

En las pruebas de patogenicidad, se obtuvieron síntomas en plántulas de mezquite solamente en los tratamientos en los que existía herida y la presencia del hongo, lo cual nos puede indicar que el comportamiento de esta especie en la región de Zapotitlan Salinas y el tipo de infección es a través de heridas siendo causadas probablemente por factores físicos como: clima, temperatura, viento, etc., Sarasola y Rocca (1975), mencionan que la variación de temperatura, es un factor importante para la aparición de ciertos patógenos; ya que el sol en ocasiones causa el desgaje y desprendimiento de la corteza y ramas logrando así penetrar estructuras fungosas como micelio y esporas en el tejido de la planta, provocando diferentes tipos de síntomas.

La especie fue identificada como *Hypoxyylon diatrypeoides*, que se aisló de las ramas y del tronco de *Prosopis laevigata*, lo cual coincide con lo mencionados por San Martín (1999), que menciona a las especies del género *Hypoxyylon* como hongos saprofitos o patógenos débiles, pertenecientes a la familia Xylariaceae, que viven como endofitos en los tejidos internos de las plantas leñosas, sin embargo también menciona que los miembros de este género se encuentran principalmente en lugares templados, algo que no coincide con la zona de estudio y las condiciones climáticas en las que se encuentra *Prosopis laevigata*, debido a que el valle de Zapotitlán Salinas presenta un clima semiárido, y la vegetación es matorral xerófilo, a pesar de ello, existen condiciones de humedad en algunas zonas en las que se presenta con mayor frecuencia estos síntomas. No obstante estas condiciones de humedad no son las mismas que se presentan en un lugar templado, en donde la mayoría de las especies del género de *Hypoxyylon* se han encontrado.

---

En cuanto a las especies de *Hypoxyylon* reportadas para México por Mendel y Chacón (1997), Guzmán y Mendel (1999), San Martín (1999 a y b), no se encontró ningún registro de *Hypoxyylon diatrypeoides* y además la mayoría de los registros de hospederos para otras especies pertenecientes al género, se encuentran localizados en bosques templados y de pino-encino, siendo este registro el primero que se hace en México y en un lugar con las características de Zapotitlán Salinas.

Los resultados encontrados nos indicaron que los síntomas de muerte descendente, resinosis y pudrición negra se encuentran asociados a un hongo cuya especie fue *Hypoxyylon diatrypeoides*, debido a que en los aislamientos realizados se encontraron las mismas características, por lo que probablemente sea una enfermedad que va avanzando poco a poco hasta llegar al duramen de la planta provocando diferentes síntomas como pudrición seca, llegando en ocasiones a secar algunos mezquites, además de encontrar o aislar cuerpos fructíferos que se encontraron en el tejido de los síntomas de resinosis, y pudrición negra; a su vez el síntoma más notorio asociado a este hongo es la muerte descendente ya que se encontraron las estructuras en la superficie de las ramas afectadas, logrando además obtener todo su ciclo de vida en medio de cultivo artificial.

Las características y el tamaño de las ascas, ascosporas, cuerpo fructífero, etc. coinciden con las reportadas por Ju-Ming and Rogers (1996) aunque en su descripción no reporta a ningún teleomorfo, no obstante en este trabajo se logró aislar e identificar como *Nodulosporium-like*, y también se describen las características de *Hypoxyylon diatrypeoides* en 3 medios de cultivo, siendo la descripción de la colonia en medio artificial importante para la identificación de la especie.

---

## 7. CONCLUSIONES

Se aisló un mismo tipo de patógeno de los tres síntomas descritos como Pudrición Negra , Resinosis y Muerte descendente, cada uno de ellos presentó características similares en diferentes aislamientos, se obtuvieron las fases anamorificas (asexual ) y teleomorficas (sexual), de un hongo cuya fase sexual es *Hypoxylon diatrypeoides* y la fase asexual fue identificada como *Nodulosporium-like*,

Se realizaron aislamientos en medios de cultivo artificial, logrando obtener la fase sexual, y cuerpos fructíferos para realizar las pruebas de patogenicidad. : logrando obtener de éstas pruebas, dos síntomas: muerte descendente y defoliación de plántulas. A pesar de ello, sólo se obtuvieron síntomas en aquellos tratamientos en los que existió presencia de cuerpos fructíferos y alguna herida en la plántula, confirmando así los postulados de Koch.

Esta especie ha sido reportada anteriormente en el Hemisferio Sur (Brasil y Nueva Zelanda), siendo este reporte el primero en México y en el Hemisferio norte.

---

## 8.- LITERATURA CITADA

- Álvarez A.M.G. y Montaña C. (1997). Germinación y supervivencia de cinco especies de cactáceas del valle de Tehuacan, implicaciones para su conservación. *Acta botánica Mexicana*. 40: 43-58.
- Buckart G.1976. A monograph of the genus *Prosopis* (LEGUMINOSAE, MIMOSIDAE) en Norteamérica. *Acta Mexicana* 3: 7-19.
- Barnett, H. L., Hunter, B. B.1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Cuarta edición. Burgess Publishing Company. U. S. A. 218pp
- Cantú A.C.M.1990. Fenología de la floración y fructificación del mezquite *Prosopis laevigata* . En Nuevo León y el efecto de las cabras sobre la dispersión de sus semillas. *Reporte Científico* 18: 42-45.
- Castro Z.R.,Arteaga R.R., Peña V.M.A., Coras M.P. 2000. El Mezquite (*Prosopis spp*) en México una planta en vías de extinción. *Agricultura, Ciencia y Técnica*.
- Dávila, A.P., Villaseñor, R.J.L., Medina, L.R., Ramírez, R.A., Salinas, T.A., Sánchez, K.J., y Tenorio, L.P. 1993. Listado Florístico de México. X. Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán. Edit: Departamento de Botánica. *Instituto de Biología*. UNAM.
- Da Silva Romeiro, R. 1982. Identificación de bacterias Fitopatógenas. Edit: Universidad Autónoma Chapingo. Depto. Parasitología Agrícola.
- De la Torre A.R., Cota T.F., San Marín F. 2003. First Report of *Hypoxyton diatrypeoides* inducing Dieback and Black Trunk Rot on Mesquite (*Prosopis laevigata* ) in México. *Plant Disease* 87 (4):447.
- Echandi, E.1971. Manual de Laboratorio para Fitopatología General. Edit: Herrero Hermanos, Suc., México.
- French R. E., Teddy T.H. 1982. Métodos de Investigación fitopatológica .1ª ed. Instituto Interamericano de cooperación para la Agricultura. San José Costa Rica. P. 148.
- Gómez L. F. (1970). Mezquites y huizaches, algunos aspectos de la economía, ecología y taxonomía de los generos *Prosopis* y *Acacia* en México. IMERNAR. México D.F. 192p.
- Guzmán G., Medel R. 1999. especies de Macromicetos citadas de México IX Ascomycetes parte III. *Acta botánica Mexicana*.46: 57-72.
- Guzmán, G. 1979. Identificación de los hongos fitopatógenos. Departamento de enseñanza e investigación en parasitología agrícola. UACH. Chapingo, México.105, 112-115. 121-122 pags.



---

Granados S.D. 1996. El Mezquite: El árbol del desierto. *Ciencias Forestales*. 1: 37-51.

Hanlin, T.R. 1997. Illustrated Genera of Ascomycetes. Vol: I. The American Phytopathological Society. USA 263pp

Hanlin, T.R. 1998. Illustrated Genera of Ascomycetes. Vol: II. The American Phytopathological Society. USA. 263pp

<http://www.nt.ars-in.gov/>

<http://semarnap.gob.mx/ssin/pronare/gaceta/ficha3.htm>

<http://www.sp.mesquite.com>.

Hernández R.A. 1992. El Mezquite. Vinculación 4 : 23-26.

Hass R.A., Dodd J.D. 1972. Water Stress Paterns in honey Mezquite. *Ecology*. 53:674-680.

Juárez A. J. R., Alvarado R., Valdez Cepeda R.D. 2001 Escarificación de Semillas de Mezquite (*Prosopis laevigata*) para aumentar la eficiencia en la germinación. Universidad Autónoma de Zacatecas. México.

Ju, Y.-M. and J.D. Rogers. 1996. A revision of the genus *Hypoxyton*. Mycologia Memoir No 20. American Phytopathological Society of America, St. Paul, Minnesota. 365 pp.

Katleen Van der Gucht., Ju M.Y., Rogers D.J. 1997. New *Hypoxyton* species from Papaua New Guinea and notes on some of the taxa. *Mycologia* 89 (3): 503-511.

López, A.G. 1981. Manejo de hongos fitopatógenos. Departamento de enseñanza investigación en parasitología agrícola. UACH. México. 135pp

Martínez D.C. 2000. hongos asociados a enfermedades de las plantas silvestres dominantes en la región de Zapotitlán de las salinas Puebla. Tesis Licenciatura. FES-Iztacala. UNAM. México. 66pp

Mengistu A.,Curt B.H., Williams P.H. 1996. A toothpick Method for Mating *Leptosphaeria maculans*, the causal Agent of Blackleg of Crucifers. *Plant Disease*. 79:755-756.

Mendel R.I., Chacón S. 1997. Ascomycetes poco conocidos de México. VII, algunas especies del bosque mesofilo de Veracruz. *Acta Botánica Mexicana* 39: 43-52.

Rayner,R.W. 1970. A mycological colour chart. Commonwealth Mycological Institute. Kew and British Mycological Society. 34p+ charts I & II.



- 
- Romero, C. S. 1993. Hongos fitopatógenos. UACH. México.345pp
- Rzendowski, J. 1988. Análisis de la distribución geográfica del complejo *Prosopis* (Leguminosae, Mimosidae) en Norteamérica. *Acta Botánica Mexicana* 3: 7-19
- San Martín F., Rogers J.D., Yu-Min Ju. 1998. Clave dicotómica provisional para los generos de la familia Xylariaceae (PYRENOMYCETES,SPHAERIALES) de México. *Acta Botánica Mexicana* 42: 35-41.
- San Martín F., Rogers J.D., Yu-Min Ju. 1999. Algunas Especies de Hypoxylon (PYRENOMYCETES, XYLARIACEAE) de México. *Acta Botánica Mexicana* 47: 31-57.
- San Martín, F. and Lavin, P. 1999. Two new species of *Hypoxylon* from Mexico. *Mycotaxon* 72: 159-162.
- Simpson B.B. 1977. Mezquite its biology in two desert shrub ecosystems. Ed Dowden Hutchinson and Ross Inc. E.U.A.
- Sarasola A. A., Rocca S.M. 1975. Fitopatología. Tomo IV. 1ª ed. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.
- Stakman E. C. 1977. Patología vegetal 3a ed. Editorial Universal. Buenos aires Argentina p.p. 14-17.
- Ulloa, M. y Hanlin, R.T. 1978. Atlas de Micología básica. Editorial. Concepto. México.158pp
- Ulloa, M. y Hanlin, T.R. 2000. Illustrated Dictionary of Mycology. The American Phytopathological Society. U. S. A.158pp