



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN**

**HONGOS ASOCIADOS A *Typha domingensis* Pers. TULE EN CANALES DE
RIEGO EN TRES REGIONES DE MEXICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO AGRÍCOLA

PRESENTA

MANUEL SILVA VALENZUELA

ASESOR

BIOL. MARCOS ESPADAS RESÉNDIZ

COASESOR

M.C. GLORIA DE LOS ANGELES ZITA PADILLA



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.

Objetivos

1. Colectar hojas *Typha domingensis* Pers con síntomas necróticos foliares.
2. Aislar e identificar los hongos asociados a necrosis foliares en *Typha domingensis* Pers.
3. Generar y conservar un cepario de hongos asociados a *Typha domingensis* Pers. para futuras investigaciones.

Hipótesis

Si se colectan síntomas necróticos foliares en *Typha domingensis* Pers., entonces obtendremos hongos asociados a estos síntomas.

1. Introducción

Los patógenos han ocasionado serias crisis alimentarias en el mundo, pero se ha observado que algunos pueden ser utilizados en beneficio de las actividades humanas y una de ellas es la agricultura.

Desde hace 40 años muchos investigadores han estado evaluando una nueva alternativa para debilitar los efectos que ocasionan las malezas llamado “control biológico” el método se desarrolla mediante una estricta evaluación del enemigo natural sobre la maleza objetivo, compuesta de las siguientes actividades: aislamiento e identificación de los enemigos naturales, pruebas de especificidad y patogenicidad y evaluaciones en lotes experimentales para la aplicación en campo.

Los agentes más utilizados son: insectos, hongos y peces aunque también se aplican bacterias y virus. Se considera que todas las plantas son susceptibles al ataque de por lo menos un hongo, teniendo entre estos a un potencial agente de control biológico pero es necesario llevar a cabo las pruebas pertinentes que permitan establecerlo como tal (Charudattan, 1991, Julien y Griffiths, 1998).

El Tule es una maleza acuática persistente y de difícil control que afecta principalmente drenes y canales de riego.

El presente trabajo tiene como finalidad aislar e identificar a los hongos asociados al Tule en Xochimilco, D.F., Culiacán, Sin. Y Cuautitlán, Edo. Mex. Y contar con material biológico para así saber si se aisló un agente de control biológico para esta maleza.

Índice

Objetivos	2
Hipótesis	2
Introducción	3
Capitulo 1. Revisión Bibliográfica	6
1.1. El control biológico de maleza a nivel mundial	6
1.2. Tipos de control biológico	7
1.2.1. Control Clásico	7
1.2.2. Control Biológico Aumentativo	7
1.3. Antecedentes del Control Biológico Aumentativo a nivel mundial	7
1.4. Avances del Control Biológico Aumentativo en América	9
1.5. Situación Actual de las Malezas Acuáticas	14
1.6. <i>Typha domingensis</i> Pers	15
Capitulo 2. Materiales y Métodos	19
2.1. Colecta	19
2.2. Caracterización de Síntomas y Signos	20
2.3. Medios de cultivo	21
2.3.1. PDA (papa dextrosa agar)	21
2.3.2. V ₈ A (jugo ocho verduras agar)	21
2.3.3. AA (Agar agua)	22
2.3.4. Antibióticos	22
2.4. Aislamiento	23
2.4.1. Aislamiento directo	23
2.4.2. Camara húmeda	24
2.4.3. Partes vegetales en medio de cultivo	24
2.5. Limpieza y revisión de aislamiento de Hongos Fitopatógenos	25
2.6. Cepa pura	26
2.7. Identificación	26
2.7.1. Preparaciones temporales	27
2.7.2. Microcultivo	28
2.8. Medidas de estructuras de Agentes Fitopatógenos con Microscopio	29
2.9. Viales de conservación	30
2.9.1. Ceparío	31

Capitulo 3. Resultados	32
3.1.1. <i>Alternaria alternata</i>	33
3.1.2. <i>Mucor</i> sp.	38
3.1.3 <i>Peyronellaea glomerata</i>	42
3.2.1 <i>Alternaria alternata</i>	46
3.2.2. <i>Aspergillus niger</i>	51
3.2.3. <i>Penicillium expansum</i>	56
3.2.4. <i>Curvularia verruculosa</i>	61
3.2.5. <i>Alternaria alternata</i>	67
3.3.1. <i>Alternaria alternata</i>	70
3.3.2. <i>Aureobasidium</i> sp.	75
3.3.3. <i>Cladosporium</i> sp.	79
3.3.4. <i>Colletotrichum</i> sp	84
3.3.5. <i>Epicocum</i> sp.	89
Capitulo 4. Discusión	93
Capitulo 5. Conclusiones	96
Capitulo 6. Bibliografía	97
Capitulo 7. Anexos	104
Anexo 1. Colecta	104
Anexo 2. Formato de colecta de plantas arvenses enfermas	107
Anexo 3. Formato fase de laboratorio	108
Anexo 4. Antibiótico	109
Anexo 5. Microcultivo	110
Anexo 6. Calibración de los lentes objetivos	113

Capítulo 1. Revisión bibliográfica

1.1. El control biológico de malezas acuáticas a nivel mundial

Las malezas acuáticas representan un gran reto en la economía global ya que su presencia representa la necesidad de implementar una campaña para mitigar los efectos que ocasionan (Zita, 2007).

Las malezas acuáticas provocan muchos daños a las actividades humanas, cuando son especies exóticas introducidas porque: favorecen los procesos de eutroficación de los cuerpos de agua, albergan insectos vectores de enfermedades como el dengue, interrumpen en procesos industriales como la generación de energía eléctrica (Charudattan, 2001). El control mecánico es el más utilizado pero en algunos casos es incosteable, el control químico es muy delicado utilizarlo porque aplicar químicos al agua podría ocasionar problemas de salud en la población (Bojórquez, 1999).

Como una alternativa más para controlar malezas acuáticas tenemos al control biológico, desde los años 70 hasta la actualidad se ha investigado y aplicado diferentes agentes de control arrojando resultados positivos en cada evaluación, pero ¿Qué es el control biológico?, ¿a que se llama control biológico? Y que avances tenemos a nivel mundial, nacional y regional.

Control Biológico: Por definición es la manipulación de los enemigos naturales, está basada en la conservación o aumento de enemigos naturales existentes o introducidos, para incrementar su impacto sobre el organismo a controlar. (Baker y Cook, 1974).

El control biológico es una alternativa real y eficaz para mitigar los efectos de las malezas sobre los cuerpos de agua, la presencia de un agente de control es sinónimo de control sobre la maleza objetivo. (Chutia *et al*, 2007)

Debemos tener en cuenta que diseñar programas de control biológico debe ser precedido por investigaciones que demuestren no solo su efectividad sino que

también su especificidad para evitar una epifita en el lugar determinado (Ash, 2010).

Actualmente existen organizaciones que han diseñado las metodologías necesarias para evaluarlas un ejemplo son las propuestas por la Environmental Protection Agency (EPA) en EUA. Respaldadas y complementadas por la Unión Europea (UE) así como por otras naciones interesadas en el tema. (Chutia et al., 2007)

1.2. Tipos de control biológico

1.2.1. Control Clásico

“El control biológico clásico es la regulación de la población de una plaga mediante enemigos naturales exóticos (parásitos, depredadores y/o patógenos) que son importados con este fin. Usualmente, la plaga clave es una especie exótica que ha alcanzado una alta densidad poblacional en el nuevo ambiente, debido a condiciones más favorables que en su lugar de origen. Por lo tanto, la introducción de un enemigo natural específico, auto reproductivo, dependiente de la densidad, con alta capacidad de búsqueda y adaptado a la plaga exótica introducida, usualmente resulta en un control permanente” (Cock, 1996).

1.2.2. Control Biológico Aumentativo

“Esta estrategia requiere la propagación masiva y la liberación periódica de enemigos naturales, exóticos o nativos, que puedan multiplicarse durante la estación de crecimiento de la plaga a controlar pero que no se espera que se conviertan en una parte permanente del ecosistema” (Cock, 1996).

1.3. Antecedentes del Control Biológico Aumentativo a nivel mundial

Durante los últimos 30 años se han aplicado en diferentes malezas objetivo a cabo por necrotrofos; pero ¿que puntos se deben tener para poder implementar un programa de control biológico? (Charudattan, 2001).

Se han identificado varios puntos críticos para poder implantar un programa de control biológico aumentativo tales como: 1. Conocer la biología y ecología de la

maleza objetivo, 2. Colectar, aislar e identificar a los enemigos naturales de la maleza objetivo, 3. Realizar pruebas de patogenicidad, seguridad y especificidad de los patógenos aislados. 4. Conocer las leyes que reglamenten la manipulación de dichos organismos, 5. Contar con la suficiente infraestructura y financiamiento para la investigación, 6. Desarrollar las metodologías necesarias que permitan colectar, aislar, identificar y evaluar un bioherbicida para aplicaciones en campo. (Charudattan, 2001., Chaboudez y Sheppard, 1995).

Lo que se recomienda en el control biológico es conjuntar un equipo multidisciplinario para realizar campañas que permitan un control rotativo permanente que tendría un gran éxito (Charudattan, 2001).

Europa es uno de los ejemplos representativos en planificación, desarrollo y aplicación de campañas para controlar malezas, el interés por ocupar el control biológico aumentativo es alto ya que ven en él un gran potencial, de 1994 a 1999 se crea el programa concentrado de investigación Europea (COST-8169 integrado por 16 naciones, 25 universidades mas a la iniciativa privada.

Primero se recabo el presupuesto necesario para llevar a cabo los trabajos, después propusieron a las malezas con mayor propagación por el continente y de difícil control, una vez identificadas las malezas a controlar se dividieron en grupos de trabajo. Las malezas fueron *Chenopodium album*, *Senecio vulgaris*, *Convolvulos arvensis*, *Amaranthus sp.* Y *Orobanche sp.* Los resultados obtenidos fueron significativos ya que aislaron diferentes géneros de hongos con gran potencial para evaluarse como agentes de control y posibles micoherbicidas (ver tabla 1.) en donde destaca *Alternaria* y *Ascochyta* (Muéller *et al.*, 1999).

Tabla 1. Resultados del programa COST-816

Maleza	Patógeno aislado	Efectividad	Grado de avance	Referencia
<i>Chenopodium álbum</i>	<i>Ascochyta</i> + caulina	Excelente ya que al combinarse con químicos tiene un control del 80%	Identificación del patógeno. Aislamiento de Fitotoxinas del patógeno identificadas. Aplicación en campo	Citado por: Scheepens et al., 1997. Kempenaar, 1995. Evidenteet al., 1998.
Senecio vulgaris	<i>Puccinia lagenophorae</i> . Cooke	Mantiene un control específico, se mantiene el inoculo	Identificación del patógeno. Aplicación en campo.	Citado por: Paul et al., 1993. (Frantzen & Muéller-Schaerer, 1999)
<i>Convólulos arvensis</i>	<i>Stagonospora convolvuli</i>	Control en el campo de un 60-80%	Identificación del patógeno. Aislamiento de Fitotoxinas del patógeno. Aplicación en campo.	Citado por: Prter y Defago, 1998. Prter et al, 1997.; Guntli et al., 1999
<i>Amaranthus sp.</i>	<i>Alternaria</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phomopsis sp.</i> <i>Trematophoma</i>	No comprobada solo alternaria con potencial para controlar.	Aislamiento y identificación de patógenos en síntomas	Citado por: Bue RKL et al., 1997. Lawrie et al. 1999.
Orobanche spp	<i>Fusarium sp.</i>	No comprobada.	Aislamiento e identificación del patógeno y De Fitotoxinas	Citado por: Gressel J et al., sin publicar. Obs

Fuente: Muéller *et al.*, 1999

1.4. Avances del control biológico aumentativo en América

El control biológico aumentativo de malezas no ha quedado atrás en América ya que se reportan varios trabajos con malezas terrestres y acuáticas con diferentes agentes de control (bacterias hongos, virus) EUA encabeza importantes avances porque han generado micoherbicidas listos para aplicar principalmente en malezas terrestres. Los trabajos mas representativos han sido elaborados por el Dr. Charudattan en la Universidad de Florida, para el año 2000 se desarrolla una evaluación de los avances en control aumentativo en donde se muestra el grado de avance de varios trabajos así como las perspectivas que se esperan de ellos. (Ver tabla 2.) El diagnostico proporciona el grado de efectividad que tiene el patógeno con la maleza objetivo. (Charudattan, 2005)

Tabla 2. Avances del control biológico aumentativo

Agentes de control biológico aumentativo: agentes con potencial para el desarrollo de micoherbicidas				
<i>Abutilon theophrasti</i>	<i>Colletotrichum coccodes</i>	Varios cultivos	Canada	DiTommaso et al., 1996
<i>Alternanthera philoxeroides</i>	<i>Nimbya alternantherae</i>	Cuerpos de agua	Brasil-USA	Barreto et al., in press
<i>Amaranthus sp.</i>	<i>Phomopsis amaranthicola</i> <i>Alternaria alternata</i>	Hortalizas	USA	Roskopf, 1998
<i>Avena fatua</i>	<i>Drechslera avenacea</i>	Varios cultivos	Australia-Italia	Vutro et al., 1999
<i>Calystegia sepium</i>	<i>Stagonospora convolvuli</i>	Varios cultivos	Europa	Guntli et al., 1999
<i>Cirsium arvense</i>	<i>Pseudomonas syringae pv. Tagetis</i> <i>Phoma cirsii</i>	Varios cultivos	USA	Leth y Andreasen, 1999
<i>Chenopodium álbum</i>	<i>Ascochyta caulina</i>	Varios cultivos	Holanda	Scheepens et al., 1997
<i>Convólvulos arvensis</i>	<i>Stagonospora convolvuli</i>	Varios cultivos	Europa	Pfirter et al., 1997
<i>Cuscuta sp.</i>	<i>Alternaria destruens</i>	Campos de fresa	USA	T. A. Bewick, Univ. Massachusetts, personal communications
<i>Cyperus rotundus</i>	<i>Dactylaria higginsii</i> (<i>pyricularia higginsii</i>) <i>Cercospora caricis</i>	varios cultivos	USA Israel	Kadir y Charudattan, 2000. Dinoor et al. 1999. Ribeiro et al., 1999.
<i>Cytisus scoparius</i>	<i>Fusarium tumidum</i>	Plantaciones de arboles	Nueva zelanda	Fröhlich et al., 1999 ^a
<i>Echinochloa crus-galli</i>	<i>Exserohilum fusiforme</i> ; <i>E. monoceras</i>	Varios cultivos	Vietnam-Australia	Van Tuat et al., 1998
<i>Echinochloa sp.</i>	<i>Colletotrichum graminicola</i>		Canada y corea del sur	Watson, 1997; Yang et al., 2000
<i>Egeria densa</i> ; <i>E. najas</i>	<i>Fusarium sp.</i>	Hidroeléctricas	Brasil	Nachtigal and Pitelli, 1999
<i>Eichhornia crassipes</i>	<i>Cercospora piaropi</i> <i>Alternaria eichhorniae</i>	Lagos y canales de riego	USA Egipto	Vincent and Charudattan, 1999
<i>Erythroxylum coca</i>	<i>F. oxysporum f.sp. erythroxyli</i>	Plantaciones de coca	Regiones productoras	Hebbar et al., 1999. Sands et

			de coca	al., 1997
<i>Euphorbia heterophylla</i>	<i>Bipolaris euphorbiae</i>	Varios cultivos	Brasil	R.A. Pitelli,
<i>Galinsoga ciliata</i> <i>G. parviflora</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Varios cultivos	Rusia	Gasich and Titova, 1998
<i>Hakea sericea</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Plantaciones de arboles	Sudáfrica	Morris et al., 1999
<i>Hedychium gardnerianum</i>	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Bosques de Hawái	USA	Anderson and Gardner, 1999
<i>Imperata cylindrica</i>	<i>Colletotrichum caudatum</i> <i>Drechslera gigantea</i> <i>Bipolaris sacchari</i>	Varios cultivos	Malasia USA	Caunter and Lee, 1996 Yandoc et al., 1999
<i>Orobanche spp</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	En campos de cereales	Sudan Alemania	Kroschel et al., 1999
<i>Rottboellia chochinensis</i>	<i>Sporisorium ophiurj</i> <i>Colletotrichum graminicola</i>	En campos de cereales	Tailandia y ucrania	Reeder et al., 1996
<i>Sagittaria spp</i>	<i>Rhynchosporium alismatis</i>	Arroz	Australia	Cothier et al., 1999
<i>Senna obtusifolia</i>	<i>Alternaria cassiae</i>	Campos de soya	Brasil	Pitelli,
<i>Sesbania exaltata</i>	<i>Colletotrichum truncatum</i>	Campos de soya y arroz	USA	Boyette et al., 1999
<i>Solanum viarum</i>	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Cítricos	USA	DeValerio et al., 2000.
<i>Sphenoclea zeylanica</i>	<i>Alternaria sp</i> <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Campos de arroz	Filipinas Malasia	Masangkay et al., 1996 Caunter and Lee, 1996
<i>Striga hermonthica</i>	<i>Fusarium nygamai</i> <i>Fusarium oxysporum</i> <i>Fusarium semitectum var. majus</i>	Varios cultivos	Alemania, Canada, Africa	Kroschel et al., 1999. Ciotola et al., 1995
<i>Taraxacum officinale</i>	<i>Fungal isolate MAC 1</i>	Jardines	Canada	Schnick et al., 1998
<i>Trianthema portulacastrum</i>	<i>Gibbago trianthemae</i>	Varios cultivos	India	Aneja et al., 1999
<i>Ulex europaeus</i>	<i>Fusarium tumidum</i>	varios cultivos	Nueva zelanda	Fröhlich et al., 1999
Varias Malezas anuales	<i>Myrothecium verrucaria</i>	Varios cultivos	USA	Maryland Walker and Tilley, 1997

Varias malezas	<i>Drechslera gigantean</i>	Cítricos	USA	Chandramohan, 1999
<i>Pueraria lobata</i>	<i>Myrothecium verrucaria</i> <i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>Phaseolicola</i>	Bordes de carreteras	USA	C.D. Boyette, USDA-ARS, Stoneville, MS Zidack and Backman, 1996
Varios árboles de hoja ancha	<i>Chondrostereum purpureum</i>	Zonas agroforestales	Canada	Harper et al., 1999
Varias malezas de la familia Asterácea	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tagetis</i>	Varios cultivos	USA Canada	Johnson et al., 1996
<i>Xanthium</i> spp	<i>Alternaria zinniae</i> <i>Colletotrichum orbiculare</i>	Varios cultivos	USA Australia	USA Auld et al., 1992; Abbas, 1998
Agentes del control aumentativo: para el desarrollo sistemas de control				
<i>Amaranthus retroflexus</i>	<i>Albugo amaranthi</i>	Varios cultivos	Europa	Jüttersonke, 1998
<i>Cyperus esculentus</i> <i>C. rotundus</i>	<i>Puccinia canaliculata</i> <i>Puccinia romagnoliana</i>	Varios cultivos	USA Israel	Phatak et al., 1987 Bedi and Grewal, 1999
<i>Senecio vulgaris</i>	<i>Puccinia lagenophorae</i>	Varios cultivos	Europa	Müller-Schärer and Frantzen, 1996
<i>Sorghum halepense</i>	<i>Sporisorium cruentum</i> (<i>Sphacelotheca holci</i> ; <i>S. cruenta</i>)	Varios cultivos	USA	Massion and Lindow, 1986
<i>Rosa multiflora</i>	<i>Rose rosette disease</i>	Granjas	USA	Epstein et al., 1997
<i>Rottboellia chochinensis</i>	<i>Sporisorium ophiuri</i>	Cultivos de cereales	Ucrania	Reeder et al., 1996
Agentes para los sistemas integrados en control de malezas con patógenos o microbios asociados de plantas e insectos				
<i>Eichhornia crassipes</i>	<i>Acremonium zonatum</i> <i>Alternaria</i> <i>eichhorniae</i> ; <i>Cercospora piaropi</i> <i>Neochetina bruchi</i> ; <i>N. eichhorniae</i> other insects	Lagos canales de riego y presas	Egipto Sudáfrica USA	Den Breejen, 1999 Vincent and. Charudattan, 1999; Shabana et al., 1999
<i>Euphorbia esula</i>	<i>Fusarium</i> spp.; <i>Rhizoctonia</i> spp <i>Aphthona</i> spp.; other insects	En campo	USA	Caesar, 1999
Varias malezas	<i>Rhizobacteria</i> as weed-suppressive	Varios sitios	USA	Kremer and Kennedy, 1996 Boyetchko et al., 1999

Fuente: Charudattan 2001

Se estima que a nivel mundial hay más trabajos dado que los aquí presentes fueron recabados en congresos internacionales del tema; no representa el total de las investigaciones realizadas (Charudattan, 2001, Julien y Griffiths, 1998).

Se observa el gran potencial que tiene el control acumulativo con la gran diversidad de patógenos a probar, cabe mencionar que en la actualidad se tiene registrados y a la venta micoherbicidas (ver tabla 3.) pero se espera la incorporación de más productos. Así como el aislamiento de más enemigos naturales de diferentes malezas. (Charudattan, 2005 y TeBeest, 1985).

Tabla 3. Agentes de control biológico aumentativo (Bioherbicida): Registrados o comercialmente disponibles

Patógeno	Maleza	Nombre del producto
<i>Alternaria destruens</i> E. G., Simmons	<i>Cuscuta</i> sp.	Smolder
<i>Chondrostereum purpureum</i> (Pers.:Fr.) Pouzar	Arboles de hoja ancha	Chontrol MycoTech BioChon
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Malva pusilla</i> Sm.	BioMal
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.) Penz. Y Sacc. In Penz. F.sp. <i>aeschynomene</i>	<i>Aeschynomene virginica</i> (L.) B.S.P.	Collego
<i>Cylindrobasidium laeve</i> (Pers.:Fr.) Chamuris	<i>Acacia</i> sp.	Stumpout
<i>Phytophthora palmivora</i> (E.J. Butler) E.J. Butler	<i>Morrenia odorata</i> (Hook y Arn.) Lindl	DeVine
<i>Puccinia canaliculata</i> (Schwein) Legerh.	<i>Cyperus esculentus</i> L.	Dr. BioSedge
<i>Puccinia thlaspeos</i> C. Schub.	<i>Isatis tinctoria</i> L.	Dyer's woad rust strain Woad 006489
<i>Xanthomonas campestris</i> Mingula pv. Poae	<i>Poa annua</i> L.	Camperico

Fuente: Charudattan, 2005.

En cuanto a las malezas acuáticas se tiene el aislamiento y la identificación de posibles agentes de control, listos para evaluarse y determinar si son agentes de control biológico (Espadas y Zita 1992, Barreto *et al.*, 2000, Bojórquez 2009).

El control biológico guarda muchas oportunidades para controlar malezas acuáticas, nuevos estudios muestran las amplias ventajas que tienen los microorganismos cuando se altera la estructura genética un ejemplo de esto fue un Deuteromycete (por publicar) al que se le pudo conferir más efectividad al recombinar su protoplasma con otro Deuteromycete que expresaba una abundante fructificación y una alta virulencia (Ash, 2010).

1.5. Situación actual de las Malezas acuáticas

Las malezas acuáticas ocasionan significantes problemas como: la eutroficación de cuerpos de agua, la interrupción de actividades industriales como la generación de energía eléctrica (hidroeléctricas), colateralmente dañan la salud humana (albergan insectos vectores de enfermedades) e interfieren en el desarrollo de actividades recreativas, que en algunos estados son la principal atracción turística (Charudattan, 2001). A nivel mundial se identifican las siguientes malezas acuáticas como problemáticas: *Eichhornia crassipes*, *Alternanthera philoxeroides*, *Lythrum salicaria*, *Pistia stratiotes*, *Egeria sp.*, *Salvinia molesta*, *Hydrilla verticillata* y *Typha domingensis* Per. (Charudattan, 2001).



Imagen 1.

En México el lirio y el Tule son las malezas más problemáticas el lirio ha sido controlado con el insecto *Neochetina eichhorniae* (Camarena *et al.*, 1999) y por los

hongos *Cercospora piaropi*, *Acremonium zonatum* (Martínez y Gutiérrez, 2001) y *Bipolaris* (Fernández y Zita, 1995) en diferentes partes del país, pero se cuenta con aislamientos de enemigos naturales de otras malezas acuáticas entre ellas *Hymenocallis sonorensis*, *Pristia stratiotes*, *Ergia sp* y *Typha domingensis* (Espadas y Zita 1992, Barreto *et al.*, 2000, Bojórquez 2009).

1.6. *Typha domingensis* Pers.

Es una planta acuática originaria de América de distribución nativa, perenne del tipo emergente, florece en primavera y fructifica hasta otoño se encuentra distribuida en 25 estados de la república Mexicana se encuentra principalmente en drenes y canales de riego disminuyendo la presión del agua favoreciendo así los procesos de eutroficación, haciendo necesario su control en zonas agrícolas productivas (Villaseñor y Espinosa, 1998).

El Tule es reconocido a nivel mundial como una maleza de drenes y canales, de una persistencia notable porque es una gran productora de semillas se estima que por inflorescencia se llega a producir hasta 5 millones de semillas; por lo tanto el banco de semillas disponible es muy alto (Bojórquez, 1999 y Charudattan, 2001).

El control mecánico es el más usado y ha dado buenos resultados pero su costo es muy elevado haciéndolo en muchos casos incosteable, el control químico es de difícil aplicación porque el uso excesivo de químicos en la maleza provocaría la aparición de biotipos resistentes que haría aun mas difícil su control, además de que el agua al ser destinada principalmente a la población y a la agricultura pudiese provocar daños a la salud de los consumidores (Bojórquez, 1999 y Charudattan, 2001).

Una solución eficaz a este problema se encuentra en la misma naturaleza porque se ha observado que todos los seres vivos son susceptibles a por lo menos un organismo (bacterias, hongos, virus, etc.) (Espadas y Zita 1992, Barreto *et al.*, 2000, Bojórquez 2009, Charudattan, 2001 y 2005).

Es fundamental conocer el banco de microorganismos fúngicos que se tienen asociados al Tule en un determinado lugar porque las características climáticas son indispensables para el desarrollo de una infección y de un futuro control biológico de esta maleza acuática. (Espadas y Zita 1992, Barreto *et al.*, 2000, Bojórquez 2009, Charudattan, 1991 y Julien *et al.*, 1998).

En México se estima que el Tule se encuentra infestando 24487.22 ha siendo la tercer maleza en importancia los Estados más afectados son Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Michoacán, Morelos, Oaxaca, Tlaxcala y Sinaloa principal productor en productos agrícolas. (Villaseñor y Espinosa, 1998).

La tabla 4 muestra los resultados obtenidos alrededor del mundo en torno al aislamiento e identificación de patógenos con potencial para controlar a *Typha domingensis* Pers. En drenes y canales.

Tabla 4. Hongos asociados al Tule

Título	Patógeno aislado	Lugar	Grado de avance	Referencia
Algunos hongos interesantes III. en Typha	16 cepas colectadas y aisladas de diferentes síntomas	India	Aislamiento e identificación de los patógenos	Ponnappa. 1968
Mycoflora Asociada con Typha Latifolia	<i>Alternaria tenuis</i> <i>Aureobasidium pullulans</i> <i>Cephalosporium</i> sp. <i>Cladosporium herbarum</i> <i>Epicocum nigrum</i> <i>Phoma typharum</i> <i>Sporobolomyces</i> sp.	Departamento de botánica de la Universidad de Nottingham. Inglaterra	Aislamiento, identificación y frecuencia de aparición del patógeno en el año	Pugh y Mulder. 1971
Colletotrichum sp. Limitante natural de la maleza acuática Typha latifolia	<i>Colletotrichum</i> sp.	Universidad Nacional Autónoma de México	Aislamiento e identificación del patógeno	Espadas R.M., Zita P. G. 1992
Tipificación de síntomas de patógenos que atacan al Tule (Typha domingensis) en los distritos de riego 010 y 074 del Estado de Sinaloa	Se aislaron 6 hongos ya que formaban diferentes síntomas en la hoja	Universidad Autónoma de Sinaloa	Colecta y Tipificación de síntomas	Bojórquez. 1998

El control biológico de malezas acuáticas neotropicales con hongos	<i>Colletotrichum typhae</i> <i>Epipolaeum typharum</i> <i>Phoma typhae- domingensis</i>	Brasil Republica dominicana	Aislamiento, Identificación. <i>Phoma typhae</i> candidato para ser un agente de control	Barreto <i>et al.</i> 2000
Estudio sobre los hongos fitopatógenos y saprófagos presentes en el lago Glinno (NW Polonia)	<i>Acremonium alternatum</i> <i>Alternaria Alternata</i> <i>Colletotrichum typhae</i> <i>Dasyscyphus contraversus</i> <i>Fusarium coeruleum</i> <i>Monodictys levis</i> <i>Psathyrella typhae</i> <i>Staganospore sacchari</i> <i>Ulocladium Botrytis</i>	Departamento de hidrobiología de la Universidad de agricultura en Cracovia Polonia	Aislamiento e identificación, generacion de material biológico par ser evaluado	Mazurkiewicz-Zapałowicz <i>et al.</i> 2006
Los hongos que afectaron a las plantas de estanque	<i>Alternaria alternata</i> <i>Aspergillus versicolor</i> <i>Cladosporium sphaerospermum</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i> <i>Cladosporium macrocarpum</i> <i>Chaetomium elatum</i> <i>Epicoccum purpurascens</i> <i>Humicola fuscoatra v. fuscoatra</i> <i>Leptosphaeria typhae</i> <i>Leptosphaeria typharum</i> <i>Mammaria echinobotryoides</i> <i>Mortierella isabellina</i> <i>Mortierella alpina</i> <i>Mucor hiemalis f. hiemalis</i> <i>Phialophora richardsiae</i> <i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium steckii</i> <i>Phoma hedericola</i> <i>Periconia typhicola</i> <i>Scopulariopsis koningii</i> <i>Sordaria fimicola</i> <i>Trichothecium roseum</i> <i>Ulocladium botrytis</i>	Universidad de Agricultura en Cracovia Polonia.	Aislamiento e identificación, generacion de material biológico par ser evaluado	Kowalik y Krasny. 2009
Efecto de la aplicación de hongos en el rebrote de Tule (<i>typha domingensis</i> pers.) En drenes de Sinaloa	Aplicación de 8 cepas diferentes de hongos en brotes de Tule.	Universidad Autónoma de Sinaloa	Aplicación de hongos	Bojórquez, 2009

Fuente: Ponnappa. 1968, Pugh y Mulder. 1971, Espadas R.M., Zita P. G. 1992, Bojórquez. 1998, Barreto *et al.* 2000, Mazurkiewicz-Zapałowicz *et al.* 2006, Kowalik y Krasny. 2009 y Bojórquez, 2009

El reservorio encontrado de hongos asociados a Tule es muy amplio pero similar en cada colecta esto permite establecer la necesidad de evaluar cada hongo para conocer su potencial como agente de control aumentativo, paso fundamental para la elaboración de un micoherbicida (Charudattan, 2005)

En la tabla 4 se observa que en colectas tan lejanas entre sí, se encuentra similitud en géneros y especies de hongos aislados.

En México es una necesidad establecer nuevos programas de control para *Typha domingensis* Pers. Que sean amigables con el medio ambiente, económicos y efectivos, siendo estas características del control biológico aumentativo.



Ref.

Capítulo 2. Materiales y Métodos

La metodología está en función de los objetivos del presente trabajo por lo que seguí los dos primeros postulados de Koch, para poder desarrollarlos, se consulta el “Manual de Micoherbicidas” de Ingeniería Agrícola de la FES Cuautitlán. Comenzando con la colecta paso crítico en el aislamiento de microorganismos fúngicos con potencial para agentes de control, después se caracteriza el síntoma y el signo de estar presente paso seguido se aísla al hongo en medios de cultivo después se procederá a la identificación de cada cepa obtenida mediante la caracterización y medición de la estructura reproductiva. (Ash, 2010, Agrios, 2005 y Trigiano, 2008).

2.1. Colecta

Las colectas fueron realizadas durante la mañana y se seleccionaron poblaciones de plantas hospedadoras con procesos infecciosos jóvenes de la parte media hacia la parte apical de la hoja debido a que el Tule se desarrolla en lugares donde el agua dreña o está estancada corriéndose el riego de colectar hongos que no están asociados al Tule además que indica que el patógeno presente a podido romper los mecanismo de defensa del estableciendo una infección (ver anexo 1). Esta primera información nos da la pauta de estar ante un patógeno agresivo con potencial de agente de control (Agrios, 2005, Dhingra y Sinclair, 1985 y Trigiano, 2008).

La primera colecta se realizo en Xochimilco, D.F. en el vaso de regulación de San Lorenzo la Cebada el día 15 de abril de 2010.



La segunda colecta se realizo en **Culiacán, Sinaloa** en el distrito de riego. Los lugares en donde se realizaron las colectas fueron las sindicaturas de Costa Rica y del Chapeteado. La colecta fue hecha del 16 al 20 de Junio del 2010.



La tercera colecta se realizo en **Cuautitlán Izcalli, Estado de México** en los canales de riego de la FES Cuautitlán, la colecta fue realizada el 18 de Agosto de 2010.



Para poder llevar un registro sobre las colectas se propone la utilización de un formato de colecta para malezas enfermas (ver anexo 2).

2.2. Caracterización de Síntomas y Signos

Un síntoma es la manifestación visible de la presencia de un patógeno y un signo es el patógeno mismo producido dentro o fuera del tejido del hospedero.

Con ayuda del microscopio estereoscópico y compuesto se tipifico los síntomas y signos de presentarse. (Agrios, 2005)

Para documentar la información de campo y de laboratorio se propone un formato para coleccionar microorganismos con potencial para controlar malezas terrestres y acuáticas. (Espadas et al. 2010) (Ver anexo 3).

Este formato permite completar el diseño de la una ficha morfológica en donde se describe a los microorganismo candidatos para ser agentes de control.

2.3. Medios de cultivo

En el campo de la fitopatología existen diferentes medios de cultivo, todos tienen el objetivo de acelerar la esporulación del hongo para poder identificarlo.

En el presente trabajo se utilizarán los medios PDA (papa dextrosa agar), V₈A (ocho verduras agar) y AA (agar agua).

2.3.1. PDA (papa dextrosa agar)

El PDA se complementa con Cloranfenicol a razón de 200 µgr. /ml. La base del medio es altamente nutritiva y permite la esporulación y la producción de pigmentos en algunos dermatofitos.

Se hidrataron 39 gr/L. de PDA comercial en un matraz hasta homogenizar la mezcla, se esteriliza en la autoclave. (Narayanasamy, 2001). Después haber esterilizado se vació el medio en cajas de petri en una campana de flujo laminar (Trigiano, 2008).

2.3.2. V₈A (ocho verduras agar)

Ocho verduras agar es un medio utilizado para inducir la esporulación de hongos por su alto contenido de nutrientes complementa con Cloranfenicol a razón de 200 µgr. /ml. (Trigiano, 2008)

Se vació 10 ml. de jugo ocho verduras y se diluyen 4.5 gr de CaCO₃ una vez diluidos se centrifuga a 3000 rpm durante 30 min. Se decanta en el matraz después se agrega el agar y se diluye en un litro de agua en condiciones asépticas. Se divide la solución en dos enseguida se tapa con papel aluminio cada

matraz y se esteriliza en la autoclave. Después haber esterilizado vaciar el medio en cajas de petri en una campana de flujo laminar (Trigiano, 2008).

2.3.3. AA (Agar agua)

Agar agua es un medio muy eficaz para inducir la esporulación de los hongos colectados, al no tener nutrientes disponibles ejercemos un proceso de presión generando la rápida esporulación del hongo, complemento con Cloranfenicol a razón de 200 μ gr. /ml. (Narayanasamy, 2001).

Se vacía el agar bacteriológico y se diluye en 500 ml de agua, después se esteriliza la mezcla en la autoclave, una vez esteril vaciar el medio en cajas de petri (Dhingra y Sinclair, 1985, Trigiano, 2008)

2.3.4. Antibiótico

Para evitar el desarrollo de bacterias su usa Cloranfenicol. Se pesa 1gr. de Cloranfenicol y se diluye en alcohol absoluto hasta aforar un tubo de 10 ml. Una vez diluido el Cloranfenicol se conserva en refrigeración. (Dhingra y Sinclair 1985). La solución ahora tiene 1 gr. diluido en 10 ml. de alcohol, siendo equivalente a 100000 μ gr. /ml. cada litro de medio se necesita 200 μ gr. /ml. Para ello aplicamos 2 ml de la solución (Trigiano, 2008) (ver anexo 4).

2.4. Aislamiento

Se extrajo al hongo asociado mediante tres técnicas de aislamiento teniendo en común el proceso de desinfección para confirmar que el hongo fue aislado del tejido vegetal y directamente del síntoma (Agrios, 2005).



Typha domingensis Pers.

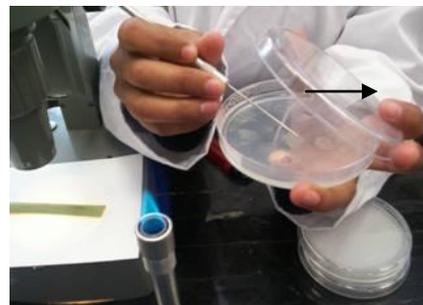


2.4.1. Aislamiento directo

Con ayuda del microscopio de disección se observaron los signos presentes en Tule; se encontró micelio después con una aguja de disección estéril se colocó directamente sobre el medio de cultivo solidificado. Se incubó a 24°C observándose durante los siguientes 7 días (Agrios, 2005 y Trigiano, 2008).



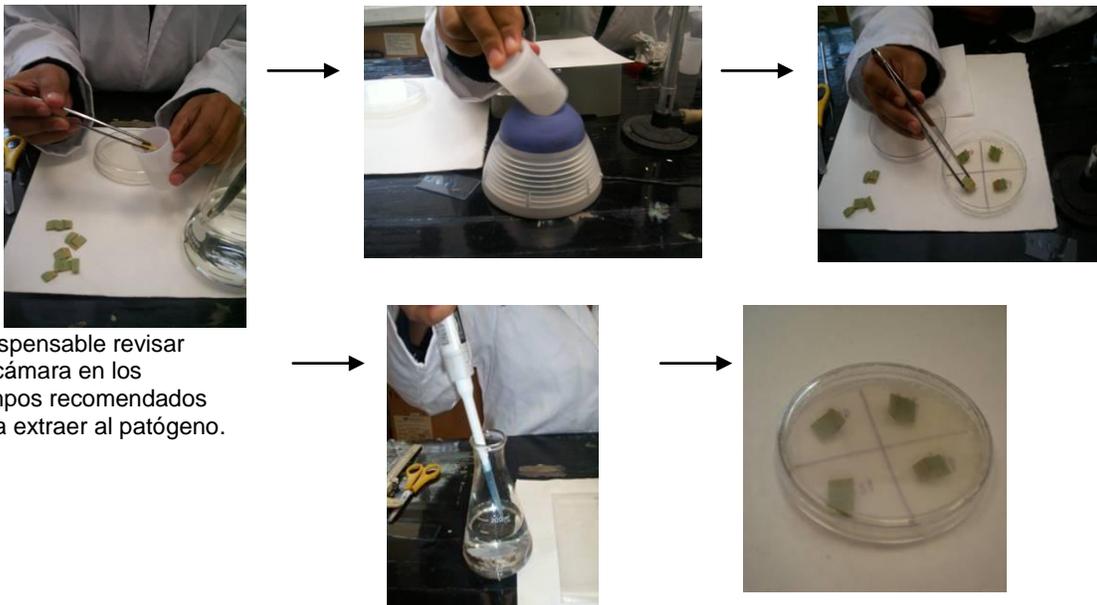
Signo presente en la Hoja



Aislamiento en la caja con PDA o V₈A

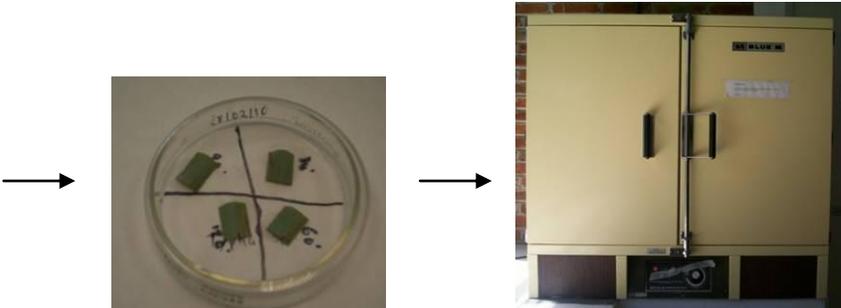
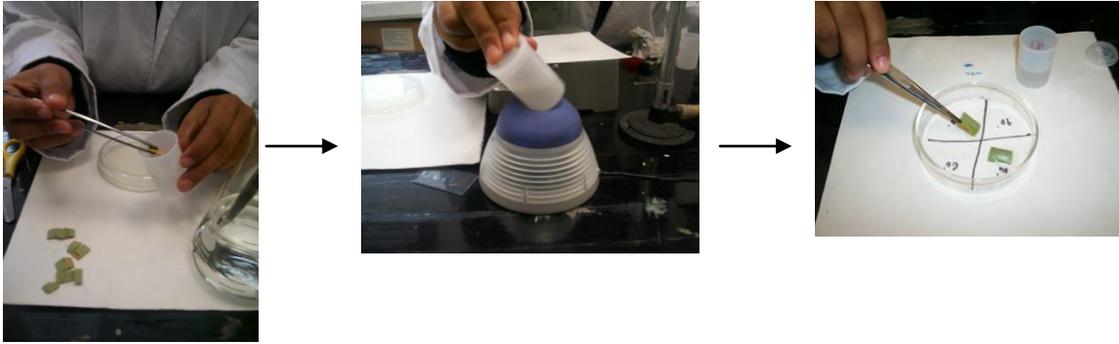
2.4.2. Cámara húmeda

Cuando el síntoma no se aprecia el crecimiento del patógeno, se recurre al uso de la cámara húmeda. Se tomo porciones de tejido enfermo se lava en agua corriente, se secan los tejidos con papel absorbente, se desinfecta en una solución 2:1 de cloro durante 120 segundos, se lavan dos veces con agua destilada estéril y se eliminan excesos de agua, finalmente en un dispositivo para cámara húmeda se colocan pequeños trozos del vegetal enfermo secos, se humedece con agua destilada estéril y se cierra el dispositivo. Se incuba a 24°C durante 2 o 3 días (Dhingra y Sinclair 1985, Agrios, 2005 y Trigiano, 2008).



2.4.3. Partes vegetales en medio de cultivo

Se tomaron porciones de tejido enfermo se lavaron con agua corriente, se secan los tejidos con papel absorbente, y se desinfecta en una solución 2:1 de cloro durante 120 segundos. Se lavan dos veces con agua destilada estéril y se eliminan los excesos de agua se coloca en cajas con medio de cultivo solidificado. Se incuba a 24°C y se observo durante los siguientes 5 días, se caracterizo al patógeno que se desarrolla durante este tiempo (Agrios, 2005 y Trigiano, 2008).



Una vez que observe el signo, realizar el aislamiento directo.

2.5. Limpieza y revisión de aislamiento de Hongos Fitopatógenos

Es fundamental tener al microorganismo integro y libre de contaminantes por lo que se procede al mantenimiento de la colonia para poder obtener a la cepa pura.



72 horas después de iniciado el aislamiento, se hace la limpieza de contaminaciones si se delimita el área contaminada con un rotulador, y bajo la campana de flujo laminar en condiciones asépticas se retira con un bisturí el pedazo contaminado.

Nota: este procedimiento se ha de repetir a las 96 horas, 120 horas, etc. hasta que las contaminaciones dejen de aparecer.



2.6. Cepa pura.

Una vez realizado el medio de cultivo y aislado al patógeno de la parte vegetal se obtiene la cepa pura que es el microorganismo totalmente integro y libre de contaminantes.

Con la obtención de la cepa pura se pueden montar viales de conservación que permitirán en primera instancia tener un cepario de hongos asociados al Tule así como contar con material biológico para futuros trabajos (Dhingra y Sinclair, 1985)

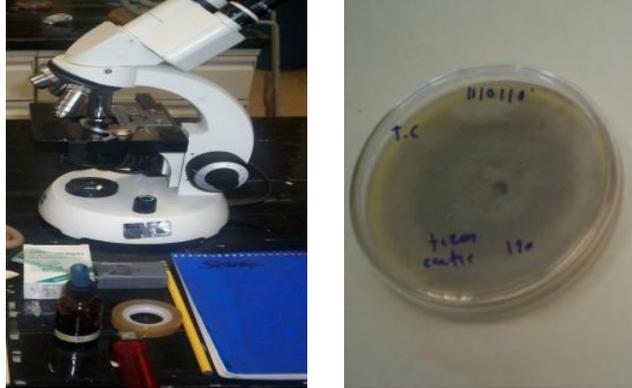


2.7. Identificación

Para continuar con el segundo postulado de Koch y llevar a cabo la identificación de los hongos se inicia el reconocimiento del hongo que se aisló con las siguientes técnicas de identificación: Microcultivo y Preparaciones temporales.

Después se consultan claves especializadas para cada grupo de hongos asilados (Barnett y Hunter, 1987, Kiffer y Marlet, 1997, Holliday, 1980, Ulloa y Hanlin, 2006, Boerema *et al.*, 2004, Schröter, 1893 y Hesseltine, 1955).

American Phytopathological Society en todas sus obras de enfermedades de los cultivos agrícolas, expone las claves que usa para la identificación de los diferentes grupos de hongos Fitopatógenos está en función del tamaño de las estructuras somáticas y de reproducción. La identificación del agente causal es básica para futuras pruebas.



2.7.1. Preparaciones temporales de Hongos

Durante el asilamiento se observó que algunos hongos presentaban un desarrollo muy lento o presentaban estructuras que crecían de manera inmersa en el medio complicando la elaboración de microcultivos dada las características de esta técnica, por lo que se realizaron preparaciones temporales para poder observar la esporulación y comenzar con la identificación.

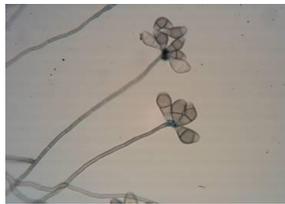
Con ayuda de una aguja y bajo el microscopio estereoscópico se tomaron pequeñas muestras del hongo de la cepa pura después fueron colocadas en un portaobjetos y extendidas con cuidado para no romper las estructuras a observar, enseguida se colocó una gota de azul de metileno y sobre la gota un cubreobjetos, después se observa bajo el microscopio compuesto.

Otra modalidad en preparaciones temporales es utilizando cinta adhesiva transparente, el procedimiento es el siguiente: En un portaobjetos se coloca una gota de azul de metileno, después bajo condiciones asépticas se toma la cepa

pura y con ayuda de los dedos pulgar e índice se toma una muestra con la parte adhesiva de la cinta, enseguida se coloca sobre la gota de azul y se observa bajo el microscopio compuesto (Dhingra y Sinclair, 1985, Barrera y Cárdenas 1997 y Trigiano, 2008).



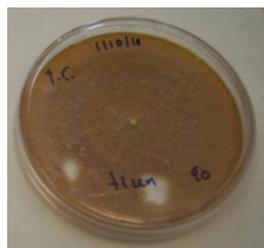
Colletotrichum sp.



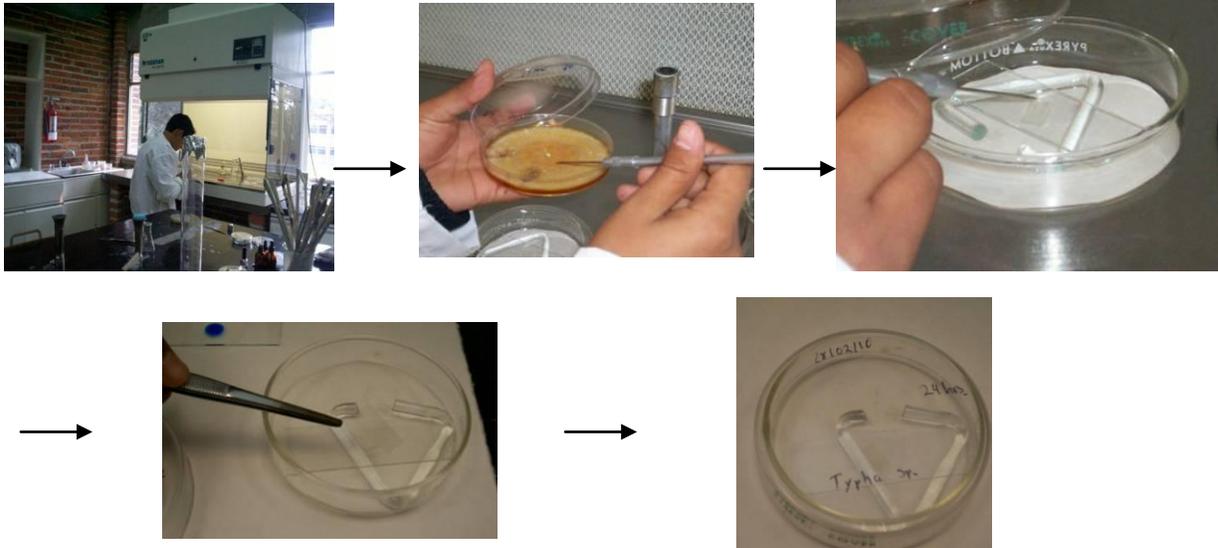
Curvularia sp.

2.7.2. Microcultivo

Con esta técnica se obtienen las distintas fases del ciclo de vida de los hongos, que va de germinación de la espóra, formación del tubo germinativo, hifas, micelio y la diferenciación de las estructuras reproductivas asexuales. Se debe dar un manejo de tiempos en el desarrollo de los hongos para poder observar las estructuras desde el inicio de su formación. Esta técnica resulta sumamente útil para aquellos hongos en los que es difícil observar la formación de los conidios sobre los conidióforos. Mediante este método se puede observar bajo el microscopio, su crecimiento y esporulación en todos sus detalles y así tener elementos morfológicos de estructuras somáticas y reproductivas (Dhingra y Sinclair, 1985, Barrera y Cárdenas 1997, y Trigiano et al., 2008) (Ver anexo 5).

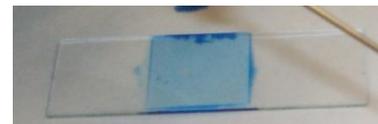
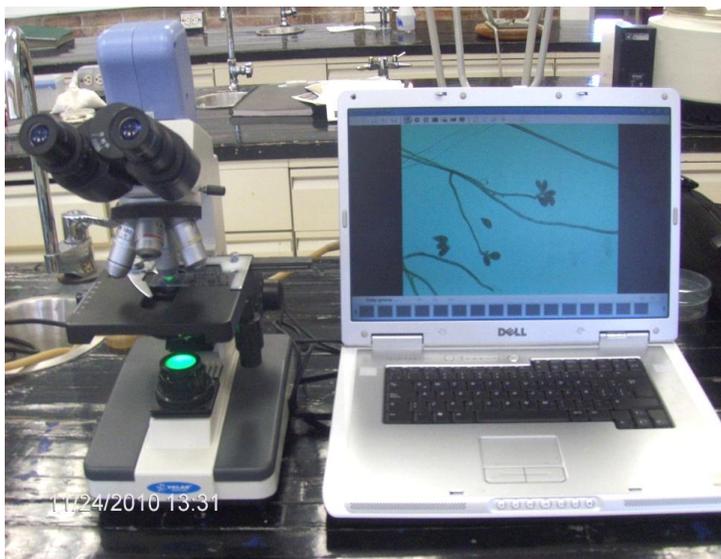


En la siguiente serie de imágenes se muestran el desarrollo de un Microcultivo para obtener preparaciones permanentes.



2.8. Medidas de Estructuras de Agentes Fitopatógenos con Microscopio

Para identificar a un agente fitopatógeno y cumplir cabalmente con el segundo postulado de Koch se midieron las partes somáticas y reproductivas de los hongos, primero se calibra el microscopio (ver anexo 6). (Dhingra, 1985 y Trigiano, 2008).



2.9. Viales de conservación

Con la finalidad de tener al patógeno disponible para futuras investigaciones se procede a la conservación del hongo en un cepario, la conservación de los hongos consiste en retardar, mediante alguna técnica, el proceso metabólico del hongo pero conservando su patogenicidad existen varias formas de conservación. La técnica que realizamos se llama “viales de conservación” es una de las más utilizadas por el espacio que ocupa y por la eficiencia que guarda al reactivar la cepa (Agrios, 2005 y Trigiano, 2008).

Se corta el papel filtro en rectángulos de 5 mm de ancho por 3 cm. de largo después se colocan 4 tiras en el centro de una caja con medio formando un cuadrado, con una aguja de disección esteril y bajo condiciones asépticas se toma de la cepa pura una pequeña muestra colocándola en el centro de la caja que tiene las tiras de papel, la caja se sella y se coloca en una incubadora a las 72 hrs. se revisa y si se nota el desarrollo del hongo sobre el papel se procede a separarlo, con pinzas estériles se toma la tira de papel y se coloca dentro del vial, se repite este paso con las demás tiras, se tapa el vial y se rotula, enseguida se coloca el vial en un porta viales para colocarlo en refrigeración a -2 grados centígrados.



2.9.1. Cepario

Cepario de *Typha domingensis* Pres.

Se dispone con 13 especies fúngicas asociadas a *Typha domingensis* Pers. Tule, con el propósito de tener material biológico para refrendar y poder continuar con las pruebas pertinentes para establecer un control biológico para esta maleza acuática.

El cepario está sustentado por los siguientes componentes:

- Preparaciones permanentes de cultivos fúngicos, inactivos y en tubos sellados para asegurar una larga duración (viales de conservación).
- Laminillas fijas para observación al microscopio de las características morfológicas de los hongos.
- Disco CD con fotografías de las estructuras morfológicas fúngicas en diferentes intervalos de tiempo.
- Un manual que incluye la descripción de los hongos obtenidos mediante el esquema de fichas morfológicas.

Capítulo 3. Resultados

Se obtuvieron 13 cepas aisladas de diferentes síntomas y en algunos casos directamente del signo.

Las colectas realizadas en Culiacán, Sinaloa arrojaron a hongos Monilaceos mismos que fueron identificados hasta especie. La colecta realizada en Xochimilco se aisló a un Sphaeropsidal, un Monilaceo y un Zigomycete. En Cuautitlán se aislaron 4 Monilaceos y un Melancolial.

De las tres colectas realizadas *Alternaria alternata*, estuvo presente en todas ellas, el síntoma es muy idéntico lo que nos señala un patógeno agresivo.

Se realizaron fichas morfológicas para documentar la información, mismas que guardan un formato para poder ser consultadas en la siguiente página web: <http://www.agricolaunam.org.mx/>

Los hongos obtenidos se muestran según el orden de colecta primero Xochimilco, después Culiacán y por ultimo Cuautitlán.

Tabla 5. Cepario de *Typha domingensis* Pres.

Hospedero	Localidad y fecha de colecta	Hongo aislado	Ficha morfológica	Vial de conservación
<i>Typha domingensis</i> Pers.	San Lorenzo la Cebada, Xochimilco D.F. 15 de Abril del 2010	<i>Alternaria alternata</i>	3.1.1	135 Td-1.1
		<i>Mucor sp.</i>	3.1.2	136 Td-1.2
		<i>Peyronellaea glomerata</i>	3.1.3	137 Td-1.3
	Distrito de riego 010, Culiacán, Sinaloa. 16-20 de Junio del 2010	<i>Alternaria alternata</i>	3.2.1	138 Td-2.1
		<i>Aspergillus niger</i>	3.2.2	139 Td-2.2
		<i>Penicillium expansum</i>	3.2.3	140 Td-2.3
		<i>Curvularia verruculosa</i>	3.2.4	141 Td-2.4
		<i>Alternaria alternata</i>	3.2.5	142 Td-2.5
	FES-Cuautitlán, Estado de México. 18 de Agosto del 2010	<i>Alternaria alternata</i>	3.3.1	143 Td-3.1
		<i>Aureobasidium sp.</i>	3.3.2	144 Td-3.2
		<i>Cladosporium sp.</i>	3.3.3	145 Td-3.3
		<i>Colletotrichum sp.</i>	3.3.4	146 Td-3.4
		<i>Epicocum sp. Link</i>	3.3.5	147 Td-3.5

3.1.1. Ficha electrónica morfológica

1. *Alternaria alternata* (Fe.) Keissler

Torula alternata Fr., 1832

Alternaria tenuis C. G. Ness, 1916/17

Taxonomía

Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Pleosporomycetidae; Pleosporales; Pleosporineae; Pleosporaceae; mitosporic Pleosporaceae; Alternaria.



24 hrs. germinación de conidios, desarrollo de conidios por gemación. 40x



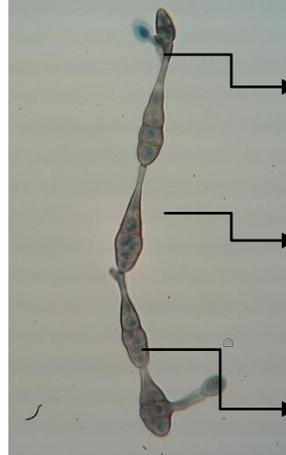
48 hrs. desarrollo del micelio y del conidióforo. 40x



72 hrs. diferenciación de conidios en cadena por gemación. 40x



24 hrs. germinación de conidios, desarrollo de conidios por gemación. 40x



Conidiogénesis

Conidios en cadena

Segmentación transversal

1.1 Colecta

Colecta no. 1.1

Predio vaso regulador

Localidad Cuemanco Xochimilco

Maleza *Typha domingensis*

1.2 Fecha

15 de Abril 2010



1.3.- Caracterización del síntoma en campo

Manchas necróticas que se encuentran distribuidas por toda la hoja, en el haz y en el envés se observa una marchitez total de la hoja cuando se desarrolla el síntoma



2. Análisis de colecta en laboratorio

f) Descripción general del síntoma

Forma: huso

Tamaño de 3 – 5 cm. de diámetro

Ubicación: en el haz



g) Características del signo.

Signo	Fructificación	Acervulo	
Oídio o cenicilla polvosa		Esporodoquio	
Mildiu o cenicilla vellosa	Asexual	Picnidio	
Roya blanca o mal de cal		Monilial	x
Roya		Micelio esteril	
Carbón			
Fumagina		Clestotecio	
Zoogleas	Sexual	Apotecio	
		Peritecio	
Puntuaciones negras		Acostroma	
		Otras características	
Eflorescencias grisáceas	Somática	Micelio Cenocítico	
		Micelio Septado	x
	Reproductivas	Conidióforos simples	x
		Conidióforos ramificados	

Tipo de conidios: Dictiosporas

Se llevan a cabo preparaciones temporales del signo y se observa micelio y conidios ovados con segmentación transversal y longitudinal típicos de *Alternaria*.

3.- Medio de cultivo.

- PDA

4.- Técnica de aislamiento.

- Aislamiento directo
- Partes vegetales en medio de cultivo

5. Características culturales de la colonia en el aislamiento

En PDA a 24^oc se observa una gran cantidad de micelio de color gris e desarrollada rápidamente cubriendo la caja en 6 días se aprecia la formación de anillos negros desde el centro que bajo el microscopio estereoscópico se ven como conidios.

6. Técnicas de identificación.

6.1. Microcultivo

Se montaron 4 microcultivos para caracterizar el desarrollo del hongo a las 48 hrs. se tenía la estructura completa; micelio septado con células basales diferenciando conidióforos que a su vez generaban conidios septados, a las 72 hrs se cuenta con la estructura completa y las 96 hrs. se observan cadenas de hasta 7 conidios.

7. Descripción del género

Hongo filamentoso con conidióforos simples, tabicados, en cuyo extremo se forman unos conidios muriformes, de color pardo, con septos transversales y verticales de disposición irregular. Por gemación de la célula apical se genera un nuevo conidio, formándose largas cadenas de 10 o más conidios (Kiffer y Marlet, 1997., Barnett y Hunter, 1987., Holliday, 1980.).

1 conidios dictyate	25
25 (1) conidióforos macronematous	26
26 (25) conidióforos con un crecimiento subterminal	27
27 (26) conidios en forma cónica, a veces en cadenas.....	<i>Alternaria</i>

(Kiffer y Marlet, 1997).

7.1. Clave morfológica

Las colonias generalmente de color negro o negro olivácea, gris a veces. Conidióforos surgen solos o en grupo pequeño, sencillo o ramificado, recto o sinuoso, a veces geniculado, pálido a mediados olivácea de espesor con una o varias cicatrices conidiales. Conidios formados a lo largo, a menudo ramificado en cadenas, obclavados, obpiriformes, ovoide o elipsoidal, a menudo con un pico corto cónico o cilíndrico, a veces, pero no más de un tercio de la longitud de los conidios, pálido a café, lisa o verruculosa, con hasta 8 conidios transversales y por lo general varios septos longitudinales u oblicuas, longitud total 20 a 63 (37) μ , 9 - 18 (13) μ de espesor en la parte más ancha, pálida pico, 2-5 μ de espesor.....*Alternaria alternata*
(Kiffer y Marlet, 1997., Barnett y Hunter, 1987., Holliday, 1980.).

8. Glosario

Conidióforo: hifa, simple o ramificada, que esta morfológica y/o fisiológicamente diferenciada de una hifa somática para producir y portar conidios; estos se encuentran generalmente sobre células conidiógenas especializadas, las cuales se pueden disponer de muy diversas maneras. Para algunas especies los términos conidióforo y célula conidiógenas se aplican indistintamente. Se pueden encontrar ilustraciones de conidióforos en las figuras correspondientes a diferentes tipos de conidios) p. ej.

Artrospora meristemática, blastospora, blastospora meristemática y catenulado), de ciertos tipos de ramificación de conidióforos (p. ej. biverticiliado, monoverticiliado, triverticiliado y poliverticiliado), o de otras estructuras relacionadas a conidióforos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Conidios: espora asexual nucleada, inmóvil, que generalmente se forma en el ápice o a un lado de una célula esporogena especializada. Los conidios son de 2 tipos básicos, blastico y talico. Los conidios blasticos (la mayoría) son generados de novo, mientras que los talicos se forman a partir de células hifales preexistentes. Los conidios pueden ser uni-, bi-, o multicelulares, secos o mucosos, pero nunca quedan contenidos en una estructura con pared celular o periodo rígido, como si ocurre con las esporangiosporas. Los conidios son las esporas asexuales de los ascomicetes y basidiomicetes; típicamente se han agrupado en los deuteromicetes, ahora denominados hongos mitospóricos (Ulloa, 2006).

Elipsoidal: se dice de un cuerpo solido que forma una elipse en el plano longitudinal y un círculo en corte transversal. Muchas esporas fúngicas son elipsoides (Ulloa y Hanlin, 2006).

Geniculado: que tiene articulaciones semejantes a rodillas o codos; 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, como se ve en el estado Drechslera de *Cochliobolus bicolor* (Pleorporales), y en *Helminthosporium*, *Alternaria* y *Cercospora*, entre muchos otros hongos asexuales dermatiaceos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Obclavados: de forma de clava o porra, pero con la parte ancha en la base, como los conidios de *Triramulispora obclavata* y los sinemas de *Beauveria cretácea* y *Meria coniospora* (hongos asexuales monilaceos) y los queilocistidios de *Mycena sanguinolento* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Obpiriformes: de forma de pera invertida, es decir, con la parte más ancha en la base, inversamente piriforme, como el primordio del sorocarpo de *Dictyostelium discoideum* y la mayoría de los picnidios y peritecios (Ulloa y Hanlin, 2006).

9. Bibliografía

- Holliday P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Gran Bretaña. Cambridge University press. Pp. 607.
- Barnett, H.L. and Hunter B.B. 1987. Ilústrate Genera of imperfect fungí. 4 editions. Macmillan publishing company. USA. 218 Pag
- Ulloa, M y Hanlin, T. R. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. Estados Unidos APS press The American Phytopathological Society. Pp. 671.
- Kiffer E. and Marlet M. 1997. The Deuteromycetes. Science publisher's inc. USA. 293 Pag.
- Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5599&vl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>. Consultada el 27/08/11

ANEXOS

Es un saprófito muy común que se encuentran en muchos tipos de plantas y otros sustratos como alimentos, suelo y tejidos; es cosmopolita.

Este hongo es frecuentemente mencionado en la literatura patológica atacando hojas y fruto de varias plantas causando manchas o pudrición de la fruta. En casi todos los casos se comporta como un parásito de heridas (Saad et al. 1969b encontró que tanto la penetración directa y por estomas puede ocurrir) o invadir un anfitrión que es fisiológico o patológico debilitado. El patógeno que causa la mancha marrón de tabaco ha sido denominado. *A. alternata* (*A. longipes* q. v., Lucas). Grogan et al. Describe una raza distinta causando un cancro del tallo del tomate.

Ejemplos de patogenicidad se dan para algunos cultivos: Brassica, cítricos, algodón, *Cyamopsis tetragonoloba* (frijol de racimo), frijol, girasol, berenjena, pimiento rojo y tomate. D. Singh et al. Describen la infección interna de semillas de girasol.

3.1.2. Ficha electrónica morfológica

1. *Mucor* sp. Schröter, 1893

Taxonomía

Eukaryota; Fungi; Fungi incertae sedis; Basal fungal lineages; Mucoromycotina;

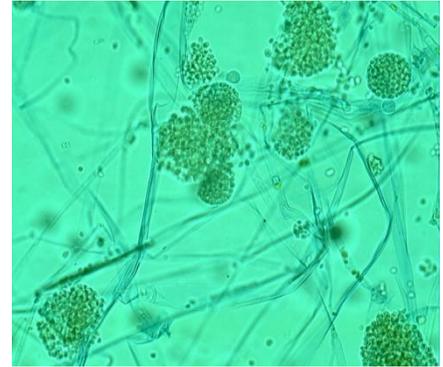
Mucorales; Mucoraceae; Mucor



1.5 hrs. Germinación de esporangiosporas. 40x



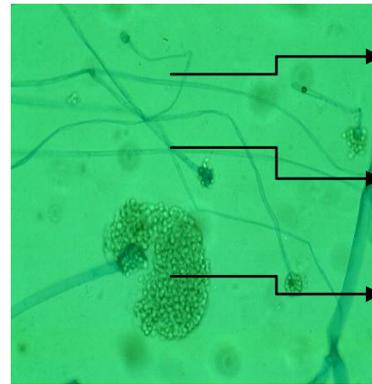
3 hrs. Desarrollo de micelio no septado y diferenciación de esporangióforos. 40x



6hrs. Esporangiosporas y esporangióforos presentes. 40x



Micelio sin desarrollar estolones o rizoides. 40x



Micelio no septado

Esporangióforos

Esporangiosporas

1.1 Colecta

Colecta no. 1.3

Localidad Cuemanco Xochimilco

Maleza *Typha domingensis*

Predio vaso regulador

1.2 Fecha

15 de Abril 2010



1.3.- Caracterización del síntoma en campo

Se observan manchas amarillentas con un polvo blanquizco muy tenue en el centro. Este tipo de manchas se desarrollan en de la parte basal a la parte media de la hoja, las manchas crecen por separado.

2. Análisis de colecta en laboratorio

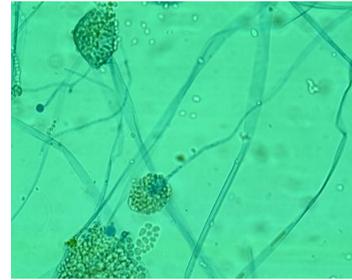
f) Descripción general del síntoma

Forma: huso

Tamaño de 3-5 cm. de diámetro

Ubicación: en el haz

g) Características del signo.



Signo		Fructificación		
Oídio o cenicilla polvosa	x		Zigomycetes	x
Mildiu o cenicilla vellosa		Asexual		
Roya blanca o mal de cal				
Roya				
Carbón				
Fumagina			Cleistotecio	
Zoogleas		Sexual	Apotecio	
			Peritecio	
Puntuaciones negras			Acostroma	
			Otras características	
Eflorescencias grisáceas		Somática	Micelio Cenocítico	x
			Micelio Septado	
		Reproductivas	Conidióforos simples	x
			Conidióforos ramificados	

Tipo de conidios: Amerosporas

Se observa la presencia de un micelio no septado y abundante, en el se diferencian esporangióforos, con una gran cantidad de esporangióforos.

3.-Medio de cultivo.

- PDA

4.- Técnica de aislamiento.

- Aislamiento directo

5. Características culturales de la colonia en el aislamiento

En medio de cultivo PDA a 24°C se observa un rápido crecimiento ya que en 12 hrs tenemos totalmente cubierta la caja de petri, se observa un color rosa, al madurar la colonia cambia aun color gris.

6. Técnicas de identificación.

6.1. Preparaciones temporales

Dado el rápido y abundante crecimiento se procedió a la realización de preparaciones temporales para poder observar las estructuras del hongo, se observa un micelio no

septado el cual esta diferenciando esporangióforos que a su vez desarrolla esporangiosporas característicos de los Zigomycetes.

7. Descripción del género

Mucor sp.

El género *Mucor* pueden ser diferenciados de *Absidia*, *Rhizopus* y *Rhizomucor* por la ausencia de estolones y rizoides. Las colonias son de crecimiento muy rápido, algodonoso, blanco a amarillo, llegando a ser de color gris oscuro, con el desarrollo de los esporangios. Esporangióforos erectos, simples o ramificados, con forma terminal grande (60 a 300 micras de diámetro), globosos a esporangios esféricos, multiesporados, sin apófisis y con columelas bien desarrolladas. Un collarite visible (restos de la muralla de esporangios) suele ser visible en la base de la columela después de su dispersión esporangiosporas. Esporangiosporas son de color gris hialino o marrón, globosas a elipsoidales, y de pared lisa o finamente ornamentada. Clamidosporas y zigosporas también pueden estar presentes.

7.1. Clave morfológica

MUCORALES Schröter, 1893 [In Engler and Prantl, Die natürl. Pflanzenfam. 1(1): 119].

Clave para las familias de los Mucorales

- AA. Las colonias de llena la caja de Petri, sin restricción de crecimiento, de color rojizo no orchraceous B
- BB. Esporangiosporas producidas en esporangios multiesporados y / o multilaterales o esporangio uniesporada C
- CC. Las esporas y esporangios no son Choanephoraceae D
- DD. Esporangios producidos por todas las especies, algunas especies también se pueden formar esporangiola H
- HH. Trofociste no se forman; esporangióforos simples o ramificados; vesículas subesporangial no producidos; pared de esporangios no cutinizada, puede o no estar pigmentados, descarga de esporas debido a una despliegue o evanescencia de la pared del esporangio o a través de un poro. I
- II. Estolones y rizoides que no se producen; esporangios suelen ser más o menos globosos K
- KK. Esporangióforos ramificados generalmente, a menudo menos de 1 cm de largo; esporangios relativamente pequeños L
- LL. Suspensores homotáticos s más o menos igual cuando no se producen zigosporo y heterotática presumiblemente, saprofitos, que se encuentra en el estiércol, el suelo, u otro sustrato orgánico.....Mucoraceae

Clave para los géneros de Mucoraceae

- AA. Esporangios producidos. D
- D. esporangióforos simples o ramificados simpodiales; esporangios más o menos globosa, de color blanquecino a grisáceo; pared dequeisente esporangiolar..... *Mucor* sp. (Schröter, 1893 y Hesseltine, 1955).

8. Glosario

Columela: estructura o tejido estéril de soporte, a menudo columnar, que se presenta en el exterior de algunos tipos de esporangios u otros fructificaciones; frecuentemente es una extensión del pedicelo que se halla rodeada por tejidos esporíferos. Los esporangios de varios Myxomycetes, como *Diachea* (Physarales) y *Stemonitis* (Stemonitales), y Mucorales como *Mucor*, *Rhizopus* y otros, tienen una columela, al igual que el aparato esporífero de ciertos *Gasteromycetes* (*Lycoperdon*, de los Lycoperdales; *Scleroderma*, de los Sclerodermatales) (Ulloa y Hanlin, 2006).

Collarete: 2 Mucorales. Remanentes del periodo esporangial que persisten en la base de la columela, como se ve en *Mucor* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Esporangióforos: hifa especializada que produce y soporta uno o más esporangios, como ocurre, p ej., en *Phycomyces nitens* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Esporangiosporas: espóra producida en un esporangio en cualquiera de sus modalidades; las esporangiosporas pueden ser inmóviles (aplanosporas) o flageladas y móviles (zoosporas), y se presentan en diversos grupos, p. ej. En los Chytridiomycota, Oomycota, y Zygomycota. Del último phylum, algunos ejemplos ilustrados de esporangiosporas son *Rhizopus* y *Parasitella* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Homotálicos: hongo en el que la reproducción sexual se realiza en un solo talo, que es por tanto auto compatible (Ulloa y Hanlin, 2006).

Trofociste: porción hinchada de una hifa, o de una célula agrandada, inmersa en el sustrato del que obtiene su alimento, a partir de la cual se forma el esporangióforos (Ulloa y Hanlin, 2006).

9. Bibliografía

- Holliday P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Gran Bretaña. Cambridge University press. Pp. 607.
- Ulloa, M y Hanlin, T. R. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. Estados Unidos APS press The American Phytopathological Society. Pp. 671.
- Schröter, J. 1893. Mucorineae, pp. 119-134. In A. Engler and K. Prantl, *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. I Teil, 1. Abth. Wilhelm Engelmann, Leipzig.
- Hesseltine, C.W. 1955. Genera of Mucorales with notes on their synonymy. *Mycologia* 47:344-363.

Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=4830&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11

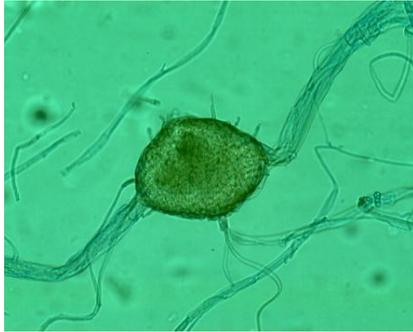
3.1.3. Ficha electrónica morfológica

1. *Peyronellaea glomerata* (Corda) Goid.

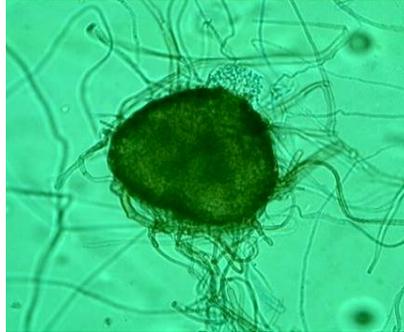
Phoma glomerata (Corda) Wollenw. And Hochapfel 1936

Taxonomía

Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Pleosporomycetidae; Pleosporales; Pleosporineae; Didymellaceae; Peyronellaea



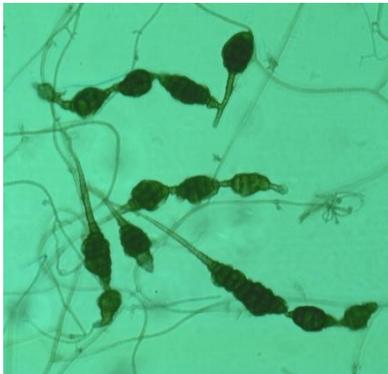
5 días. Desarrollo de dictyoconidio.



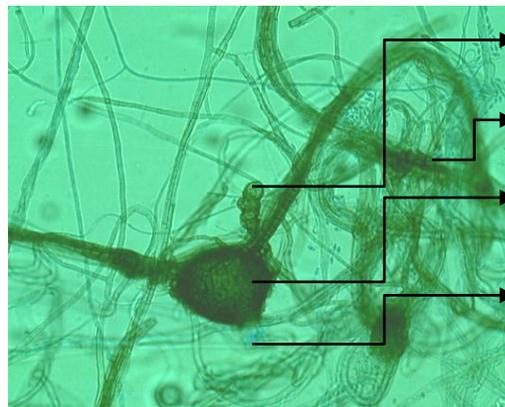
5 días. Al presionar el picnidio se observan conidios saliendo



10 días. Formación de clamidosporas



11 días. Clamidosporas alternarioides oscuras segmentadas.



Clamidosporas

Micelio septado

Picnidio

Conidios unicelulares

1.1 Colecta

Colecta no. 1.2

Localidad Cuemanco Xochimilco

Maleza *Typha domingensis*

Predio vaso regulador

1.2 Fecha

15 de Abril 2010

1.3.- Caracterización del síntoma en campo

Se observan manchas amarillentas que en centro tienen puntos negro, conforme crece la mancha van apareciendo más puntos negros, se observa la presencia de cirros de color rosa pálido.



2. Análisis de colecta en laboratorio

f) Descripción general del síntoma

Forma: puntuaciones negras

Tamaño 0.3 cm. de diámetro

Ubicación: en el haz

g) Características del signo.



Signo		Fructificación	Acervulo	
Oídio o cenicilla polvosa			Esporodoquio	
Mildiu o cenicilla vellosa		Asexual	Picnidio	x
Roya blanca o mal de cal			Monilial	
			Micelio esteril	
Carbón				
Fumagina			Clestotecio	
Zoogleas		Sexual	Apotecio	
			Peritecio	
Puntuaciones negras	x		Acostroma	
			Otras características	
Eflorescencias grisáceas		Somática	Micelio Cenocítico	
			Micelio Septado	x
		Reproductivas	Conidióforos simples	x
			Conidióforos ramificados	

Tipo de conidios: Amerosporas

Al realizar preparaciones temporales de las puntuaciones negras se observa la formación de picnidios que al ser apretados libran conidios unicelulares hialino, también se observa la micelio septado.

3.-Medio de cultivo.

- PDA
- V₈A

4.- Técnica de aislamiento.

- Asilamiento directo

5. Características culturales de la colonia en el aislamiento

Al realizar el aislamiento directo del punto negro en PDA a 24°C se observa primero el desarrollo de micelio aéreo que rápidamente llena la caja en 8 días, a partir del día 10 se observa en el centro la formación de ovoides glabros de color marrón que al extenderse desplaza al micelio quedando expuesto entre ellos se observan diminutos puntos negros.

6. Técnicas de identificación.

6.1. Preparaciones temporales

Ya que el desarrollo de la estructura reproductiva es muy lento y al tratarse de un picnidio, es complicado llevar a cabo el Microcultivo, por lo que se realizaron preparaciones temporales durante el crecimiento y desarrollo del hongo en la caja de petri logrando obtener la información necesaria para su identificación.

7. Descripción del género

Sphaeropsidales

1a. Conidia globosa u oblonga o elipsoidal, no filiforme	2
2a. Conidia 1 célula	3
3a. Conidia con pigmentos oscuros, evidente por lo menos en la masa conidial	40
40b. Picnidio sin filamento	41
41b. Picnidio oscuro; conidióforos cortos	42
42b. No parasita en cenicillas	43
43b. Picnidio no en estromas	44
44c. Conidia pequeña, ovoide; Dictiosporas oscuras, clamidosporas presentes..... <i>Peyronellaea</i> (Barnett y Hunter, 1987).	

7.1. Clave morfológica

Picnidios subglobosas a obpiriformes, 100-300 μ de diámetro., papilados de diversa longitud, generalmente solitarios, sino que se unen, a veces lo hacen. Pared de picnidios de tres hasta cinco capas de espesor; la parte exterior compuesto de células más o menos isodiametricas pero redondeadas y se abulta a veces con depósitos oscuros extracelulares. Micelio aéreo y derivados de una célula dictyochlamydo spora sola con frecuencia micropicnidio fértiles miden de 20 a 50 μ de diámetro. Conidios de color de rosa primero y más tarde oscurece hasta convertirse en oliváceo-marrón. Conidios de tamaño, forma y dimensiones variables, sobre todo ovoide-elipsoide, a veces ligeramente curvadas de, (3,5-) 4-4.8.5 (-10) x 1,5-3 (-3,5) μ hialina, pero al madurar se tornan de a olivo pálido-marrón y con consistencia rugosa. Dictyosporous-clamidosporas de forma y dimensiones muy variables, generalmente multicelulares, a veces unicelulares. Pero por lo general las cadenas están ramificadas de 2 hasta 20 elementos, alternados, pálidos al principio y rugosos, de color marrón oscuro a negro de (18 -) 30-65 (-80) x (12 -) 15-25 (- 35) μ . (Boerema y Gruyter, 2004).

1. a. Colonias que producen picnidios además clamidosporas multicelulares se asemejan a la conidios de *Alternaria* en la alternancia típica irregular, a veces el aspecto es de un pseudoesclerocios: pseudosclerotio, a menudo también se producen clamidosporas unicelulares (fig.24-28) 2
2. a. Clamidosporas Pseudosclerotio ausente 3
3. b. Las colonias no pigmentadas de color azul 4
4. a. Picnidios glabros 5
5. a. clamidosporas multicelulares alternarioides típicas de Dictiosporas o fragmosporas,

en su mayoría terminales (concatenados), pero a veces también intercalados
6

6. a. clamidosporas multicelulares frecuencia concatenadas y Dictiosporas explícitamente (clamidosporas solitaria, Dictiosporas también presente). 7

7. a. Abundante producción de cadenas de clamidosporas alternarioides, sin clamidosporas unicelulares; picnidios constantes; conidios unicelulares, sobre todo de 4-8,5 x 1,5-3µm.....*Phoma glomerata* (Boerema y Gruyter, 2004).

8. Glosario

Clamidosporas: espora de origen asexual, recubierta por una pared celular recia y de tipo perdurable, que funciona como espora de resistencia o latencia; respecto a su ontogenia, las clamidosporas se consideran como conidios holotáticos pero su función es de sobrevivencia más bien propagativa. En el pasado este término fue incorrectamente aplicado a las teliosporas de los hetero basidiomicetes, las cuales son de origen sexual. Muchos hongos forman clamidosporas de algún tipo, incluyendo, p. ej., Mucorales (*Mucor racemosus*), *Fusarium oxysporum* y *Harposporium anguillulae*, *Candida albicans*, y *Phoma eupyrena* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Dictyochlamydospora: clamidospora dictiosporica, es decir, con septos transversales y longitudinales, semejando una red como las clamidosporas que forman *Verticillium chlamydosporum* y *Phoma glomerata*. También se le llama clamidospora alternarioide, debido a su semejanza con los conidios de *Alternaria*. Una característica distintiva de esta clamidospora multicelular es que la capa externa de la pared celular es separable de las otras capas que la componen (Ulloa y Hanlin, 2006).

Filiforme: de forma de hilo, fino y delgado, como una fibrilla de lino, como las ascosporas de *Epichloe tyhina* y *Ophiodothella*, los ápices de las ascosporas de *Cercophora palmicola*, y los beta conidios de *Phomopsis* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Glabro: carente de pelo, calvo, lampiño (Ulloa y Hanlin, 2006).

Picnidio: cuerpo fructífero asexual, generalmente esférico u obpiriformes, con una cavidad interna forrada con conidióforos característicos de los hongos asexuales esferopsidaceos, como *Phoma*, *Phomopsis*, *Pyrenochaeta* y *Botryodiplodia* (Ulloa y Hanlin, 2006).

9. Bibliografía

- Barnett, H.L. and Hunter B.B. 1987. Ilústrate Genera of imperfect fungí. 4 ediciones. Macmillan publishing company. USA. 218 Pag
- Ulloa, M y Hanlin, T. R. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. Estados Unidos APS press The American Phytopathological Society. Pp. 671.
- Boerema, G. H., de Gruyter J., Noordeloos M. E. and Harmes M.E.C. *Phoma* Identification Manual: Differentiation of specific and infra-specific taxa in culture. 2004. CABI Publishing. 216 Pag.
- Taxonomy Browser (NCBI) disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=749588&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11

3.2.1. Ficha electrónica morfológica

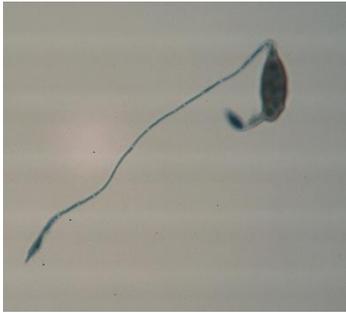
1. *Alternaria alternata* (Fe.) Keissler

Torula alternata Fr., 1832

Alternaria tenuis C. G. Ness, 1916/17

Taxonomía

Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Pleosporomycetidae; Pleosporales; Pleosporineae; Pleosporaceae; mitosporic Pleosporaceae; Alternaria.



24hrs. germinación y por gemación desarrollo de conidios. 40x



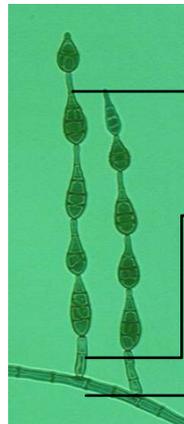
48 hrs. desarrollo del micelio, diferenciación del conidióforo y de conidios. 40x



72 hrs. gemación de conidios en cadenas. 40x



96 hrs. Cadenas de conidios de hasta 7. 40x



Conidios en cadena por gemación

Conidióforo

Micelio septado

1.1 Colecta

Colecta no. 3.4

Localidad 5 km al Chapeteado

Maleza *Typha domingensis*

Predio canales de riego

1.2 Fecha

18 de junio 2010



1.3.- Caracterización del síntoma en campo

Manchas necróticas que se encuentran distribuidas por toda la hoja, en el haz y en el envés se observa una marchitez total de la hoja cuando se desarrolla el síntoma



2. Análisis de colecta en laboratorio

f) Descripción general del síntoma

Forma: estrías

Tamaño de 5 a 10 cm.

Ubicación: en el haz

g) Características del signo.



Signo	Fructificación	Acervulo	
Oídio o cenicilla polvosa		Esporodoquio	
Mildiu o cenicilla vellosa	Asexual	Picnidio	
Roya blanca o mal de cal		Monilial	x
Roya		Micelio esteril	
Carbón			
Fumagina		Cleistotecio	
Zoogleas	Sexual	Apotecio	
		Peritecio	
Puntuaciones negras		Acostroma	
		Otras características	
Eflorescencias grisáceas	Somática	Micelio Cenocítico	
		Micelio Septado	x
	Reproductivas	Conidióforos simples	x
		Conidióforos ramificados	

Tipo de conidios: Dictiosporas

3.-Medio de cultivo.

- PDA
- V₈A

4.- Técnica de aislamiento.

- Aislamiento directo
- Partes vegetales en medio de cultivo

5. Características culturales de la colonia en el aislamiento

En medio de cultivo PDA y a 25°C se forma una Ascomata de micelio de color gris claro con un crecimiento rápido llenando la caja en 1 semana, en V₈A con las mismas condiciones de temperatura se observa la rápida diferenciación de conidios, no se nota la Ascomata debido a las características del medio.

6. Técnicas de identificación.

6.1. Microcultivo

Se montaron 4 microcultivos para caracterizar el desarrollo del hongo a las 48 hrs. se tenía la estructura completa; micelio septado con células basales diferenciando conidióforos que a su vez generaban conidios septados, a las 72 hrs se cuenta con la estructura completa y las 96 hrs. se observan cadenas de hasta 7 conidios.

7. Descripción del género

Hongo filamentoso con conidióforos simples, tabicados, en cuyo extremo se forman unos conidios muriformes, de color pardo, con septos transversales y verticales de disposición irregular. Por gemación de la célula apical se genera un nuevo conidio, formándose largas cadenas de 10 o más conidios (Barnett y Hunter, 1987 y Kiffer y Marlet, 1997).

1 conidios dictyate	25
25 (1) conidióforos macronematous	26
26 (25) conidióforos con un crecimiento subterminal	27
27 (26) conidios en forma cónica, a veces en cadenas.....	<i>Alternaria</i> (Kiffer y Marlet, 1997).

7.1. Clave morfológica

Las colonias generalmente de color negro o negro olivácea, gris a veces. Conidióforos surgen solos o en grupo pequeño, sencillo o ramificado, recto o sinuoso, a veces geniculado, pálido a mediados olivácea de espesor con una o varias cicatrices conidiales. Conidios formados a lo largo, a menudo ramificado en cadenas, obclavados, obpiriformes, ovoide o elipsoidal, a menudo con un pico corto cónico o cilíndrico, a veces, pero no más de un tercio de la longitud de los conidios, pálido a café, lisa o verruculosa, con hasta 8 conidios transversales y por lo general varios septos longitudinales u oblicuas, longitud total 20 a 63 (37) μ, 9 - 18 (13) μ de espesor en la parte más ancha, pálida pico, 2-5 μ de espesor.....*Alternaria alternata*
(Holliday, 1980)

8. Glosario

Conidióforo: hifa, simple o ramificada, que esta morfológica y/o fisiológicamente diferenciada de una hifa somática para producir y portar conidios; estos se encuentran

generalmente sobre células conidiógenas especializadas, las cuales se pueden disponer de muy diversas maneras. Para algunas especies los términos conidióforo y célula conidiógenas se aplican indistintamente. Se pueden encontrar ilustraciones de conidióforos en las figuras correspondientes a diferentes tipos de conidios) p. ej. *Artrospora* meristemática, blastospora, blastospora meristemática y catenulado), de ciertos tipos de ramificación de conidióforos (p. ej. biverticiliado, monoverticiliado, triverticiliado y poliverticiliado), o de otras estructuras relacionadas a conidióforos (Ulloa, 2006).

Conidios: espora asexual nucleada, inmóvil, que generalmente se forma en el ápice o a un lado de una célula esporogena especializada. Los conidios son de 2 tipos básicos, blastico y talico. Los conidios blasticos (la mayoría) son generados de novo, mientras que los talicos se forman a partir de células hifales preexistentes. Los conidios pueden ser uni-, bi-, o multicelulares, secos o mucosos, pero nunca quedan contenidos en una estructura con pared celular o periodo rígido, como si ocurre con las esporangiosporas. Los conidios son las esporas asexuales de los ascomicetes y basidiomicetes; típicamente se han agrupado en los deuteromicetes, ahora denominados hongos mitospóricos (Ulloa, 2006).

Elipsoidal: se dice de un cuerpo sólido que forma una elipse en el plano longitudinal y un círculo en corte transversal. Muchas esporas fúngicas son elipsoides (Ulloa y Hanlin, 2006).

Geniculado: que tiene articulaciones semejantes a rodillas o codos; 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, como se ve en el estado Drechslera de *Cochliobolus bicolor* (Pleurales), y en *Helminthosporium*, *Alternaria* y *Cercospora*, entre muchos otros hongos asexuales dermatiaceos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Obclavados: de forma de clava o porra, pero con la parte ancha en la base, como los conidios de *Triramulispora obclavata* y los sinemas de *Beauveria cretácea* y *Meria coniospora* (hongos asexuales monilaceos) y los queilocistidios de *Mycena sanguinolenta* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Obpiriformes: de forma de pera invertida, es decir, con la parte más ancha en la base, inversamente piriforme, como el primordio del sorocarpo de *Dictyostelium discoideum* y la mayoría de los picnidios y peritecios (Ulloa, 2006).

Ovoide: estructura sólida con la forma de un huevo (Ulloa y Hanlin, 2006).

9. Bibliografía

- Barnett, H.L. and Hunter B.B. 1987. Ilústrate Genera of imperfect fungí. 4 ediciones. Macmillan publishing company. USA. 218 Pag
- Holliday P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Gran Bretaña. Cambridge University press. Pp. 607.
- Kiffer E. and Marlet M. 1997. The Deuteromycetes. Science publisher's inc. USA. 293 Pag.
- Ulloa, M y Hanlin, T. R. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. Estados Unidos APS press The American Phytopathological Society. Pp. 671.

- Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5599&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>. Consultada el 27/08/11

ANEXOS

Es un saprófito muy común que se encuentran en muchos tipos de plantas y otros sustratos como alimentos, suelo y tejidos; es cosmopolita.

Este hongo es frecuentemente mencionado en la literatura patológica atacando hojas y fruto de varias plantas causando manchas o pudrición de la fruta. En casi todos los casos se comporta como un parásito de heridas (Saad et al. 1969b encontró que tanto la penetración directa y estomas puede ocurrir) o invadir un anfitrión que es fisiológico o patológico debilitado. El patógeno que causa la mancha marrón de tabaco ha sido denominado. *A. alternata* (*A. longipes* q. v., Lucas). Grogan et al. Describe una raza distinta causando un cancro del tallo del tomate.

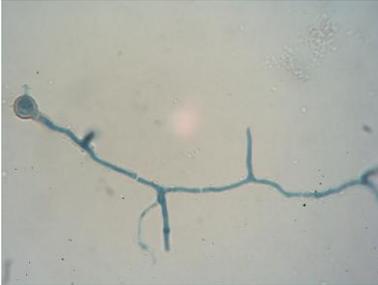
Ejemplos de patogenicidad se dan para algunos cultivos: Brassica, cítricos, algodón, *Cyamopsis tetragonoloba* (frijol de racimo), frijol, girasol, berenjena, pimiento rojo y tomate. D. Singh et al. Describen la infección interna de semillas de girasol.

3.2.2. Ficha electrónica morfológica

1. *Aspergillus niger* van Tieghem

Taxonomía

Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Trichocomaceae; mitosporic Trichocomaceae; Aspergillus



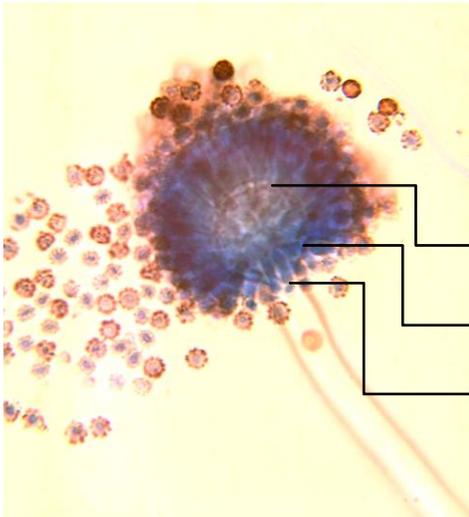
Germinación a las 6hrs. 40x



Desarrollo del micelio y diferenciación del conidióforo. 40x

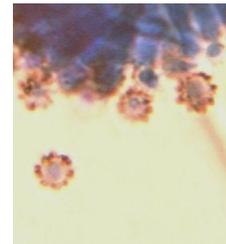


Desarrollo del conidióforo, cabezuela y metulas a las 18 hrs. 40x



A las 24 hrs se observa la cabezuela
Desarrollada nótese las metulas sosteniendo
A las fiálides que contienen a los conidios
En cadena.

→ **Cabezuela**
→ **Metula**
→ **Fiálide**



Conidios

1.1. Colecta

Colecta no. 3.5

Localidad 5 km al Chapeteado

Maleza Typha domingensis

Predio canales de riego

1.2. Fecha

18 de junio 2010



1.3.- Caracterización del síntoma en campo

Se observa un rayado en ambos costados de la hoja hacia el centro va del ápice al tallo, de color rojizo en la parte atacada y amarillo en la parte que está siendo atacada



2. Análisis de colecta en laboratorio

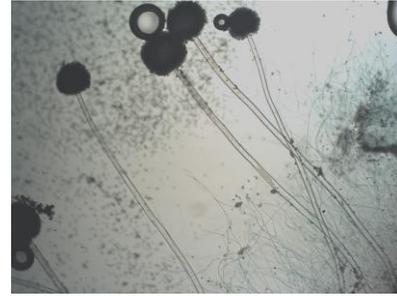
f) Descripción general del síntoma

Forma: rayado o estrías

Tamaño 30cm. de largo

Ubicación: En el haz y en el envés

g) Características del signo.



Signo		Fructificación	Acervulo	
Oídio o cenicilla polvosa			Esporodoquio	
Mildiu o cenicilla vellosa		Asexual	Picnidio	
Roya blanca o mal de cal			Monilial	X
Roya			Micelio esteril	
Carbón				
Fumagina			Clestotecio	
Zoogleas		Sexual	Apotecio	
			Peritecio	
Puntuaciones negras	x		Acostroma	
			Otras características	
Eflorescencias grisáceas		Somática	Micelio Cenocítico	
			Micelio Septado	X
	Reproductivas	Conidióforos simples	X	
		Conidióforos ramificados		

Tipo de conidio: Amerosporas

Se observa el signo como puntuaciones negras pero bajo el microscopio estereoscópico se ven como alfileres. Al realizar una preparación temporal se observa un micelio blanquizo, generando unos conidióforos translucido que sostienen cabezuelas con conidios en cadena de color café-marrón.

3.-Medio de cultivo.

- PDA
- V₈A

4.- Técnica de aislamiento.

- Cámara húmeda
- Partes vegetales en medio de cultivo

5. Características culturales de la colonia en el aislamiento

En cajas de petri con medio de cultivo PDA a 24 °C se observa un rápido desarrollo de la colonia, llenando la caja en una semana, bajo microscopio estereoscópico se ve un micelio incoloro y unos pequeños alfileres marrones que sobresalen del medio el conidióforo que los sostiene es incoloro, al agitarse la caja se aprecia el desprendimiento de los conidios como polvo negro.

6. Técnicas de identificación.

6.1. Microcultivo

Al desarrollarse tan rápido el hongo se detuvo el Microcultivo cada 6 hrs ya que a las 18 hrs se obtiene la esporulación del hongo pieza fundamental para la identificación morfológica

7. Descripción del género

Colonias fusionadas, de varios colores, a menudo verde o amarillento, y a veces marrón o negro. Micelio sumergido y superficial en partes. Sin estromas. Conidióforos a partir de una sola célula rectos o sinuosos e incoloros, y con la parte superior a menudo marrón oscuro, la vesícula es esférica o claviforme generalmente lisa e hinchada cubiertas de cadenas cortas o largas sostenidas por fialides en algunas especies. Las cadenas son de 1 o varias series terminales siempre llevan fialides. Fialides a partir de una célula se encuentran en la vesícula junto a los extremos de las ramas terminales o sobre la superficie de la vesícula. Conidios que constituyen cadenas secos, semi-endógenos o acrogenos, esféricos de varios colores, lisos, rugosos, cubiertos a veces con espinas septadas en espiral. (Sivanesan A. 1990, Barnett y Hunter, 1987., Raper y Fenell, 1965).

1 2 hyphales	
2 (1) hongo hialino	3
3 (2) conidios unicelulares	4
4 (3) conidios en cadenas	26
26 (4) Se agrupan en fialides	29
29 (26) fialides agrupados en una protuberancia terminal	30
30 (29) fialides producidos simultáneamente en una ampolla terminal de conidióforos.....	<i>Aspergillus</i>
(Kiffer y Marlet, 1997, Sivanesan A. 1990)	

7.1. Clave morfológica

Las colonias están constituidas de un micelio blanco algo amarillento que tiende a oscurecerse en la parte superior por el desarrollo de los conidios, pero caracterizado de vez en cuando por la presencia de esclerotia, cerca de 1 mm. De diámetro generalmente con una superficie generalmente plana incluso polvoriento o granulada, demostrando a veces la división en zonas concéntricas. Los conidióforos son lisos e hialinos incoloros del ápice hasta la vesícula miden hasta 3 mm. X 15-20µ diam.; vesículas globosas que miden hasta 75µ de diam. A menudo pequeños con una gran cantidad de conidios; las metulas y las fialides se originan de la cabezuela aunque inmaduras presentan metulas pero no fialides pero cuando estos son maduros generalmente mide de 20-30µ de largo y en cabezuelas no maduras son relativamente pequeñas; fialides uniformes en su longitud generalmente de 7-10µ x 2-3µ; conidios globosos a menudo ásperos o rugosos miden de 4-5µ diam., muy oscuras. Caracterizado por el color negro de los conidios y el blanco del micelio es el más común de una serie grande de *Aspergillus* pero se distinguen por la presencia de metula y fiálide (Sivanesan A. 1990, Holliday, 1980).

Esterigmas en una sola serie, predominantes las de dos series, o bien con ambas formas en la misma cabezuela.

A. Cabezuelas generalmente globosas y radiadas cuando son jóvenes y cuando maduran las cadenas se separan en grupos; raramente, pero se encuentran, cabezuelas en forma columnar no compacta; vesículas globosas, subglobosas o un poco alargadas; conidióforos sin constricción debajo de la vesícula, en muchas especies se presentan esclerocios.

1. Cabezas conidiales globosas cuando son jóvenes en algunas especies esta condición prevalece, sin embargo, hay especies en que la cadena de conidios, se separan formando columnas bien definidas cuando son viejas.

(b). cabezuelas en tonos de negro; usualmente lisos e incoloros o bien pigmentados; debajo de la vesícula.....*Aspergillus niger*.

(Sivanesan A. 1990)

8. Glosario

Coremia: manojito erecto de conidióforos flojamente unidos, con el ápice parecido a una escoba, como el de *Penicillium claviforme* (hongos asexuales moniláceos). Es un tipo de sinema (Ulloa y Hanlin, 2006).

Cabeza conidial: parte superior de un conidióforo donde se producen las células conidiógenas; p. eje., en *Aspergillus*, la cabeza conidial consiste en una vesícula sobre cuya superficie se forma fialides (células conidiógenas) o metulas y fialides dependiendo de la especie (Ulloa y Hanlin, 2006).

Fiálide: tipo de célula conidiógena, de forma de botella, que produce conidios blasticos (fialoconidios o fialosporas) es sucesión basípeta a partir de un locus (monofialide monofialide < gr. monos, solo, unico; es decir con una abertura) o varios loci (polyfialide < gr. polys, muchos), sin que haya un aumento en la longitud de la fiálide misma. Las fialides son las células conidiógenas más comunes entre los hongos conidiales, como *Aspergillus*, *Dendrodochum*, *Paecilomyces* (hongos asexuales moniláceos), *Chalara* (hongos asexuales dermatiáceos), *Fusarium* (hongos asexuales tuberculariáceos), y muchos gen. Mas (Ulloa y Hanlin, 2006).

Metula: ramita del conidióforo que origina fialides o células conidiógenas, como se observa en el género *Penicillium* y *Gliocladium* entre otros también se le denomina profialide, puesto que se halla debajo de la fiálide (conocido también por esterigma primario) (Ulloa y Hanlin, 2006).

Vesícula: recipiente o bolsa en forma de ampolla, organelo intracelular asociado al retículo endoplasmático (Ulloa y Hanlin, 2006).

9. Bibliografía

- Barnett, H.L. and Hunter B.B. 1987. Ilústrate Genera of imperfect fungí. Macmillan publishing company. USA. 218 Pag.
- Sivanesan A. 1990. Mycopathologia. C.M.I Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 94. Kluwer Academic Publishers. Printed in Belgium.
- Holliday P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Gran Bretaña. Cambridge University press. Pag. 607.
- Kiffer E. and Marlet M. 1997. The Deuteromycetes. Science publisher's inc. USA. Pag. 293.
- Ulloa, M y Hanlin, T. R. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. Estados Unidos APS press The American Phytopathological Society. Pag. 671.
- Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5052&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el27/08/11

ANEXOS

Es un saprofito en el suelo y en materia vegetal en decaimiento también causa enfermedades al hombre y a animales:

En plantas provoca la putrefacción de la corona del cacahuate esta es la enfermedad más seria ocasionada por *Aspergillus niger* invade los hipocotíleos y las raíces de las plantas en semilleros.

Otras enfermedades enumeraron por Raper y Fenell (1965) incluye una putrefacción del vástago del *Dracaena*; una putrefacción de *Sanserviera*; y una putrefacción de la cápsula del algodón.

Distribución geográfica: por todo el mundo

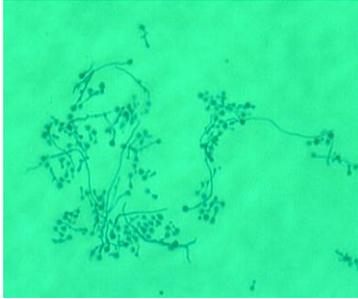
Transmisión: aire y suelo-llevado.

3.2.3. Ficha electrónica morfológica

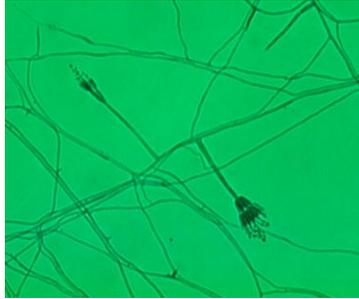
1. *Penicillium expansum* Link ex F. S. Gray

Taxonomía

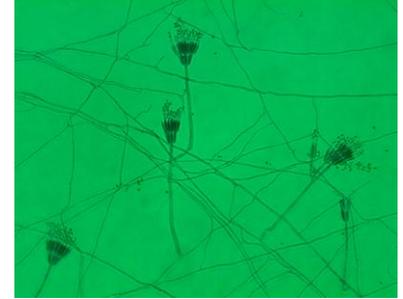
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Eurotiomycetes; Eurotiomycetidae; Eurotiales; Trichocomaceae; mitosporic Trichocomaceae; Penicillium



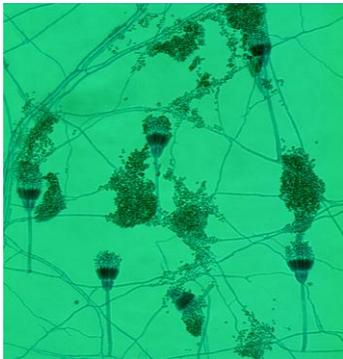
Germinación de los conidios a las 24 hrs. 40x



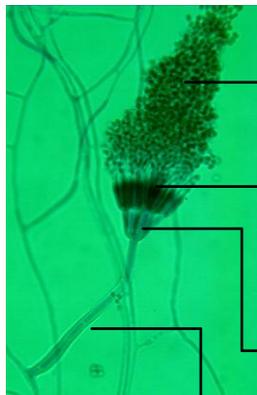
Desarrollo del micelio, conidióforo, metulas y fialides a las 48hrs. 40x



A las 72 hrs. Se observa la estructura completa. 40x



A las 96 hrs se observa gran abundancia de conidios y la repetición del ciclo. 40x



Penicillium triverticiliado

Conidios en cadena

Fialides

Metula

Conidióforo

1.1 Colecta

Muestra no. 4.1

Localidad Costa Rica

Maleza *Typha domingensis*

Predio: canales de riego

1.2 Fecha

18 de junio 2010

1.3.- Caracterización del síntoma en campo

Manchas necróticas que al desarrollarse forman un abigarrado, forma irregular de color café rojizo en el centro y amarillento en el borde de la mancha se observa el daño en el haz y en el envés.



2. Análisis de colecta en laboratorio

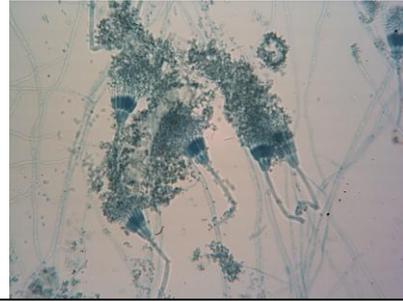
f) Descripción general del síntoma

Forma: mancha semi-ovada

Tamaño de 1-3 cm. de diámetro

Ubicación: solo en el haz

g) Características del signo.



Signo	Fructificación		
Oídio o cenicilla polvosa		Acervulo	
Mildiu o cenicilla vellosa	Asexual	Esporodoquio	
Roya blanca o mal de cal		Picnidio	
Roya		Monilial	X
Carbón		Micelio esteril	
Fumagina		Clestotecio	
Zoogleas	Sexual	Apotecio	
		Peritecio	
Puntuaciones negras		Acostroma	
		Otras características	
Eflorescencias grisáceas	Somática	Micelio Cenocítico	
		Micelio Septado	X
	Reproductivas	Conidióforos simples	
		Conidióforos ramificados	X

Tipo de conidia: Amerosporas

En preparaciones temporales en el signo se observa una gran cantidad de conidios y un micelio muy escaso que genera conidióforos que sostienen brochas de donde se originan los conidios.

3.-Medio de cultivo.

- PDA

4.- Técnica de aislamiento.

- Cámara húmeda
- Partes vegetales en medio de cultivo

5. Características culturales de la colonia en el aislamiento

En caja de petra con medio de cultivo PDA a 24 °C se observa un micelio sumergido con un gran número de esporas aterciopeladas de color verde oscuro, el crecimiento es algo lento, tardándose una semana en cubrir la caja.

6. Técnicas de identificación.

6.1. Microcultivo

Se preparo el material biológico para ser detenido cada 24 hrs. Obteniendo el desarrollo completo del hongo a las 96 hrs. Cabe mencionar que las estructuras reproductivas comienzan a desarrollarse a las 48 hrs. Y a las 72 hrs. Se tiene las ramas, metula y fiálide completamente desarrollada así como unas cadenas cortas de conidios.

7. Descripción del género

micelio vegetativo incoloro, o pálido o de colores brillantes, septadas, o su mayor parte sumergida o parcialmente sumergida y en parte aérea, con la parte aérea de cerca enmarañado, flocosa libremente, total o parcialmente como cuerdas de hyphae. conidióforos se derivan, más o menos perpendicular, hifas sumergidas o aéreas, ya sea individual una de otra o en algún grado agregadas en fascículos o compactados en coremias definitivas, septadas, lisas o rugosas, que termina en una espiral de escoba como de manojos (*Penicillium*), esta última consiste en una espiral única de esporas órganos de rodamiento (fiálides), o dos veces a varias veces ramificadas verticiliadas con los sistemas de ramificación simétrica o asimétrica, las ramas final es el fiálide. Conidios producidos por abscisión, formando cadenas no ramificado, globoso, ovoide, elíptica o piriforme, lisa o rugosa, en la mayoría de los casos durante el crecimiento verde e incoloro, pero a veces o en otros colores pálidos. Peritecios producida por algunas especies, ya sea como esclerocios, maduración tardía desde el centro hacia fuera. O blanda, de maduración rápida. Esclerocios producen por varias spp. En *Penicillium*, una etapa de ramificación de los manojos que lleva el fiálides son (como en *Aspergillus*) llamado Metula. Las ramas de apoyo a la Metula relativamente cortos, parte de la de las ramas se conocen como *Penicillium* (Kiffer y Marlet, 1997., Sivanesan A. 1990, Barnett y Hunter, 1987).

1 2 hyphales	
2 (1) hongo hialino	3
3 (2) conidios unicelulares	4
4 (3) conidios en cadenas	26
26 (4) agrupados en fialides	29
29 (26) fialides agrupados en formas diferentes	31
31 (29) fiálides en cepillo terminal	
32	
32 (31) Las masas de conidios verdoso y azulado	<i>Penicillium</i>
(Kiffer y Marlet, 1997, Sivanesan A. 1990).	

7.1. Clave morfológica

Cabezas conidiales asimétricas, una o dos veces ramificada, teniendo largas cadenas enredadas de conidios. Conidióforos lisos en algunas cepas ligeramente ásperos, moderadamente largos de hasta 400µ pero en ocasiones hasta 600-700µ de largo x 3-3.5µ ramas de 15-25 x 2.5-3.5µ, a veces mas, metulas originadas de la ramas más o

menos al mismo nivel de 3-6 en número alrededor de 10-15 x 2-3 μ ; fialides en grupos de 5-9 miden cerca de 8-12 x 2-2.5 μ ; conidios lisos elípticos a redondos cuando se forman por primera vez por lo general quedan elípticos miden de 5.4 x 2.5-3.5 μ*Penicillium expansum*
(Sivanesan A. 1990)

8. Glosario

Coremia: manojito erecto de conidióforos flojamente unidos, con el ápice parecido a una escoba, como el de *Penicillium claviforme* (hongos asexuales moniláceos). Es un tipo de sinema (Ulloa y Hanlin, 2006).

Fiálide: tipo de célula conidiógena, de forma de botella, que produce conidios blásticos (fialoconidios o fialosporas) es sucesión basípeta a partir de un locus (monofialide monofialide < gr. monos, solo, unico; es decir con una abertura) o varios loci (polyfialide < gr. polys, muchos), sin que haya un aumento en la longitud de la fiálide misma. Las fialides son las células conidiógenas mas comunes entre los hongos conidiales, como *Aspergillus*, *Dendrodochum*, *Paecilomyces* (hongos asexuales moniláceos), *Chalara* (hongos asexuales dermatiaceos), *Fusarium* (hongos asexuales tuberculariáceos), y muchos gen. Mas (Ulloa y Hanlin, 2006).

Metula: ramita del conidióforo que origina fialides o células conidiógenas, como se observa en el género *Penicillium* y *Gliocladium* entre otros también se le denomina profialide, puesto que se halla debajo de la fiálide (conocido también por esterigma primario) (Ulloa y Hanlin, 2006).

Vesícula: recipiente o bolsa en forma de ampolla, organelo intracelular asociado al retículo endoplasmático (Ulloa y Hanlin, 2006).

Verticilado: tipo de ramificación en que las ramas (pedicelos, metulas, fialides, etc.) nacen a un mismo nivel en la hifa o soporte (esporangióforos, conidióforo, etc.) y crecen oblicuamente hacia arriba con respecto al eje central, generalmente alcanzando la misma longitud y rodeando a la hifa o soporte, como se ve, p. ej., en el esporangioforo de *Scopulariopsis* y *Verticillium* (hongos asexuales moniláceos). El último género debe su nombre a esta característica. Cf. Monoverticiliado, biverticiliado, triverticiliado y poliverticilado (Ulloa y Hanlin, 2006).

9. Bibliografía

- Barnett, H.L. and Hunter B.B. 1987. Ilústrate Genera of imperfect fungí. 4 ediciones. Macmillan publishing company. USA. 218 Pag
- Sivanesan A. 1990. Mycopathologia. C.M.I Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 97 Kluwer Academic Publishers. Printed in Belgium.
- Holliday P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Gran Bretaña. Cambridge University press. Pag. 607.
- Kiffer E. and Marlet M. 1997. The Deuteromycetes. Science publisher's inc. USA. 293 Pag.
- Ulloa, M y Hanlin, T. R. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. Estados Unidos APS press The American Phytopathological Society. Pag. 671.
- Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5073&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11

ANEXOS

Comúnmente se le encuentra en el suelo y en una gran cantidad de materiales orgánicos incluyendo granos y productos de cereales, generalmente se encuentran como moho en manzanas también se encuentra en otros frutos pomáceos como cerezas, uvas, aceitunas, piñas, cítricos y aguacate

Enfermedades: el moho azul de la manzana (pudrición blanda) se caracteriza por la formación de áreas aguadas de color café, o amarillenta, que pueden proceder de cualquiera de los extremos del tallo o cáliz. Una podredumbre parda suave que se desarrolla rápidamente destruyendo la fruta entera. Más tarde, bajo condiciones de humedad, aparecen mechones de conidióforos que conidios azul-verdes que aparecen en la superficie del fruto dando un olor a moho característico.

Distribución geográfica: en todo el mundo

Transmisión: por el aire y por las esporas presentes en el suelo, especialmente en los huertos. El patógeno comúnmente entra por heridas y lesiones, pero también pueden penetrar lenticelas

3.2.4. Ficha electrónica morfológica

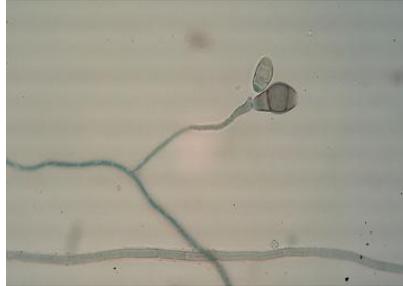
1. *Curvularia verruculosa* Tandon y Bilgrami ex MB Ellis

Taxonomía

Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Pleosporomycetidae; Pleosporales; Pleosporineae; Pleosporaceae; mitosporic Cochliobolus



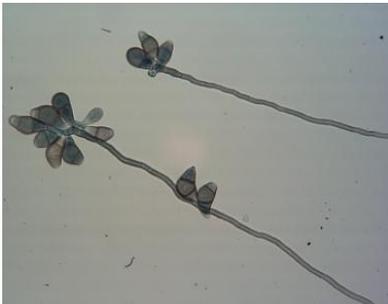
24 hrs. Germinación de conidios. 40x



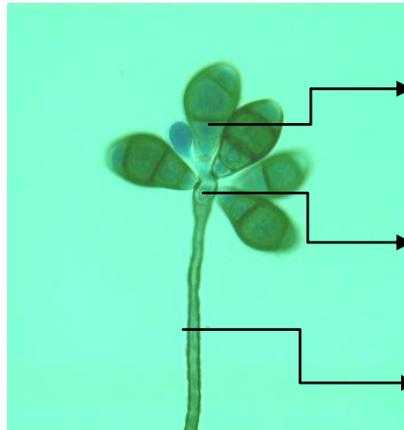
48 hrs. Desarrollo del micelio y del conidióforo. 40x



72 hrs. Conidios acropleurogenos desarrollados. 40 x



96 hrs. Conidióforo con 6-8 conidios reptados y curvos.40x



Conidio
Acropleurado curvo
Células conidiógenas
Conidióforo

1.1 colecta

Colecta no. 4.1

Localidad Costa Rica

Maleza *Typha domingensis*

Predio: canales de riego

1.2 Fecha

19 de junio 2010



1.3.- Caracterización del síntoma en campo

Manchas necróticas que al desarrollarse forman un abigarrado, forma irregular de color café rojizo en el centro y amarillento en el borde de la mancha se observa el daño en el haz y en el envés.



2. Análisis de colecta en laboratorio

f) Descripción general del síntoma

Forma: mancha semi-ovada

Tamaño de 1-3 cm. de diámetro

Ubicación: solo en el haz

g) Características del signo.



Signo	Fructificación	Acervulo	
Oídio o cenicilla polvosa		Picnidio	
Mildiu o cenicilla vellosa	Asexual	Esporodocio	
Roya blanca o mal de cal		Monilial	X
Roya		Micelio esteril	
Carbón			
Fumagina		Cleistotecio	
Zoogreas	Sexual	Apotecio	
		Peritecio	
Puntuaciones negras		Acostroma	
		Otras características	
Eflorescencias grisáceas	Somática	Micelio Cenocítico	
		Micelio Septado	X
	Reproductivas	Conidióforos simples	X
		Conidióforos ramificados	

Tipo de conidios: Fragmosporas

En preparaciones temporales se observa el desarrollo de micelio con células basales generando conidióforos que a su vez generan conidios acropleurados, septados y curvos.

3.-Medio de cultivo.

- PDA
- V₈A

4.- Técnica de aislamiento.

- Aislamiento directo
- Partes vegetales en medio de cultivo

5. Características culturales de la colonia en el aislamiento

En caja de petri con medio de cultivo PDA a 24 °C se observa un micelio en mata de Color marrón a negro que cubre la caja en 1 semana, bajo el microscopio estereoscópico se observan las conidios acropleurados típicos del género Curvularia. Colonias dispersas, pardas, grises o negras, mayormente pelosas en el substrato natural, algodonosas o aterciopeladas en cultivos puros. Micelio inmerso en el substrato.

6. Técnicas de identificación.

6.1. Microcultivo

Se realizaron 4 microcultivos que fueron detenidos cada 24 hrs. Con la finalidad de observar el desarrollo de la estructura completa, y determinar el número de conidios por conidióforos y la medida de los mismos nos determinan la especie.

7. Descripción del género

Estroma presente en algunas especies, erecto, cilíndrico, negro. Sin setas ni hifopodios. Conidióforos conspicuos, mononemáticos, usualmente simples, rectos o flexuosos, frecuentemente geniculados, en ocasiones nudosos, multiseptados, lisos, cilíndricos, pardos. Células conidiógenas integradas, terminales o intercaladas, cilíndricas, simpodiales, cicatrizadas, las cicatrices asociadas a poros. Nodos conidiógenos rugosos o lisos. Ontogenia conidial holoblástica por formación de pared apical. Maduración conidial sincrónica con la ontogenia conidial. Secesión conidial esquizolítica. Proliferación simpodial holoblástica o enteroblástica. Conidios acropleurogenos, fusiformes, obpiriformes, naviculares, oblongocilíndricos, obclaviformes, claviformes, ovoides, solitarios, curvos o rectos, mayormente lisos, raramente ornamentados, con 2 o más distoseptos, alguno de los cuales pueden estar engrosados y oscuros, pardo pálidos, pardo oliváceos, pardo rojizos o pardo oscuros, germinación polar con el tubo germinativo basal originado muy cerca del hilo y con crecimiento semiaxial, hilo ligeramente protuberante y truncado; primer septo conidial mediano a submediano, segundo septo delimitando la célula basal y tercer septo distal (Kiffer y Marlet, 1997., Sivanesan A. 1990, Barnett y Hunter, 1987., Holliday, 1980).

1 conidios simples o fragmentados	2
2 (1) Frangosporas	7
7 (2) conidióforos macronematous	8
8 (7) conidios solitarios (a veces en cadenas)	10
(8) conidios apicales y laterales (célula madre polytretica)	15
15 (10) crecimientos subterminal de conidióforos	17
17 (15) conidios euseptados, descolorida	18
18 (17) conidios con 3 o más tabiques, a menudo curvada y con más células de color claro en las extremidades	<i>Curvularia</i>

(Kiffer y Marlet, 1997, Sivanesan A. 1990).

7.1. Clave morfológica

Ascomata negra, globosas a subglobosas, 250-750 / m de diámetro, el desarrollo de una columna o estroma plana firmemente adherida a la superficie en la base, con picos que sobresalen, 190-625 x 90-225µ; la pared coriáceas carbonosos, pseudoparénquima. Ascas verticiladas, bifurcadas, cilíndrico-claviforme cilíndrica con un estipe corto se bifurcan, 1-8-esporas, 140-220 x 12-20 µ. Ascosporas incoloras o ligeramente pigmentado en la madurez, filiformes o flageliformes, 120 a 220 x 3,7-5 µ, 8-16 septadas, paralelas o ligeramente enrollado en espiral o rara vez en una hélice estrecha dentro del asca.

Conidióforos surgen solos o en grupos, sencillo o ramificado en raras ocasiones, rectas o curvas, a veces geniculado cerca de la punta, marrón a oscuro, variable multiseptada, de largo, de hasta 6 μ de espesor. Células conidiógenas cilíndricas, terminal integrado, e intercalares. Sobre todo de 3 conidios dictoseptadas, elipsoidales a fusiformes, con frecuencia la tercera celda de la base mucho más grande que los otros y desigual cara, dos células centrales más grandes que las células a fin, marrón oscuro células marrones terminal, subhialinas a marrón claro, 20 - 40 x 17.12 μ de espesor en la parte más ancha, verrugosa o áspera.....*Curvularia verruculosa* (Sivanesan A. 1990)

8. Glosario

Conidióforo: hifa, simple o ramificada, que esta morfológica y/o fisiológicamente diferenciada de una hifa somática para producir y portar conidios; estos se encuentran generalmente sobre células conidiógenas especializadas, las cuales se pueden disponer de muy diversas maneras. Para algunas especies los términos conidióforo y célula conidiógenas se aplican indistintamente. Se pueden encontrar ilustraciones de conidióforos en las figuras correspondientes a diferentes tipos de conidios) p. ej. *Artrospora meristemática*, *blastospora*, *blastospora meristemática* y *catenulado*), de ciertos tipos de ramificación de conidióforos (p. ej. *biverticiliado*, *monoverticiliado*, *triverticiliado* y *poliverticiliado*), o de otras estructuras relacionadas a conidióforos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Conidio: espora asexual nucleada, inmóvil, que generalmente se forma en el ápice o a un lado de una célula esporogena especializada. Los conidios son de 2 tipos básicos, *blastico* y *talico*. Los conidios *blasticos* (la mayoría) son generados *de novo*, mientras que los *talicos* se forman a partir de células hifales preexistentes. Los conidios pueden ser uni-, bi-, o multicelulares, secos o mucosos, pero nunca quedan contenidos en una estructura con pared celular o periodo rígido, como si ocurre con las *esporangiosporas*. Los conidios son las esporas asexuales de los *ascomicetes* y *basidiomicetes*; típicamente se han agrupado en los *deuteromicetes*, ahora denominados *hongos mitospóricos* (Ulloa, 2006).

Micelio: conjunto o masa de hifas que constituye el cuerpo vegetativo o talo de un hongo (Ulloa y Hanlin, 2006). *Simpodial*: que tiene o involucra la formación de un aparente eje principal a partir de ejes secundarios sucesivos, como el de los conidióforos de *Helminthosporium* y *Stacybotrys* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Holoblástica: conidiogénesis. Tipo de desarrollo conidial a partir de una porción de la célula conidiógenas en el que el primordio del conidio sufre un notorio agrandamiento antes de que dicho primordio sea delimitado por un septo. Cuando todas las capas de la pared de la célula conidiógenas están involucradas en la síntesis de la pared del conidio a este se le llama *holoblástica*, como sucede, p. ej., en *Acreminiella verrucosa* (Ulloa, 2006).

Acropleurógeno: que se origina en le ápice y después se vuelve hacia un costado debido al crecimiento indeterminado del ápice; p. ej., los conidios de *Trichothecium* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Fusiformes: como un huso, aguzado en los extremos. Como los conidios de *Paecilomyces fumosoroseus*, (hongos moniláceos) y fusarium (hongo asexual tuberculariáceos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Obpiriformes: de forma de pera invertida, es decir, con la parte más ancha en la base, inversamente piriforme, como el primordio del sorocarpo de *Dictyostelium discoideum* y la mayoría de los picnidios y peritecios (Ulloa y Hanlin, 2006).

Naviculares: de forma de barquita, como los macroconidios de *Fusarium* (hongos asexuales tuberculariáceos), las ascosporas de *Corollospora colosa* (Halosphaeriales), los pseudotecios (histerotecios) de los Loculoascomycetes de los ordenes Arthoniales y Patellariales, o como las basidiosporas de *Mycena láctea* y *Marasmius rotula* (Agaricales). También se llama carinado, cimbiforme y escafoides ((Ulloa y Hanlin, 2006).

Distoseptos: *hongos conidiales*. Tipo de conidio pluricelular en el que cada una de las células se hallan rodeada por una pared secundaria gruesa (distosepto), que es fácilmente desprendible de la pared externa del conidio, de manera que cuando se rompe la pared externa del mismo se separan las células de pared gruesa que estaban contenidas en él; p. ej., en *Drechslera avenae* y *Exserohilum rostratum* (Ulloa y Hanlin, 2006).

9. Bibliografía

- Barnett, H.L. and Hunter B.B. 1987. Ilústrate Genera of imperfect fungí. 4 ediciones. Macmillan publishing company. USA. 218 Pag
- Sivanesan A. 1990. Mycopathologia. C.M.I Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 1005. Kluwer Academic Publishers. Printed in Belgium.
- Holliday P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Gran Bretaña. Cambridge University press. Pp. 607.
- Kiffer E. and Marlet M. 1997. The Deuteromycetes. Science publisher's inc. USA. 293 Pag.
- Ulloa, M y Hanlin, T. R. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. Estados Unidos APS press The American Phytopathological Society. Pp. 671.
- Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5502&vl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11

ANEXOS

Hospederos: Avena, Arroz, trigo, sorgo, Typha y Zea.

Síntomas: manchas foliares, pudrición seca de la piña, también están asociados a pudrición de la corona del banano y el deterioro de semillas de caña de azúcar.

Transmisión: por el viento y semillas.

3.2.5. Ficha electrónica morfológica

1. *Alternaria alternata* (Fr.)

Torula alternata Fr., 1832

Alternaria tenuis C. G. Ness, 1916/17

Taxonomía

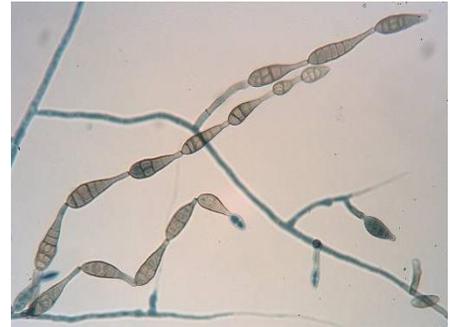
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Pleosporomycetidae; Pleosporales; Pleosporineae; Pleosporaceae; mitosporic Pleosporaceae; Alternaria.



Germinación bipolar de conidios a las 24 hrs. 40x



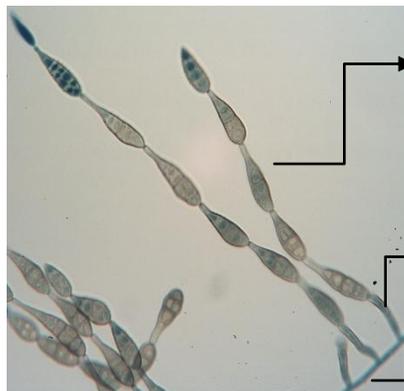
48 hrs. Desarrollo del micelio y conidióforos, conidios fragmentados y alternados.40x



72 hrs. Desarrollo de cadenas de hasta 7 conidios. 40x



96 hrs. Estructuras completamente diferenciadas.



Conidios fragmentados

Conidióforos

Micelio septado

1.1 Colecta

Muestra no. 4.2

Localidad Costa Rica

Maleza *Typha domingensis*

Predio canales de riego

1.2 Fecha

Fecha 18 de junio 2010



1.3.- Caracterización del síntoma en campo

Se observa un bandeo en los extremos de la hoja por el haz de color café rojizo y en el envés de color amarillo, al invadir la hoja la seca por completo se observa una alta severidad.



2. Análisis de colecta en laboratorio

f) Descripción general del síntoma

Forma: rayado o estrías

Tamaño de 15 a 20 cm. de largo

Ubicación: en el haz y envés

g) Características del signo.

Signo	Fructificación	Acervulo	
Oídio o cenicilla polvosa		Esporodoquio	
Mildiu o cenicilla vellosa	Asexual	Picnidio	
Roya blanca o mal de cal		Monilial	X
Roya		Micelio esteril	
Carbón			
Fumagina		Clestotecio	
Zoogleas	Sexual	Apotecio	
		Peritecio	
Puntuaciones negras		Acostroma	
		Otras características	
Eflorescencias grisáceas	Somática	Micelio Cenocítico	
		Micelio Septado	X
	Reproductivas	Conidióforos simples	X
		Conidióforos ramificados	

Tipo de conidios: Dictiosporas

En preparaciones temporales se observa conidios alternados típicos de Alternaria, se ve la presencia de micelio septado así como el desarrollo de conidióforos que sostiene a los conidios.

3.-Medio de cultivo.

- PDA
- V₈A

4.- Técnica de aislamiento.

- Aislamiento directo
- Partes vegetales en medio de cultivo

5. Características culturales de la colonia en el aislamiento

En medio de cultivo PDA y a 25°C se forma una Ascomata de micelio de color negro a marrón oscuro con un crecimiento alto en la caja, en V₈A con las mismas condiciones de temperatura se observa la rápida diferenciación de conidios, no se nota la Ascomata debido a las características del medio.

6. Técnicas de identificación.

6.1. Microcultivo

Mediante la elaboración de los microcultivos se logra definir el desarrollo somático y reproductivo del hongo a las 24 hrs. se tiene la germinación del conidio y el desarrollo del micelio a 48 hrs. se tiene la diferenciación del conidióforo y a 72 hrs el desarrollo de los conidios, a 96 hrs. se cuenta con los elementos necesarios para identificar al hongo.

7. Descripción del género

Hongo filamentoso con conidióforos simples, tabicados, en cuyo extremo se forman unos conidios muriformes, de color pardo, con septos transversales y verticales de disposición irregular. Por gemación de la célula apical se genera un nuevo conidio, formándose largas cadenas de 10 o más conidios (Holliday, 1980).

1 conidios dictyate	25
25 (1) conidióforos macronematous	26
26 (25) conidióforos con un crecimiento subterminal	27
27 (26) conidios en forma cónica, a veces en cadenas.....	<i>Alternaria</i>

(Kiffer y Marlet, 1997).

7.1. Clave morfológica

Las colonias generalmente de color negro o negro olivácea, gris a veces. Conidióforos surgen solos o en grupo pequeño, sencillo o ramificado, recto o sinuoso, a veces geniculado, pálido a mediados olivácea de espesor con una o varias cicatrices conidiales. Conidios formados a lo largo, a menudo ramificado en cadenas, obclavados, obpiriformes, ovoide o elipsoidal, a menudo con un pico corto cónico o cilíndrico, a veces, pero no más de un tercio de la longitud de los conidios, pálido a café, lisa o verruculosa, con hasta 8 conidios transversales y por lo general varios septos longitudinales u oblicuas, longitud total 20 a 63 (37) μ, 9 - 18 (13) μ de espesor en la parte más ancha, pálida pico, 2-5 μ de espesor.....*Alternaria alternata* (Kiffer y Marlet, 1997., Barnett y Hunter, 1987).

8. Glosario

Conidióforo: hifa, simple o ramificada, que esta morfológica y/o fisiológicamente diferenciada de una hifa somática para producir y portar conidios; estos se encuentran generalmente sobre células conidiógenas especializadas, las cuales se pueden disponer de muy diversas maneras. Para algunas especies los términos conidióforo y célula conidiógenas se aplican indistintamente. Se pueden encontrar ilustraciones de conidióforos en las figuras correspondientes a diferentes tipos de conidios) p. ej. Artrospora meristemática, blastospora, blastospora meristemática y catenulado), de ciertos tipos de ramificación de conidióforos (p. ej. biverticiliado, monoverticiliado, triverticiliado y poliverticiliado), o de otras estructuras relacionadas a conidióforos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Conidios: espora asexual nucleada, inmóvil, que generalmente se forma en el ápice o a un lado de una célula esporogena especializada. Los conidios son de 2 tipos básicos,

blastico y talico. Los conidios blasticos (la mayoría) son generados de novo, mientras que los talicos se forman a partir de células hifales preexistentes. Los conidios pueden ser uni-, bi-, o multicelulares, secos o mucosos, pero nunca quedan contenidos en una estructura con pared celular o periodo rígido, como si ocurre con las esporangiosporas. Los conidios son las esporas asexuales de los ascomicetes y basidiomicetes; típicamente se han agrupado en los deuteromicetes, ahora denominados hongos mitospóricos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Elipsoidal: se dice de un cuerpo solido que forma una elipse en el plano longitudinal y un círculo en corte transversal. Muchas esporas fúngicas son elipsoide (Ulloa y Hanlin, 2006).

Geniculado: que tiene articulaciones semejantes a rodillas o codos; 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, como se ve en el estado Drechslera de Cochliobolus bicolor (Pleorporales), y en *Helminthosporium*, *Alternaria* y *Cercospora*, entre muchos otros hongos asexuales dermatiaceos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Obclavados: de forma de clava o porra, pero con la parte ancha en la base, como los conidios de *Tiramulispora obclavata* y los sinemas de *Beauveria cretácea* y *Meria coniospora* (hongos asexuales monilaceos) y los queilocistidios de *Mycena sanguinolenta* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Obpiriformes: de forma de pera invertida, es decir, con la parte más ancha en la base, inversamente piriforme, como el primordio del sorocarpo de *Dictyostelium discoideum* y la mayoría de los picnidios y peritecios (Ulloa y Hanlin, 2006).

9. Bibliografía

- Barnett, H.L. and Hunter B.B. 1987. Ilústrate Genera of imperfect fungí. 4 ediciones. Macmillan publishing company. USA. 218 Pag
- Holliday P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Gran Bretaña. Cambridge University press. Pp. 607.
- Kiffer E. and Marlet M. 1997. The Deuteromycetes. Science publisher's inc. USA. 293 Pag.
- Ulloa, M y Hanlin, T. R. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. Estados Unidos APS press The American Phytopathological Society. Pp. 671.
- Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5599&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock> consultada el 27/08/11

ANEXOS

Es un saprófito muy común que se encuentran en muchos tipos de plantas y otros sustratos como alimentos, suelo y tejidos; es cosmopolita.

Este hongo es frecuentemente mencionado en la literatura patológica atacando hojas y fruto de varias plantas causando manchas o pudrición de la fruta. En casi todos los casos se comporta como un parásito de heridas (Saad et al. 1969b encontró que tanto la penetración directa y estomas puede ocurrir) o invadir un anfitrión que es fisiológico o patológico debilitado. El patógeno que causa la mancha marrón de tabaco ha sido denominado. *A. alternata* (*A. longipes* q. v., Lucas). Grogan et al. describe una raza distinta causando un cancro del tallo del tomate.

3.3.1. Ficha electrónica morfológica

1. *Alternaria alternata* (Fr.)

Torula alternata Fr., 1832

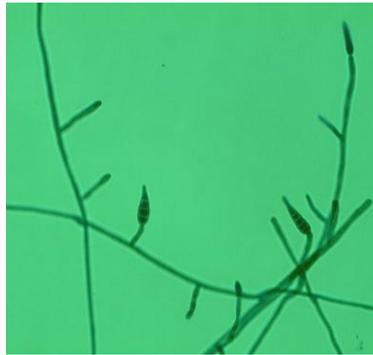
Alternaria tenuis C. G. Ness, 1916/17

Taxonomía

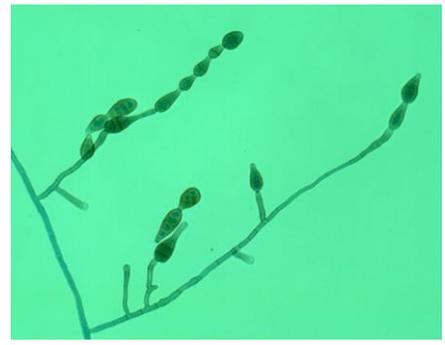
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Pleosporomycetidae; Pleosporales; Pleosporineae; Pleosporaceae; mitosporic Pleosporaceae; Alternaria.



24 hrs. germinación de conidios. 40x



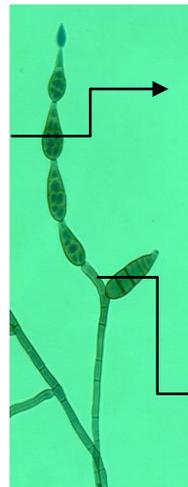
48 hrs. diferenciación del conidióforo y de conidios inmaduros. 40x



72 hrs. por gemación desarrollo de conidios en cadena. 40x



96 hrs. cadenas de hasta 5 conidios. 40x



Conidios alternados

Conidióforos

1.1 Colecta

Colecta no. 1.1

Localidad Cuautitlán

Maleza *Typha domingensis*

Predio canales

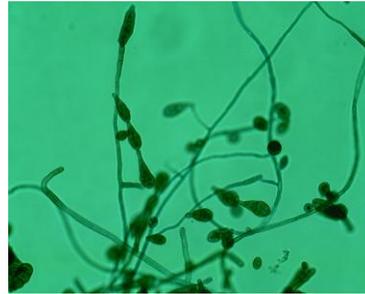
1.2 Fecha

18 de Agosto 2010



1.3.- Caracterización del síntoma en campo

Manchas necróticas que se encuentran distribuidas por toda la hoja, en el haz y en el envés se observa una marchitez total de la hoja cuando se desarrolla el síntoma



2. Análisis de colecta en laboratorio

f) Descripción general del síntoma

Forma: huso

Tamaño de 3 – 5 cm. de diámetro

Ubicación: en el haz y envés

g) Características del signo.

Signo		Fructificación	Acervulo	
Oídio o cenicilla polvosa			Esporodoquio	
Mildiu o cenicilla vellosa		Asexual	Picnidio	
Roya blanca o mal de cal			Monilial	x
Roya			Micelio esteril	
Carbón				
Fumagina			Cleistotecio	
Zoogleas		Sexual	Apotecio	
			Peritecio	
Puntuaciones negras			Acostroma	
			Otras características	
Eflorescencias grisáceas	Somática		Micelio Cenocítico	
			Micelio Septado	x
	Reproductivas		Conidióforos simples	x
			Conidióforos ramificados	

Tipo de conidios: Dictiosporas

Se llevan a cabo preparaciones temporales del signo y se observa micelio y conidios ovados con segmentación transversal y longitudinal típicos de *Alternaria*.

3.- Medio de cultivo.

- PDA

4.- Técnica de aislamiento.

- Aislamiento directo
- Partes vegetales en medio de cultivo

5. Características culturales de la colonia en el aislamiento

En PDA a 24^oc se observa una gran cantidad de micelio de color gris, desde el centro se ve la formación de anillos oscuros, bajo el microscopio estereoscópico se ven conidios alternados típicos del género *Alternaria*.

6. Técnicas de identificación.

6.1. Microcultivo

Se montaron 4 microcultivos para caracterizar el desarrollo del hongo a las 48 hrs. se tenía la estructura completa; micelio septado con células basales diferenciando conidióforos que a su vez generaban conidios septados, a las 72 hrs se cuenta con la estructura completa y las 96 hrs. se observan cadenas de hasta 7 conidios.

7. Descripción del género

Hongo filamentosos con conidióforos simples, tabicados, en cuyo extremo se forman unos conidios muriformes, de color pardo, con septos transversales y verticales de disposición irregular. Por gemación de la célula apical se genera un nuevo conidio, formándose largas cadenas de 10 o más conidios. (Holliday, 1980).

1 conidios dictyate	25
25 (1) conidióforos macronematous	26
26 (25) conidióforos con un crecimiento subterminal	27
27 (26) conidios en forma cónica, a veces en cadenas.....	<i>Alternaria</i> (Kiffer y Marlet, 1997).

7.1. Clave morfológica

Las colonias generalmente de color negro o negro olivácea, gris a veces. Conidióforos surgen solos o en grupo pequeño, sencillo o ramificado, recto o sinuoso, a veces geniculado, pálido a mediados olivácea de espesor con una o varias cicatrices conidiales. Conidios formados a lo largo, a menudo ramificado en cadenas, obclavados, obpiriformes, ovoide o elipsoidal, a menudo con un pico corto cónico o cilíndrico, a veces, pero no más de un tercio de la longitud de los conidios, pálido a café, lisa o verruculosa, con hasta 8 conidios transversales y por lo general varios septos longitudinales u oblicuas, longitud total 20 a 63 (37) μ , 9 - 18 (13) μ de espesor en la parte más ancha, pálida pico, 2-5 μ de espesor.....*Alternaria alternata*
(Kiffer y Marlet, 1997., Barnett y Hunter, 1987).

8. Glosario

Conidióforo: hifa, simple o ramificada, que esta morfológica y/o fisiológicamente diferenciada de una hifa somática para producir y portar conidios; estos se encuentran generalmente sobre células conidiógenas especializadas, las cuales se pueden disponer de muy diversas maneras. Para algunas especies los términos conidióforo y célula conidiógenas se aplican indistintamente. Se pueden encontrar ilustraciones de conidióforos en las figuras correspondientes a diferentes tipos de conidios) p. ej. *Artrospora* meristemática, *blastospora*, *blastospora* meristemática y *catenulado*), de

ciertos tipos de ramificación de conidióforos (p. ej. biverticiliado, monoverticiliado, triverticiliado y poliverticiliado), o de otras estructuras relacionadas a conidióforos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Conidios: espora asexual nucleada, inmóvil, que generalmente se forma en el ápice o a un lado de una célula esporogena especializada. Los conidios son de 2 tipos básicos, blástico y talico. Los conidios blásticos (la mayoría) son generados de novo, mientras que los talicos se forman a partir de células hifales preexistentes. Los conidios pueden ser uni-, bi-, o multicelulares, secos o mucosos, pero nunca quedan contenidos en una estructura con pared celular o periodo rígido, como si ocurre con las esporangiosporas. Los conidios son las esporas asexuales de los ascomicetes y basidiomicetes; típicamente se han agrupado en los deuteromicetes, ahora denominados hongos mitospóricos (Ulloa, 2006).

Elipsoidal: se dice de un cuerpo sólido que forma una elipse en el plano longitudinal y un círculo en corte transversal. Muchas esporas fúngicas son elipsoides (Ulloa y Hanlin, 2006).

Geniculado: que tiene articulaciones semejantes a rodillas o codos; 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, como se ve en el estado Drechslera de Cochliobolus bicolor (Pleorporales), y en *Helminthosporium*, *Alternaria* y *Cercospora*, entre muchos otros hongos asexuales dermatiaceos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Obclavados: de forma de clava o porra, pero con la parte ancha en la base, como los conidios de *Triramulispora obclavata* y los sinemas de *Beauveria cretácea* y *Meria coniospora* (hongos asexuales moniláceos) y los queilocistidios de *Mycena sanguinolenta* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Obpiriformes: de forma de pera invertida, es decir, con la parte más ancha en la base, inversamente piriforme, como el primordio del sorocarpo de *Dictyostelium discoideum* y la mayoría de los picnidios y peritecios (Ulloa y Hanlin, 2006).

9. Bibliografía

- Holliday P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Gran Bretaña. Cambridge University press. Pp. 607.
- Ulloa, M y Hanlin, T. R. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. Estados Unidos APS press The American Phytopathological Society. Pp. 671.
- Kiffer E. and Marlet M. 1997. The Deuteromycetes. Science publisher's inc. USA. 293 Pag.
- Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5599&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock> consultada el 27/08/11

ANEXOS

Es un saprófito muy común que se encuentran en muchos tipos de plantas y otros sustratos como alimentos, suelo y tejidos; es cosmopolita.

Este hongo es frecuentemente mencionado en la literatura patológica atacando hojas y fruto de varias plantas causando manchas o pudrición de la fruta. En casi todos los casos se comporta como un parásito de heridas (Saad et al. 1969b encontró que tanto la

penetración directa y estomas puede ocurrir) o invadir un anfitrión que es fisiológico o patológico debilitado. El patógeno que causa la mancha marrón de tabaco ha sido denominado *A. alternata* (*A. longipes* q. v., Lucas). Grogan et al. describe una raza distinta causando un cancro del tallo del tomate.

Ejemplos de patogenicidad se dan para algunos cultivos: Brassica, cítricos, algodón, *Cyamopsis tetragonoloba* (frijol de racimo), frijol, girasol, berenjena, pimiento rojo y tomate. D. Singh et al. Describen la infección interna de semillas de girasol.

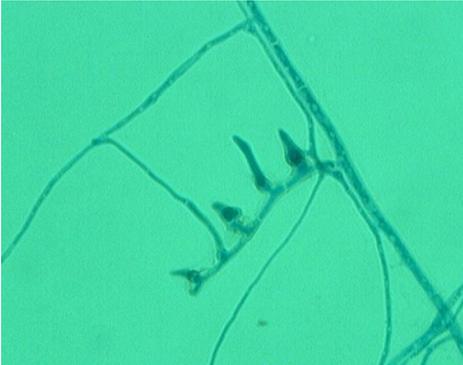
3.3.2. Ficha electrónica morfológica

1. *Aureobasidium* sp. *Viala and Boyer*

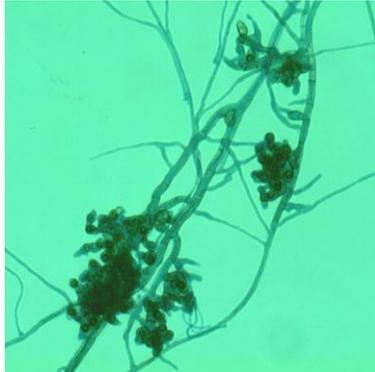
Kabatiella sp. *Bubák, Hedwigia 46:297.1907*

Taxonomía

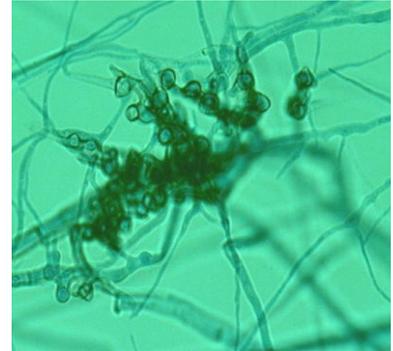
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Dothideales; Dothioraceae; mitosporic Dothioraceae; Aureobasidium



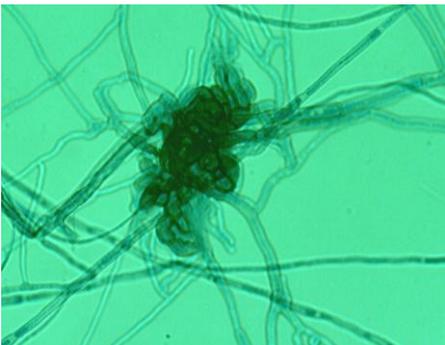
24 hrs. desarrollo de micelio septado. 40x



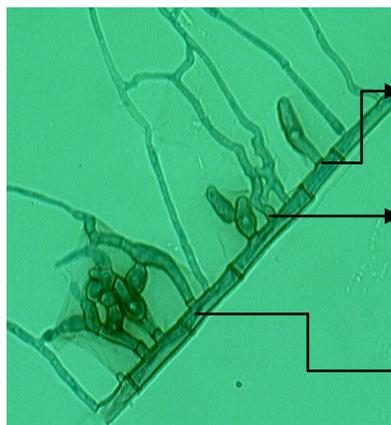
48 hrs. diferenciación de Botryoblastosporae. 40x



72 hrs. desprendimiento de conidios. 40x



96 hrs. generacion de conidios por gemación. 40x



Micelio septado

Conidio por gemación

Botryoblastosporae

1.1 Colecta

Colecta no. 1.1

Localidad Cuautitlán

Maleza *Typha domingensis*

Predio canales

1.2 Fecha

18 de Agosto 2010



1.3.- Caracterización del síntoma en campo

Punteado que se encuentra en la parte superior de la hoja, se observa un rápido desarrollo del síntoma hacia la parte basal de la hoja



2. Análisis de colecta en laboratorio

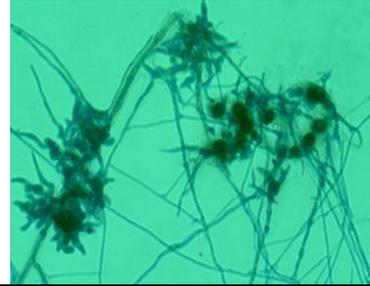
f) Descripción general del síntoma

Forma: huso

Tamaño de .5-3 cm de diámetro

Ubicación: en el haz y envés

g) Características del signo.



Signo	Fructificación	Acervulo	
Oídio o cenicilla polvosa		Esporodoquio	x
Mildiu o cenicilla vellosa	Asexual	Picnidio	
Roya blanca o mal de cal		Monilial	
Roya		Micelio esteril	
Carbón			
Fumagina		Cleistotecio	
Zoogleas	Sexual	Apotecio	
		Peritecio	
Puntuaciones negras		Acostroma	
		Otras características	
Eflorescencias grisáceas	Somática	Micelio Cenocítico	
		Micelio Septado	x
	Reproductivas	Conidióforos simples	
		Conidióforos ramificados	

Tipo de conidios: Amerosporas

Se observa en la preparación temporal un micelio septado, se observa unas estructuras piriformes que se diferencian en el asemejándose a las Botryoblastosporae. Son sésiles y hialinas.

3.-Medio de cultivo.

- PDA

4.- Técnica de aislamiento.

- Cámara húmeda
- Partes vegetales en medio de cultivo

5. Características culturales de la colonia en el aislamiento

En medio PDA en condiciones de laboratorio se observa el desarrollo de micelio que al cubrir la caja se torna de un color rosa tenue, al madurar la colonia se torna de color gris, tarda en llenar la caja 7 días aproximadamente.

6. Técnicas de identificación.

6.1. Microcultivo

Se realizaron 4 microcultivos y fueron detenidos cada 24 hrs. notándose que a 48hrs. se diferenciaban conidios sésiles que al paso de 24 hrs. mas generaban mas conidios por gemación a 96 hrs. se cuenta con la información necesaria para la identificación.

7. Descripción del género

Hongo dimorfo que presenta micelio pigmentado con hifas de las que nacen de forma sésil numerosos conidios hialinos (de 2-3 μm) y piriformes, los cuales, una vez libres, forman por gemación otros más pequeños. Acervulo subcuticular, subepidérmicas o subperidermal, con o sin setas; tejido estromático restringido a la base de la fructificación, conidios que se forman en la superficie superior, dehiscente por la división regular o irregular de los tejidos del huésped que recubre; acervulo y fiálides hialinas. Células conidiógenas constantemente enteroblástica polifialidias. Las conidios hialinas, aceptadas, ovaladas a piriformes, formaron más o menos 2-8 aberturas sincrónicas (clave por de B. C. Sutton en Los hongos (editado por G.C. Ainsworth et al) vol IVA:.. 555, 1973). Hermanides-Nijhof lista *Kabatiella* como sinónimo de *Aureobasidium* Viala y Boyer, se describe. *K. zea* Narita y. llamada mancha ocular de maíz (Hiratsuka); conidióforos 15.10 x 4 μm . Conidios 16.2 a 47.5 (media 32,5) x 2-3,5 (promedio 2,6). Dingley aísla el hongo *Aureobasidium* y dio una descripción de su morfología (Barnett y Marlet, 1987., Holliday, 1980).

7.1. Clave morfológica

La clave para la identificación de Botryoblastosporae

1 hyphales	2
2 (1) conidios unicelulares	3
3 (2) conidióforos simples, que termina en una sola ampolla fértiles	4
4 (3) hongos melanizado con la edad	<i>Aureobasidium</i> sp.

(Kiffer y Hunter, 1997).

8. Glosario

Acervulo: agregación pseudoparenquimatosa de hifas, a manera de almohadilla, errumpente, sobre la que se forman conidióforos cortos estrechamente unidos, en los tejidos (subcutícula, subepidermis o parénquima) de las plantas parasitadas por los hongos que forman estas estructuras (Ulloa y Hanlin, 2006).

Botryoblastosporae: espora que se forma simultáneamente con otras por gemación sobre una ámpula o vesícula de un conidióforo. Por ej., *Botryosporium*, *Botrytis*, *Ostracoderma* y *Oedocephalum* (hongos asexuales moniláceos) son gen. Que forman botrioblastosporas (Ulloa y Hanlin, 2006).

Enteroblástica: Tipo de desarrollo conidial a partir de una porción de la célula conidiógenas en el que el primordio del conidio sufre un notorio agrandamiento antes de que dicho primordio sea delimitado por un septo. Cuando todas las capas de la pared de la célula conidiógenas están involucradas en la síntesis de la pared del conidio a este se le llama holoblástica, como sucede, p. ej., en *Acreminiella verrucosa* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Hongo dimorfo: hongo acuático que presenta 2 tipos morfológicos de zoosporas en su ciclo de vida (primarias o piriformes, y secundarias o reniformes) (Ulloa y Hanlin, 2006).

Piriforme: de forma de pera, como las basidiosporas de *Cortinarius pseudosolar* (Agasiales), y los esporangios de *Trichia floriformis* (Trichales), *Helicostylum piriforme* y *Pirella circinans* (Mucorales) (Ulloa y Hanlin, 2006).

Sésil: se refiere a un cuerpo fructífero que se halla adherido o sentado en la superficie del sustrato, y que carece de pie o los esporangios de soporte; por ejemplo de *Perichaena* (Trichiales) (Ulloa y Hanlin, 2006).

9. Bibliografía

- Barnett, H.L. and Hunter B.B. 1987. Ilústrate Genera of imperfect fungí. 4 ediciones. Macmillan publishing company. USA. 218 Pag
- Holliday P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Gran Bretaña. Cambridge University press. Pp. 607.
- Ulloa, M y Hanlin, T. R. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. Estados Unidos APS press The American Phytopathological Society. Pp. 671.
- Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5579&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11

ANEXOS

Distribución: cosmopolita

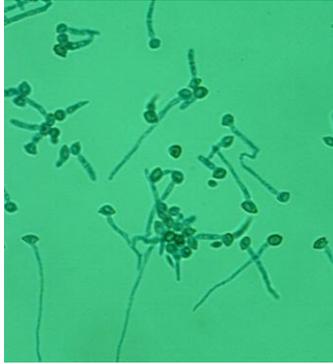
Propagación: por esporas, agua y por el viento

3.3.3. Ficha electrónica morfológica

1. *Cladosporium* sp. Link ex. Fr

Taxonomía

Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Dothideomycetidae; Capnodiales; Davidiellaceae; mitosporic Davidiellaceae; Cladosporium



24hrs. germinación de conidios. 40x



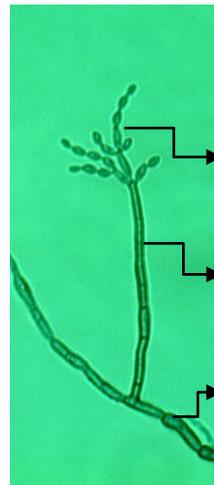
48 hrs. diferenciación del conidióforo. 40x



72 hrs. diferenciación de conidios acropileurogenos en cadena. 40x



96 hrs. Fascículo de conidióforos originados en el estroma. 40x



Conidios en cadena
Acropileurogenos

Conidióforo

Micelio septado

1.1 Colecta

Colecta no. 1.3

Localidad Cuautitlán

Maleza *Typha domingensis*

Predio canales

1.2 Fecha

18 de Agosto 2010



1.3.- Caracterización del síntoma en campo

Mancha necrótica en el centro de la hoja que se disemina hacia la parte basal y apical, de color café.



2. Análisis de colecta en laboratorio

f) Descripción general del síntoma

Forma: ovada

Tamaño de 5-6 cm de diam.

Ubicación: en el haz

g) Características del signo.



Signo		Fructificación	Acervulo	
Oídio o cenicilla polvosa			Esporodoquio	
Mildiu o cenicilla vellosa		Asexual	Picnidio	
Roya blanca o mal de cal			Monilial	x
Roya			Micelio esteril	
Carbón				
Fumagina			Cleistotecio	
Zoogleas		Sexual	Apotecio	
			Peritecio	
Puntuaciones negras			Acostroma	
			Otras características	
Eflorescencias grisáceas	x	Somática	Micelio Cenocítico	
			Micelio Septado	
	Reproductivas	Conidióforos simples	x	
		Conidióforos ramificados		

Tipo de conidios: Amerosporas

En la preparación temporal se observa un micelio septado que genera un conidióforo simple con conidios acropleurogenos en cadena o en sucesión basipeta

3.-Medio de cultivo.

- PDA
- V₈A

4.- Técnica de aislamiento.

- Aislamiento directo
- Partes vegetales en medio de cultivo

5. Características culturales de la colonia en el aislamiento

En PDA a 25°C se observa el desarrollo de una Ascomata de color verde pardo tarda 2 semanas en cubrir la caja de petri.

6. Técnicas de identificación.

6.1. Microcultivo

Se realizaron cuatro microcultivos mismos que fueron detenidos cada 24 hrs. a las 48 hrs. se observa la diferenciación del conidióforo así como el desarrollo de un fascículo de conidióforos en un estroma. La diferenciación de conidios es en cadena son unicelulares e hialinos.

7. Descripción del género

Micelio inmerso y a menudo también superficial. Estroma a veces presente. Pelos y hifopodios ausentes. Conidióforos macronematous o semi macronematous y a veces también conidióforos rectos o sinuoso, en su mayoría no ramificado o con ramas restringidas a la región apical formando un estipe y cabeza verrugoso olivácea marrón o marrón, o lisa. Ramo de conidios a menudo presentes. Células conidiógenas poliblasticas, integradas por lo general, terminales e intercalares, pero a veces discretas, simpodial, más o menos cilíndrica. Conidios catenados como norma, pero a veces solitarios, especialmente en sp. Con conidios grandes, a menudo en cadenas ramificadas, aropleurogenous, simple, cilíndrico, doliformes, elipsoidales, fusiformes, ovoides, esféricos o subféricos a menudo con una cicatriz protuberante claramente en cada extremo, o simplemente en la base, pálido a oscuro marrón oliváceo o marrón, liso, verruculosa o achinulate, con 0-3 septos o en ocasiones más (Holliday, 1980).

7.1. Clave morfológica

La clave para la identificación de Acroblastosporae

1 2 hyphales	
2 (1) las cadenas de conidios ramificada	3
3 (2) aparatos esporíferos melanizados	8
8 (3) conidióforos más o menos diferenciados	15
15 (8) conidióforos macronematous	17
17 (15) conidios una célula conidiógenas dispuestos en penicili terminal	
No hay tal característica	20
20 (17) hilio y cicatriz bastante estrecha	22
22 (20) conidios de tabicación irregular	23
23 (22) hinchazón lateral de conidióforos	
No hay tal característica.....	<i>Cladosporium sp.</i>

(Kiffer y Marlet, 1997., Barnett y Hunter, 1987).

8. Glosario

Acropleurógeno: que se origina en el ápice y después se vuelve hacia un costado debido al crecimiento indeterminado del ápice; p. ej., los conidios de *Trichothecium* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Conidióforo: hifa, simple o ramificada, que está morfológica y/o fisiológicamente diferenciada de una hifa somática para producir y portar conidios; estos se encuentran generalmente sobre células conidiógenas especializadas, las cuales se pueden disponer de muy diversas maneras. Para algunas especies los términos conidióforo y célula conidiógena se aplican indistintamente. Se pueden encontrar ilustraciones de conidióforos en las figuras correspondientes a diferentes tipos de conidios) p. ej. Artrospora meristemática, blastospora, blastospora meristemática y catenulado), de ciertos tipos de ramificación de conidióforos (p. ej. biverticiliado, monoverticiliado, triverticiliado y poliverticiliado), o de otras estructuras relacionadas a conidióforos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Conidio: espora asexual nucleada, inmóvil, que generalmente se forma en el ápice o a un lado de una célula esporógena especializada. Los conidios son de 2 tipos básicos, blástico y talico. Los conidios blásticos (la mayoría) son generados de novo, mientras que los talicos se forman a partir de células hifales preexistentes. Los conidios pueden ser uni-, bi-, o multicelulares, secos o mucosos, pero nunca quedan contenidos en una estructura con pared celular o periodo rígido, como si ocurre con las esporangiosporas. Los conidios son las esporas asexuales de los ascomicetes y basidiomicetes; típicamente se han agrupado en los deuteromicetes, ahora denominados hongos mitospóricos (Ulloa, 2006).

Distoseptos: *hongos conidiales*. Tipo de conidio pluricelular en el que cada una de las células se hallan rodeada por una pared secundaria gruesa (distosepto), que es fácilmente desprendible de la pared externa del conidio, de manera que cuando se rompe la pared externa del mismo se separan las células de pared gruesa que estaban contenidas en él; p. ej., en *Drechslera avenae* y *Exserohilum rostratum* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Estroma: masa compacta de hifas somáticas, constituida de plecténquima (prosénquima, pseudoparénquima, o ambos) sobre la cual o dentro de la cual se producen hifas fértiles que generan órganos reproductores asexuales o sexuales, como esporodoquios, picnidios, peritecios, apotecios, etc. Por ej. En el pirenomicete *Daldinia concéntrica* el estroma es pulvinado y contiene peritecios embebidos en la capa periférica (Ulloa y Hanlin, 2006).

Fascículo: haz o racimo de hifas, conidióforos, ascas, etc. Por ej. *Oidiodendron tenuissimum* forma fascículos de hifas con conidióforos, también denominados fascículos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Fusiformes: como un huso, aguzado en los extremos. Como los conidios de *Paecilomyces fumosoroseus*, (hongos moniláceos) y fusarium (hongo asexual tuberculariáceo) (Ulloa y Hanlin, 2006).

Micelio: conjunto o masa de hifas que constituye el cuerpo vegetativo o talo de un hongo (Ulloa y Hanlin, 2006).

Simpodial: que tiene o involucra la formación de un aparente eje principal a partir de ejes secundarios sucesivos, como el de los conidióforos de *Helminthosporium* y *Stacybotrys* (Ulloa y Hanlin, 2006).

9. Bibliografía

- Holliday P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Gran Bretaña. Cambridge University press. Pp. 607.
- Barnett, H.L. and Hunter B.B. 1987. Ilústrate Genera of imperfect fungí. 4 ediciones. Macmillan publishing company. USA. 218 Pag
- Ulloa, M y Hanlin, T. R. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. Estados Unidos APS press The American Phytopathological Society. Pp. 671.
- Kiffer E. and Marlet M. 1997. The Deuteromycetes. Science publisher's inc. USA. 293 Pag.
- Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5498&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11

ANEXOS

Ellis declaró que no existe ninguna monografía completa del género (algunos 500 sp. se han descrito), describió la de clave 15 de los más comunes. *C. Cladosporioides* (Fresen) y *C. herbarum* (Pers.) Link ex grís SF son cosmopolitas en muchos tipos de sustratos y puede comportarse como invasores secundarios *C. macrocarpum* y *C. preuss sphaerospermum* Penz. *C. esponjoso* Berk. y Curt. Se produce en las inflorescencias de las gramíneas, especialmente de *Setaria* sp. Causando enfermedades de menor importancia, sobre todo como manchas en las hojas, como: *C. colocasiae* Sawada (Bugnicourt) sobre Colocasia; *C. variable* (Cooke) en espinaca (*Spinacea oleracea*; Gambogi; Mathur et al.) *C. musae* Mason en el banano (Martyn; Stover); *C. pisicolum* Snyder en guisante (*Pisum sativum*), *C. vignae* Gardner y *C. allii-cepae* (Ranojevic) Ellis MB en cebolla (Ryan).

3.3.4. Ficha electrónica morfológica

1. *Colletotrichum* sp.

Taxonomía

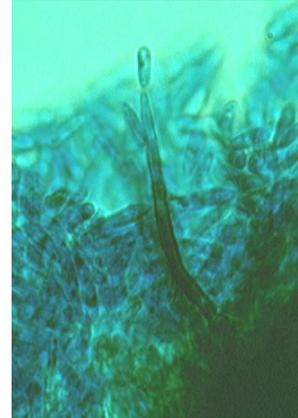
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Sordariomycetes; Hypocreomycetidae; Glomerellales; Glomerellaceae; mitosporic Glomerellaceae; Colletotrichum



24 hrs. germinación de conidios. 40x



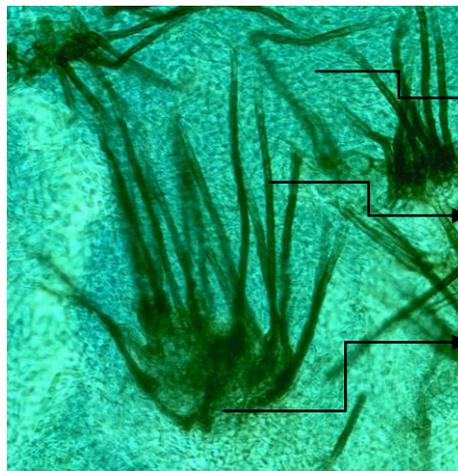
48hrs. hinchamiento del apesorio. 40x



72 hrs. diferenciación de setas fértiles. 40x



96 hrs. desarrollo de un acervulo con setas fértiles y conidios basales. 40x



Conidios

Setas fértiles

Formación de un acervulo

1.1 Colecta

Colecta no. 1.5

Localidad Cuautitlán

Maleza *Typha domingensis*

Predio canales

1.2 Fecha

18 de Agosto 2010



1.3.- Caracterización del síntoma en campo

Sobre la hoja se nota una zona necrotica de color café-rojizo asemejandose a un tizon, en el centro se observan pequeños puntos negros.



2. Análisis de colecta en laboratorio

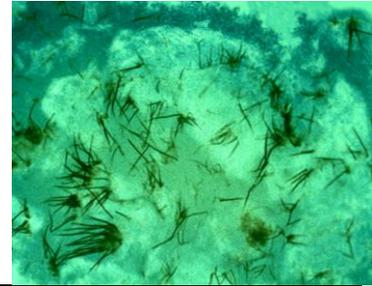
f) Descripción general del síntoma

Forma: arbustiva _____

Tamaño: .03 m _____

Ubicación: en el haz _____

g) Características del signo.



Signo		Fructificación	Acervulo	x
Oídio o cenicilla polvosa			Esporodoquio	
Mildiu o cenicilla vellosa		Asexual	Picnidio	
Roya blanca o mal de cal			Monilial	
Roya			Micelio esteril	
Carbón				
Fumagina			Clestotecio	
Zoogleas		Sexual	Apotecio	
			Peritecio	
Puntuaciones negras	x		Acostroma	
			Otras características	
Eflorescencias grisáceas		Somática	Micelio Cenocítico	
			Micelio Septado	x
	Reproductivas	Conidióforos simples		
		Conidióforos ramificados	x	

Tipo de conidio: Didimosporas

Bajo el microscopio estereoscópico se realizaron preparaciones temporales sobre la formación arbustiva, observando la formación de acervulo con setas septadas fértiles con conidios basales unicelulares e hialinos.

3.-Medio de cultivo.

- PDA
- V₈A

4.- Técnica de aislamiento.

- Aislamiento directo
- Partes vegetales en medio de cultivo

5. Características culturales de la colonia en el aislamiento

Se observa un micelio inmerso y transparente que crece rápidamente, desde el centro hacia a fuera se observa la formación de anillos constituido de puntos de color naranja con pequeños puntos en centro.

6. Técnicas de identificación.

6.1. Microcultivo

Se montaron cuatro microcultivos para ser detenidos cada 24 hrs. en el primero se observo la germinación de conidios así como la formación de apresorios, a las 48 hrs. la diferenciación de conidióforos que generan conidios basales, a las 72 hrs. se diferencian setas negras septadas, comienza a formarse una estructura semejante a un acervulo, a las 96 hrs. las setas comienza a diferenciar conidios en la parte apical, se nota un gran cantidad de conidios hialinos.

7. Descripción del género

Micelio ramificado inmerso, septados, hialinos a pardo claro, intercelular. Acérvulos Subcuticular, epidérmica, subepidérmicas, septadas o confluentes, formado por un pseudoparénquima hialino marrón, pared delgada o grueso. Seta presentes o ausentes, origen irregular de la pseudoparénquima, más o menos recta, sin ramas, con un afilado ápice agudo u obtuso, marrón, liso, de paredes gruesas, septadas. Conidióforos septados, ramificadas en la base, hialinas o pardo claro, liso, formado a partir de células superiores de pseudoparénquima. Células conidiógenas enteroblástica Fialidicas, discreta o incorporado en conidióforos, cilíndricas, hialinas a pardo claro suave, el canal de la pared estrecha, periclinales engrosadas, collarete a veces presentes. Las conidios hialinos, aceptados, más o menos geniculados, claviforme cilíndricos de largo, falcados, fusiforme; en la germinación aparecen apresorios de color marrón pálido, septados (Holliday, 1980).

7.1. Clave morfológica

Melancoliales

Los conidios son producidos en acérvulos normalmente en condiciones naturales, los conidióforos pueden ser individuales o en grupos compactos, se asemejan a esporodoquios de Moniliales (Barnett y Hunter, 1987).

1a. Conidia pequeña unicelular, no filiforme	2
2b. Conidia hialina	3
3b. Conidios se producen en la parte apical del conidióforo	4
4b. Conidios sin apéndices	5
5a. Seta oscura en acervulo.....	<i>Colletotrichum sp.</i>

(Kiffer y Marlet, 1997).

8. Glosario

Apresorios: hinchamiento aplanado que se forma en el tubo de germinación de una espora o de una hifa vegetativa, y que se adhiere a la superficie del hospedante antes de penetrarlo con una hifa infectiva que se origina de dicho hinchamiento; característico de hongos fitoparasitos, como *Phytophthora* (Peronosporales) y *Colletotrichum* (hongos asexuales Melancoliales) (Ulloa y Hanlin, 2006).

Acérvulo: agregación pseudoparenquimatosa de hifas, a manera de almohadilla, errumpente, sobre la que se forman conidióforos cortos estrechamente unidos, en los tejidos (subcutícula, subepidermis o parénquima) de las plantas parasitadas por los hongos que forman estas estructuras. El acervulo es el esporóforo asexual característico de los hongos asexuales Melancoliales, p. ej. *Colletotrichum* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Conidióforo: hifa, simple o ramificada, que esta morfológica y/o fisiológicamente diferenciada de una hifa somática para producir y portar conidios; estos se encuentran generalmente sobre células conidiógenas especializadas, las cuales se pueden disponer de muy diversas maneras. Para algunas especies los términos conidióforo y célula conidiógenas se aplican indistintamente. Se pueden encontrar ilustraciones de conidióforos en las figuras correspondientes a diferentes tipos de conidios (p. ej. *Artrospora* meristemática, blastospora, blastospora meristemática y catenulado), de ciertos tipos de ramificación de conidióforos (p. ej. biverticiliado, monoverticiliado, triverticiliado y poliverticiliado), o de otras estructuras relacionadas a conidióforos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Conidio: espora asexual nucleada, inmóvil, que generalmente se forma en el ápice o a un lado de una célula esporogena especializada. Los conidios son de 2 tipos básicos, blastico y talico. Los conidios blasticos (la mayoría) son generados de novo, mientras que los talicos se forman a partir de células hifales preexistentes. Los conidios pueden ser uni-, bi-, o multicelulares, secos o mucosos, pero nunca quedan contenidos en una estructura con pared celular o periodo rígido, como si ocurre con las esporangiosporas. Los conidios son las esporas asexuales de los ascomicetes y basidiomicetes; típicamente se han agrupado en los deuteromicetes, ahora denominados hongos mitospóricos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Enteroblástica: conidiogénesis. Tipo de desarrollo conidial a partir de una porción de la célula conidiógenas en el que el primordio del conidio sufre un notorio agrandamiento antes de que dicho primordio sea delimitado por un septo. Cuando todas las capas de la pared de la célula conidiógenas están involucradas en la síntesis de la pared del conidio a este se le llama holoblástica, como sucede, p. ej., en *Acreminiella verrucosa* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Falcados: de forma más o menos aplanada y curva como una hoz, como los conidios de *Harposporium* (hongos asexuales moniláceos) y los macroconidios de *Fusarium oxysporum*. También se le llama falciforme y lunado (Ulloa y Hanlin, 2006).

Filiforme: de forma de hilo, fino y delgado, como una fibrilla de lino, como las ascosporas de *Epichlôe typhina* (Hipocreales) y *Ophiodothella* (Ulloa y Hanlin, 2006).

Fialidicas: tipo de conidiogénesis en el que cada conidio (fialoconidio y fialoespora) se origina por la formación de un nuevo material para la pared celular, no a partir de las

paredes celulares ya existentes en la célula conidiógena. Los conidios se forman básicamente a través de un solo orificio (monofialidico) o como una sucesión simpodial irregular o sincrónica a través de varias aberturas (polifialidico) en la pared de la célula conidiógena (Ulloa y Hanlin, 2006).

Seta: se dice de los pelos tiesos o cerda, usualmente de la pared gruesa y puntiaguda, que tienen los cuerpos fructíferos de diversos hongos, como los acérvulos de *Colletotrichum*, los picnidios de *Pyrenochaeta*, *Chaetoseptoria* y *Chaetodiplodia caulina* (hongos asexuales esferopsidaceos), o los peritecios de *Podospora* (sordariales). También se llama setas las cerdas que se forman en el himenio de muchas especies de Aphyllophorales, p. ej. *Phellinus ferruginosus* (Ulloa y Hanlin, 2006).

9. Bibliografía

- Barnett, H.L. and Hunter B.B. 1987. Ilústrate Genera of imperfect fungí. 4 ediciones. Macmillan publishing company. USA. 218 Pag
- Holliday P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Gran Bretaña. Cambridge University press. Pp. 607.
- Ulloa, M y Hanlin, T. R. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. Estados Unidos APS press The American Phytopathological Society. Pp. 671.
- Kiffer E. and Marlet M. 1997. The Deuteromycetes. Science publisher's inc. USA. 293 Pag.
- Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5455&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11

3.3.5. Ficha electrónica morfológica

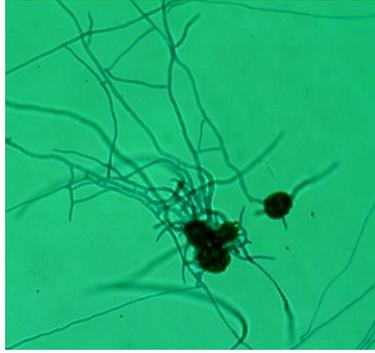
1. *Epicocum* sp. Link

Taxonomía

Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Pezizomycotina; Dothideomycetes; Epicocum



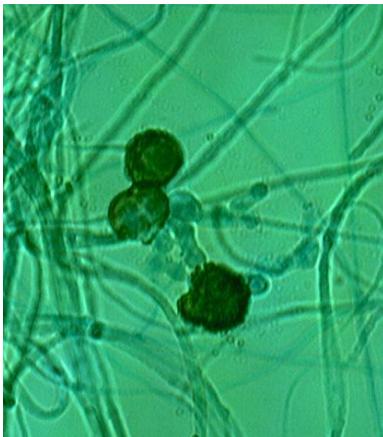
24hrs. germinación de conidios



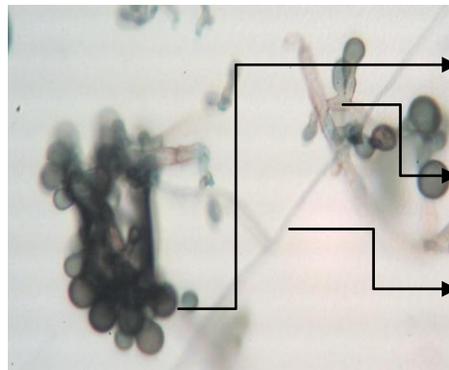
48 hrs desarrollo del micelio septado



72 hrs. diferenciación de conidióforos



96 hrs. Diferenciación de conidios septados



Conidios

Conidióforo

Micelio septado

1.1 Colecta

Colecta no. 1.4

Localidad Cuautitlán

Maleza *Typha domingensis*

Predio canales



1.2 Fecha

18 de Agosto 2010

1.3.- Caracterización del síntoma en campo

Se observa un tizon central en las hojas jóvenes se va extendiendo hacia la parte basal y apical de la hoja.



2. Análisis de colecta en laboratorio

f) Descripción general del síntoma

Forma: rayado

Tamaño de 5 – 7 cm de largo

Ubicación: en el haz y envés

g) Características del signo.



Signo		Fructificación	Acervulo	
Oídio o cenicilla polvosa			Esporodoquio	
Mildiu o cenicilla vellosa		Asexual	Picnidio	
Roya blanca o mal de cal			Monilial	X
Roya			Micelio esteril	
Carbón				
Fumagina			Clestotecio	
Zoogles		Sexual	Apotecio	
			Peritecio	
Puntuaciones negras			Acostroma	
			Otras características	
Eflorescencias grisáceas		Somática	Micelio Cenocítico	
			Micelio Septado	X
	x	Reproductivas	Conidióforos simples	X
			Conidióforos ramificados	

Tipo de conidios: Dictiosporas

En cámara húmeda a 24 hrs. se observa en el síntoma el desarrollo de un micelio septado de color naranja, bajo el microscopio se observan conidios esféricos fragmentados sostenidos de un conidióforo muy corto.

3.-Medio de cultivo.

- V₈A
- PDA

4.- Técnica de aislamiento.

- Aislamiento directo

5. Características culturales de la colonia en el aislamiento

En PDA a 25°C se observa el desarrollo de un micelio de color naranja que al paso de 3 semanas aparecen anillos negros desde el centro hacia afuera de la caja, en V₈A con las mismas condiciones se nota el desarrollo de un micelio blanco con la aparición de puntos negros sobre él.

6. Técnicas de identificación.

6.1. Microcultivo

Se montaron 4 microcultivos con medio V₈A para inducir la esporulación, a las 24 hrs. se nota el desarrollo del micelio septado, a 48 hrs. se observan células conidiógenas, a 72

hrs. se observa el desarrollo de conidióforos y conidios muy inmaduros, a 96 hrs. se diferencian conidios esféricos septados.

7. Descripción del género

Epicocum es un género hifomicete, es un invasor saprófito o secundario de los tejidos vegetales senescentes. Se caracteriza por la producción de conidios en masa, grandes, esféricos, pecioladas, septadas irregularmente, es de rápido crecimiento, las colonias son multicolores su presencia se asocia a la hierba que se está secando. Su omnipresencia en el medio ambiente significa que se encuentra comúnmente en los alimentos, pero no está asociado a enfermedades de deterioro (Pitt y Hocking, 2009., Kiffer y Marlet, 1997., Barnett y Hunter, 1987).

Conidios solitarios en conidióforos cortos, generalmente en racimos densos, esféricos, base truncada; marrón irregular septadas cuando madura, generalmente 15 a 25 (- 30) μ diam. Con paredes rugosas numerosos tabiques (Pitt y Hocking, 2009., Kiffer y Marlet, 1997., Barnett y Hunter, 1987).

7.1. Clave morfológica

Clave para la identificación de monoblastosporae y aleuriosporae

1. hyphales	2	
2(1)conidios constantes a partir de un conidióforos definido	18	
18(2)aparatos de conidios melanizados	36	
36(18)conidios septados	51	
51(36)dicty, stauro o helicospores	65	
65(51)dictyospores	66	
66(65)conidios al menos en parte con melanina	67	
67(66)conidios formados a partir de células con melanina central y de las células		
Satélite	hyliane	68
No tiene tal característica	70	
70 (67 conidios descoloridos con células hialinas con melanina y, a veces las bandas opacas	71	
No tiene tal característica	72	
72(70)conidios pequeños o de tamaño medio	73	
73(72)conidios globulares o planos	74	
74(73)conidios más o menos isodiametrical	75	
75(74)conidios espinosas más o menos esféricos..... <i>Epicocum sp.</i> (Pitt y Hocking, 2009., Kiffer y Marlet, 1997).		

8. Glosario

Conidióforo: hifa, simple o ramificada, que esta morfológica y/o fisiológicamente diferenciada de una hifa somática para producir y portar conidios; estos se encuentran generalmente sobre células conidiógenas especializadas, las cuales se pueden disponer de muy diversas maneras. Para algunas especies los términos conidióforo y célula conidiógenas se aplican indistintamente. Se pueden encontrar ilustraciones de conidióforos en las figuras correspondientes a diferentes tipos de conidios) p. ej.

Artriospora meristemática, blastospora, blastospora meristemática y catenulado), de ciertos tipos de ramificación de conidióforos (p. ej. biverticiliado, monoverticiliado, triverticiliado y poliverticiliado), o de otras estructuras relacionadas a conidióforos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Conidio: espora asexual nucleada, inmóvil, que generalmente se forma en el ápice o a un lado de una célula esporogena especializada. Los conidios son de 2 tipos básicos, blastico y talico. Los conidios blasticos (la mayoría) son generados de novo, mientras que los talicos se forman a partir de células hifales preexistentes. Los conidios pueden ser uni-, bi-, o multicelulares, secos o mucosos, pero nunca quedan contenidos en una estructura con pared celular o periodo rígido, como si ocurre con las esporangiosporas. Los conidios son las esporas asexuales de los ascomicetes y basidiomicetes; típicamente se han agrupado en los deuteromicetes, ahora denominados hongos mitospóricos (Ulloa y Hanlin, 2006).

Monoblastosporae: tipo de célula conidiógenas holoblástica que produce un conidio en un solo punto o lugar (Ulloa y Hanlin, 2006).

Aleuriosporae: espora de reproducción asexual que se origina por hinchamiento de una célula terminal o lateral de una hifa; característica de algunos hongos conidiales, tales como el género *Chalara*, *Humicola* y *Nigrospora* (Ulloa y Hanlin, 2006).

9. Bibliografía

- Barnett, H.L. and Hunter B.B. 1987. *Illustrate Genera of imperfect fungi*. 4 ediciones. Macmillan publishing company. USA. 218 Pag
- Holliday P. 1980. *Fungus diseases of tropical crops*. Gran Bretaña. Cambridge University press. Pp. 607.
- Kiffer E. and Marlet M. 1997. *The Deuteromycetes*. Science publisher's inc. USA. 293 Pag.
- Ulloa, M y Hanlin, T. R. 2006. *Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología*. Estados Unidos APS press The American Phytopathological Society. Pag. 671.
- Pitt I. J. and Hocking D. A. 2009. *Fungi and Food Spoilage*. Springer. Pag 88-89.
- Taxonomy Browser (NCBI) disponible:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=104397&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11

Capitulo 4. Discusión

***Alternaria alternata* (Fe.) Keissler**

Este patógeno se presentó en todas las colectas realizadas, los síntomas son iguales en Xochimilco y Cuautitlán, un tizón foliar, para Culiacán se presenta como un rayado necrótico en follaje. Con respecto a otros trabajos tenemos la concordancia con la misma especie de *Alternaria alternata* con Pugh 1971, Mazurkiewicz-Zapałowicz, 2006 y Kowalik, 2009 indicando una amplia distribución; podemos señalar que este hongo está muy asociado al Tule. En relación a la aplicación de esta especie con trabajos a nivel de control, en Egipto El-Sayed M. 2006 contempla a *Alternaria alternata* como un agente exitoso en el control de *Eichhornia crassipes*. Cabe mencionar que especies de este género son utilizadas como micoherbicidas comerciales. Charudattan 1999 señala el control que tiene *Alternaria destruens* en *Cuscuta sp.*

***Mucor sp.* Schröter, 1893**

Es un Zygomycete de un crecimiento muy acelerado en virtud de que en 15 hrs. tenemos la caja de Petri totalmente llena. Se obtuvo a partir de dos técnicas de aislamiento, Kowalik 2009 reporta que aun en desinfecciones a concentraciones altas es aislado *Mucor hiemalis* con la técnica de plaqueado que es una variante de partes vegetales en medio de cultivo la cual fue usada en este trabajo así mismo este hongo se aisló a partir de tizones foliares.

***Peyronellaea glomerata* (Corda) Goid.**

Este Deuteromycete Sphaeropsidal fue aislado directamente de puntuaciones negras y de partes vegetales desinfectadas a concentraciones altas produce una cantidad considerable de conidios siendo esta una característica muy deseada en los agentes de control, además desarrolla clamidosporas que podrían comportarse como un inóculo secundario, latente esperando entrar en acción cuando las condiciones climáticas sean las óptimas para desarrollar una infección; un aislamiento realizado en Brasil y República Dominicana (Barreto, 2000) de este mismo género demostró una alta especificidad con el Tule convirtiéndolo en un

potencial agente de control biológico, Pugh 1971, Barreto 2000 y Kowalik, 2009 reportan aislamientos de este género dando evidencia de la asociación que tiene con el Tule

***Aspergillus niger* van Tieghem, Ann. Sci, nat. Botan.**

Este Monilial fue aislado de una necrosis foliar tipo rayado mediante un aislamiento directo a partir de una cámara humedad, produce una gran cantidad de conidios en un lapso corto de tiempo en especial en condiciones de alta temperatura y humedad, Kowalik. 2009 reporta una especie diferente aislada de un plaqueado con una desinfección a altas concentraciones.

***Penicillium expansum* Link ex F. S. Gray**

Se aisló de un abigarrado mediante partes vegetales desinfectadas a altas concentraciones se tiene coincidencia con Kowalik 2009 que reporta dos especies entre ellas *Penicillium expansum* permitiendo establecer la asociación de este hongo con el Tule como un saprobio facultativo.

***Curvularia verruculosa* Tandon y Bilgrami ex MB Ellis**

Se aisló de manchas necróticas a partir de un aislamiento directo en una cámara húmeda. Tandon y Bilgrami 1966 aislaron a este hongo de una *Typha* sp, la alta incidencia que se noto en la colecta de Culiacán coloca a este Monilial como un candidato a evaluarse como agente de control.

***Aureobasidium* sp. Viala and Boyer**

Fue aislado de una mancha necrótica tipo punteado presente en la parte apical de la hoja de Tule indicando la gran capacidad que tiene este hongo para establecer un infección Pugh 1971, reporta un aislamiento de este género durante todo el año, *Aureobasidium pullulans* que ya es utilizado para controlar a *Chromolaena odorata* una de las malezas dañinas en el mundo presente en la india.

***Cladosporium* sp. Link ex. Fr.**

Se aisló de una mancha necrótica mediante aislamiento directo y de partes vegetales en medio de cultivo, Pugh 1971 y Kowalik 2009 reportan el aislamiento de especies del mismo género, permitiendo establecer una amplia distribución y la asociación que tiene con el Tule.

Colletotrichum sp.

Este Deuteromycete Melancolial se aisló a partir de fructificaciones tipo acervulo sobre el tejido vegetal también por medio de partes vegetales y aislamiento directo a partir de una cámara húmeda, Charudattan comenta con Barreto la evaluación que le ha hecho a este hongo destacando el gran potencial que tiene para controlar Tule. Barreto 2000, Espadas 1992 y Mazurkiewicz-Zapałowic 2006 reportan el aislamiento de este mismo género estableciendo una amplia distribución y asociación de este hongo con el Tule.

Epicocum sp. Link.

Este hongo fue aislado a partir de un aislamiento directo a partir de una cámara húmeda, produce una gran cantidad de conidios que incluso pueden notarse como polvo negro, Pugh 1971 y Kowalik 2009 reportan haber aislado este género de lesiones plisionecroticas mediante partes vegetales en medios de cultivo.

Capitulo 5. Conclusiones

- Se colectaron diferentes síntomas y signos en campo, permitiendo aislar diferentes cepas de hongos.
- Los medios de cultivo utilizados fueron eficaces ya que en todos se observó la esporulación del hongo solo diferían en el tiempo derivado de las características de cada medio.
- Las técnicas de aislamiento son eficientes ya que mediante ellas se extrajo al patógeno del tejido vegetal del Tule, deduciendo con ello el aislamiento de saprobios facultativos.
- La técnica de Microcultivo y Preparaciones temporales permitieron observar a detalle aspectos morfológicos somáticos y reproductivos obteniendo los criterios necesarios para la identificación.
- Se aisló un Zigomycete y 12 Deuteromycetes entre ellos 9 moniliales 1 Sphaeropsidal y un Melancolial.
- Se contribuye con una colección de 13 cepas en viales de conservación y se anexan al cepario del laboratorio de fitopatología de Ing. Agrícola de la FES-Cuautitlán, cada una con su ficha morfológica electrónica de consulta.
- Las fichas electrónicas estarán disponibles en la siguiente pagina web: <http://www.agricolaunam.org.mx/>
- Se cuenta con material biológico para continuar con los demás evaluaciones que implementarían un control biológico aumentativo en Tule, esta primera evaluación no garantiza que algún patógeno aislado sea un agente de control biológico.

Capítulo 6. Bibliografía

1. Agrios G. N. 2005. Plant pathology. Fifth edición. Elsevier academic Press. Amsterdam, Boston, Heidelberg, London, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo. 992 p.
2. Ash G.J. 2010. The science, art and business of successful bioherbicides. Biological Control, Volume 52, Issue 3. pp. 230-240
3. Baker E. F. y Cook R.J., 1974. Biological control of plant pathogens. W.H. Freeman & Co. San Francisco, 433 p.
4. Barnett H.L. y Hunter B.B. 1987. Ilústrate Genera of imperfect fungí. 4 edición. Macmillan publishing company. USA. 218 p.
5. Barreto R., Charudattan R., Pomella A., Hanada, R. 2000. Biological control of neotropical aquatic weeds with fungí. Crop Protection 19 pp. 697-703
6. Barrera, E. H. y Cárdenas R. 1997.El microscopio óptico FES- Iztacala-UNAM P y V editores. Estado de México. 86 p.
7. Bojórquez B. G. 2009. Efecto de la aplicación de hongos en el rebrote de Tule (*typha domingensis* Pers.) En drenes de Sinaloa. Memoria del congreso ASOMECEMA en Culiacán. 2 p.
8. Bojórquez B. G. 1999. Evaluación del impacto provocado por los agentes de control biológico sobre especies de malezas acuáticas que afectan canales y drenes de los distritos de riego 010 y 074. Anexo 7 del convenio IMTA-UAS Culiacán, Sinaloa. 100 p.

9. Bojórquez B. G. 1998. Tipificación de síntomas de patógenos que atacan al Tule (*Typha domingensis* Pers.) en los distritos de riego 010 y 074 del Estado de Sinaloa. Memoria del congreso ASOMECEMA en Mexicali. 2 p.
10. Boerema G. H., de Gruyter J., Noordeloos M. E., Harnes M.E.C. 2004. Phoma Identification Manual: Differentiation of specific and infra-specific taxa in culture. CABI Publishing. 216 p.
11. Camarena O., Aguilar J. A., Vega R., Lomelí J. R., Espinosa R. 1999. Seguimiento y control de la maleza acuática en distritos de riego. Informe final Proyecto RD-9907. 17 p.
12. Charudattan R. 2005. Ecological, practical, and political inputs into selection of weed targets: what makes a good biological control target? Plant pathology department, university of Florida, Gainesville. USA. Biol. control 35. pp. 183-196
13. Charudattan R. 2001. Are we on top of aquatic weeds? Weed problems, control options, and challenges. Plant Pathology Department and Center for Aquatic and Invasive Plants, University of Florida, Gainesville. USA. 27 p.
14. Charudattan R. 1991. The mycoherbicides approach with plant pathogens: In TeBeest, D. Microbial control of weeds. Chapman and Hall. pp 24-57
15. Cock M.J.W. 1996. Capítulo 9. Control biológico de malezas. FAO Plant Production and Protection Papers. 11 p.
16. Chaboudez P. y Sheppard A.W. 1995. Are particular weeds more amenable to biological control? A reanalysis of mode of reproduction and life history. In: Delfosse, E.S., Scott, R.R. (Eds.), Proceedings of the VIII International Symposium on Biological Control of Weeds, Canterbury, New Zealand. DSIR/CSIRO, Melbourne Australia. pp. 95–102

17. Chutia M., Mahanta J.J., Bhattacharyya N., Bhuyan M., Boruah P. 2007. Microbial herbicides for Weed Management: Prospects and Constraints. *Plant Pathology Journal*. pp 210-218
18. Dhingra O. D. y Sinclair J. B. 1985. *Basic Plant Pathology Methods*. CRC Press. 355 p.
19. El-Sayed M., El-Morsy S. M., EL-Dohlob, Hyde K.D. 2006. Diversity of *Alternaria alternata* a common destructive pathogen of *Eichhornia crassipes* in Egypt and its potential use in biological control. *Fungal diversity*. 20 p.
20. Espadas R.M., Zita P.G., Silva V.M., Hernandez F.N., Sanchez M. S., Martinez M.S. 2010. Propuesta de un formato para coleccionar microorganismos de malezas enfermas con potencial para micoherbicidas. DGPA PAPIME 202407. 4 p.
21. Espadas R.M. y Zita P.G. 1992. *Colletotrichum sp.* Limitante natural de la maleza acuatica *Typha latifolia*. XV Congreso Nacional de Control Biológico. pp. 198-202
22. Fernández M. R. y Zita P.G. 1995. Hongos asociados a *Eichhornia crassipes* (Mart.) Solms. como micoherbicida potencial en el Valle de México
23. Espadas R.M. y Zita P.G. 1999 *Manual de Micología*. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. 25 p.
24. Hesseltine C.W. 1955. Genera of Mucorales with notes on their synonymy. *Mycologia* 47. pp. 344-363.
25. Holliday P. 1980. *Fungus diseases of tropical crops*. Gran Bretaña. Cambridge University press. 607 p.

26. Instituto Nacional de Ecología (INE) 1984. Asesoría para el control, uso y aprovechamiento de malezas acuáticas. Coplain., México. 147 pag.
27. Jennifer C. Cook, Charudattan R., Thomas W. Z., Erin N. R., William M. S., Gregory E. M. 2009. Effects of *Alternaria destruens*, Glyphosate, and Ammonium Sulfate Individually and Integrated for Control of Dodder (*Cuscuta pentagona*). Weed Technology. Vol. 23, No. 4. pp. 550-555
28. Julien M.H. y Griffiths M.W., 1998. Biological Control of Weeds: A World Catalogue of Agents and their Target Weeds, fourth ed. CABI Publishing, Wallingford, UK. 223 p.
29. Kiffer E. y Marlet M. 1997. The Deuteromycetes. Science publisher's inc. USA. 293p.
30. Kowalik M. y Krasny M. 2009. Fungi occurring on garden pond plants. The Polish Phytopathological Society, Poznań. University of Agriculture in Kraków, Cracow, Poland. 6 p.
31. Mazurkiewicz-Zapałowicz K., Wrobel M., Silicki A. y Wolska M. 2006. Studies on phytopathogenic and saprotrophic fungi in rush associations of Lake Glinno (NW Poland). Acta Mycologica Vol. 41 (1): 125-138 pag.
32. Martínez J. M. y Charudattan R. 1998. Survey and Evaluation of Mexican Native Fungi for Potential Biocontrol of Water hyacinth. J. Aquatic Plant Management. 36. pp. 145-148
33. Martinez J. M. y Gutierrez L. E. 2001 Host ranges of *Cercospora piaropi* and *Acremonium zonatum*, microbial herbicides candidates for waterhyacinth. Hytoparasitica. pp. 175-177

34. Morris M.J., Wood A.R., den Breeÿen A. 1999. Plant pathogens and biological control of weeds in South Africa: a review of projects and progress during the last decade. *Afr. Entomol. Mem.* 1. pp.129–137
35. Muèller-Schaèrer H., Scheepens P. C., Greave M. P. 1999. Biological control of weeds in European crops: recent achievements and future work. Blackwell science ltd weed research 2000. pp. 83 – 98.
36. Narayanasamy, P. 2001. Plant pathogen detection and disease diagnosis. Marcel Dekker Inc., 518 pag.
37. Prashanth S.K. y Kulkarni S. 2005. *Aureobasidium pullulans*, a potential mycoherbicide for biocontrol of eupatorium [*Chromolaena odorata* (L.) King and Robinson] weed. Department of Plant Pathology, University of Agricultural Sciences, Dharwad, India. 4 p.
38. Pitt I. J., Hocking D. A. 2009. Fungi and Food Spoilage. Springer. pp. 88-89
39. Ponnappa K. M. 1968. Some interesting fungi III. On *Typha*. Commonwealth Institute of Biological Control, India Station, Bangalore, India. pp. 143- 148
40. Pugh G. J. F. y Mulder J. L. 1971. Mycoflora associated with *Typha latifolia* department of botany, University of Nottingham .10 p.
41. Secretaria del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). 2008. Informe de la situación del Medio Ambiente en México, compendio estadístico Ambientalista., México DF. pp. 261-315
42. Sivanesan A. 1990. Mycopathologia. C.M.I Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 1005. Kluwer Academic Publishers. Printed in Belgium.

43. Sivanesan A. 1990. Mycopathologia. C.M.I Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 97 Kluwer Academic Publishers. Printed in Belgium.
44. Sivanesan A. 1990. Mycopathologia. C.M.I Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria No. 94. Kluwer Academic Publishers. Printed in Belgium.
45. Schröter J. 1893. Mucorineae, In A. Engler and K. Prantl, *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. I Teil, 1. Abth. Wilhelm Engelmann. Pp. 119-134
46. Shabana Y. M., Elwakil M.A., Charudattan R. 1999. Development of *Alternaria eichhorniae* Nag Raj & Ponnappa for biological control of water hyacinth in Egypt. In: M. Canard and V.B. Arnaouty (eds), Proceedings of the First Regional Symposium for Applied Biological Control in Mediterranean Countries, Cairo, Egypt. pp. 211–215
47. Trigiano R. N., Windham M. T., Windham A. S. 2008. Plant pathology, Concepts and Laboratory. CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington, D.C. 413 p.
48. TeBeest D.O. y Templeton G.E. 1985. Mycoherbicides: progress in the biological control of weeds. *Plant Dis* 69. pp. 6–10
49. Ulloa M. y Hanlin T. R. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. Estados Unidos APS press The American Phytopathological Society. Pag. 671.
50. Villaseñor R. J. L. y Espinosa G. F. J. 1998. Catálogo de malezas de México. Universidad Nacional Autónoma de México. Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario. Fondo de Cultura Económica. 448 p.
51. Zita P. G. 2007. Biología y Ecología de Malezas. Curso Pre-Congreso. XXVIII Congreso Nacional de la Ciencia de la Maleza. Mazatlán Sin. México 5 p.

Páginas web consultadas

52. *Typha domingensis* Pers. Ficha informativa disponible en:
<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/typhaceae/typha-domingensis/fichas/ficha.htm#2.%20Origen%20y%20distribuci%C3%B3n%20geogr%C3%A1fica> Heike Vibrans. Consultado el 21 de Julio de 2011.
53. Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5599&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>. Consultada el 27/08/11
54. Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=4830&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11
55. Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=749588&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11
56. Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5052&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11
57. Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5502&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11
58. Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5498&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11
59. Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=5455&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11
60. Taxonomy Browser (NCBI) disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=104397&lvl=3&keep=1&srchmode=1&unlock&lin=s> consultada el 27/08/11

Capítulo 7. Anexos

Anexo 1.

Colecta

La colecta de muestras en campo de tejidos vegetales enfermos por hongos, son bastante útiles en el conocimiento y estudio de la sintomatología de enfermedades, así como en la formación de poblaciones representativas del patógeno. En laboratorio continuar con la revisión y caracterización de síntomas ayudará a iniciar a hacer un correcto diagnóstico, el reconocimiento del signo en sus diferentes manifestaciones estructurales como tipos de micelio, tipos de esporas, tipos de fructificaciones del hongo sexuales o sexuales nos ayudaran a hacer una correcta identificación del patógeno en las malezas afectadas.

Objetivo

Conocer y manejar las técnicas más comunes de colecta, preservación y manejo de material de estudio fitopatológico en cultivos de importancia agrícola

Material y equipo utilizado en la colecta de plantas enfermas.

Pala recta, navaja de campo, tijeras de podar, lupa de campo, serrucho, machete, cámara fotográfica, bolsas de polietileno, etiquetas, prensa, papel secante, periódico y cartón corrugado, libreta de campo, hielera portátil, ligas, engrapadora manual, frascos de boca ancha, soluciones fijadores.



Typha sp.



Hymenocallis sp.

Desarrollo

Los problemas fitopatológicos en los cultivos se pueden presentar en hojas, raíces, tallos, frutos, etc. Se pueden identificar cuando:

- a) Crecen anormalmente
- b) Se secan o se mueren
- c) Cuando disminuye la cosecha año con año y no se recupera aún con fertilizantes o combatiendo malezas.
- d) Alteraciones en el crecimiento (achaparramiento, gigantismos, etc.)
- e) Decoloraciones, sobre pigmentaciones, manchas, rayados, etc.

Es conveniente disponer del mayor número de elementos vegetales colectados que permitan lograr la identificación del agente causal. Las partes vegetales que deben colectarse, dependen de la forma biológica del hospedante que se trate:

- a) Hospedante anual. Se deberá colectar varias plantas completas que presenten síntomas iniciales y en diferentes etapas de desarrollo de la enfermedad, pero que no están en su totalidad muertas o en estado de descomposición, pues así no son útiles para el estudio en el laboratorio. Si el cultivo ya está muy desarrollado, colecte solo porciones de los órganos afectados. Es conveniente colectar también una planta sana para que sirva de comparación.
- b) Hospedante perenne. Se colectan partes representativas, como raíz, tallo, hojas, flores, frutos, igualmente con síntomas iniciales y en diferentes etapas de desarrollo de la enfermedad; así mismo, se deberán colectar partes que estén completamente muertas o en estado de descomposición.

En el caso de que la planta presente síntomas tipo marchitamiento, es muy probable que se trate de infestaciones de hongos del suelo, por lo que se deben tomar muestras del suelo que haya estado en contacto con la raíz. En el caso de que las plantas sean pequeñas, se debe sacar la planta entera, y sin sacudir el

suelo de las raíces, se debe meter en una bolsa de plástico junto con 250 gr. de suelo, (aproximadamente), y cerrarla con una liga. .

Al recolectar el material en el campo, deben tomarse en consideración varios aspectos importantes, como son el estado fenológico de la planta al momento de la recolección, la parte de la planta que se va a tomar, el desarrollo de la lesión y las condiciones ambientales en ese momento. Para cada muestra deben anotarse los datos de recolección, como localidad, fecha, junto con una descripción de los síntomas.

Es indispensable que todos los ejemplares que se colecten, vayan acompañados con una hoja con los siguientes datos de campo.



Plantas colectadas y prensadas

Anexo 2.

FORMATO DE COLECTA DE PLANTAS ARVENSES ENFERMAS

1.- Colecta

a) Datos generales

Colecta No. _____

Localidad _____

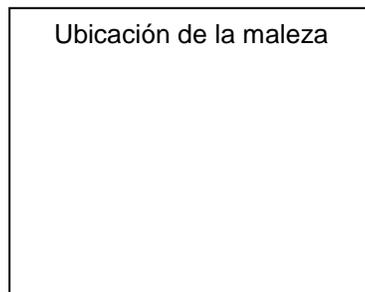
Predio _____

Fecha _____

Nombre Científico _____

Nombre Común _____

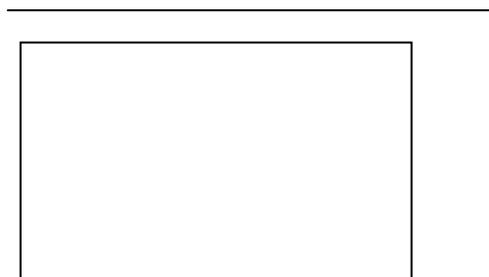
Ubicación de la maleza



b) Apariencia general de la planta enferma



c) Órganos afectados de la maleza



e) Tipo de sintoma

Plesionecrosis _____

Holonecrosis _____

Hipoplasia _____

Hiperplasia

a) Gigantismo _____

b) Hiper Cromía _____

c) Metaplasia _____



Anexo 3.

Formato Fase de Laboratorio

f) Descripción general del síntoma

Forma: _____

Tamaño _____

Ubicación _____

g) Características del signo.

Signo	Fructificación	Acérvulo	
Oídio o cenicilla polvosa		Esporodoquio	
Mildiu o cenicilla vellosa	Asexual	Picnidio	
Roya blanca o mal de cal		Monial	
Roya		Micelio esteril	
Carbón			
Fumagina		Clestotecio	
Zoogleas	Sexual	Apotecio	
		Peritecio	
Puntuaciones negras		Acostroma	
		Otras características	
Eflorescencias grisáceas	Somática	Micelio Cenocítico	
		Micelio Septado	
	Reproductivas	Conidióforos simples	
		Conidióforos ramificados	

Tipo de conidios: _____

Anexo 4.

Antibiótico

Para poder calcular el volumen final de antibiótico a usar se aplico la siguiente fórmula:

$$C_1V_1=C_2V_2$$

Despejando tenemos que:

$$C_1= 100000 \mu\text{gr. /ml.} \quad V_1=C_1V_2 / C_2$$

$$C_2= 200 \mu\text{gr. /ml.} \quad V_1= (200 \mu\text{gr. /ml.})(1000 \text{ ml.}) / 10000 \mu\text{gr. /ml.}$$

$$V_1= ¿? \quad V_1=2 \text{ ml}$$

$$V_2= 1000 \text{ ml.}$$

Por lo tanto debemos agregar 2 ml de Cloranfenicol por cada litro de medio de cultivo realizado.



Anexo 5.

Microcultivo

Una vez que se tiene el resultado de las diferentes técnicas de aislamiento como lo es la obtención de la cepa pura, el siguiente paso para cumplir a cabalidad con el segundo postulado de Koch, es la identificación del agente causal y una herramienta más para cumplir con este objetivo, en caso que este agente causal sea un hongos como en la mayoría de las enfermedades que afectan a los cultivos: es la técnica de Microcultivo; con esta técnica se obtienen las distintas fases del ciclo de vida de los hongos, que va de germinación de la espora, formación del tubo germinativo, hifas, micelio, diferenciación de las estructuras reproductivas asexuales y sexuales. Se debe dar un manejo de tiempos en el desarrollo de los hongos para poder observar las estructuras desde el inicio de su formación.

Por ejemplo esta técnica resulta sumamente útil para aquellos hongos en los que es difícil observar la formación de los conidios sobre los conidióforos y la forma y estructura de éstos; porque, al efectuar el preparado correspondiente, se desprenden y/o se rompen. Mediante este método se puede observar bajo el microscopio, su crecimiento y esporulación en todos sus detalles y así tener elementos morfológicos de estructuras somáticas y reproductivas completas para así poder hacer la identificación con mayor confiabilidad y conocer a los hongos como agentes causales de enfermedades en las diferentes cultivos Dhingra, and Sinclair(1985) Trigiano, Windham,. And Windham, (2008).

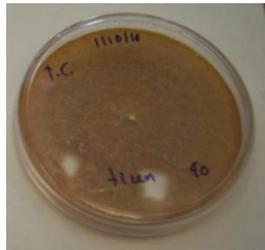
Objetivo.

- Conocer la técnica de Microcultivo para la caracterización de estructuras somáticas y reproductivas para identificar morfológicamente a los hongos fitopatógenos.

Materiales y métodos

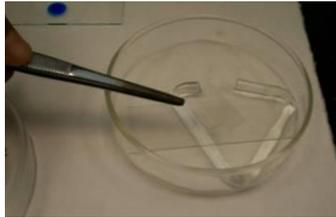
Recipiente con alcohol al 96%, pinzas de disección, aguja de disección, bisturí, caja de Petri estéril con PDA, cepa pura, dispositivo de Microcultivo, pipetas, puntas agua estéril, papel parafilm, una caja con medio de cultivo

Con un bisturí estéril se cuadricula el medio de cultivo de la caja de Petri con PDA en cuadros de aproximadamente 1 cm². Este paso se realiza en el interior de una campana de flujo laminar preparada para trabajar bajo condiciones asépticas.



1. Dentro de la cámara de flujo laminar, con la ayuda de un bisturí estéril, uno de los cuadros de PDA se transfiere al portaobjetos que está en la cámara de Microcultivo ;este portaobjetos debe de estar sobre el triangulo de vidrio
2. Con la aguja de disección estéril o con una asa bacteriológica estéril se lleva el inóculo a las orillas superiores e inferiores del cuadro de PDA
3. Se coloca el cubre objetos sobre el cuadro de PDA inoculado, procurando que quede bien centrado.
4. Se agregan 2ml de agua estéril, en el fondo de la cámara de Microcultivo para mantener la humedad, sin mojar el área de crecimiento del hongo. Los pasos 1-5 se llevan a cabo en el interior de una campana de flujo laminar o en mesas de trabajo en condiciones asépticas
5. Se sella el dispositivo de Microcultivo con papel parafilm y se rotula.
6. El crecimiento del hongo se detiene cada 24,

7. se repiten los pasos del 1 al 7 para mas microcultivos, y detener su desarrollo a la 48, 72 y 96 hrs. Respectivamente



Anexo 6.

Calibración de los lentes objetivos.

1.- Se coloca en el ocular del microscopio óptico el micrómetro ocular –aunque a menudo se trabaja con el ocular micrométrico permanente puesto en el microscopio. Hay que evitar que quede invertida la escala (Ver Fig. 1).

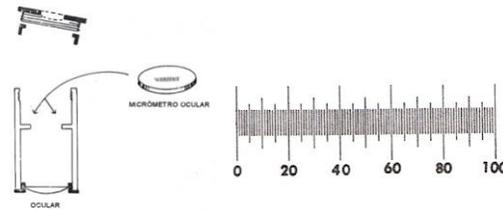


Fig. 1.- A.- Colocación de la reglilla ocular, y B.- Escala de la reglilla ocular micrométrica

2.- Sobre la platina del microscopio se pone el micrómetro del objeto similar portaobjeto como si fuese una preparación.

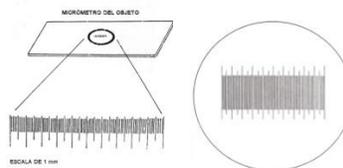


Fig. 2.- Escala de la reglilla portaobjeto

3.- Moviendo la platina se hace coincidir el margen de una raya del ocular micrométrico con una del portaobjetos micrométrico. Puesto que las rayas del portaobjetos aparecen tanto más gruesas cuanto mayor son los aumentos, la superposición de las líneas ha de ser siempre al comienzo del margen exterior de éstas (Barrera y Cárdenas 1997)

4.- Moviendo la platina se observa a través de microscopio con ambas reglillas colocadas se les puede ver superpuestas en el campo visual, y se puede saber cuantas líneas del micrómetro ocular concuerdan con cuantas líneas del

micrómetro del objeto se hace coincidir el margen de una raya del micrómetro ocular con una del micrómetro del objeto. Ver figura 3

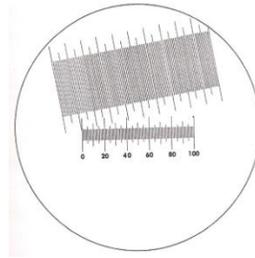


Fig. 3.- Vista simultánea del ocular y de la reglilla micrométrica

5.- Cuando se observa a través del microscopio con ambas reglillas micrométricas colocadas, se les puede ver superpuestas en el campo visual, y se puede saber cuántas líneas del micrómetro ocular concuerdan con cuántas líneas del micrómetro del objeto. En el campo visual, la reglilla ocular se encuentra graduada del 0 al 10 a un lado la reglilla del objeto con 100 divisiones; como cada línea del micrómetro del objeto corresponde a 10 micras, se hacen coincidir ambas reglillas en el cero, en el otro extremo de las reglillas se observa cual de las 100 líneas de la reglilla ocular coinciden con otra de la reglilla del portaobjetos. Y se hacen los cálculos correspondientes (Barrera y Cárdenas 1997).

- Ejemplos 1: Se hace coincidir los ceros de ambas reglillas (ver imagen 1) y se observa que en el otro extremo de las reglillas el 100 de la reglilla ocular coincide con el 97 de los trazos de la reglilla del objeto, es decir 0.97 mm; por lo tanto, una línea del micrómetro ocular es equivalente a $0.009 \text{ mm} = 9 \mu\text{m}$ y este valor es el que utilizamos para definir el tamaño de cada estructura que se mide, es obvio que esta calibración es para este microscopio, con ese ocular y objetivos respectivamente. Esta operación se deberá repetir cuando se cambie de microscopio o de objetivos para evitar errores.
- Ejemplo 2: Se hace coincidir los ceros de ambas reglillas (ver imagen 2) y se observa que siete divisiones del ocular micrométrico coinciden con dos divisiones del portaobjetos micrométrico. Puesto que cada división de éste

equivale a 10 μm , el valor de cada división del ocular se obtiene mediante una simple regla de tres: 7 divisiones del ocular = 20 μm ; una división del ocular = $20/7 = 2.8 \mu\text{m}$ (Ver Fig. 4) (Barrera y Cárdenas 1997).

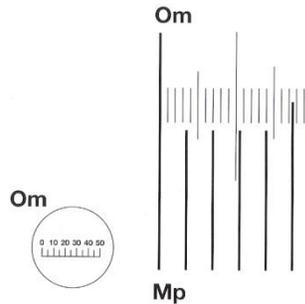
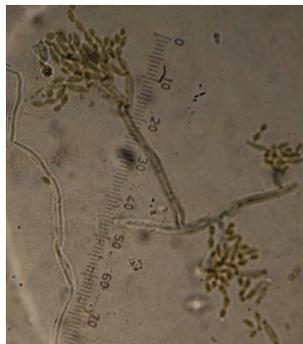


Fig. 4.- Vista simultánea del ocular y de la reglilla micrométrica, donde coinciden la primera línea de las dos reglillas y la línea 2 de la reglilla portaobjetos con la siete de la ocular

b).- Medición de ejemplares y estructuras de micromicetes.

1.- Una vez que se ha cuantificado el valor de cada línea en la reglilla del ocular (9 y 2.8 μm en los ejemplos), se puede retirar el portaobjetos micrómetro y en su lugar se puede colocar un portaobjetos normal con el espécimen a medir y se deja colocado el micrómetro ocular, de manera que se puede colocar una célula o estructura celular cualquiera, en este caso, se hace coincidir una raya de la escala con los márgenes de la estructura fúngica elegida, y se cuenta el número de divisiones de la escala comprendidas en la longitud y en el ancho de dicha estructura (Barrera y Cárdenas 1997).

- Ejemplo 3: Si la estructura del hongo se extiende a lo largo de 16 líneas y cada una de ellas vale 9 micras, según se explicó antes, por tanto el tamaño total de esta célula es de 16 x 9, es decir 144 micras.



2.- Si se llega a cambiar el objetivo por otro menor aumento se debe repetir la operación para encontrar nuevos valores en la reglilla, esta medición se puede realizar en un microscopio mono o binocular, pero en este último caso se tiene que mantener inalterada la distancia interpupilar, puesto que el cambio altera la distancia mecánica y el valor del micrómetro depende de ella (Barrera y Cárdenas 1997).

