



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA

Hongos y Myxomycetes coprófilos de la
Reserva Ecológica de Tehuacán-Cuicatlán, Municipio de
Zapotitlán, Puebla

TESIS PROFESIONAL

para obtener el título de:

BIÓLOGA

Presenta

Perla Eloisa Palacios Popo

Director de Tesis: Dr. Rodolfo de la Torre Almaraz

Los Reyes Iztacala, Edo. Méx., 2014





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.

Agradezco al Dr. Rodolfo de la Torre Almaráz por su paciencia y sus enseñanzas en la última etapa de mi universidad, por compartir su tiempo y experiencias dentro del campo de los hongos. Gracias profesor porque hizo de mi último año el de mayor aprendizaje.

A mi familia, mis padres Carmen y Héctor porque han sustentado todos mis estudios y son mi guía en todos los aspectos y a mi hermana Pamela que siempre está conmigo dándome su perspectiva de las cosas.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por darme la oportunidad de realizar mis estudios en su espacio apoyada por toda la comunidad que la integra.

A mis amigos de toda la vida, a los del Laboratorio y especialmente a los de la carrera gracias son la mejor compañía que he podido tener.

Índice

INTRODUCCIÓN.....	1
ANTECEDENTES	2
OBJETIVOS	5
MATERIALES Y MÉTODO.....	5
Área de estudio	5
Colecta de muestras.....	6
Observación e Identificación de muestras	6
Identificación molecular y secuenciación.....	7
RESULTADOS.....	9
<i>Ascobolus</i>	10
<i>Saccobolus</i>	11
<i>Sporormiella</i>	12
<i>Chaetomium</i>	14
<i>Zopfiella</i>	15
<i>Sordaria</i>	16
<i>Coprinellus</i>	17
<i>Coprinopsis</i>	18
<i>Didymium</i>	19
<i>Perichaena</i>	20
<i>Podospora</i>	21
Identificación molecular y secuenciación.....	22
Sucesión de cuerpos fructíferos.....	23
DISCUSIÓN	24
Géneros identificados	24
Identificación molecular.....	28
Sucesión	29
CONCLUSIÓN.....	30

ANEXO 1	31
BIBLIOGRAFÍA	34

INTRODUCCIÓN

Los hospederos del excremento animal son categorizados como organismos fimícolas o coprófilos, abarcando especies ubicadas a distintos niveles de degradación del sustrato. Cuando los requerimientos de los hospederos los hacen estrictamente coprófilos, no crecen en otro sustrato, los coprófilos facultativos pueden crecer en otros sustratos además del excremento y en otro caso algunas especies necesitan material de las excretas para su nutrición, pero no crecen directamente sobre él, como sucede en la tierra fertilizada con estiércol, a estos se les llama organismos subcoprófilos (Moreno, et. al. 1977).

El excremento de animales herbívoros es un sustrato extremadamente complejo ya que contiene los residuos de la vegetación ingerida, fibra capilar, partículas del suelo y microorganismos que pueden ser o no hospederos del tracto intestinal del animal como nemátodos, bacterias, artrópodos, protistas y hongos.

Los hongos son un grupo particular que constituye uno de los reinos con mayor diversidad en el mundo, ya que pueden crecer en todos los hábitats; son organismos eucarióticos heterótrofos, quimiorganótrofos, es decir, requieren de materia orgánica preformada que utilizan como fuente de energía y de carbono para la síntesis de estructuras celulares. Absorben nutrientes simples y solubles que obtienen mediante la degradación de polímeros complejos con enzimas extracelulares que liberan al medio (Deacon, 1993).

Están constituidos por estructuras filamentosas de forma tubular, llamadas hifas que se desarrollan a partir de una espora o conidia, cuyo agrupamiento constituye el micelio, nombre comúnmente dado al talo. El micelio vegetativo se encarga de efectuar funciones de nutrición y el reproductivo, se encarga de la formación de esporas o conidias (Ross, 1979).

Su pared celular es autoconstruida y alberga enzimas y otras sustancias activas principalmente polisacáridos como quitina, glucógeno, glucanas, nigerina, mananas, galactanas, ácido poligalacturónico y quitosana.

Presentan principalmente 2 tipos de reproducción: asexual consiste en la formación de esporas (mitosporas) como conidias, esporangiosporas, zoosporas y clamidosporas. Y la reproducción sexual, produciendo ascosporas y basidiosporas. (Deacon, 1993).

Presentan una alta complejidad estructural y reproductiva que ha causado varios cambios a través del tiempo en el estudio de su taxonomía y sistemática. La ubicación taxonómica de los hongos ha estado basada en comparaciones morfológicas pero desde la segunda mitad del siglo XX, con el avance en el conocimiento de la biología molecular como la introducción de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han permitido una mayor certeza y cohesión entre datos e hipótesis sobre la historia evolutiva de los hongos (Rodríguez et. al., 2004).

Algunos de los grupos que han sido reubicados son los Oomycetes y Myxomycetes. En un principio los Myxomycetes se clasificaban dentro del reino Fungi debido a la formación de un cuerpo fructífero parecido al de los hongos. Fue hasta los años 70's cuando se empezaron a clasificar dentro de los Protistas, ya que la química de las paredes de las esporas se mostró diferente a la de cualquier hongo o protozooario, además de su nutrición holotrófica y la formación de un talo constituido por un protoplasto desnudo, diploide y multinucleado llamado plasmodio.

La descripción del crecimiento de hongos y protistas en diversos sustratos ha sido poco estudiada por lo que en esta tesis se pretende dar a conocer la riqueza de géneros de hongos y myxomycetes que crecen sobre excretas de chivo.

ANTECEDENTES

Existen estudios sobre la micoflora coprófila a nivel mundial y nacional con diversos enfoques, como listados taxonómicos donde se describen las especies encontradas en diferentes tipos de excremento, por ejemplo uno de los primeros estudios fue donde Harper y Webster (1964) observaron a la clase Zygomycotina con el género *Pilobolus*, Ascomycotina con el género *Ascobolus* y Basidiomycotina con los géneros *Coprinellus*, *Coprinus*, *Chaetomium* y *Podospora* pero que existen otros factores que intervienen en la formación de cuerpos fructíferos como lo son la humedad, los nutrientes y la interacción con crecimientos bacterianos sobre el sustrato.

Nisao et. al. en 1994 hicieron una revisión de 187 especies y 2 variedades (37.4% del total mundial) de myxomycetes en 34 referencias bibliográficas, incluyendo el género *Didymium* y el género *Perichaena*. La mayoría de las investigaciones realizadas sobre estos organismos en México, han sido a nivel de inventarios, pocas son taxonómicas y solamente una es un estudio ecológico. Las entidades federativas de Aguascalientes, Baja California Sur y Sinaloa son las únicas sin registros de

Myxomycetes. Veracruz, Nuevo León, Chiapas, Quintana Roo, Guerrero, México y Yucatán, en orden de importancia, son las que más registros presentan.

Andrade et. al. en el 2006 observaron el crecimiento de mixomicetes en estiércol de caballo y conejo brasileño registrando por primera vez 10 morfoespecies incluyendo a las clases Trichiales y Physarales, sólo la especie *Cribaria mirabilis* no había sido registrada en ningún otro microhábitat del país

Moreno et. al. en el año 2006 , registraron 23 especies de mixomicetes en Sonora, que representan los primeros datos para la Reserva Forestal Nacional y Refugio de Fauna Silvestre Ajos-Bavispe. Los ejemplares se recolectaron sobre suelo, hojarasca, cortezas y estiércol. Determinaron 2 especies coprófilas: *Perichaena chrusosperma* y *Perichaena syncarpon*.

Moreno et. al. 1980. Hicieron un listado como contribución al catálogo español de 14 nuevas especies de hongos coprófilos Coprinus, Podospora, Saccobolus, Ascobolus, Sporormiella y Dydimium en heces de vaca, caballo, conejo, oveja, camello y gamo.

Wrigley y Estrada en 2008 describieron 6 nuevas especies de *Didymium* que crecieron sobre cortezas de *Yucca spp.* colectadas de la reservas de Sierra Gorda, Querétaro y Tehuacán-Cuicatlán, Puebla-Oaxaca.

Santíz 2012, identificó los siguientes 10 géneros de hongos coprófilos en excretas de chivo: *Ascobolus*, *Saccobolus*, *Podospora*, *Sporormiella*, *Sordaria*, *Chaetomium*, *Zopfiella*, *Coprinellus*, *Penicillium* y *Pilobolus*.

Otro enfoque son los estudios ecológicos donde incluyen factores como la luz, humedad y temperatura como variables que intervienen en la esporulación o crecimiento de cuerpos fructíferos sobre las heces

Dickinson y Underhay en 1977 en Reino Unido estudiaron el crecimiento vegetativo y la esporulación de hongos sobre muestras creadas con medios de cultivo y reactivos preparados

semejando extractos de heces en laboratorio y también en excretas de vaca encontradas en varios sitios sobre el pasto. La sucesión empezó con Mucorales seguido de Discomicetos y por último los Basidiomicetos. Hubo un mayor índice de esporulación en las muestras mantenidas en laboratorio, pero mayor crecimiento micelial en las heces muestreadas en el pasto que en las artificiales. *Pilobolus* fue el hongo que más cuerpos fructíferos produjo. Y destacaron que el agua es una variable indispensable para el crecimiento de micelio y también para la esporulación.

Harrower y Nagy en 1979 aislaron heces de conejo y canguro en Australia, sometiéndolos a 12 tratamientos en medios preparados con NaNO₃, KH₂PO₄, MgSO₄ 7H₂O, KCl, FeSO₄ 7H₂O, Agar y Agua destilada aunado al nutriente variable: glucosa, fructosa, lactosa, sucrosa, almidón, carboximetilcelulosa, pectina, queratina y lignina. Observaron que casi todos los hongos tuvieron una tasa de crecimiento mayor en los medios que contenían azúcares simples. Los ascomicetos no crecieron en medios con carboximetilcelulosa y algunos mucorales si esporularon en el mismo medio. Determinaron que preferencias nutrimentales no tienen relación con la taxonomía como lo había sugerido Webster en 1964.

Kuthubutheen y Webster en el año 1986 en Inglaterra, expusieron heces de conejo a diferentes condiciones de humedad: Libre disposición de agua, 100%, 98%, 95%, 92% y 81% de humedad. En el grupo que fue sometido a reducida disposición de agua crecieron zygomycetes y algunos ascomicetes, observando que éstos reducían su tiempo de fructificación de 2 a 3 días como respuesta al estrés de humedad. En el grupo que tuvo libre disposición de agua no fructificaron ningún ascomycetes ni basidiomicetes. Catalogaron a varias especies de *Aspergillus* y *Penicillium* como hongos xerófilos. Cuando se le aplicó saturación de humedad a las muestras que se sometieron a los porcentajes de humedad más bajos (92% y 81%) empezaron a fructificar hongos que antes de la saturación no lo habían hecho. Concluyeron que el estrés de humedad y las restricciones de agua reducen el crecimiento de cuerpos fructíferos.

Dentro de los estudios moleculares para la identificación de hongos Estrada et. al. 2005 hicieron un análisis del DNA del Myxomycete *Schenella* mediante PCR para confirmar que es el mismo género que en 1911 fue clasificado dentro del grupo de los Gasteromycetes como la especie *Pyrenogaster atrogleba*.

Martin, et. al. 2003. Realizaron la identificación morfológica de las especies por medio de microscopio electrónico de barrido. También diseñaron primers a partir de las secuencias encontradas en el Genbank de la especie *Physarum polycephalum*. Los primers diseñados los

utilizaron para hacer la identificación de 4 especies de myxomycetes del género *Lamproderma* obteniendo su secuencia de nucleotídica.

OBJETIVOS

General

-Describir los hongos coprófilos y myxomycetes que crecen sobre heces de chivo (*Capra aegagrus hircus*; *Bovidae*) colectados en Zapotitlán, Puebla.

Particulares

-Identificar de géneros de hongos y myxomycetes mediante claves dicotómicas.

-Identificar hongos y myxomycetes mediante técnicas moleculares.

-Describir la sucesión de hongos coprófilos myxomycetes que crecen sobre heces de chivo

MATERIALES Y MÉTODO

Área de estudio

La colecta se llevó a cabo en zonas de pastoreo de caballos y chivos dentro del Municipio de Zapotitlán, Puebla (Figura 1). Éste se encuentra enclavado en la parte occidental de la reserva ecológica de Tehuacán-Cuicatlán (Puebla-Oaxaca), entre las coordenadas 18° 20' N y 97° 28' O, tiene un altitud de 1 480 m (INEGI, 2011). Esta Reserva tiene un área 490, 186 ha y desde el año 2012 está incluida en la Red Mundial del Programa del Hombre y la Biósfera, Mab-UNESCO. Tiene registros de diversidad de especies de 102 especies de mamíferos de los cuales 38 son murciélagos, 338 de aves, 14 de peces, 28 de anfibios y 83 de reptiles, aunado a una flora de 2700 especies, siendo el 12% únicas en el planeta. En esta zona natural protegida habitan más de 35 mil personas, gran parte pertenecientes a 8 pueblos indígenas: Popolucas, Mixtecos, Chinantecos, Chocholtecos, Cuicaltecos, Ixcatecos, Nahuas y Mazatecos, quienes desde tiempos ancestrales han salvaguardado conocimientos milenarios del uso y aprovechamiento de su flora y fauna (CONANP).



Fig. 1. Reserva Ecológica de Tehuacán-Cuicatlán, Puebla-Oaxaca (Área sombreada).

Colecta de muestras

Se realizó la colecta de muestras de heces de chivos (*Capra aegagrus hircus*; *Bovidae*) colocándolas en bolsas de papel y fueron transportadas al laboratorio de Microbiología de la Unidad de Biotecnología y Prototipos (UBIPRO) en la Facultad de Estudios Superiores (FES) Iztacala UNAM. En el laboratorio fueron puestas 4 muestras a incubación en una cámara húmeda creada con papel filtro humedecido con agua destilada dentro de cajas Petri, teniendo un total de 20 unidades muestrales, es decir 20 cajas. Se mantuvieron a temperatura ambiente de 21 a 24°C con fotoperiodo de luz de 12 h. Se adicionó agua cada tercer día procurando no saturarlas.

Observación e Identificación de muestras

Se hicieron observaciones de las muestras diariamente mediante los microscopios estereoscópico (ME) para cuerpos fructíferos y microscopio óptico (MO) para estructuras internas como esporas, ascas, hifas. Se realizaron mediciones de las estructuras vegetativas y de reproducción, con un ocular calibrado añadido al microscopio e identificados con ayuda de claves de identificación taxonómica de Hanlin (1990, 1998), Richardson (1997). Se tomaron fotografías detalladas de las estructuras fúngicas con cámaras (Nikon, Mod. FX-35DX). La clasificación de cada género encontrado y el nombre correcto, fueron determinados de acuerdo a la página Index Fungorum

(CABI & Landcare Research, 2012). Se anotó el seguimiento de la sucesión de aparición del primer cuerpo fructífero de cada género hasta el último día en que fue observado.

Identificación molecular y secuenciación

Se realizó extracción de ADN por el método de AP de los cuerpos fructíferos seleccionados para la realización de Reacción en Cadena de la Polimerasa utilizando una mezcla de reactivos que contiene la muestra de DNA de hongos, Buffer 10x, cloruro de Magnesio, dNTP's, un par de oligonucleótidos que amplifican una región específica ITS 4 e ITS 5 para hongos que junto con la región 5.8S del ribosoma presentan un tamaño de 650 a 750 pb, y Taq polimerasa, con un programa de amplificación de 30 ciclos, con 95°C 1m para la desnaturalización del DNA, 57°C 1m como temperatura de alineamiento y 72°C 1m para la extensión. Para Myxomycetes se utilizó la misma mezcla sustituyendo los oligonucleótidos PHYS 4- PHYS 5 (que están en la posición LSU39 y SSU-1932) respectivamente, que corresponden a un tamaño de 900pb y los oligonucleótidos SSUMt1-SSUMt2 mitocondriales que corresponden a un tamaño de 400pb. Con un programa de 35 ciclos con 94°C 1m para la desnaturalización, 55°C 30s para alineamiento y 72°C 1m para la extensión. Los productos de PCR se corrieron por electroforesis con gel de agarosa por 30 minutos a 80mA y 100 volts y se utilizaron los marcadores moleculares 1kb Plus Invitrogen y 1kb Promega. Los productos positivos del tamaño esperado se mandaron secuenciar en el laboratorio de Biología Molecular de la UBIPRO, FES Iztacala y las secuencias obtenidas se compararon con las disponibles en el GenBank.

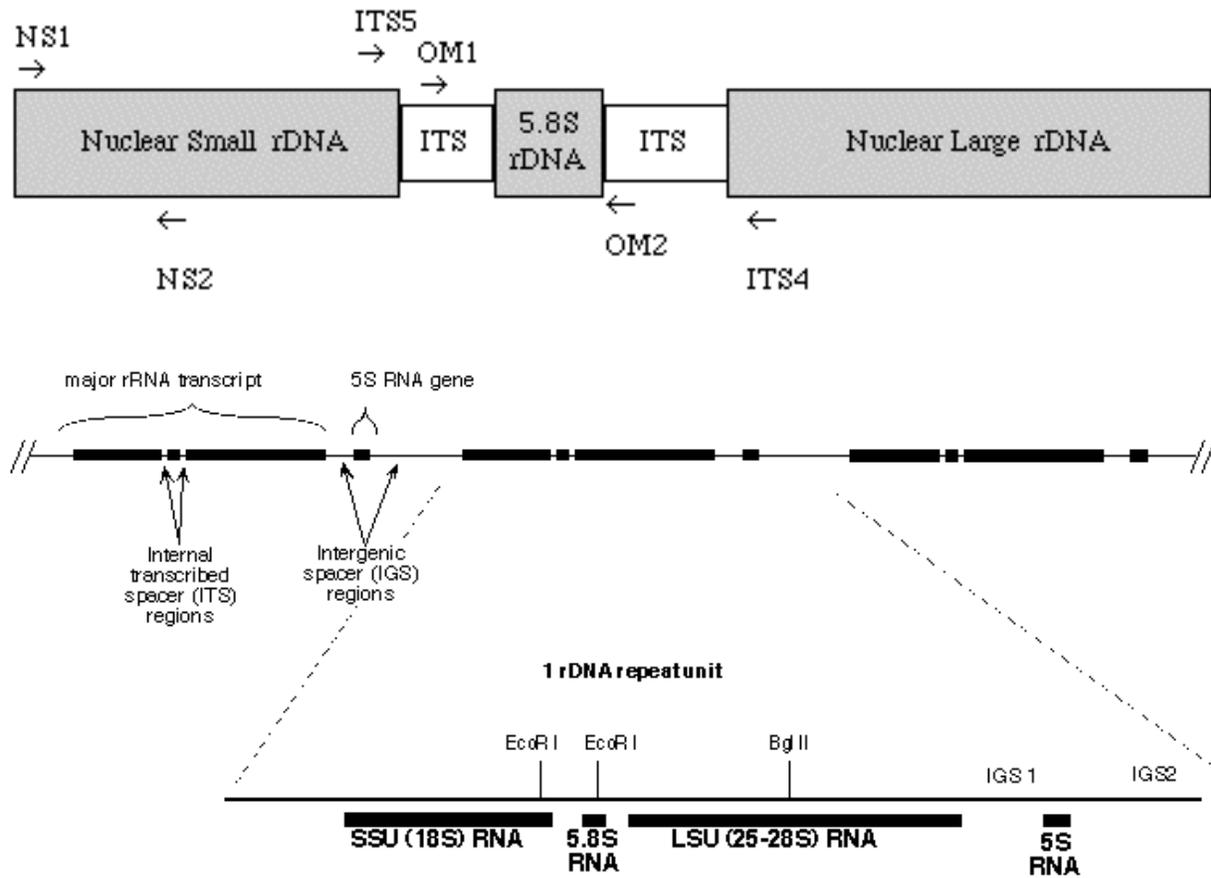


Figura 2. Regiones internas transcritas ITS's 4 y 5 utilizadas para la identificación molecular de hongos. Subunidad pequeña ribosomal SSU y subunidad ribosomal grande LSU utilizadas en PCR para identificación de hongos y myxomycetes Fuente: Vilgalys, R. en: <http://biology.duke.edu/fungi/mycolab/primers.htm#Conserved> primer sequences for PCR amplification and sequencing from nuclear ribosomal RNA.

RESULTADOS

Se encontraron un total de 10 géneros de hongos coprófilos y 2 géneros del Filo Myxomycota. De acuerdo a la clasificación clásica de los hongos, en este trabajo se encuentran representadas las clases siguientes: Ascomycetes, Zygomycetes, Basidiomycetes, encontrando un mayor número de especies de la clase Ascomycetes con 7 géneros, las fotografías se presentarán de acuerdo al orden de aparición en el sustrato. En cuanto a identificación molecular se obtuvieron 2 géneros de hongos con los primers ITS4-ITS5 y un Myxomycete con los pares de primers PHYS4-PHYS5 y SSU1-SSU2 mitocondriales (Tabla 1).

Tabla 1. Hongos observados durante 3 meses sobre sustrato, se indica cada género y el filo al que pertenece, así como el tipo de identificación realizada: morfológica y molecular con sus respectivos oligonucleótidos utilizados.

Filo	Género	Identificación			
		MORFOLÓGICA	MOLECULAR		
			ITS 4/5	PHYS 4/5	SSU 1/2 MITOCONDRIAL
Ascomycota	<i>Saccobolus</i> (Fig.4)	X			
	<i>Ascobolus</i> (Fig.3)	X			
	<i>Sporormiella</i> (Fig.5)	X			
	<i>Chaetomium</i> (Fig.7)	X			
Zygomycota	<i>Pilobolus</i> (Fig.6)	X			
Ascomycota	<i>Zoopfiella</i> (Fig.8)	X			
Ascomycota	<i>Sordaria</i> (Fig.9)	X			
Basidiomycota	<i>Coprinellus</i> (Fig.10)	X			
	<i>Coprinopsis</i> (Fig.11)	X	X		
Myxomycota	<i>Didymium</i> (Fig.12)	X		X	X
	<i>Perichaena</i> (Fig.13)	X			
Ascomycota	<i>Podospora</i> (Fig.14)	X			
Ascomycota	<i>Simplicillium</i>		X		

***Ascobolus* Pers., in Gmelin, Systema Naturae, Edn 13 2(2): 1461 (1792)**

Dominio Eukaria
Reino Fungi
Subreino Dikarya
Filum Ascomycota
Clase Pezizomycetes
Orden Pezizales
Familia Ascobolaceae
Género *Ascobolus*

Hábitat: Coprófilo estricto

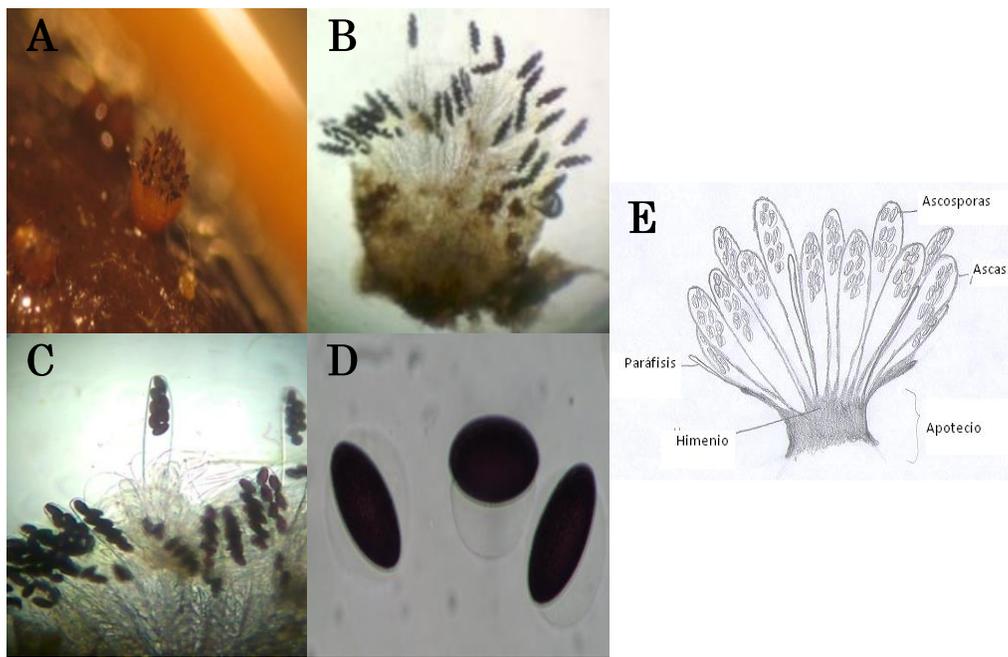


Figura 3. A) MO 5X. Ascoma en forma de Apotecio color anaranjado, superficial sésil 130-250x85-245 μm . B) ME 5X. Apotecio con talo corto no mayor de 30 μm de diámetro, con receptáculo subgloboso, liso. C) MO 40X. Ascas unitunicadas con opérculo cilíndrico, con ápice redondeado, con 4 a 8 esporas. . 50-87.5x7.5-15 μm . D) MO 40X. Ascosporas unicelulares subglobosas a elípticas, cubiertas de una envoltura gelatinosa, ornamentadas con pigmentos púrpuras y cafés cuando están maduras, expulsadas una por una del asca 12-14x5-7 μm . E) Esquema con estructuras básicas de cuerpo fructífero del género *Ascobolus*.

***Saccobolus* Boud., Anns Sci. Nat., Bot., sér. 5 10: 228 (1869)**

Dominio Eukaria

Reino Fungi

Subreino Dikarya

Filum Ascomycota

Clase Pezizomycetes

Orden Pezizales

Familia Ascobolaceae

Género *Saccobolus*

Hábitat: Coprófilo estricto

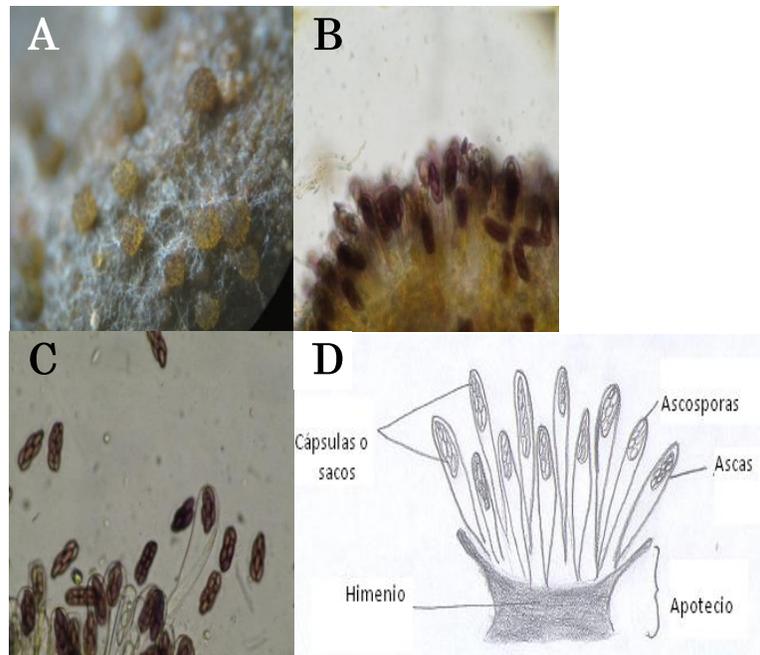


Figura 4. A) ME 5X. Apotecio color anaranjado que se localiza superficialmente sobre el sustrato. El himenio es de tonalidad amarilla-anaranjada 160-550x110-450 μm . **B)** MO 40X. Ascas cilíndricas, unitunicadas, octospóricas 11-13x4-6 μm . **C)** MO 40X. Esporas del tipo amero-spóra con forma elipsoidal con poro germinal, se encuentran ornamentadas y pigmentadas, están unidas en una bolsa en forma de saco de donde son expulsadas juntas 4-5x2-3 μm . **D)** Esquema que indica estructuras básicas del género *Saccobolus*.

***Sporormiella* Ellis & Everh., N. Amer. Pyren. (Newfield): 136 (1892)**

Dominio Eukaria

Reino Fungi

Subreino Dikarya

Filum Ascomycota

Clase Dothideomycetes

Orden Pleosporales

Familia Sporormiaceae

Género *Sporormiella*

Hábitat: Coprófilo estricto

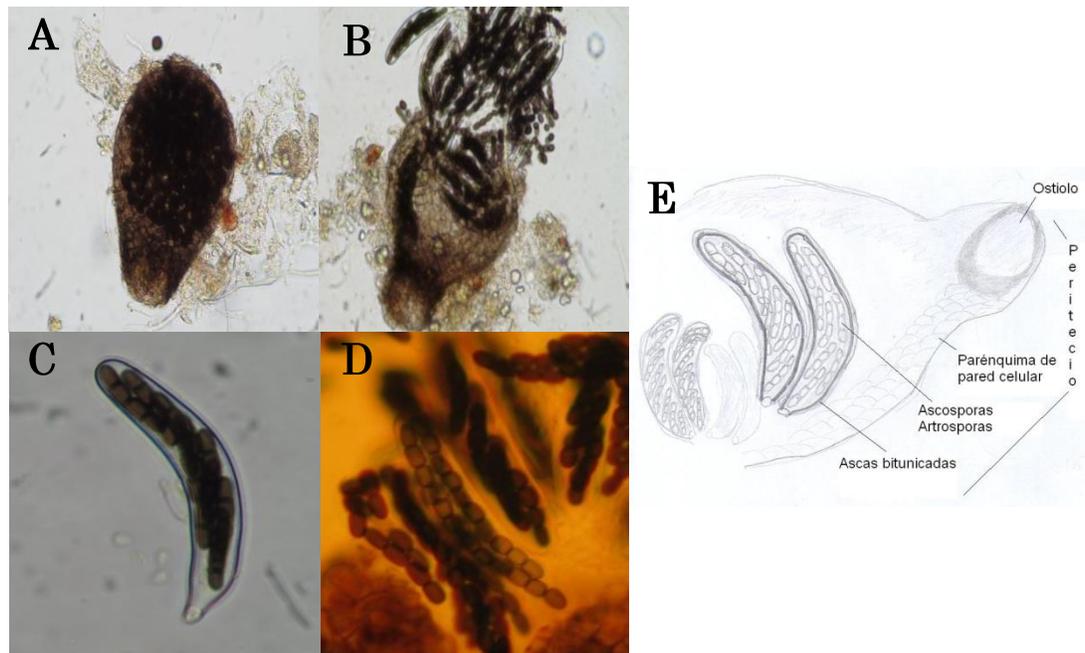


Figura 5. A) y B) MO 10X. Ascoma uniloculado, peritecioide, parcial o completamente inmerso en el sustrato, café oscuro a negro, con pelos y a veces sin ellos en la parte superior 75-212.5x50-175 μm . **C)** MO 40X. Ascas bitunicadas cilíndricas con talo, octospóricas : 87.5-132.5x12.5-22.5 μm . **Figura D)** MO 40X. Ascosporas de 4 o más células, color café oscuro del tipo artrosporas, rodeadas por una envoltura gelatinosa 60-80x12--15 μm . **E)** Esquema que indica estructuras básicas del género *Sporormiella*.

Pilobolus Tode, Schr. Ges. naturf. Freunde, Berlin 5: 46 (1784)

Dominio Eukaria

Reino Fungi

Filum *Zygomycota*

Subfilum Mucoroomycotina

Clase *Zygomycetes*

Orden Mucorales

Familia Pilobolaceae

Género *Pilobolus*

Hábitat: Coprófilo facultativo, se ha observado en material vegetal y materia fecal

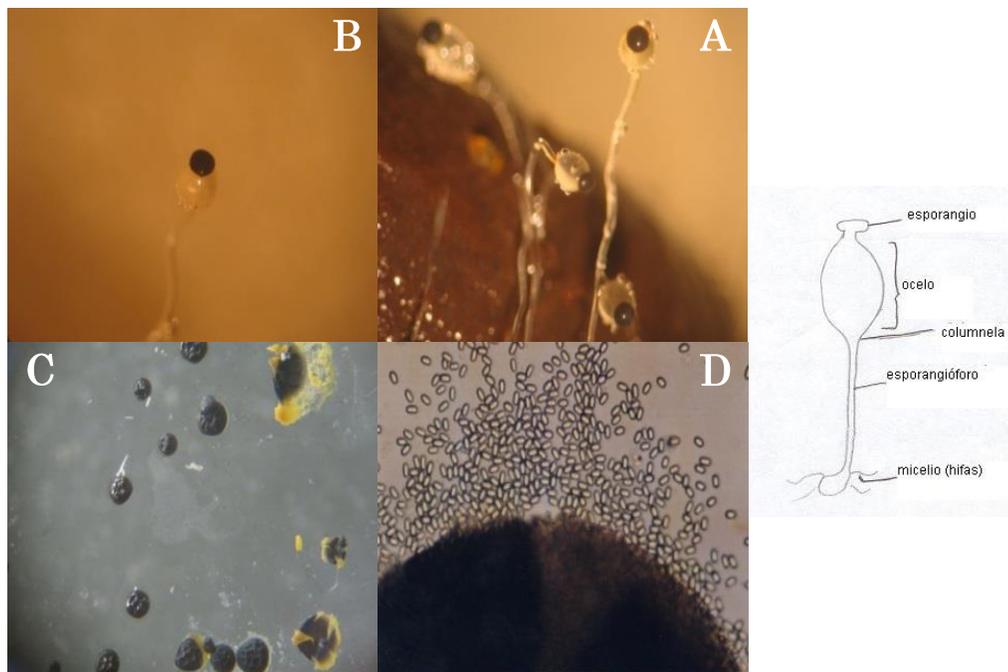


Figura 6. **A)** ME 2.5X. Zigocarpo con esporangio color negro creciendo sobre sustrato. **B)** ME 5X. Cuerpo fructífero o esporangióforo con ocelo translúcido y esporangio negro unido al ocelo mediante una columnela no visible. **C)** ME 5X. Esporangio lanzado fototrópicamente hacia la luz. **D)** MO 40X. Esporas hialinas y a veces verdes de textura aceitosa, ornamentadas, medidas de zigosporas: 8-10x5-6 μm . **E)** Esquema que indica estructuras básicas del género *Pilobolus*.

***Chaetomium* Kunze, in Kunze & Schmidt, Mykologische Hefte (Leipzig) 1: 15 (1817)**

Dominio Eukaria

Reino Fungi

Subreino Dikarya

Filum Ascomycota

Clase Sordariomycetes

Orden Sordariales

Familia Chaetomiaceae

Género *Chaetomium*

Hábitat: Subcoprófilo, es común en sustratos celulolíticos, semillas, tierra y excretas.

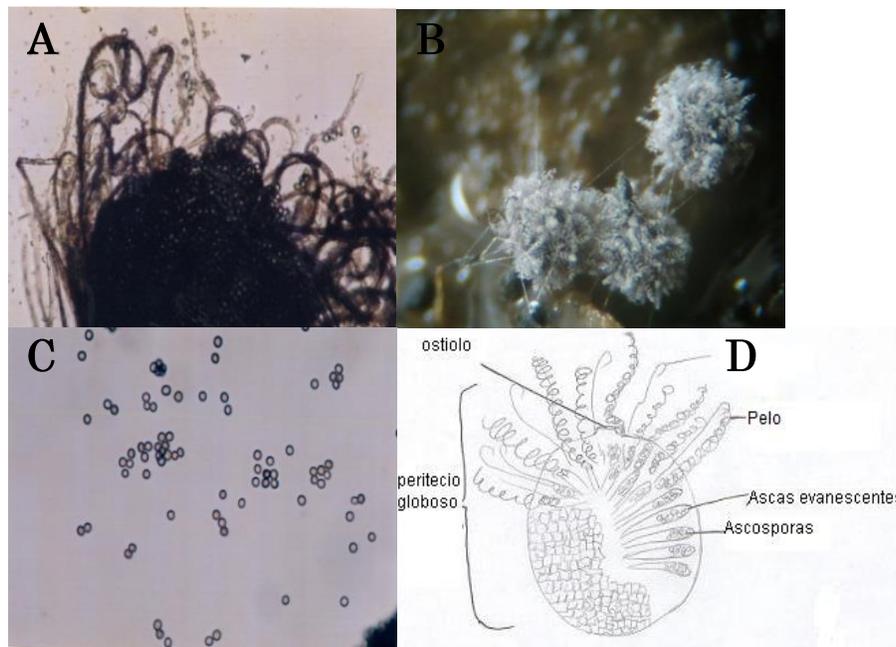


Figura 7. A) ME 5X. Hongo solitario a gregario. Peritecio ostiolado, superficial. Peritecio globoso café (al microscopio), de 400-710x190-550 μm , coronado por un mechón de pelos verde grisáceos de varias formas, septados o cenocíticos, lisos y algunos rizados. **B)** MO 40X. Ascas clavadas lineales con paredes evanescentes, es decir, que desaparecen rápido, contienen 4 a 8 esporas. **C)** MO 40X. Ascosporas unicelulares que miden 2-3 μm , color verde oliváceo a café oscuro, con poro germinativo en un extremo, frecuentemente limoniformes y apiculadas. **D)** Esquema que indica estructuras básicas del género *Chaetomium*.

***Zopfiella* G. Winter, Rabenh. Krypt.-Fl., Edn 2 (Leipzig) 1.2: 56 (1884)**

Dominio Eukaria

Reino Fungi

Subreino Dikarya

Filum Ascomycota

Clase Sordariomycetes

Orden Sordariales

Familia Lasiosphaeriaceae

Género *Zopfiella*

Hábitat: Coprófilo facultativo. Excretas y suelo, acuático.

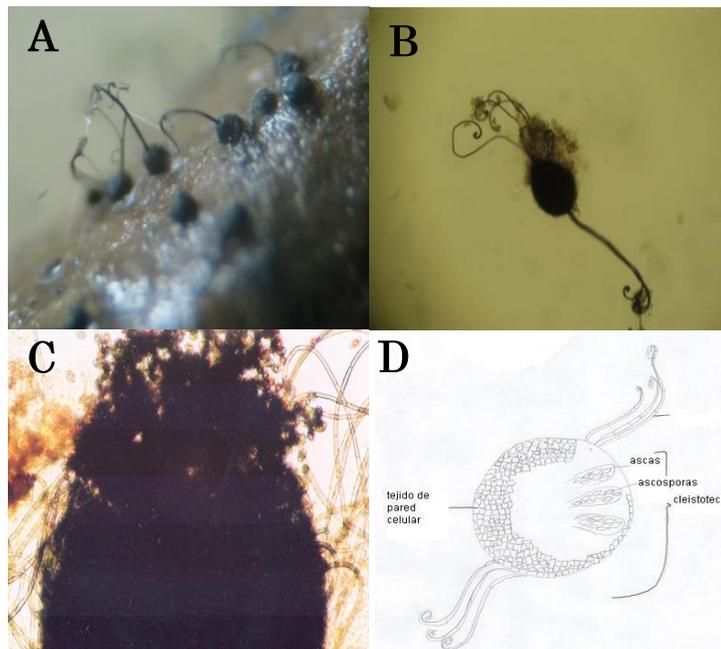


Figura 8. **A)** ME 5X. Cuerpo fructífero de 260 μm con una pared parenquimatosa bien definida, sobre sustrato. **B)** MO 40X. Cleistotecio negro, globoso cubierto con pelos color café. **C)** MO 40X. Ascas evanescentes y esporas elipsoidales, con un poro germinativo apical 10x12 μm . **D)** Esquema que indica estructuras básicas del género *Zopfiella*.

***Sordaria* Ces. & De Not., Comm. Soc. crittog. Ital. 1(no. 4): 225 (1863)**

Dominio Eukaria

Reino Fungi

Subreino Dikarya

Filum Ascomycota

Clase Sordarimycetes

Orden Sordariales

Familia Sordariaceae

Género *Sordaria*

Hábitat: Coprófilo facultativo.

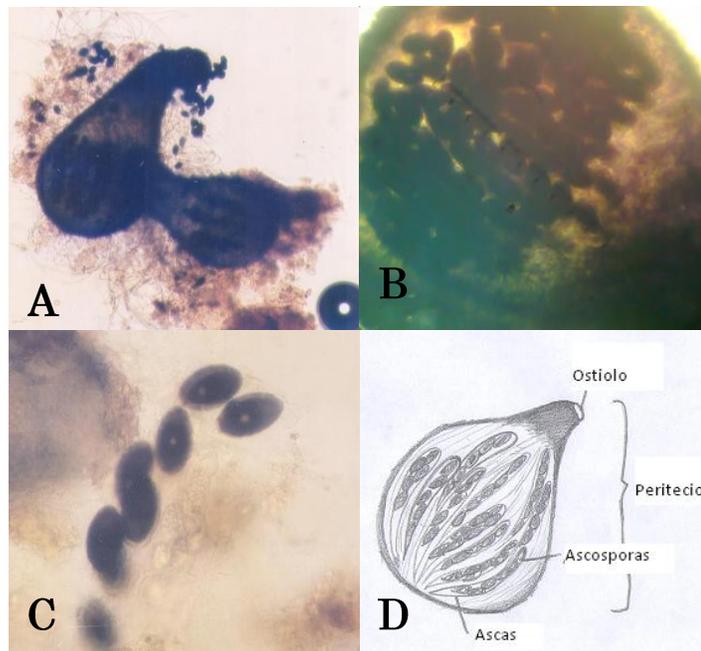


Figura 9. A) MO 5X. Peritecio oscuro que mide 300-600x200-500 μm , conteniendo ascas unitunicadas. **B)** MO 10X. Peritecio cuyas ascas se hinchan al madurar y llenan la parte superior del peritecio. Las ascosporas son expulsadas explosivamente a través del ostiolo del peritecio, miden 50x623x4-6 μm . **C)** MO 40X. Ascosporas con una gota de lípidos en medio y tapón apical de 7-8x3-4 μm . **D)** Esquema que indica estructuras básicas del género *Sordaria*.

***Coprinellus* P. Karst., Bidr. Känn. Finl. Nat. Folk 32: xxviii, 542 (1879)**

Dominio Eukaria

Reino Fungi

Subreino Dikarya

Filum Basidiomycota

Clase Agaricomycetes

Orden Agaricales

Familia Psathyrellaceae

Género *Coprinellus*

Hábitat: Coprófilo facultativo, común en restos de hojas y cortezas de árboles, estiércol y suelo.

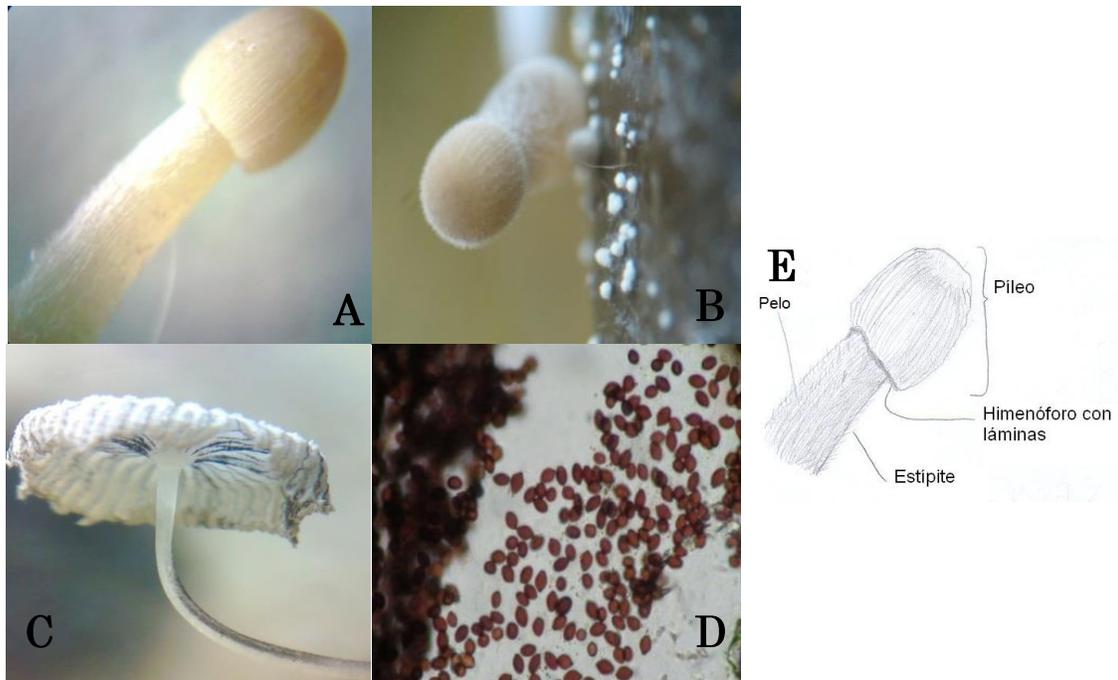


Figura 10. **A)** ME 5X Basidiocarp mide 1.83-5.58x0.183-0.25 mm con forma típica de hongo, blanco ligeramente amarillento con píleo delicuescente blanco con pelos. **B)** ME 2.5X Pie cilíndrico hueco, su consistencia es fibrosa, confluyente con respecto al píleo, y presenta velo. **C)** ME 3.2X. Himenóforo externo, debajo del píleo y con laminillas dispuestas radialmente cremosas-blanquecinas durante el desarrollo, tomando una coloración oscura cuando madura. **D)** MO 40X. Esporas arrojadas junto con el píleo delicuescente del tipo basidiosporas, cónicas color café a marrón que miden 2-3x1-2 μm . La esporada es color oscuro negro o café. **E)** Esquema que indica estructuras básicas del género *Coprinellus*.

Coprinopsis P. Karst., Acta Soc. Fauna Flora fenn. 2(no. 1): 27 (1881) [1881-1885]

Dominio Eukaria

Reino Fungi

Subreino Dikarya

Filum Basidiomycota

Clase Agaricomycetes

Orden Agaricales

Familia Psathyrellaceae

Género *Coprinopsis*

Hábitat: Coprófilo estricto.

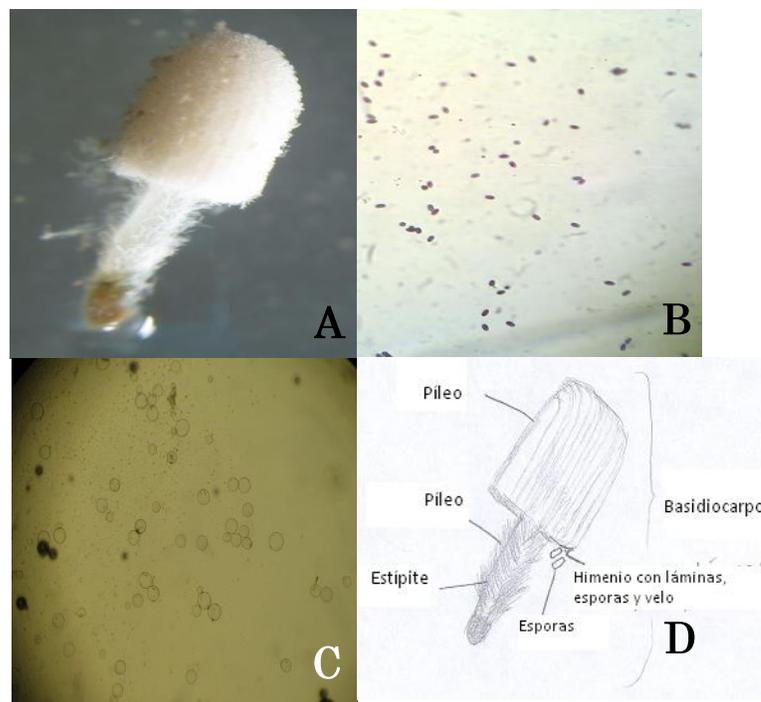


Figura 11. A) ME 2.5X. Basidiocarpo blanco globoso a campanuliforme, el píleo mide 4mm, estípite con fibras capilares cortas de 5mm a 30mm. **B)** MO 40X. Esporas marrón elipsoidales de $7 \times 3 \mu\text{m}$. **C)** MO 10X. Elementos del velo 1.5 a $2.5 \mu\text{m}$ diámetro. **D)** Esquema que indica estructuras básicas del género *Coprinopsis*.

***Didymium* Schrad., Nov. gen. pl. (Lipsiae): 20 (1797)**

Dominio Eukaria

Reino Protista

Filum Micetozoa/ Mixomycota

Clase Mixogastrea

Orden Physarida

Familia Didymiaceae

Género *Didymium*

Hábitat: Coprófilo facultativo, común sobre madera y hojas muertas y a veces en estiércol viejo.

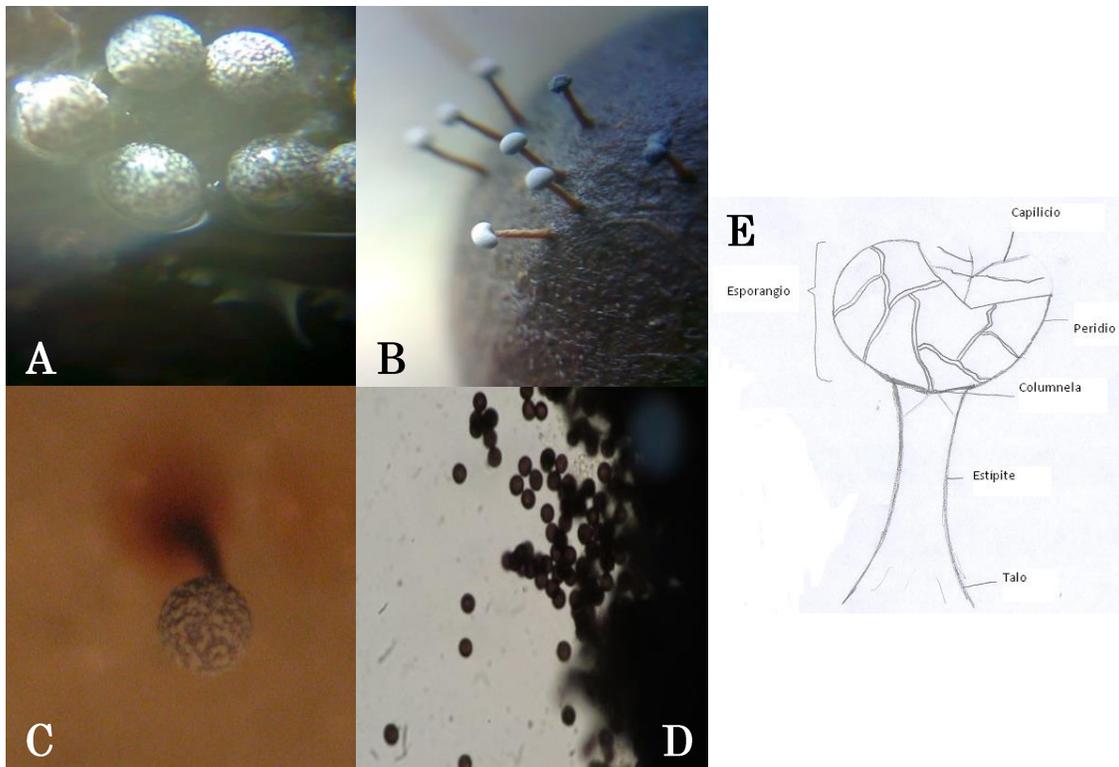


Figura 12. **A)** ME 5X. Como su nombre lo indica didymos= doble, aludiendo a la doble capa del peridio del esporangio, el cuerpo fructífero mide 1 a 2 cm. **B)** ME 2.5X. Esporóforo cubierto por un peridio formado por cristales estrellados de carbonato de calcio, a veces formando una corteza de cristales agregados. **C)** ME 5X. Esporocarpio que tienen una depresión umbilical sobre la superficie. **D)** MO 40X. Esporas típicas de myxomycetes, ornamentadas miden 12 μm diámetro. **E)** Esquema que indica estructuras básicas del género *Didymium*.

Perichaena Fr., in Fries & Nordholm, *Symb. gasteromyc.* (Lund) 1: 11 (1817)

Dominio Eukaria

Reino Protista

Filum Micetozoa/ Mixomycota

Clase Mixogastrea

Orden Trichiida

Familia Trichiaceae

Género *Perichaena*

Hábitat: Coprófilo facultativo, común en corteza de árboles.

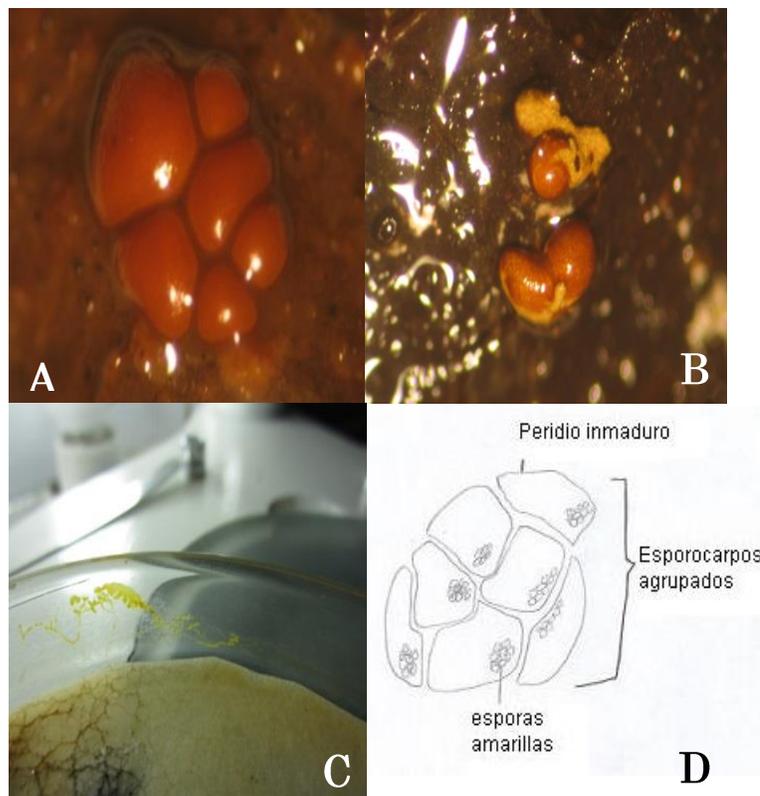


Figura 13. **A)** ME 5X. Esporocarpos aplanados, agrupados de 0.4-0.7mm. **B)** ME 3X. Esporocarpos rotos, mostrando esporas amarillas. **C)** Fotografía de plasmodio amarillo sobre caja Petri. **D)** Esquema que indica estructuras básicas del género *Perichaena*.

Podospora Ces., in Rabenhorst, Klotzschii Herb. Viv. Mycol., Edn 2: no. 259 (vel 258) (1856)

Dominio Eukaria

Reino Fungi

Subreino Dikarya

Filum Ascomycota

Clase Sordariomycetes

Orden Sordariales

Familia Lasiosphaeriaceae

Género *Podospora*

Hábitat: Coprófilo facultativo, algunas veces en semillas y en otras partes de las plantas.

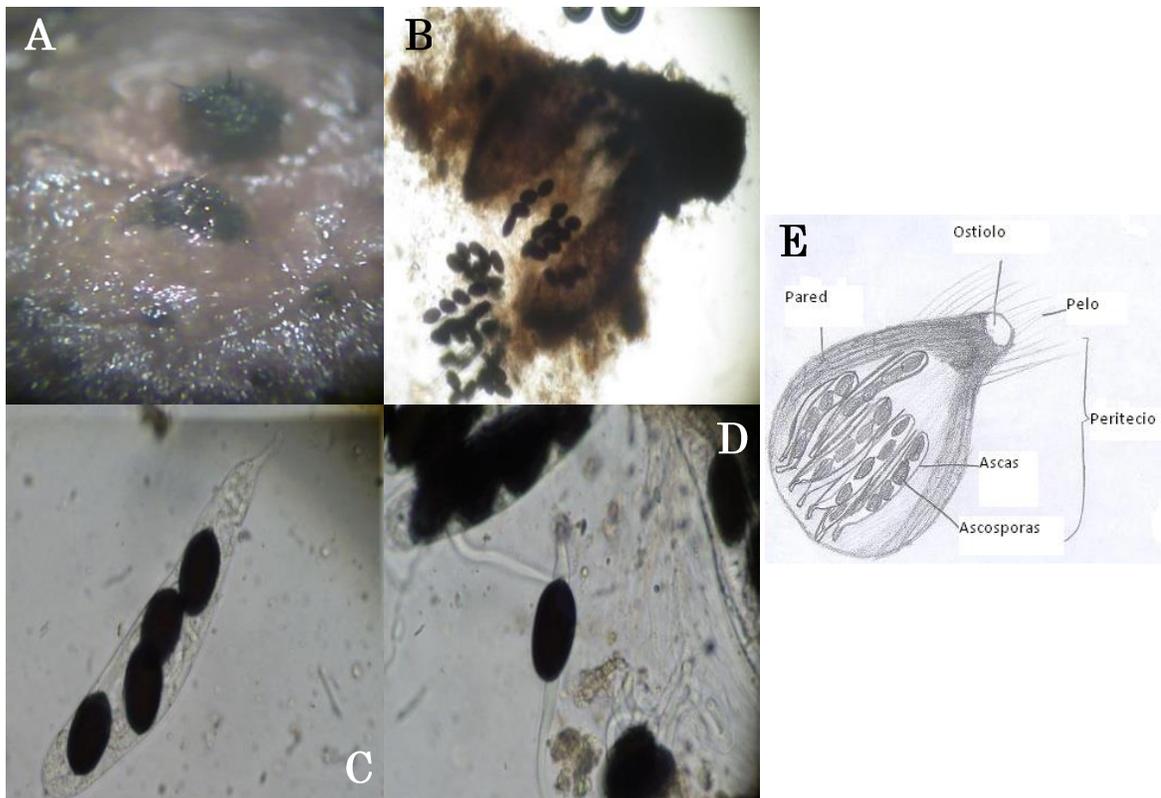


Figura 14. **A)** ME 5X. Ascoma ostiolado, del tipo peritecio mide 175x47 μm , a veces cubierto con pelos de diferentes tipos. **B)** MO 5X. Pared del ascoma con 3 capas, la capa externa con células oscuras, las de en medio hialinas, las células internas son delgadas y hialinas. **C)** MO 40X. Ascas unitunicadas de 225-360x20-25 μm con un aro apical conteniendo 4 esporas, con parafisio filamentoso mezclado con el asca. **D)** MO 40X. Ascosporas clavadas a cilíndricas, de medidas 35-37x18-20 μm , con apéndices gelatinosos de cada lado con una protuberancia final. Son color café oscuro a negruzcas con uno o varios poros germinativos cerca del ápice. **E)** Esquema que indica estructuras básicas del género *Podospora*.

Identificación molecular y secuenciación

Se obtuvieron amplicones de aproximadamente 650 a 750 pb con los primers ITS4/5, para los géneros *Simplicillium* y *Coprinopsis*. Con los primers PHYS4/5 se obtuvieron amplicones de 900pb para el género *Didymium* y con los primers SSU1/2 mitocondriales amplicones de 400pb también para el género *Didymium* (Figuras 13-16). Las secuencias obtenidas de los tres géneros mencionados se muestran en el anexo 1.

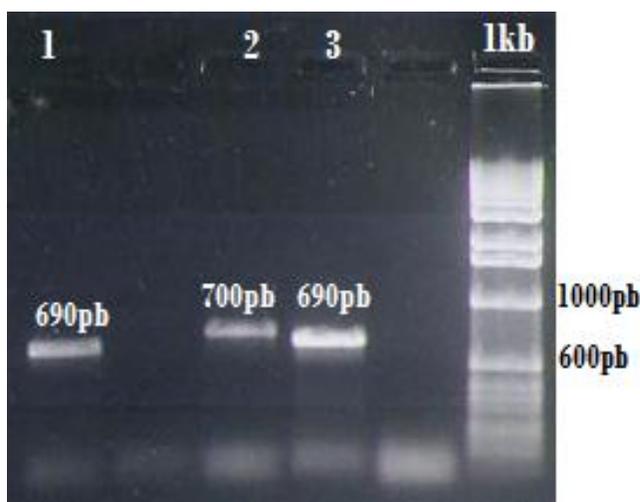


Figura 13. Amplificación PCR de hongos con oligonucleótidos ITS4/5. Carril 1 *Simplicillium* con 690pb, Carril 2 *Coprinopsis* con 700pb, carril 3 *Simplicillium* con 690pb. En último carril marcador de peso molecular 1kb Promega.

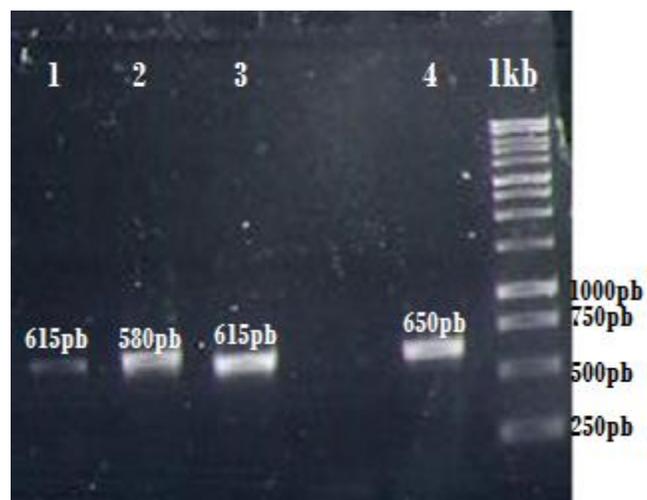


Figura 14. Amplificación PCR de hongos con oligonucleótidos ITS4/5. Carril 1 *Coprinopsis* 615pb, carriles 2, 3 y 4 *Simplicillium* con 580, 615 y 650pb, último carril marcador de peso molecular 1kb plus Invitrogen.

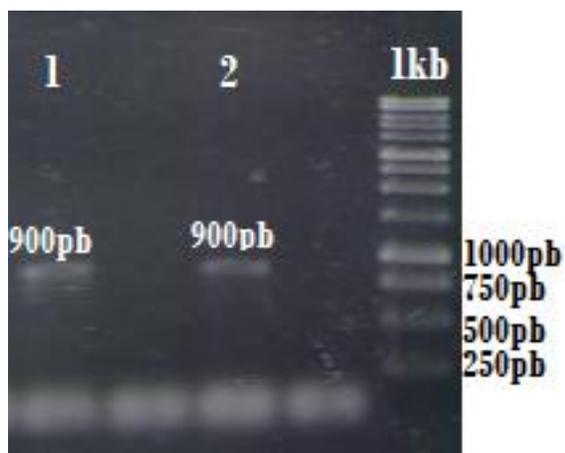


Figura 15. Amplificación PCR de hongos con oligonucleótidos PHYS4/5. Carril 1 y 2 *Didymium* con 900pb. En último carril marcador 1kb Invitrogen.

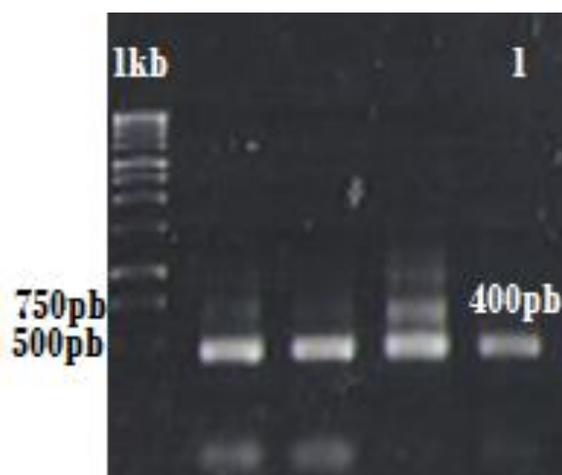


Figura 16. Amplificación PCR de hongos con oligonucleótidos SSU1/2 mitocondriales. Primer carril marcador de peso molecular 1kb Invitrogen. Carril 1 *Didymium*. Los demás productos no se pudieron secuenciar.

Sucesión de cuerpos fructíferos

Tabla 2. Sucesión de cuerpos fructíferos de hongos y myxomycetes sobre sustrato por semana durante 3 meses, sobre heces de chivo.

HONGO	SEMANA											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<i>Ascobolus</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Saccobolus</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Sporomiella</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Chaetomium</i>	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Pilobolus</i>	X	X	X	X	X	X	X					
<i>Zoopfiella</i>			X	X	X	X	X					
<i>Sordaria</i>			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Coprinopsis</i>			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Coprinellus</i>			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Didymium</i>			X	X								
<i>Perichaena</i>			X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
<i>Podospora</i>								X	X	X	X	X

DISCUSIÓN

Los hongos coprófilos son organismos altamente satisfactorios para demostrar la diversidad y morfología de un grupo que está conectado mediante un sistema ecológico. Las clases de hongos van a estar presentes en la materia fecal durante el tiempo de incubación de las muestras en cualquier época del año aunque los géneros pueden variar dependiendo de muchos factores. De acuerdo a Harrower et. al. 1979 quienes fueron unos de los pioneros en estudiar las sucesiones micológicas, la materia fecal de animales herbívoros tiene un alto contenido de nitrógeno y humedad, así como un pH elevado en comparación con otros sustratos.

Géneros identificados

Ascobolus es un género que ha sido registrado en Australia, Europa y en Sudamérica específicamente en Argentina por Dokmetzian et. al. 2004, reporta que en el séptimo y octavo día las esporas ya están maduras y son expulsadas lo que coincide con nuestros resultados en donde se observó que los cuerpos fructíferos iniciaban con un color naranja seguido de un color púrpura en la zona apical que iba prevaleciendo en ambos géneros *Ascobolus* y *Saccobolus*, hasta que sus ascas fueran distinguibles. También menciona que las esporas de algunas de las especies que están adheridas a los pastos por ejemplo *A. bonaerensis* tienen un depósito de cristales en su superficie la cual les sirve de protección ante el paso del tracto intestinal del animal que les permite llegar a germinar en el estiércol. Este género solo se diferencia de *Saccobolus* en la forma de acomodo de sus esporas (4 a 8) dentro del asca sin envoltura. Son de distribución mundial incluyendo registros para México (Medel et. al. 2004).

En el género *Saccobolus*, las ascosporas salen del asca agrupadas de los paquetes o sacos octospóricos y posteriormente se liberan del paquete y quedan libres. Las esporas aisladas presentan ornamentación y un cambio de color rosado hasta llegar a la coloración marrón-púrpura. Es un género ampliamente distribuido por toda Europa.

Como reporta Kuthubutheen y Webster en 1986, *Pilobolus* se observa en los primeros días de la sucesión. Ha sido reportado en Australia, España y Estados Unidos, es uno de los hongos más estudiados ya que se mecanismo de fototropismo resulta interesante. Su nombre significa el lanzador de sombreros refiriéndose al mecanismo de descarga del esporangio. El esporangio

lanzado se une a la vegetación que rodea el excremento en donde se produjo el hongo y cuando la vegetación es comida por los animales herbívoros, las esporas son liberadas en el tracto intestinal del animal. El esporangióforo es altamente fototrófico, es decir, se proyecta hacia la luz lanzando sus esporas. Las esporas de *Pilobolus* son liberadas solamente después de que el esporangio es ingerido por el animal, ellas sobreviven en el tracto digestivo del animal y son liberadas en la excretas. El esporangio de este hongo funciona como vector de nemátodos parásitos, los cuales se multiplican en el estiércol y cuando son ingeridos causan enfermedades en los chivos, bovinos y otros mamíferos silvestres.

Sporormiella es un hongo con ascoma peritecioide, ostiolado que tiene ascosporas articuladas muy características dentro de ascas bitunicadas, cilíndricas, con un pie largo y octospóricas. Debido a su asociación con el material de las heces, ha sido utilizado en investigaciones arqueológicas como indicador de cambios en la vegetación y manejo de tierras. De acuerdo a Kuthubutheen y Webster (1986), es un hongo que tiene alta resistencia a la sequía, ya que sigue produciendo cuerpos fructíferos aun cuando el porcentaje de humedad disminuye.

Podospora pertenece al orden de los Sordariales el cual comprende principalmente hongos saprobios con ascomas periteciodes o cleistotecioides, crecen en materia fecal o en biomasa vegetal en descomposición, sus ascosporas son hialinas a oscuras con apéndices gelatinosos de cada lado, característica distintiva ya que se puede confundir con el género *Arnium* que de acuerdo a Mungai et. al. 2012. solo difiere en que carece de un pedicelo, además de la forma elipsoidal o fusiforme en ascosporas inmaduras.

Otro miembro del orden Sordariales es *Zopfiella*, y es similar a *Podospora* pero el primer género puede ser distinguido por su ascoma en forma de cleistotecio y sus ascosporas sin envoltura gelatinosa y un corto pedicelo, que es una característica distintiva para determinar especies.

Chaetomium tiene un ascoma superficial, cubierto con pelos rodeando el poro del ostiolo apical, se encuentra unido al sustrato por hifas rizoidales; presentan ascas evanescentes y ascosporas de tonalidades verde-oliváceas a cafés; es un hongo con alta actividad celulolítica que afecta a granos almacenados, induce malformaciones esqueléticas en roedores y produce toxinas que afectan a las aves. Es un hongo contaminante y uno de los agentes causantes de infecciones en los seres humanos, presenta distribución cosmopolita, teniendo registros en Europa, América

El género *Sordaria* pertenece también al orden de los Sordariales, está compuesto de organismos fimícolas, y se han aislado de restos de plantas en descomposición, plantas sanas, semillas y suelo. “*Sordes*” = De aspecto sucio, manchado o barroso, sufijo “*aria*”= que denota posesión; por tener peritecios color oscuro, dándole al sustrato un aspecto manchado y sucio, por crecer en estiércol. Sus características distintivas son tener un poro germinal basal y la ausencia de ornamentación en las ascosporas. Se han reportado en Europa Australia y África y son importantes candidatos como herramientas en estudios genéticos y bioquímicos.

De acuerdo a Mungai et. al. 2012 muchos de los miembros de este orden esporulan tempranamente si las muestras fecales están frescas, en este estudio se demuestra lo contrario ya que la aparición de los cuerpos fructíferos de dichos géneros no se registraron en los primeros días siendo *Podospora sp.* el que salió hasta el final de la sucesión en el día 61 como lo muestra la tabla 2.

Coprinopsis y *Coprinellus* son géneros recientemente aceptados dentro de la familia Psathyrellaceae (Keirle, et. al. 2004), anteriormente se agrupaban en la familia Coprinaceae en donde solo existía el género *Coprinus*, por lo que en algunos estudios se mencionan con el mismo nombre. Se presentan en la última fase de las sucesión degradando principalmente la celulosa y lignina que los hongos anteriores no pudieron, son en general un grupo que se caracteriza por himenio delicuescente que se autodigiere mediante enzimas cuando está maduro arrojando sus esporas color oscuro mediante una tinta color negro (Webster et. al. 2007). La diferencias entre los dos radican en la forma de los píleos, el velo con células filamentosas y basidiosporas, en el caso de *Coprinopsis* presenta vellosidades tanto en el estípite como en el píleo y éste último es campanuliforme, sus esporas son elipsoidales. El píleo de *Coprinellus* es globoso y tiene una apariencia algodonosa, sus esporas son limoniformes color marrón y de mayor tamaño. Estos hongos han sido estudiados debido a su fácil crecimiento en condiciones de laboratorio en áreas como genética, morfogénesis, entre otras. Son cosmopolitas teniendo registros en Europa y América (Kuthubutheen y Webster, 1986).

En los estudios preliminares consultados no existe un registro de los géneros específicamente en excretas de Chivo, pero si hay un registro de crecimiento del género *Didymium* en excretas de conejo en España (Moreno, et. al. 1977), otro registro del género *Didymium* y *Perichaena* en estiércol viejo por Ulloa e. al. 1994. El género *Didymium* tiene un esporocarpo estipitado, sésil y esporas en masa color café oscuro. Del orden Physariales que se caracterizan por depositar

carbonatos de calcio durante la esporulación, ya sea en el peridio, talo o columnela. Pertenece a la familia Didymiaceae que se distingue de la familia Physariaceae porque los géneros de la primera contienen sobre el peridio cristales de carbonato de calcio mientras que la segunda tiene depósitos granulares amorfos (Salazar, et. al. 2013). Este myxomycete está bien adaptado a las zonas áridas, como lo reporta la CONAMP en la Reserva de Tehuacán-Cuicatlán hay ecosistemas áridos y ha sido reportado en todos los continentes (Wrigley, et. al. 2011).

Perichaena pertenece al orden de los Trichiales, que se caracterizan por tener hilos tubulares en el capilicio, en particular este género tiene los hilos ligeramente ásperos o con pequeñas espinas en la superficie. Presenta un esporocarpio globoso de coloración amarillenta a naranja-café, aplanado, sésil, gregario formando polígonos para permanecer apretados. Las esporas son amarillo claro cuando están en masa. El plasmodio es amarillo claro cuando está maduro (Liu, et. al. 2012). En este estudio solo se observaron los esporocarpos con la anterior descripción y un plasmodio, debido a que no había mucho material para aislar.

Se observaron hongos saprobios del Filo Ascomycota: *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* y *Symplectium*, pero no se pusieron en fotos ya que son muy comunes en todos los ambientes como contaminadores de interiores, de acuerdo con Moreno, et. al. 1977. son organismos subcoprófilos, son tolerantes a la ausencia de oxígeno y con el poco oxígeno que puedan metabolizar son hiperproductores de enzimas y sustancias con algún uso potencial. El género *Symplectium* es utilizado como controlador de otros hongos fitopatógenos en Soja (Ward, et. al. 2012). Como lo menciona Liu et. al. 2012 este hongo se puede detectar en el agua con la que se humectan las cámaras húmedas. Los géneros *Penicillium* y *Aspergillus* son principalmente productores de micotoxinas que provocan reacciones patológicas en animales y humanos al infestar productos agrícolas como cereales y frutos (Gallego, 2010). Además su capacidad para producir antibióticos es bien conocida (Trigos, et. al. 2005). El género *Fusarium* es cosmopolita se ha reportado desde el Ártico hasta el desierto del Sahara. Es muy común en cultivos de suelo y está asociado a varias enfermedades en raíces de plantas, enfermedades de piel y respiratorias en humanos y animales (Webster et. al. 2007).

De acuerdo con Moreno et. al. 1977 se plantea que el origen del material fecal influye en la aparición de taxones, ya que existen diferencias estructurales y biológicas en las excretas de los distintos animales. A nivel mundial se han registrado los géneros *Saccobolus*, *Ascobolus*, *Sporormiella*, *Chaetomium*, *Pilobolus*, *Sordaria*, *Podospora*, *Coprinopsis*, *Coprinellus* y *Didymium*, en

excretas de conejo. En excretas de elefante *Sordaria*, *Chaetomium*, *Podospora* y *Sporormiella*. En estiércol de vaca *Pilobolus*, *Ascobolus*, y *Saccobolus*, y *Coprinopsis*. En excretas de caballo: *Podospora*, *Sporormiella*, *Coprinopsis*. Oveja: *Podospora*, *Ascobolus* y *Saccobolus*. Para mufón *Ascobolus*.

En México no hay muchos registros ni descripciones de hongos ni Myxomycetes coprófilos, en el año 2000 Illana, et. al. hicieron un catálogo de Myxomycetes de México donde mencionan al género *Didymium*, otro estudio previo Santiz, 2012, generó registros de hongos en excretas de chivo con los mismos géneros del presente estudio salvo *Coprinopsis* y los géneros de Myxomycetes, lo que constituye un registro de 2 géneros nuevos hospederos de materia fecal de chivo (*Capra aegagrus hircus*; *Bovidae*).

Gaseitsiwe et. al. 2006 establece que el tiempo de almacenamiento de las muestras y la humedad estacional influyen en la riqueza de hongos, lo que hace comparable los resultados obtenidos por Santiz, 2012 y los presentes en donde se observó un mayor crecimiento de Myxomycetes que posiblemente se deba al nivel de saturación de humedad dentro de las cámaras húmedas.

Se clasificó a nivel género porque no existe basta información a este nivel debido a la complejidad que implica los hongos y myxomycetes, ya que en la literatura hay diferencias en las medidas de los organismos, sus estructuras y diversidad de hábitats reportados, es decir muchos de los géneros crecen sobre distintos sustratos aparte de materia fecal, clasificándose como coprófilos facultativos.

Identificación molecular

Debido a la importancia científica y económica de la gran mayoría de los hongos, solamente pocas especies, casi exclusivamente Ascomycota, son ampliamente utilizados en estudios genéticos y moleculares. Los genomas nucleares y mitocondriales más estudiados has sido los de las levaduras, por lo que las nuevas aportaciones acerca de genética molecular son de gran relevancia y avance en el mundo de los hongos.

Solo se secuenciaron algunos géneros ya que no se lograron cultivos puros en agar, sin embargo, se hizo una toma directa de cuerpo fructífero de cada hongo seguida de extracción de DNA, PCR (Figuras 13-16) y secuenciación.

Con la técnica de PCR amplificaron bandas que correspondieron al tamaño de 650 a 750 pares de bases con los oligonucleótidos ITS4 e ITS 5 y se obtuvieron 2 secuencias que correspondieron al género *Coprinopsis* con un 93% de identidad con las secuencias registradas en el genBank, además se obtuvieron 2 secuencias del género *Simplicillium* con una identidad del 99%.

De acuerdo a Gallego, 2010 las regiones ITS's son las más usadas para estudios sistemáticos en hongos, debido a su alto grado de variación comparado con otras regiones de rDNA. Esta región es utilizada para una amplia gama de hongos y puede ser amplificada por PCR con tan solo cantidades mínimas de DNA.

Para el último caso de Myxomycetes se probaron dos pares de primers citados por Estrada, T. A., et. al. 2005 y Martin, et. al. 2003; los nucleares PHYS4-PHYS5 y SSU1-SSU2 mitocondriales, ya que los datos de DNA mitocondrial debido a su tamaño pequeño y su alta densidad de genes, han producido soluciones nuevas para la sistemática y filogenia de hongos. Los resultados de PCR fueron de 400pb para los oligonucleótidos SSU1-SSU2 mitocondriales y 900pb para los oligonucleótidos PHYS4-PHYS5 y mediante la secuenciación se confirmó el género *Didymium* con una identidad de 93% con las secuencias existentes en el GenBank.

Debido a que el esquema de clasificación ordinariamente usado por el Banco de Genes (GenBank) se basa en los resultados previos publicados algunos de esos resultados son cuestionables, pues pueden haber secuencias cortas e incompletas de los organismos (Arora, 2004). Sin embargo los estudios que combinan diferentes enfoques (tradicionalista y molecular) son los que permiten una mayor certeza y cohesión entre datos e hipótesis sobre la historia evolutiva de los hongos y mixomycetes (Rodríguez et. al., 2004).

Sucesión

Se observó que a excepción de algunos Ascomycetes y Myxomycetes se sigue el patrón de una sucesión de clases de hongos en la materia en descomposición reportada por Richardson, 2002. Así como también nos referimos a la sucesión como el orden en que aparecen los cuerpos fructíferos de cada hongo. En primer lugar los llamados hongos Zygomycetes (mucorales) en donde se incluye al género *Pilobolus* que creció desde el día 1 hasta que se degradaron sus estructuras en el día 43, coincide con la mayoría de estudios que se han realizado acerca de este hongo como los de Harper y Webster 1964, hasta estudios más recientes como los realizados por Webster, et. al. 2007, en

donde se menciona que es uno de los primeros géneros en crecer y su permanencia sobre el sustrato es muy breve. Dicho género tuvo una esporulación rápida junto con los géneros *Ascobolus* y *Saccobolus*, *Sporormiella* y *Chaetomium* los que ya son del Filo Ascomycota y tienen una mayor capacidad para descomponer la celulosa, su crecimiento fue desde el día 1 hasta el 93 que permaneció la observación. Como lo menciona Richardson 2002, los ascomicetes aparecen en la fase intermedia de una sucesión y debido a su diversidad son los más reportados en los diferentes estudios a nivel mundial. En tercer lugar fructificaron los géneros *Zopfiella* y *Sordaria* junto con los géneros *Coprinopsis* y *Coprinellus* del Filo de los Basidiomycetes, tanto Moreno et. al. 1980 como Webster , 2007, Harper, 1964, mencionan que los basidiomicetes aparecen en la última fase de una sucesión ya que tienen la capacidad de degradar mejor la lignina, así como de tener una lenta germinación de esporas y un crecimiento lento de sus cuerpos fructíferos. A partir del día 11 se encontraron estructuras de Myxomycetes los cuales coincidían en las fechas de mayor saturación de humedad en las muestras.

CONCLUSIÓN

Se hicieron observaciones de 10 géneros de hongos y 2 myxomycetes que crecieron en excretas de chivo durante 3 meses. Los géneros que se identificaron por medio de claves dicotómicas, en orden de aparición en el sustrato fueron: *Ascobolus*, *Saccobolus*, *Pilobolus*, *Sporormiella*, *Chaetomium*, *Zopfiella*, *Coprinellus*, *Coprinopsis*, *Didymium*, *Perichaena* y *Podospora*. Los géneros que se identificaron molecularmente fueron: *Didymium*, *Simplicillium* y *Coprinopsis*. Siguiendo el orden típico de una sucesión micológica se reconocieron los filos Zygomycota, Ascomycota y Basidiomycota con el crecimiento intermedio del reino Protista, Filo Myxomycota.

ANEXO 1

Simplicillium (oligonucleótido ITS4)

CTTAGCTCGCGACCAGGGACATTAACGAGTTATACAACCTCCCAAACCTATGTGAACCTTACCACTTACGTTG
CTTCGGCGTGTGCGCGCCGGCGTGCCTGCTTCTCGAGCCTGCGTCCCAGGGCCAAACGCGCCCGCCGGAG
AACCATAAACTCTTGATTTTGCAGAAAGCAGTATTCTTCTGAGTGGCCGAAAGGCCAAAAAACAATGAATCA
AAACTTTCAACAACGGATCTCTTGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAATGTGAA
TTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCGCCAGCATTCTGGCGGGCATGCCTGT
TCGAGCGTCATTTCAACCCTCGACCTCTCCTTCTTGCAGAGGGCGAGGCCGGTGTGGGGCGCGGGCGGTTCG
AGCCTAGCTCGCGCCGGCTCCGAAATTCAGTGGCGGCCCGTTGCGGCGACCTCTGCGTAGTAACCTTACACCT
CGCACTGGGACAGCAGCGCGGCCACGCCGTAACCCCGACTTTTTTTAAGGTTGACCTCGAATCAGGTAG
GACTACCCGCTGAACTTAAGCATATCAATAGGCCGGAGGA

Coprinopsis (oligonucleótido ITS4)

CAAATCTGGCATGCGAAGATCATTATTGATAAATCTGACTTGGTTGCAGCTGCCTCTCCGGAGATGTGCTCCC
CAGTCACCTTTATCTTTCCACCTGTGAACACACTGTAGTCCTGGATACCTCTCGCCGCAAGGCGGAGGCGCGG
TTTGGCGTGTGCTCTCTAGAGCGGTCCGGCTTACTGCGAATTTCCAGGTCTATGATTTACACAAACCCCAAAC
GTATGTTATAGAATGTCATACCTAGGCCTAGTGCATATAACCTATACAACTTTCAGCAACGGATCTCTTGGC
TCTCGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAATGTGAATTGCAGATTTTCAGTGAATCATCGAAT
CTTTGAACGCACCTTTCGCTCTTTGGTATTCCGAAGAGCATGCCTGTTTGAGTGTCAATTAATTCTCAACCTCA
CCAATTTTCACAAATTGTGTGCGGCTTGTATGTGGGGGTTGCAGGTCCGCCCTCGAGTGGTCTGCTCCTCTGA
AATGTATTAGGGGGTTCCGTCCCCTATCTATTGGGGGTGATATTTATCTACGCCGAGTATCTGGAGACATTAG
AGACTTGCTCTAACCGTCCGCAGGACAACCTTTGACAGTTTGACCTCAATCGAGTAGGACTACCGCTGAACTTA
GCATATCAATAGCGGAAGGAACTTGTTACTTTTTTTCCACCAA

Coprinopsis (oligonucleótido ITS4)

GCAGGGTTCTTCTGCATTTGAGGTCAAATTGTCAAGTTTGTCCGGTAAGGGACGGTTAGAAGCAGGTTTATA
ATATCCTACCTCTCCACGGCGTAGATAATTATCACACCAATAGATAGGGGACCAAACCCACTAATACATTTCA
GAGGAGCAGACCGCAGAGCGGACCTGCAACCCCCACATCCAAGCCAACACACAGTCTCGTTACAAAAGTGG
TGAGGTTGAGAATTTAATGACTCAACAGGCATGCTCCTCGGAATACCAAGGGAGCGCAAGGTGCGTTC
AAAGATTGATGATTCAGTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTGCTGCGGTCTTCATCGATGCGA
GAGCCAAGAGATCCGTTGCTGAAAAGTTGTATAGTTTTATAGGCACGAGGCCTGATGATAACATTCTATAAC
ATTCATTGGGGGTTGTAACCTAGAACTTGAATTCGAGTAAGCCGAAGCAACTTCGCATCCGCCTTGGCG
CAGAGTATCAGGACTCCGGGTGTTCCAGGTGAAAGTTAAGGTAACAAGCGTGCAAAGCTCCGAGACCGCAA
AAAAATCAAATTAATTCAAAAAGTTCTTCGAGGTCACCACGAACTATGTAAGATTTTTTATTCCAA

Didymium (**oligonucleótido SSU-1Mt**)

CCTTTTTACGATATAGCTCGCTATTCTGCTGTAGTGTACGGGCTATGGGGTTTTCACTCTGTGGAGATGCCGT
ATCCCTCTTTAAACAGAATCCTGATATTCTGGGGCGATAGGGGAGTATTGAATTCAAAAGAAAGGGGAAA
TCTGTTGATATTTGGAAGACATTCCAAAGTGAAAACATTATCCCATGTGGTTCGACACTAAGGTACAAAAGCA
TGGGGATAAATGGGATTAGAGACCCAGTAGTCCATACTTCAACCATGAGTGTGAGCATCTTTTGGCAAATTT
TGCCATTGGGGGTATAAAGCTAACGCGTGAACACCGCCTGGGAATGTGGCCGCAAGGTTAAACTCAAAG
GAATTGACGGTGACTTATACCAGGCCTGGAGATGTGATTTAATTGACTGCAGTTACCGCGTGCTGCTGGAT
CCGGAATC

Didymium (**oligonucleótido PHYS-4**)

CGCCACGCTCATAATGCGCTCGTGGTACATACTATCCCAGATCAGGTTGTCACGCCTAATGCGAGTGTTG
TGGTGACGTTGGAAGCGTCTAACCACGGGTTTAAACCGATCCCCTTTCACTGCAAATTCGTACCACGCGATGG
CCAATCACGGTTCGATCAAATCGGGGAGAAAGTGTATAGTCTTAGACTCACGTTTCCCTATTAAGCAGTCTA
CTCGCCCTAAAGCAAGCGGAGAGTTGTTTAAACAAACGAACCCCTATCGCCAATTCTCCGACTCGAGCTGTT
TTATGCGGTATCGTTTAACTGATTTAATCGAGATCACAGCTTAAAGCCATGTCAAGACAATGCAGACTCGCAT
CAAGCCGTTTAAAGCAAAGATTTGAGACTGATACGGTAGCTAGCAAAGCAAACCGAGGGGGACAGTGCCC
GAAGGCAAGTCCGCACTATGTTTCGAGTAGACGTTGATCACAGAGAGTGCATATACAAGGATTATCGCGTTT
CACTGCGCTCTTCATCGAAGCAGGTACCTAGCAATCCATCGCCTAACGGTGTATGATGTTTAAACGTGTTTGC
AGCCTTAAAGCCGAAGGCTTTAGACCACGAAGCGCTTCCGCTTAAACGAAAATACGCTTACCCGAAGGTTCA
CCAGTACGGGTTTAAAGCAGACCTCTTATATTCGCCTCTATTTCGACCTCATCGATGCCTATATGCATTAAAGC
CTCGAATCAGCTTCGATCGGTAACAGGTTTAAACGCCTCCTTTTTCGCCTCAAGTTAATGATCCAAACGCAG
GTTACCTACGATTACCTGTTACGATTTCTCTTGCTTCCAGAA

Didymium (**oligonucleótido PHYS-4**)

GCGTCGAGCTGATACCTGCGTACTCAGTGAGATATCGCAGTATCTAGGTTGCTACGCATAATGCCTAGTGTTT
GTGGTGACGTTGGAAGCGTCTAACCACGGTTTAAACCGATCCCCTTTCACTGCAAATTCGTACCACGCGATGG
CCAATCACGGTTCGATCAAATCGGGGAGAAAGTGTATAGTCTTAGACTCACGTTTCCCTATTAAGCAGTCTA
CTCGCCCTAAAGCAAGCGGAGAGTTGTTTAAACAAACGAACCCCTATCGCCAATTCTCCGACTCGAGCTGTT
TTATGCGGTATCGTTTAACTGATTTAATCGAGATCACAGCTTAAAGCCATGTCAAGACAATGCAGACTCGCAT
CAAGCCGTTTAAAGCAAAGATTTGAGACTGATACGGTAGCTAGCAAAGCAAACCGAGGGGGACAGTGCCC
GAAGGCAAGTCCGCACTATGTTTCGAGTAGACGTTGATCACAGAGAGTGCATATACAAGGATTATCGCGTTT
CACTGCGCTCTTCATCGAAGCAGGTACCTAGCAATCCATCGCCTAACGGTGTATGATGTTTAAACGTGTTTGC
AGCCTTAAAGCCGAAGGCTTTAGACCACGAAGCGCTTCCGCTTAAACGAAAATACGCTTACCCGAAGGTTCA
CCAGTACGGGTTTAAAGCAGACCTCTTATATTCGCCTCTATCGACCTCATCGATGCCTATATGCATTAAAGCC
TCGAATCAGCTTCGATCGGTAACAGGTTTAAACGCCTCCTTTTTCGCCTCAAGTTAATGATCCAAACGCAGGT
TCACCTACGATTACTGTTACGATTTCCCTGGCTTCCA

Didymium (oligonucleótido PHYS-4)

GAGCGATCTTACGACAGCGCATCTAGCTGACTAATATGCTTCCTCCGCTGACTAATATGCATCCTCCGCTGAC
TAATATGCTTCCTCCGCTGACTAATATGCATCCTCCGGTGACTCCGAGCTTCCTACGCTCAAATACATGCCTCG
TCATGGGCAATCACGGTTCGATCAAATCGGGGAGAAAGTGTATAGTCTTAGACTCACGTTTCCCTATTAAGC
AGTCTACTCGCCCTAAAGCAAGCGGAGAGTTGTTTAAACAAACGAACCCCTATCGCCAATTCTCCGACTCGA
GCTGTTTTATGCGGTATCGTTTAACTGATTTAATCGAGATCACAGCTTAAAGCCATGTCAAGACAATGCAGAC
TCGCATCAAGCCGGTTTAAAGCAAAGATTTGAGACTGATACGGTAGCTAGCAAAGCAAACCGAGGGGGACA
GTGCCCGAAGGCAAGTCCGCACTATGTTTCGAGTAGACGTTGATCACAGAGAGTGCGTATCACAAGGATTATC
GCGTTTCACTGCGCTCTTCATCGAAGCAGGTACCTAGCAATCCATCGCCTAACGGTGTATGATGTTTAAACGT
GTTTGCAGCCTTAAGCCCGAAGGCTTTAGACCACGAAGCGCTTCCGCTTAACGCAAAATACGCTTACCCGAA
GGTTCACCAGTACGGGTTTAAAAGCAGACCTCTTATATTCGCCTCTATTCGACCTCATCGATGCCTATATGCAT
TAAAGCCTCGAATCAGCTTCGATCGGTAACAGGTTTTAAACGCCTCCTTTTTCGCCTCAAGTTAATGATCCAAA
CGCAGGTTACCTACGATTACCTTGTTACGACTTTCCTGCTTCCAAAA

BIBLIOGRAFÍA

- Andrade, B. M. F., Teófilo, S. W. M., Holanda, C. H. 2006. Mixomicetos Coprófilos de Brasil: Primer reporte. *Revista Mexicana de Micología*. (27): 29-37.
- Arora, D. K. 2004. Handbook of Fungal Biotechnology. Marcel Dekker. 2nd ed. USA. 161p.
- CABI Bioscience, CBS & Landcare Research. Consultado en: www.indexfungorum.org. Activo: 03-Abril-2012.
- Deacon, J. W. 1993. Introducción a la micología moderna. Ed. Limusa. México. 350 p.
- Dickinson, C. H. and Underhay, V. H. S. 1977. Growth of Fungi in Cattle dung. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 69: 3, 473-477.
- Dokmetzian, D. A., Gimenez, M. C., Cinto, I. E., Ranalli, M. E. 2004. Estudio sistemático y biológico de las Ascobolaceas de Argentina XIX. Dos nuevas especies de *Ascobolus* (Ascomycota). *Hickenia*. 3(50):205-211.
- Estrada, T. A., Gaither, T. W., Miller, D. L., Keller, H. W. 2005. The myxomycetes genus *Schenella*: morphological and DNA sequence evidence for synonymy with the gasteromycete genus *Pyrenogaster*. *Mycologia*. 97(1):139-149.
- Gallego, B. L. M. 2010. Micotoxinas. Consultado en: <http://www.analizacalidad.com/micotoxinas.htm>. Activo: 21 Mayo 2014.
- Hanlin, R.T., 1990. Illustrated genera of Ascomycetes. APS press. St. Paul, Minnesota. E.U.A.
- Hanlin, R.T., 1998. Illustrated Genera of Ascomycetes, Volume II. American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. EUA.
- Harrower, K. M. and Nagy, L. A. 1979. Effects of nutrients and water stress on growth and sporulation of Coprophilous fungi. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 72:3, 459-462.
- Harper, J. E., and Webster, J. 1964. An experimental analysis of the coprophilous fungus succession. *Transactions of the British Mycological Society*. 47: 511-530.

- Illana, C., Moreno, G., Lizárraga, M. 2000. Catálogo de Myxomycetes de México. Consultado en : www.biologiezentrum.at. Activo 25- Mayo 2014.
- Keirle, M.R, Hemmes, D.E. and Desjardin, D.E. 2004. Agaricales of the Hawaiian Islands. 8. Agaricaceae: Coprinus and Podaxis; Psathyrellaceae: Coprinopsis, Coprinellus and Parasola. *Fungal Diversity*. 15: 33-124.
- Kuthubutheen, A. J. and Webster, J. 1986. Water availability and the coprophilous fungus succession. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 86:1, 63-76.
- Liu, F. and Cai, L. 2012. Morphological and molecular characterization of a novel species of *Simplicillium* from China. *Cryptogamie. Mycologie*. 33 (2): 1.
- Martin, M. P. 2003. Primers are designed for amplification and direct sequencing of ITS región of rDNA from Myxomycetes. *Mycologia*. 95(3):474-479.
- Medel, F. & Calonge, F. D. 2004. Aportación al conocimiento de los discomycetes de México, con especial referencia al género *Helvella*. *Bol. Soc. Micol. Madrid*. 28:151-159.
- Moreno, G. y Barrasa, M. 1977. Contribución al estudio de hongos que viven sobre materias fecales (1a aportación). *Acta Botanica Malacitana*. 3: 5-33.
- Moreno, G. y Barrasa, M. 1980. Contribución al estudio de hongos que viven sobre materias fecales (2a aportación). *Acta Botanica Malacitana*. 6:111-148.
- Moreno, G., Lizárraga, M., Esqueda, M., Pérez, S. E., Herrera, T. 2006. Myxomycetes de Sonora, México. II: Reserva Forestal Nacional y Refugio de Fauna Silvestre Ajos-Bavispe. *Revista Mexicana de Micología*. 22: 13-23.
- Mungai, P. G., Chonkeatirote, E., Njogu, J. G., Hyde, K. D. 2012. Studies of coprophilous ascomycetes in Kenya: Sordariales from wildlife dung. *Mycosphere* *Doi*.3(1):437-448.
- Nisao, O., Nestel, D., Rico-Gray, V., Guzmán, G. 1994. Los Myxomycetes citados de México. *Acta Botánica Mexicana*. (27):39-51.

- Richardson, M. J. 2002. The coprophilous succession. *Fungal Diversity*. 10: 101-111.
- Richardson, M. J. & Watling, R. 1997. Keys to Fungi on Dung. British Mycological Society. 68p.
- Rodríguez, S. I. P. y Barrera, S. H. A. 2004. La Reacción en Cadena de la Polimerasa a dos décadas de su invención. *Ciencia UANL*. 7(3):323-335.
- Ross, I. K. 1979. Biology of the Fungi, their development, regulation, and associations. McGraw-Hill. 499 p.
- Salazar, M. C. Esqueda, M., Lizárraga, M., García, C. P. 2013. First report of *Didymium flexuosum* (Myxomycetes) in Mexico. *Revista Mexicana de Micología*. 38: 19-22.
- Santiz, R, E, 2012. Identificación de hongos coprófilos de muestras fecales de chivos (*Capra aegagrus hircus*; *Bovidae*) en el Valle de Zapotitlán, Puebla. Tesis de Licenciatura. 73p.
- CONAMP. SEMARNAT.2012. Comisión Nacional de Áreas Naturales.. Consultado en: <http://www.conanp.gob.mx>. Activo: 9 Mayo 2014.
- Trigos, A., Mendoza, G., Luna, M., Heredia, G., Arias, R. M. 2005. Evaluación antibacteriana de hongos microscópicos del suelo y restos vegetales. *Revista Mexicana de Micología*. 020:89-92.
- Ulloa, M., Herrera, T. 1994. Etimología e Iconografía de géneros de hongos. Instituto de Biología. UNAM. México. 300p.
- Vilgalys, R. Conserved primers sequences for PCR amplification and sequencing from nuclear ribosomal RNA. Consultado en: <http://biology.duke.edu/fungi/mycolab/primers>. Activo: 1 Junio 2014.
- Ward, N. A., Robertson, C. L., Chanda, A. K., and Schneider, R. W. 2012. Effects of *Simplicillium lanosoniveum* on *Phakopsora pachyrhizi*, the soybean rust pathogen, and its use as a biological control agent. *Phytopathology* 102:749-760.
- Webster, J., R. Weber, 2007. Introduction to fungi. Cambridge University Press. 3rd ed. New York, U.S.A. 841p.

Wrigley, B. D. & Estrada, T. A. 2008. Morphology and life cycle of a new species of *Didymium* (Myxomycetes) from arid areas of Mexico. *Mycología*. 100(6): 921-929.

Wrigley B. D., Lado, C., Estrada, T. A. 2011. Spore to spore culture of *Didymium operculatum*, a new Myxomycete from the Atacama Desert of Chile. *Mycología*. 103(4):895–903.