

1996 B

089568226

# UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES



CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

## "AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE HONGOS FITOPATOGENOS"

---

M A T E R I A L D I D A C T I C O  
( D I A P O R A M A )  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :  
LICENCIADO EN BIOLOGIA  
P R E S E N T A  
ROCIO GODINEZ RODRIGUEZ  
GUADALAJARA, JALISCO.      MARZO DE 1998.

---



**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS  
DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES

**C. ROCIO GODINEZ RODRIGUEZ**  
**P R E S E N T E.**

Manifestamos a Usted que con esta fecha ha sido aprobado su tema de titulación en la modalidad de MATERIAL DIDACTICO (DIAPORAMA) con el título " AISLAMIENTO E IDENTIFICACION DE HONGOS FITOPATOGENOS " para obtener la Licenciatura en Biología.

Al mismo tiempo le informamos que ha sido aceptado como Director de dicho trabajo a la M. C. LUZ ELENA CLAUDIO G. y como Asesor M. C. ARTURO OROZCO BAROCIO.

**A T E N T A M E N T E**  
**" PIENSA Y TRABAJA "**  
**"AÑO HOSPITAL CIVIL DE GUADALAJARA"**  
**LAS AGUJAS, ZAPOPAN, JAL., SEPTIEMBRE 29 DE 1997**

**M. EN C. ARTURO OROZCO BAROCIO**  
**PRESIDENTE DEL COMITÉ DE TITULACION**

**M. EN C. JOSE LUIS NAVARRETE HEREDIA**  
**SECRETARIO DEL COMITE DE TITULACION**

c.c.p. M.C. LUZ ELENA CLAUDIO G.- Director del Trabajo.  
c.c.p El expediente del alumno.

**AOB/JLNH/memn\***

M en C Arturo Orozco Barocio  
PRESIDENTE DEL COMITE DE TITULACION  
DIVISION CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AMBIENTALES  
UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

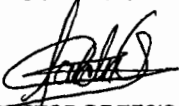
PRESENTE:

Por medio de la presente, nos permitimos informar a Usted, que habiendo revisado el trabajo de la pasante Rocío Godínez Rodríguez, con el título: "Aislamiento e identificación de hongos fitopatógenos", con la modalidad de material didáctico (diaporama) consideramos que ha quedado debidamente concluido, por lo que ponemos a su consideración el escrito final para autorización de impresión y/o en su caso programación de exámenes de tesis y profesional.

Sin otro particular, agradecemos de antemano la atención que se sirva brindar a la presente y aprovechamos la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

Las agujas, Zapopan, Jalisco a 9 Diciembre de 1997.



DIRECTOR DE TESIS

M en C Luz Elena Claudio García

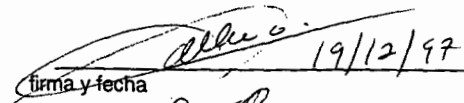


ASESOR

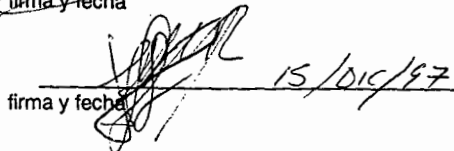
M en C Arturo Orozco Barocio

SIINODALES

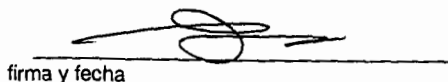
Q.F.B Adolfo Cárdenas Jiménez

  
firma y fecha 19/12/97

M en C José Luis Martínez Ramírez

  
firma y fecha 15/DIC/97

M en C Conrado Soto Velasco

  
firma y fecha

## *DEDICATORIAS*

*Dedico este trabajo principalmente a Dios por haberme brindado la oportunidad de vivir.*

*A la memoria de mi padre*

*De manera muy especial a mi madre: Tú eres el mejor ejemplo que tengo y mi mayor inspiración para luchar con ahínco hasta conseguir las cosas más grandes de la vida, Gracias por tu apoyo incondicional durante mi profesión y sobre por todo por tu gran amor.*

*A mis hermanos: Vero, Rubén Darío, Ernesto y Marco Antonio.*

*A mis tíos y primos por todo su entusiasmo y afecto que siempre me han brindado.*

*Gracias!*

## AGRADECIMIENTOS



BIBLIOTECA CENTRAL

Agradezco de manera muy especial a mi Directora de tesis, la M. C. Luz Elena Claudio García por su colaboración y enseñanzas que me brindó para realizar este trabajo.

A mi asesor el M. C. Arturo Orozco Barocio por sus comentarios y observaciones para mejorar este trabajo.

Igualmente a los sinodales: Q. F. B. Adolfo Cárdenas, el M. C. José Luis Martínez y el M. C. Conrado Soto Velasco, por sus sugerencias para mejorar la calidad de este diaporama.

Finalmente a mis mejores amigas, amigos y a mis compañeros de la XXV generación de Biólogos, por la ayuda desinteresada que siempre me han brindado y sobre todo por su amistad: Adriana, Silvia, Mireya, Claudia, Martha, Verónica, Irene, Gerardo, Emmanuel, Agustín, Juan Carlos y Javier.

## CONTENIDO

Página

Indice de figuras.....	i
1. Antecedentes y Justificación.....	1
2. Objetivo General.....	5
3. Material y Métodos.....	6
4. Guión del Diaporama.....	8
5. Bibliografía.....	24

## Índice de Figuras

Figura 1. Título.....	(página 8)
Figura 2. Hongos en la naturaleza.....	(página 8)
Figura 3. Hongos parásitos, simbioses y saprófitos.....	(página 8)
Figura 4. Manchas foliares en <i>Quercus</i> .....	(página 9)
Figura 5. Control químico de los hongos.....	(página 9)
Figura 6. Cortes directos y aislamientos.....	(página 9)
Figura 7. Material de campo.....	(página 9)
Figura 8. Manchas foliares ocasionadas por hongos.....	(página 10)
Figura 9. Cáncer ocasionado por hongos.....	(página 10)
Figura 10. Tumores ocasionados por hongos.....	(página 10)
Figura 11. Observaciones en estereoscopio.....	(página 10)
Figura 12. Cortes directos y aislamientos.....	(página 10)
Figura 13. Realización de cortes.....	(página 11)
Figura 14. Vertiendo lactofenol.....	(página 11)
Figura 15. Observaciones en el microscopio.....	(página 11)
Figura 16. Sellado del montaje.....	(página 11)
Figura 17. Selladores de montaje.....	(página 12)
Figura 18. Aislamiento en medios de cultivo.....	(página 12)
Figura 19. Sustancias empleadas en la elaboración de los medios de cultivo.....	(página 12)
Figura 20. Clasificación de los medios de cultivo.....	(página 12)
Figura 21. Medios de cultivo para fitopatógenos.....	(página 13)
Figura 22. Preparación del medio de cultivo.....	(página 13)

Figura 23. Cortes de tejido.....	(página 13)
Figura 24. Uso del cloro.....	(página 13)
Figura 25. Cortes de tejido en papel filtro.....	(página 13)
Figura 26. Siembra de tejidos.....	(página 14)
Figura 27. Datos en la caja de Petri.....	(página 14)
Figura 28. Cepas de hongos.....	(página 14)
Figura 29. Montaje de estructuras.....	(página 14)
Figura 30. Morfología de hongos.....	(página 15)
Figura 31. Clasificación de los hongos.....	(página 15)
Figura 32. Microfotografía de <i>Rhizopus</i> 10X.....	(página 15)
Figura 33. Microfotografía de <i>Rhizopus</i> 40X.....	(página 15)
Figura 34. Ascas y ascosporas.....	(página 16)
Figura 35. Cleistotecio.....	(página 16)
Figura 36. Peritecio.....	(página 16)
Figura 37. Peritecio de <i>Phyllachora</i> 10X.....	(página 16)
Figura 38. Peritecio de <i>Phyllachora</i> 40x.....	(página 17)
Figura 39. Apotecio.....	(página 17)
Figura 40. Ascas desnudas.....	(página 17)
Figura 41. Microfotografía de <i>Erysiphe</i> 10X.....	(página 17)
Figura 42. Microfotografía de <i>Erysiphe</i> 40X.....	(página 17)
Figura 43. Basidiomicetes.....	(página 18)
Figura 44. Tipos de basidiosporas.....	(página 18)
Figura 45. Dibujo de <i>Ustilago maydis</i> .....	(página 18)



Figura 46. Tipos de esporas de hongos heterocíclicos.....	(página 19)
Figura 47. Microfotografía de <i>Phragmidium</i> 10X.....	(página 19)
Figura 48. Microfotografía de <i>Phragmidium</i> 40X.....	(página 19)
Figura 49. Microfotografía de <i>Tranzschelia</i> 40X.....	(página 19)
Figura 50. Microfotografía de <i>Helminthosporium</i> y <i>Alternaria</i> 40X.....	(página 20)
Figura 51. Microfotografía de <i>Puccinia</i> 40X.....	(página 20)
Figura 52. Hongos imperfectos.....	(página 20)
Figura 53. Microfotografía de <i>Alternaria</i> 40X.....	(página 21)
Figura 54. Preservación de hongos en medios de cultivo.....	(página 21)
Figura 55. Cepa de hongos.....	(página 21)
Figura 56. Cepas de hongos.....	(página 21)
Figura 57. Preservación de cepas.....	(página 22)
Figura 58. Herborización del material enfermo.....	(página 22)
Figura 59. Utilización de sustancia conservadora.....	(página 22)
Figura 60. Ejemplar en la solución conservadora.....	(página 22)
Figura 61. Enmicando el ejemplar.....	(página 22)
Figura 62. Conclusiones.....	(página 23)
Figura 63. Agradecimientos.....	(página 23)

## ANTECEDENTES Y JUSTIFICACION

La enseñanza y el aprendizaje son 2 actividades paralelas, encaminadas al mismo fin: el perfeccionamiento del alumno. En la enseñanza, el maestro orienta y encausa la actividad del escolar por la cual éste obtiene conocimientos. La enseñanza expresa la tarea del maestro; consiste en la guía, dirección y enfoque del empeño del alumno, a fin de que gradual, pero metódicamente, vaya asimilándose una porción de cultura (Villalpando, 1967).

Por su parte, el aprendizaje consiste en la manera como el alumno responde a la acción del maestro, esto es, como asimilar a su persona y por propio esfuerzo, el caudal de cultura, que está al alcance de su grado evolutivo (Villalpando, 1967).

Para que el proceso de enseñanza-aprendizaje sea dinámico, es necesario el uso de los materiales didácticos. Éstos, como recursos útiles, permiten iniciar, estimular y/o apoyar el aprendizaje, facilitando la práctica educativa del docente, al promover la apropiación de conocimientos en sus alumnos (SEP, 1992).

Los recursos didácticos cumplen múltiples funciones educativas. Hoy, desde una visión globalizadora, se conciben como un medio que afecta a la estructura cognitiva de los sujetos: percepción, atención, selección de estímulos, actitudes y destrezas; éstos efectos se reproducen por la interacción del recurso con el sujeto (Santillana, 1988).

En sentido restrictivo, los recursos didácticos se usan como apoyos de enseñanza-aprendizaje, con términos tales como: materiales visuales y/o sonoros, aparatos diversos, etc. Los medios audiovisuales, son instrumentos que vehiculizan materialmente la transmisión de un mensaje y lo hacen empleando la imagen y el sonido. Algunas de las aplicaciones que tienen los medios audiovisuales para la educación ordinaria son: servir como instrumentos de almacenamiento y suministro de información, o de refuerzo y estímulo del aprendizaje, de la creatividad y del pensamiento. (Santillana, 1988).

Las diapositivas, se utilizan como elementos de apoyo educativo y están muy introducidas en la escuela, donde se usan cada día más, en combinación con comentarios o acompañamientos sonoros, constituyendo uno de los conjuntos audiovisuales más asequibles y empleados. Como todos los medios audiovisuales, las diapositivas necesitan de unos objetivos, de un contexto y de una metodología, para no quedarse en ilustración superficial, por esto, el mayor o menor fruto que se obtenga de su empleo, dependerá del entronque inteligente que se le dé, en relación con todos los demás elementos de la intervención educativa (Santillana, 1988).

Ortiz y Mendoza (1988), señalaron que la percepción del conocimiento por medio de los sentidos, se distribuye de la siguiente manera: por la vista, 89%; por el oído, 7%; por el tacto, 1.5%; por el gusto, 1.5%; por el olfato, 1.0%. Lo anterior, resalta la importancia de las

ayudas visuales (transparencias, carteles, acetatos, materiales vivos, diaporamas, etc) como un gran apoyo en las exposiciones orales y como excelentes auxiliares, para transmitir información a un grupo de personas en forma simultánea.

En sentido amplio, los recursos didácticos, generalmente, se identifican como medios de enseñanza; ésta aceptación implica, una referencia a cualquier elemento interviniente en el proceso didáctico por ejemplo: métodos de enseñanza, agrupamiento de alumnos, organización del clima-clase, etc (Santillana, 1988).

Dentro de los métodos de enseñanza, encontramos a los métodos visuales o demostrativos, que consisten en mostrar prácticamente, el manejo de un instrumento y la realización de un experimento, así como la exhibición del aspecto concreto de una teoría. La demostración se destina a mostrar el camino, ya comprobado, para la ejecución de una actividad (Santillán, 1996).

Existen 2 tipos de demostración: la experimental y la operacional.

La demostración experimental, tiene por objeto explicar fenómenos enunciados teóricamente, mediante correlaciones medibles o medibles. Se realiza en el laboratorio, o directamente en el medio ambiente, con o sin la ayuda de aparatos. La demostración operacional, se basa en técnicas de trabajo y de movimiento, y hace uso de aparatos determinados. La demostración por medio de proyecciones, con filmes, filminas o diapositivas, permiten la intercomunicación entre el docente y el estudiante (Santillán, 1996).

En conclusión, la demostración o método visual, tiene como finalidad: aclarar o hacer objetiva una exposición oral; concretizar algún tema que se esté tratando teóricamente; realizar aplicaciones prácticas; comprobar con lógica de argumentos; ilustrar hechos intelectuales; motivar las actividades escolares y ofrecer las guías adecuadas, para la acción o práctica correspondiente (Santillán, 1996).

Con el nuevo Plan de Estudios, que se ha desarrollado en el Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias, se tiene la necesidad de establecer un banco de material didáctico, con el fin, de que los maestros tengan las herramientas didácticas suficientes para impartir clases dinámicas, en donde se mantenga el interés de los alumnos, y éstos logren retener el aprendizaje de lo expuesto en clase.

Por lo anterior, se pretende realizar un diaporama, que ayude a disminuir las carencias de material didáctico en diferentes temas de algunas asignaturas de la Licenciatura en Biología y la carrera de Ingeniero Agrónomo, con la finalidad de contribuir al proceso de enseñanza-aprendizaje. Un diaporama, consiste, en una serie de diapositivas relacionadas con un tema en particular de una o varias asignaturas; comprende también la elaboración de un guión y la grabación de éste escrito en cassette.

Los criterios usados para la elección de las asignaturas, en el caso de este trabajo son: que lleven a cabo la demostración experimental y operacional; y que contengan temas afines. Tales materias, corresponden a Microbiología, Micología, Malezas y Fitopatógenos, y Fitopatología; las cuáles, tratan el tema de el aislamiento y/o la identificación de los hongos, en alguna parte de el contenido temático de su programa; por tal motivo, el diaporama podrá ser utilizado en éstas materias y tendrá la función de servir como un auxiliar en el proceso de enseñanza-aprendizaje.

El diaporama, consiste en una serie de diapositivas donde se explican las técnicas más comunes que se realizan para llevar a cabo el aislamiento y la identificación de hongos fitopatógenos. Estas técnicas son: la realización de montajes; los aislamientos en medios de cultivo; la obtención de cepas puras (resiembras); la preservación de cepas puras y la herborización del material enfermo. Además, el diaporama también va acompañado por un guión y un cassette, en los que se establece con detalle la realización de las técnicas mencionadas anteriormente, así como los aspectos que se deben tomar en cuenta para que se lleven a cabo.

A continuación, se señalan los temas específicos y las unidades, de acuerdo a los programas de cada materia, en las que el material didáctico servirá de apoyo:

**Microbiología:** Asignatura del área básica común obligatoria para las carreras de Lic. en Biología, Ing. Agrónomo y Médico Veterinario Zootecnista.

El diaporama será de utilidad en ésta asignatura al tratar la Unidad 3, titulada "Hongos", específicamente en los temas de morfología y clasificación de los mismos.

**Micología:** Asignatura básica particular obligatoria para la Lic. en Biología

De acuerdo al contenido temático sintético de ésta asignatura, el diaporama podrá utilizarse en la Unidad 1, donde se explican los métodos de aislamiento y especialmente en la Unidad 3, al abordar el tema de los hongos fitopatógenos.

**Fitopatología:** Asignatura especializante selectiva para la carrera de Ing. Agrónomo.

De acuerdo al contenido temático de ésta asignatura, el diaporama podrá ser utilizado en los Unidades 4, 7, 8 y 10 del programa donde los temas que se explican son : preparación de medios de cultivo; los hongos fitopatógenos; aislamiento de hongos en medios sintéticos y la identificación de hongos patógenos a través de claves taxonómicas, respectivamente.

**Maleza y Fitopatógenos:** Asignatura básica particular obligatoria para la carrera de Ing. Agrónomo.

De acuerdo al contenido temático sintético de ésta asignatura, el material didáctico podrá ser utilizado en el tema 5, que se titula : Descripción y Aislamiento de fitopatógenos.

CUCBA



BIBLIOTECA CENTRAL

### OBJETIVO GENERAL

Elaborar un diaporama que sirva como auxiliar en la enseñanza de varias asignaturas de las carreras de Lic. en Biología e Ing. Agrónomo.

## MATERIAL Y METODOS

Para llevar a cabo la realización del diaporama se realizó lo siguiente:

- 1- Revisión de los planes de estudio de la Licenciatura en Biología y la carrera de Ingeniero Agrónomo
- 2- Análisis del contenido del programa y de los mapas conceptuales de las asignaturas elegidas, para la obtención de los temas específicos en los que el diaporama podrá utilizarse.
- 3- Revisión Bibliográfica

Se obtuvo información de diferentes técnicas más comunes, utilizadas para el aislamiento y la identificación de hongos fitopatógenos y se seleccionaron las fotografías más demostrativas.

### 4- Utilización del material criptogámico enfermo:

El material utilizado fueron pinos, encinos así como vegetales y plantas de ornato con síntomas de alguna enfermedad.

#### 4.1 Detección e Identificación de las fitopatologías

Se realizaron primero observaciones a simple vista del material enfermo, posteriormente se observaron las lesiones de la enfermedad bajo el microscopio estereoscópico, con lo que se pudo diferenciar la mayoría de los cuerpos fructíferos de los hongos (Claudio y Vicente, 1990).

#### 4.2 Realización de montajes

Utilizando el estereoscopio se seleccionaron las áreas del material enfermo en el que se realizó cortes transversales muy finos con bisturí, navaja o microtomo. Posteriormente el corte se colocó en un portaobjetos donde previamente se vertió una o dos gotas de medio de montaje; en este caso se usó lactofenol; enseguida se colocó el cubreobjetos procurando que no quedaran burbujas en el interior, para lo cual se procedió a calentar muy ligeramente el montaje con la llama de un mechero y se observó en el microscopio compuesto. Si el montaje fue satisfactorio en calidad y limpieza se procedió al sellado del mismo utilizando esmalte transparente para uñas (Claudio y Vicente, 1990)

#### 4.3 Aislamiento de hongos en medios de cultivo

El aislamiento de los patógenos se hizo seleccionando 4 cortes de 5 mm a partir del borde de la lesión, con el fin de que tuviera tejido infectado y tejido al parecer sano. Esos cortes se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio al 6%, para que la superficie del tejido quedase aséptica y al cabo de 0,15,30 y 45 segundos se pasaron por 3 cambios de agua destilada estéril, se secaron con papel filtro estéril, se transfirieron al medio de cultivo y se incubaron durante 3 días a 24°C para obtener el desarrollo micelial, se hicieron observaciones periódicas. El medio de cultivo que se utilizó fue agar con dextrosa y papa(PDA). Una vez que se identificó al hongo se hicieron resiembras para la obtención de cultivos puros (Agrios, 1991).

#### 4.4 Herborización del material enfermo

El material que tuvo los síntomas característicos de la enfermedad se sumergió en una solución estéril-conservadora durante un período de 3 a 5 días, ya que ésta fija el color, esteriliza y conserva los tejidos; se obtiene mezclando los siguientes componentes:

formaldehído.....	300 ml
etanol.....	100 ml
ácido acético glacial.....	100 ml
aceite de oliva.....	10 ml
sulfato de cobre.....	5 a 10 grs
ácido acetilsalicílico.....	12.5 grs
agua destilada.....	aforar a un litro.

la solución se dejó reposar durante 24 horas, después las muestras se secaron en una prensa botánica por espacio de 1 ó 2 días y se enmicaron con plástico autoadherible transparente y posteriormente se etiquetó (Claudio y Vicente, 1990).

#### Conformación del diaporama

El diaporama consta de una serie de diapositivas, las cuáles, se obtuvieron de las fotografías que se tomaron de las técnicas que se realizaron con el fin de aislar e identificar a los hongos fitopatógenos:

Técnica del montaje; aislamiento en medios de cultivo; resiembras y preservación de cepas puras y herborización del material enfermo.

También se tomaron fotomicrografías de los montajes que se realizaron para observar algunos de los diferentes tipos de esporas, micelio y cuerpos fructíferos de los hongos fitopatógenos.

El diaporama está acompañado de un guión como apoyo para la explicación de las técnicas realizadas y un cassette con la misma información.



## IMAGEN



Fig. 1 Aislamiento e identificación de hongos fitopatógenos



Fig. 2 Hongos en la naturaleza



Fig. 3 Hongos parásitos, simbioses y saprófitos (Tomado de Litten,1975; Guzmán,1987)

NARRACION-AUDIO.  
TIEMPO APROX. 30 minutos

## TITULO

Los hongos son microorganismos eucarióticos heterótrofos, cuya estructura somática, está representada por filamentos microscópicos tubulares, llamados hifas que en conjunto forman una estructura visible denominada micelio, a partir del cuál se forman las estructuras de reproducción o cuerpos fructíferos que pueden ser macroscópicos o microscópicos. Los hongos se encuentran en la naturaleza cumpliendo importantes funciones, pero en general se pueden encontrar como saprobios, simbioses ó parásitos (Ulloa,1978)

Los hongos saprobios descomponen y reintegran la materia orgánica de diversos cadáveres y vegetales a los ciclos de la naturaleza, por su parte, los simbioses guardan estrecha relación de convivencia con otros organismos sin causarse daño mutuamente; en cuánto al grupo de los hongos parásitos, estos, toman ventaja de otros organismos ya sea animales o vegetales, al utilizarlos como un medio de sobrevivencia causándoles diversas manifestaciones (Guzmán,1978)



Fig. 4 Manchas foliares en *Quercus sp*



Fig. 5 Control químico de los hongos  
(Tomado de Sánchez, 1994)

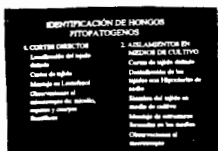


Fig. 6 Cortes directos y aislamientos



Fig. 7 Material de campo

Los hongos parásitos de vegetales o también llamados fitopatógenos por lo general provocan enfermedades al hospedante ocasionando diversos síntomas. Se calcula que el 80% de las enfermedades en las plantas son causadas por hongos y el 20 % restante por otros microorganismos. Es importante mencionar las grandes pérdidas económicas en la agricultura ocasionadas por efecto de los hongos parásitos, debido a que las cosechas son fuentes de alimentos para el hombre y algunos animales (López y Salas, 1995)

Con el propósito de determinar a los hongos fitopatógenos más importantes involucrados en el daño a los vegetales es necesario identificarlos y aislarlos con la finalidad de adoptar medidas de control y combate (Mendoza, 1983)

A continuación, se definirá la forma de colectar a los vegetales enfermos y las estructuras que se toman en cuenta para poder determinar a las especies. Así mismo, se hablará de como se pueden aislar en el laboratorio y la forma de su preservación para su posterior estudio.

Una buena identificación, depende en gran medida de los cuidados que se tenga de la planta en la colecta. Normalmente se utiliza una prensa botánica para las hojas, y bolsas de papel para las ramas, los frutos y partes suculentas. Todas las muestras obviamente tendrán que estar perfectamente identificadas con etiquetas (Claudio y Tavares, 1990)

## BIBLIOTECA CENTRAL



Fig. 8 Manchas foliares ocasionadas por hongos



Fig. 9 Cáncer ocasionado por hongos



Fig. 10 Tumores ocasionados por hongos



Fig. 11 Observaciones en el estereoscopio



Fig. 12 Cortes directos y aislamientos

Se colectan partes de la planta que presenten los síntomas representativos de la enfermedad. Los síntomas pueden ser: manchas foliares, que se observan como lesiones necróticas localizadas en las hojas y que son producidas por la muerte de las células del vegetal (Mendoza, 1983)

El cáncer, es otro síntoma que puede ser ocasionado por los hongos, consiste en una lesión generalmente deprimida rodeada de tejido sano que se presenta en tallos, ramas y troncos (Mendoza, 1983)

Los tumores, son crecimientos anormales, que a menudo se deben a las hormonas u otros reguladores producidos por el parásito y que afectan a las células de la planta (Mendoza, 1983)

El ejemplar enfermo se lleva al laboratorio, donde se procede a la observación de los tejidos enfermos, con ayuda de un microscopio estereoscópico, cuya finalidad es la de observar si se encuentran estructuras superficiales que nos ayuden a determinar al parásito (Claudio y Tavares, 1990)

Si la observación con el microscopio estereoscópico no es suficiente para la identificación del hongo patógeno, existen dos procedimientos típicos a seguir: 1) A través de cortes directos del hospedero y 2) Por el aislamiento en medios de cultivo (Claudio y Tavares, 1990)

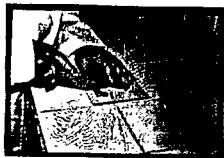


Fig. 13 Realización de cortes



Fig. 14 Vertiendo lactofenol



Fig. 15 Observaciones en el microscopio



Fig. 16 Sellado de montaje

a) El primer método consiste en seleccionar áreas del material enfermo, donde previamente bajo el microscopio estereoscópico se localizaron indicios de cuerpos fructíferos.

b) Se realizan cortes transversales muy finos del tejido enfermo, con ayuda de un bisturí, navaja o microtomo (Claudio y Tavares, 1990)

Posteriormente, se vierte una gota de lactofenol en un portaobjetos perfectamente limpio. Se colocan los cortes finos de la planta y después se coloca el cubreobjetos, cuidando que no se formen burbujas que dificultarían la observación (Claudio y Tavares, 1990)

d) Se observa la preparación con el objetivo seco débil y si es necesario se utiliza el seco fuerte, esto dependerá del tamaño de las esporas (Claudio y Tavares, 1990)

e) Si el montaje es de buena calidad se observarán las estructuras reproductivas de los hongos las cuáles nos ayudarán a su determinación (Claudio y Tavares, 1990)



Fig. 17 Selladores de montaje



Fig. 18 Aislamientos en medios de cultivo

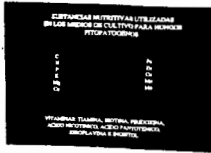


Fig. 19 Sustancias empleadas en la elaboración de medios de cultivo (Moore-Landecker, 1996)



Fig. 20 Clasificación de los medios de cultivo

Una vez localizadas estas estructuras, se procede al sellado del montaje. Para esto, comúnmente se utilizan bálsamo de Canadá, lacas automotrices y esmaltes de uñas (Claudio y Tavares, 1990)

Con excepción de los considerados parásitos obligados (órdenes Peronosporales, Erisiphales y Uredinales) la técnica de los aislamientos en medios de cultivo, se utiliza cuando no se tuvo éxito con los cortes directos, debido a que cuando se colectó la muestra criptogámica enferma, el hongo patógeno no estaba produciendo esporas o cuerpos fructíferos (López, 1984)

Para llevar a cabo los aislamientos, es necesario tener conocimientos sobre los medios de cultivo, los cuáles consisten en una mezcla de sustancias nutritivas que permiten el desarrollo y reproducción de los hongos bajo condiciones de laboratorio (López, 1984)

Los medios de cultivo se clasifican de acuerdo a su utilización en generales y específicos. Los primeros favorecen el desarrollo de varios grupos de hongos, a diferencia de los específicos que propician el desarrollo de un determinado grupo de ellos, gracias a la selectividad de nutrimentos que contiene, al ph y al empleo de inhibidores de crecimientos para otros microorganismos (Claudio y Tavares, 1990)

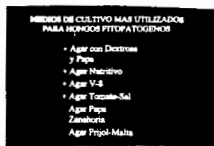


Fig. 21 Medios de cultivo para fitopatógenos

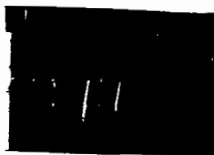


Fig. 22 Preparación del medio de cultivo



Fig. 23 Cortes de tejido (Tomado de Hale, 1969)



Fig. 24 Uso del cloro



Fig. 25 Cortes de tejido en papel filtro

Los medios de cultivo más utilizados para hongos fitopatógenos son: Agar con dextrosa y papa, Agar nutritivo, Agar malta, Agar papa-zanahoria, Agar jugo v-8, Agar tomate-sal, Agar-frijol-malta, entre otros. Los frascos se deben conservar en ausencia de luz y con temperaturas de 0 a 4°C, para evitar cambios en el pH (Tuite, 1969; López, 1984)

El primer paso para realizar los aislamientos es preparar los medios de cultivo, que consiste en pesar los gramos que se indiquen en la etiqueta y disolverlos en agua destilada; posteriormente se esterilizan durante 20 minutos a 15 libras de presión (López, 1984)

Una vez listo el medio de cultivo se procede a el aislamiento de los hongos, para lo cual se hacen cortes de 5 mm en los tejidos dañados, procurando que contengan tejido sano e infectado (Claudio y Tavares, 1990)

Estos cortes se desinfectan superficialmente en una solución de hipoclorito de sodio al 6%, durante 0, 15, 30 y 45 segundos. A continuación los cortes se enjuagan 3 veces en agua destilada estéril para eliminar el exceso de cloro (Claudio y Tavares, 1990)

Los cortes se colocan en papel filtro estéril para que se sequen. Con el fin de protegerlos de contaminantes se utiliza una atmósfera de calor generada por varios mecheros (Claudio y Tavares, 1990)



Fig. 26 Siembra de tejidos



Fig. 27 Datos en la caja de petri

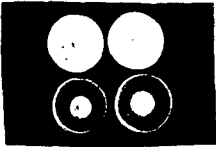


Fig. 28 Cepas de hongos



Fig. 29 Montaje de estructuras (Tomado de Hale, 1969)

Una vez secos, los cortes se siembran en las cajas que contienen el medio de cultivo. Se incuban en posición invertida, durante más de 3 días, a una temperatura de 24°C, para obtener el desarrollo del micelio y los cuerpos fructíferos (Claudio y Tavares, 1990)

Antes de la incubación es necesario anotar una serie de datos tales como: el tiempo de duración en la solución de cloro, el medio de cultivo utilizado, la fecha y hora en que se realizó la siembra, etc (Martínez, 1978)

Una vez obtenido el desarrollo de los hongos es necesaria la observación de todas las estructuras formadas sobre el medio de cultivo, por lo que se procede a realizar montajes de éstas para su observación bajo el microscopio (Claudio y Tavares, 1990)

Los montajes de las estructuras aisladas se hacen de la siguiente manera: se toma un poco de muestra con las agujas de disección y se depositan en un portaobjetos, al cuál previamente se le ha añadido una gota de lactofenol, se coloca un cubreobjetos y se observa al microscopio; es conveniente realizar mediciones de cada una de las estructuras observadas así como la elaboración de dibujos o toma de fotografías, para su posterior determinación a través de las claves taxonómicas (Claudio y Tavares, 1990)



Fig. 30 Morfología de hongos

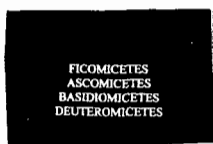


Fig. 31 Clasificación de los hongos

Fig. 32 Microfotografía de *Rhizopus* 10xFig. 33 Microfotografía de *Rhizopus* 40x

La determinación de las especies se basa en el tipo de reproducción de los hongos, ya sea sexual o asexual y en la morfología de los mismos. Todas las estructuras morfológicas que presentan los hongos, como el tipo de micelio; la forma de los cuerpos fructíferos y características de las esporas como el número de células que presentan, el tamaño, la forma, el color, la ornamentación, son características que toman en cuenta las claves taxonómicas para identificar a los hongos (Martínez, 1978; Mendoza, 1983)

Un primer paso para determinar a la especie es conocer a que grupo taxonómico corresponde, entre los cuáles se puede mencionar a los Ficomícetes, Ascomícetes, Basidiomícetes y Deuteromícetes (Manners, 1980)

Los ficomicetes se caracterizan por presentar hifas no septadas, esporangiosporas producidas típicamente y reproducción sexual y asexual. Un ejemplo de ellos es *Rhizopus* que ocasiona el moho común del pan y además produce la pudrición blanda de muchos frutos carnosos, hortalizas, flores, bulbos, semillas, etc. En ésta microfotografía se observa un cuerpo fructífero o esporangióforo de éste hongo (Agrios, 1991)

Aquí se observa un acercamiento del cuerpo fructífero de *Rhizopus*, donde podemos ver las esporas que se forman dentro del esporangióforo apareciendo en forma de esferas.



Los ascomicetes son uno de los grupos donde se encuentran la mayoría de los hongos fitopatógenos, siendo las enfermedades llamadas "cenicillas"; posiblemente las más comunes que provocan. Estos hongos se caracterizan por presentar estructuras en forma de saco llamadas ascas que contienen 8 esporas es este caso llamadas ascosporas; las ascas pueden estar libres o dentro de cuerpos fructíferos. Las ascosporas pueden ser unicelulares y pluricelulares, y de diferentes formas como se observa en el dibujo (Moore-Landecker, 1996)



Fig. 34 Ascas y ascosporas



Fig. 35 Cleistotecio

Los cuerpos fructíferos que contienen las ascas pueden ser: en forma esférica y cerrada, se denominan cleistotecios; ejemplos de estos son los hongos de la serie pirenomicetos que son los que ocasionan las cenicillas (Agris, 1991)



Fig. 36 Peritecio

En otros hongos, el ascocarpo o cuerpo fructífero de los ascomicetes es una estructura más o menos cerrada, pero al llegar a la madurez posee un orificio a través del cual escapan las esporas; a dicho cuerpo se le denomina peritecio (Agris, 1991)



Fig. 37 Peritecio de *Phyllachora* 10x

Por ejemplo aquí podemos observar a *Phyllachora*, que ocasiona la enfermedad conocida como mancha del chapopote en aguacate. Se le denomina de ésta manera ya que en el haz de las hojas presenta manchas de color negro brillante abultadas de consistencia dura, semejando manchas de chapopote (Mendoza, 1983)



Fig. 38 Peritecio de *Phyllachora* 40x



Fig. 39 Apotecio



Fig. 40 Ascas desnudas



Fig. 41 Microfotografía de *Erysiphe* 10x



Fig. 42 Microfotografía de *Erysiphe* 40x

En esta microfotografía se pueden observar con mayor detalle la forma globosa de los peritecios y su coloración oscura. Su distribución abarca el Estado de México, Morelos y Puebla (Mendoza, 1983)

Por último en la serie de los discomicetos, las ascas se forman en un ascocarpo abierto y en forma de plato o copa denominado apotecio. Dentro de éstos hongos encontramos a aquellos que ocasionan la mancha foliar en la alfalfa (Agris, 1991)

También pueden aparecer las ascas desnudas, es decir sin cuerpo fructífero, como es el caso de las levaduras y de los hongos que ocasionan el enchinamiento foliar (Agris, 1991)

*Erysiphe*, ocasiona la enfermedad conocida como cenicilla de la lechuga, muy común en los ascomicetos como se mencionó anteriormente. Está ampliamente distribuida y afecta a todo tipo de plantas: cereales, pastos, hortalizas, plantas de ornato, malas hierbas, arbustos, árboles frutales, árboles forestales y de sombra (Agris, 1991)

En esta microfotografía podemos ver a las hifas del patógeno sobre el tejido del hospedero. La cenicilla es caracterizada por la presencia de hifas polvorientas, mohosas y de un color que va desde blanco a grisáceo sobre los tejidos de las plantas (Claudio y Tavares, 1990)



Fig. 43 Basidiomicetes



Fig. 44 Tipos de basidiosporas

Fig. 45 Dibujo de *Ustilago maydis* (Tomado de Tablada, 1983)

Los basidiomicetes se diferencian de los demás hongos en que producen 4 basidiosporas, en la parte externa de una estructura especializada llamada basidio. Otra característica de estos hongos es que presentan micelio de colores llamativos como blanco, amarillo o anaranjado. Entre los hongos fitopatógenos más importantes encontramos a los pertenecientes a los órdenes Ustilaginales y Uredinales, que ocasionan los carbones y las royas de muchas plantas (Martínez, 1978)

Las basidiosporas pueden ser unicelulares o multicelulares, así mismo, pueden estar contenidas en cuerpos fructíferos. En este dibujo podemos observar diferentes tipos de esporas que ocasionan la roya en muchos hospederos (Mendoza, 1983)

Entre los basidiomicetes se encuentran especies fitopatógenas de importancia económica como es el caso de *Ustilago maydis* o mejor conocido como huitlacoche; es de los hongos patógenos más conocidos en México; este hongo es una especie comestible, la cual difícilmente se puede considerar perjudicial en ciertos lugares, ya que las mazorcas enfermas se cotizan a un precio más alto que el de las sanas (Martínez, 1978)



Fig. 46 Tipos de esporas de hongos heterocíclicos



Fig. 47 Microfotografía de *Phragmidium* 10x

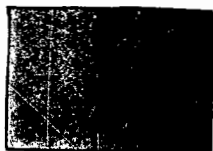


Fig. 48 Microfotografía de *Phragmidium* 40x



Fig. 49 Microfotografía de *Tranzschelia* 40x

Una de las características más importantes de algunos de los basidiomicetes (Uredinales y Ustilaginales) es la necesidad de dos hospederos para completar su ciclo biológico; a este tipo de hongos se les denomina heterocíclicos, por lo que en un mismo hongo se pueden encontrar al menos dos tipos de esporas diferentes. Por lo anterior, es muy difícil aislar a este tipo de hongos (Claudio y Tavares, 1990)

Es frecuente que los rosales sean atacados por las royas. En los años húmedos puede producir grandes daños, provocando la caída de las hojas, la desecación de las ramas y aún de la planta. Aquí podemos observar a *Phragmidium americana* que ocasiona la roya del rosal (López y Salas, 1995)

En este aumento de la fotomicrografía anterior se pueden observar con mayor detalle las características de las esporas de este hongo conocidas como teliosporas, éstas pueden tener de 1 a 10 células, verrucosas o lisas, características que se toman en cuenta para su determinación (López y Salas, 1995)

*Tranzschelia* ocasiona la roya de las drupáceas. En los estados de Aguascalientes, México, Puebla, Tlaxcala, Zacatecas y Nuevo León es común en durazno, ciruelo, chabacano y capulín (Romero, 1988)



Fig. 50 Microfotografía de *Helminthosporium maydis* y *Alternaria* 40x

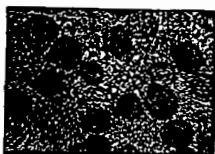


Fig. 51 Microfotografía de *Puccinia* 40x



Fig. 52 Hongos imperfectos

Podemos observar aquí dos tipos de esporas: *Helminthosporium maydis* y *Alternaria*. El primero ocasiona el tizón del maíz y de algunos pastos. En México son muy frecuentes, sobre todo en los maiceros del Golfo de México, ocasionando fuertes pérdidas. Por su parte las especies de *Alternaria* se consideran saprófitas y pueden encontrarse como contaminantes en el laboratorio y como parásitos de vegetales viejos (Claudio y Tavares, 1990; Rocha, 1992)

*Puccinia* sp ocasiona las royas en trigo, cebada, centeno, sorgo, caña de azúcar. En esta fotomicrografía podemos observar esporas de este hongo obtenidas de una roya del maíz. El hongo se desarrolla en periodos lluviosos o de humedad relativa o permanente, con sus invasiones puede detener el desarrollo de la planta y causar la muerte por asfixia (Juscafresa, 1973)

Los deuteromicetes son hongos que no presentan reproducción sexual, por lo que también se les conoce como hongos imperfectos. Para su clasificación se toma en cuenta el tipo de fructificación, el color y tabicamiento de las esporas que en éste caso se denominan conidiosporas por formarse en cuerpos fructíferos llamados conidióforos. Otros tipos de reproducción encontrados en los deuteromicetes son los picnidios y el acérvulo (Mendoza, 1983)



Fig. 53 Microfotografía de *Alternaria* 40x

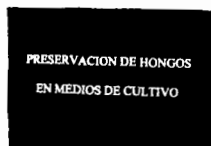


Fig. 54 Preservación de hongos en sus hospederos



Fig 55 Cepa de hongos



Fig. 56 Cepas de hongos

*Alternaria* sp, además de considerarse saprófito también produce enfermedades principalmente en tejidos senescentes o viejos y en aquellos que son afectados por adversidades del medio ambiente, ataques de insectos y otras enfermedades. Aquí podemos observar conidióforos oscuros y ramificados que están dispuestos en cadenas. *Alternaria* ataca a la papa, tomate, berenjena, ocasionando tizones en hojas y pudriciones de frutos y tubérculos (Rocha,1992)

Por otra parte, cuando se requiere preservar a los hongos fitopatógenos aislados y hacer estudios sobre la forma de controlarlos, es necesario realizar transferencias periódicas a otros nuevos medios de cultivo frescos, para evitar que envejecen y mueran (Claudio y Vicente,1990)

Las resiembras consisten en transferir micelio de dicho hongo a otra caja de Petri con medio de cultivo e incubar a 24°C por más de 3 días, al cabo de los cuáles observamos la presencia de nuevo micelio (Claudio y Tavares,1990)

Una vez que se ha reunido una considerable cantidad de cepas puras se puede formalizar la creación de un cepario de hongos fitopatógenos, ya sea con fines comerciales o de investigación, para este caso, las cepas deben preservarse por un período más prolongado de tiempo, por lo que se recomienda la utilización de otros métodos (Ferrera et al 1993)



Fig. 57 Preservación de cepas

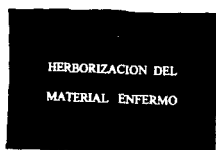


Fig. 58 Herborización del material enfermo



Fig. 59 Utilización de sustancia conservadora



Fig. 60 Ejemplar en la solución conservadora



Fig. 61 Enmicando el ejemplar

Existen varios métodos de preservación, pero el más recomendado es el método bajo aceite mineral estéril, ya que es muy simple pero efectivo. Consiste en cubrir las cepas que contienen el fitopatógeno con aceite mineral o vaselina líquida, de 2 a 3 cm por encima del nivel del medio de cultivo (Tuite, 1969)

Si se desea conservar el material criptogámico enfermo que presenta los síntomas de la enfermedad se puede realizar la siguiente técnica:

Consiste en sumergir el material en una solución que contienen; 300 ml de formol, 100 ml de etanol, 100 ml de ácido acético glacial, 10 ml de aceite de oliva, 50-100 gr de sulfato de cobre y 12.5 grs de ácido acetilsalicílico. Una vez que se han mezclado estos ingredientes, la solución se deja reposar durante 24 horas (Claudio y Tavares, 1990)

El material enfermo se sumerge en la solución durante 24 horas para que penetre en los tejidos de las muestras, ya que dicha solución fija, esteriliza y conserva el color original de los tejidos (Claudio y Tavares, 1990)

Después, el material enfermo se coloca en una prensa botánica por un espacio de dos a 3 días, para quitar el exceso de la solución anterior y finalmente, las plantas se enmican con plástico autoadherible y se etiquetan con los datos más importantes sobre el huésped y el hospedero (Claudio y Tavares, 1990)



Fig. 62 Conclusiones

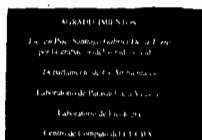


Fig. 63 Agradecimientos

Existen numerosas técnicas y procedimientos para llegar a la identificación de los hongos fitopatógenos, pero en este trabajo sólo se describen los cortes directos y los aislamientos en medios de cultivo, ya que son los que se recomiendan la mayoría de las veces, puesto que son procedimientos sencillos, utilizados comúnmente en los laboratorios de Fitopatología, además estos procedimientos son efectivos y no requieren material costoso.

Agradecimientos



## BIBLIOGRAFIA

1. Agrios, G. 1991. **MANUAL DE LAS ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS**. TOMO II. Limusa. México.
2. Claudio, G.L.E. y Tavares, V. 1990. **METODOLOGIA PARA LA FORMACION DE UN HERBARIO FITOPATOLOGICO**. Tesis Profesional Agronomía. Universidad de Guadalajara.
3. Ferrera, C., González, CH., Rodríguez, M. 1993. **MANUAL DE AGROMICROBIOLOGIA**. Trillas. México.
4. Guzmán, G. 1978. **HONGOS**. Limusa. México.
5. Hale, E. M. 1969. **HOW TO KNOW THE LICHENS**. The Pictured Key Nature. United States of America.
6. Juscafresa, B. 1973. **LUCHA CONTRA LOS PARASITOS VEGETALES**. Sintesis. España.
7. Kemp, E.J. 1973. **PLANIFICACION Y PRODUCCION DE MATERIALES AUDIOVISUALES**. Representaciones y Servicios de Ingenierías. México.
8. Litten. 1975. **THE POISONOUS MUSHROOM**. Sc. Am.
9. López, T., y Salas, O. 1995. **CONTROL DE ALGUNOS FITOPATOGENOS CON EXTRACTOS VEGETALES**. Tesis Profesional Agronomía. Universidad de Guadalajara.
10. Manners, J. G. 1986. **INTRODUCCION A LA FITOPATOLOGIA**. Limusa. México.
11. Martínez, R. J. L. 1978. **DIAGNOSTICO DE LAS ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS**. Tesis Profesional Agronomía. Universidad de Guadalajara.
12. Mendoza, Z.C. 1983. **PRINCIPIOS DE FITOPATOLOGIA**. Limusa. México.
13. Moore-Landecker, E. 1996. **FUNDAMENTALS OF FUNGI**. Prentice Hall, Inc. United States of America.
14. Ortiz, C. y Mendoza, L. E. 1988. **CONFERENCIAS: COMO PREPARARLAS Y PARTICIPAR EN ELLAS**. Colegio de Postgraduados. México.
15. **PLAN DE ESTUDIOS DE BIOLOGIA**. 1996. Universidad de Guadalajara.

16. **PLAN DE ESTUDIOS DE AGRONOMIA.** 1996. Universidad de Guadalajara.
17. **PROGRAMA DE MICOLOGIA.** 1996. Departamento de Botánica y Zoología. Universidad de Guadalajara.
18. **PROGRAMA DE MICROBIOLOGIA..** 1996. Departamento de Biología Celular y Molecular. Universidad de Guadalajara.
19. **PROGRAMA DE FITOPATOLOGIA.** 1996. Departamento de Producción Agrícola. Universidad de Guadalajara.
20. **PROGRAMA DE MALEZAS Y FITOPATOGENOS.** 1996. Departamento de Producción Agrícola. Universidad de Guadalajara.
21. Rocha, O. H. 1992. **DIPOSITIVAS COMO MATERIAL DIDACTICO DE HONGOS FITOPATOGENOS.** Tesis Profesional Agronomía. Universidad de Guadalajara.
22. Romero, C.S. 1988. **HONGOS FITOPATOGENOS.** Universidad Autónoma de Chapingo. México.
23. Santillán, R. 1996. **LOS PRINCIPIOS DIDACTICOS Y LOS METODOS DE ENSEÑANZA Y PRACTICA EN EL APRENDIZAJE DE LA BIOLOGIA.** Tesis Profesional de Biología. Universidad de Guadalajara.
24. Santillana. 1988. **DICCIONARIO ENCICLOPEDICO DE EDUCACION ESPECIAL.** Volumen II. Diagonal. México.
25. Sánchez, G.F. 1994. **CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS EN INVERNADERO.** Mundi-Prensa. Madrid.
26. SEP. 1992. **CATALOGO DE MATERIALES DE REHUSO Y LA NATURALEZA.** Ajusco. México.
27. Tablada, J.J. 1983. **HONGOS MEXICANOS COMESTIBLES.** Fondo de Cultura Económica. México.
28. Tuite. 1969. **PLANT PATHOLOGICAL METHODS. FUNGI AND BACTERIA.** "Departament of Botany and Plant Pathology". Pardue University Minneapolis, Minn. U.S.A.
29. Ulloa, M. 1978. **ATLAS DE MICOLOGIA BASICA.** Concepto. México.

30. Villalpando, J.M. 1967. **MANUAL DE PSICOTECNICA PEDAGOGICA.** Porrúa.  
México.