

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS



"DETERMINACIÓN DE LOS ORGANISMOS ASOCIADOS AL CANCRO QUE AFECTA LA VEGETACIÓN ARBÓREA URBANA DE MEXICALI B. C."

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN CIENCIAS
AMBIENTALES
PRESENTA:
JOSÉ ALFREDO RÍOS BERNAL

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, SEPTIEMBRE DE 2014

Resumen

Las enfermedades generadas por hongos en la vegetación arbórea de Mexicali B. C., son una problemática seria debido a que produce una reducción en la cobertura vegetal. Entre las principales enfermedades se encuentra la conocida como hongo negro, cenicilla o cáncer carbonoso. El objetivo del presente trabajo fue identificar al agente causal de la enfermedad que afecta al arbolado urbano del Municipio de Mexicali. Se recolectaron muestras en la zona urbana y rural de Mexicali B. C., de algunas especies de *Ficus* spp., *Citrus* spp. y *Morus* spp., que presentaron signos de la afección. En laboratorio se aisló y cultivo al agente causal, y se desarrollaron pruebas moleculares para la identificación del organismo, obteniendo resultados no favorables, sin embargo, se realizó una caracterización micro-morfológica, identificándose a *Neoscytalidium dimidiatum* (Penz.) Crous & Slippers., como el agente causal de la afección de la vegetación arbórea de Mexicali B. C., la cual, genera fisuramiento y desprendimiento de la corteza evidenciando la presencia de esporas negruzcas, característica relevante de la enfermedad.

Palabras clave: Mexicali, enfermedad, arbolado, *Neoscytalidium dimidiatum*.

"DETERMINACIÓN DE LOS ORGANISMOS ASOCIADOS AL CANCRO QUE AFECTA LA
VEGETACIÓN ARBÓREA URBANA DE MEXICALI B. C."

T E S I S

QUE PRESENTA:

JOSÉ ALFREDO RÍOS BERNAL

APROBADA POR:



DRA. NAHARA E. AYALA SÁNCHEZ
Presidente del Jurado



DRA. LETICIA ROMERO BAUTISTA
Sinodal Propietario



DRA. MARIA CONCEPCIÓN ARREDONDO
GARCÍA
Sinodal Propietario

T E S I S

Dedicatoria.

Con gratitud y amor a mis padres Alfredo y Lorena, a mis hermanos Juan y Anna, a mis sobrinos Eivar y Elian, a mi abuela Juanita y familia en general.

Con admiración a los maestros que me apoyaron e impulsaron en todo momento, en especial a Dra. Nahara Ayala, Dra. Concepción Arredondo, Dra. Leticia Romero, Dra. Raquel Muñiz y Dra. Amelia Portillo.

A mis queridos amigos del alma.

Agradecimientos.

Sin duda alguna a mis padres Lorena y Alfredo, que sin su apoyo, comprensión y cariño no hubiera podido lograr este paso tan importante en mi vida personal y profesional. Gracias por sus consejos y sobre todo GRACIAS por estar siempre conmigo a pesar de la distancia y de las circunstancias, estoy orgulloso de ustedes por que sin su ejemplo no sería lo que hoy soy.

A mis hermanos Anna y Juan que con el apoyo que me brindaron pude seguir con este sueño, por acompañarme en las buenas y en las malas y sobre todo por confiar en mí.

A mis sobrinos Eivar y Elian que desde su nacimiento he adorado y querido con todo mi corazón, que me han inspirado a salir adelante para poder estar con ellos desde el inicio de sus vidas.

A mi abuela Juanita que siempre ha sido un ejemplo a seguir, que me ha apoyado en todo el transcurso de mi formación profesional. Sin duda alguna ha sido un gran motor que me ha impulsado a seguir este camino y no detenerme.

A mi tíos Sergio y Fernanda que siempre me han apoyado y ayudado en todo momento.

A mis queridos amigos Cristina Muñoz Cardona, Carmen Valverde, Hugo López, Dennise Chávez, Ricardo Castillo, Dulce María de Gabriel, Flor Guerrero, Rosangela Álvarez, Azalea Marín, Patricia Ochoa, Karla Velarte Bastidas, Francisco Smith Beltrán, entre otros.

También quiero agradecer al Instituto de la Juventud de Baja California, en especial al ex director MBA. Miguel Ángel René Torres Cabrales y C. P. Teresita Gutiérrez Malo por su valioso apoyo brindado.

En especial a aquellos seres tan queridos que se fueron antes de culminar este logro tan importante, que me apoyaron y estuvieron siempre gustosos de mis logros: Teresa Ríos García, David Bernal Jiménez y David Bernal Pedroza

A la Dra. Nahara E. Ayala Sánchez por todo su valioso tiempo, apoyo y motivación para sacar adelante este proyecto, sin usted no hubiese conocido el maravilloso campo de la micología, el cual, me ha hecho crecer como persona y como profesionista, gracias por ser una gran persona, porque me inspira a mejorar día a día a pesar de todos los obstáculos que se presentaron en el trayecto. Mil, mil gracias por todo el conocimiento aportado, por impedir en repetidas ocasiones vencerme, pero sobre todo por creer en mí.

A la Dra. María Concepción Arredondo García, gracias por guiarme en toda la carrera y en la realización de este trabajo, no tengo las palabras suficientes para describir todo el agradecimiento y aprecio que siento por usted, viviré infinitamente agradecido con usted.

A la Dra. Leticia Romero Bautista, gracias por su apoyo, conocimientos para poder realizar este estudio, gracias por todo.

A la Dra. Raquel Muñiz y Dra. Amelia Portillo, gracias por apoyarme en el área de Biología Molecular, sin duda alguna, el aprendizaje adquirido ha sido de gran relevancia para mi crecimiento profesional y personal.

De igual forma a los académicos e investigadores que me formaron y brindaron conocimientos para mi vida profesional, los cuales me han motivado a salir adelante, dignos de admirar y apreciar: Dra. Nahara Ayala Sánchez, Dra. Roxana Rico Mora, Oc. Patricia Alvarado Graef, Dra. Dora Waumann, Dr. Francisco Javier Aranda Manteca, Dra. Ileana Espejel Carbajal, Mtro. Pedro Ruiz, Dr. Julio Villaescusa, Dr. Walter Daesslé, Ocean. Filiberto Núñez Cerebro, Dr. Felipe Correa, entre otros.

También por su valiosa ayuda a C. Lorena Cabadas, C. Manuel Ornelas, C. Yolanda Arechiga, C. Ernesto Hernández y C. Angélica Arce, gracias por todo.

Índice.

INTRODUCCIÓN.....	1
Antecedentes.....	3
Hipótesis.....	13
Objetivo general.....	13
Objetivos particulares.....	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
Descripción del área de estudio.....	15
Características generales.....	15
Climatología.....	14
Área de recolección.	18
Muestreo de material de árboles afectados por el cancro.....	18
Determinación de la sintomatología de la enfermedad.....	19
Caracterización de los signos de la enfermedad.....	20
Aislamiento y cultivo de potenciales agentes causales.....	20
Cultivo en cámara húmeda.....	20
Aislamiento y cultivo del agente causal obtenido directamente de muestras vegetales.....	21
Aislamiento y cultivo del agente causal a partir de material fúngico desarrollado en cámara húmeda.....	25
Método de Riddel o microcultivo en portaobjetos.....	25
Caracterización micro-morfológica de los agentes causales aislados.....	26
Determinación del agente causal.....	27

Estudio molecular del material aislado.....	28
Método 1.....	28
Extracción de ADN.....	28
A partir de cultivos.....	28
A partir de tejidos dañados con esporas.....	28
Purificación de ADN.....	28
Electroforesis en Gel Agarosa.....	30
Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	32
Método 2.....	34
Extracción de ADN.....	34
A partir de cultivos.....	35
Purificación de ADN.....	35
Electroforesis en Gel Agarosa.....	35
Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	36
Análisis de secuencias.....	37
RESULTADOS.....	38
La determinación de las áreas con vegetación arbórea afectada por el cancro en la zona urbana y periurbana de Mexicali B.C., México.....	38
Determinación de los constituyentes de la vegetación arbórea afectada por el cancro de la zona urbana y periurbana de Mexicali B. C.....	41
Constituyentes arbóreos afectados por el cancro.....	42
Caracterización de las especies de la vegetación arbórea estudiada.....	43

Caracterización de los signos y síntomas producidos por el cancro en la vegetación arbórea afectada de la zona urbana y periurbana de Mexicali B. C.....	47
Signos producidos por el cancro.....	47
Síntomas producidos por el cancro.....	50
Caracterización del agente o los agentes causales del daño generado en la vegetación arbórea urbana y periurbana de Mexicali B. C.....	50
Descripción macroscópica de las colonias fúngicas.....	50
Descripción microscópica de las colonias.....	54
Descripción microscópica de muestras directas.....	54
Determinación del agente o los agentes causales del daño generado en la vegetación arbórea urbana y periurbana de Mexicali B. C.....	55
Determinación de los agentes causales en cámara húmeda.....	55
Identificación por características macro y micromorfológicas.....	56
Resultados moleculares.....	56
DISCUSIONES.....	59
CONCLUSIONES.....	64
RECOMENDACIONES.....	65
GLOSARIO.....	67
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
ANEXOS.....	74

Índice de figuras.

Figura		Página
1	Localización del área de estudio, municipio de Mexicali, B. C. Obtenido de <i>Google Earth</i>	17
2	Cultivo en cámara húmeda.....	21
3	Elaboración de medios de cultivo e inoculación.....	23
4	Ejemplo de la primera metodología empleada para el proceso de aislamiento.....	25
5	Ejemplo de la segunda metodología empleada para el proceso de aislamiento.....	25
6	Método de Riddel o microcultivo en portaobjetos.....	26
7	Proceso de Extracción de ADN.....	30
8	Preparación de placa de agarosa.....	31
9	Proceso de Electroforesis.....	32
10	Reacción en Cadena de la Polimerasa.....	33
11	Localización de las zonas de recolección de muestras en el municipio de Mexicali, B. C. Obtenido de <i>Google Earth</i>	38
12	Mapa modificado de la ruta de La Compañía del Ferrocarril Inter-California en el área del Valle de Mexicali, B. C.....	41
13	Organismos afectados por el hongo negro según su familia.....	43
14	Descascaramiento generado por el cancro en <i>Ficus microcarpa</i> (A), <i>Ficus carica</i> (B) y <i>Ficus benjamina</i> (C).....	48
15	Descascaramiento generado por el cancro en <i>Morus</i> spp. (A) y en <i>Citrus</i> spp. (B).....	48
16	Presencia de colonias blancas por encima de la masa negra de conidiosporas en ramas de <i>Ficus microcarpa</i> (A-B).....	49
17	Corte transversal de ramas afectadas por el cancro, observándose la necrosis generada por el hongo en el árbol.....	49
18	Aspecto del anverso de algunas de las colonias.....	50
19	Aspecto de algunas colonias en cultivos en ADS.....	51

20	Presencia de esporodoquios crecidos en algunas colonias.....	52
21	Gráfica de crecimiento del hongo en medio de cultivo de PDA.....	53
22	Gráfica de crecimiento del hongo en medio de cultivo de EMA.....	53
23	Morfología de las conidiosporas del agente causal.....	54
24	Conidiosporas del agente causal.....	55
25	Micelio del agente causal.....	55
26	Diversidad de hongos encontrados en cámara húmeda.....	56
27	Alineamiento y comparación de las secuencias de <i>N. dimidiatum</i> y <i>Fusarium solani</i> en GeneDoc 2.7.000.....	57
28	Árbol filogenético generado en el programa FigTree 1.3.1.....	58

Índice de tablas.

Tabla		Pagina
I	Sinonimia de <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> reconocida en Mycobank (Crous et al., 2005).....	12
II	Ejemplo de dilución del ADN para PCR.....	34
III	Información referente a las muestras recolectadas en Mexicali B. C..	39
IV	Información referente a las muestras recolectadas en Loreto y La Paz B. C. S.....	40
V	Requerimientos ambientales de <i>Citrus aurantifolia</i> (Christm) Swingle.....	43
VI	Requerimientos ambientales de <i>Citrus aurantium</i> L.....	44
VII	Requerimientos ambientales de <i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck.....	44
VIII	Requerimientos ambientales de <i>Ficus benjamina</i> L.....	45
IX	Requerimientos ambientales de <i>Ficus carica</i> L.....	45
X	Requerimientos ambientales de <i>Ficus microcarpa</i> L. f.....	46
XI	Requerimientos ambientales de <i>Morus alba</i> L.....	46
XII	Requerimientos ambientales de <i>Morus nigra</i> L.....	46
XIII	Tabla de crecimiento del hongo en medio de cultivo PDA y EMA (mm).....	52
XIV	Comparación de la morfología de las colonias y estructuras fúngicas del hongo negro; <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> y <i>Fusarium solani</i>	62
XV	Comparación de los caracteres morfológicos de <i>Neoscytalidium dimidiatum</i> , <i>Scytalidium dimidiatum</i> y <i>Hendersonula toruloidea</i>	63

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades generadas por hongos en la vegetación arbórea de Mexicali B. C., es una problemática seria debido a que ha producido una reducción en la cobertura vegetal en el municipio. Entre las principales enfermedades se encuentra la conocida como hongo negro, cenicilla o cáncer carbonoso, generada por hongos fitopatógenos que es necesario determinar con precisión para poder erradicarlos satisfactoriamente. Esta enfermedad se ha acentuado principalmente debido a la susceptibilidad que presenta la vegetación arbórea a cambios de temperatura, la contaminación atmosférica, la falta de agua y nutrientes, así como por la poda excesiva y cuidados inadecuados. Este patógeno afecta principalmente a los árboles exóticos, ingresando en estos, a través de las grietas o quemaduras ocasionadas por el calor o por enfriamientos que se presentan en la corteza o en las heridas generadas por podado excesivo. Infección que provoca en el hospedero daños en la capa externa de la corteza, adelgazándola y segmentándola. Lo cual, posteriormente expone una masa negra de esporas fúngicas.

En la actualidad, en el municipio de Mexicali, B. C., no se cuenta con información referente o estudios respecto al hongo que ocasiona la mortalidad de la vegetación arbórea urbana. La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) Delegación Baja California, la Secretaria de Protección al Ambiente (SPA) y la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) no cuentan con investigaciones de esta problemática regional. Sin embargo, el Comité Estatal de

Sanidad Vegetal de Baja California (CESVBC) reporta que el agente causal de la enfermedad es *Hendersonula toruloidea* Nattrass y cuenta con un diagnóstico de cómo contraatacar al cáncer carbonoso, no obstante esta propuesta resulta costosa, ya que el tratamiento que proponen con fungicidas no pueden ser aplicados ya que son solo para uso agrícola. La Dirección de Servicios Públicos Municipales del Ayuntamiento de Mexicali generó un folleto denominado “Guía para Prevenir: Cuidemos de nuestros árboles, el hongo negro puede acabar con ellos”, en ella, se mencionan algunas características del hongo negro, señalando como agente causal a *H. toruloidea*, proporcionando también medidas preventivas del daño que causa el hongo y brinda consejos para eliminar a este patógeno.

A pesar de esto, la información es mínima y no es suficiente para realizar acciones adecuadas para mitigar los efectos de la afección que perturba el arbolado del municipio. Lo anteriormente expuesto pone de manifiesto la importancia de conocer los agentes causales del cancro que afecta la vegetación arbórea urbana de Mexicali B. C., su caracterización, mecanismos de afectación y distribución, para estar en posibilidades de establecer un plan de manejo e implementar medidas adecuadas para disminuir la enfermedad que afecta al ambiente y la salud humana. Por ello el presente trabajo aborda esta problemática centrándose en los aspectos más relevantes de esta problemática de la vegetación arbórea de Mexicali B. C., que pudieran ser útiles para la toma de decisiones que contribuyan a disminuir su actual impacto en la zona urbana citada anteriormente.

ANTECEDENTES

Respecto al hongo negro que ocasiona la mortalidad de un importante porcentaje de la vegetación arbórea urbana en el municipio de Mexicali, B. C., no existe información científica referente. La Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) Delegación Baja California, la Secretaría de Protección al Ambiente de Baja California (SPABC) y la Comisión Nacional Forestal (CONAFOR) hasta el presente año, no cuentan con investigaciones de esta problemática regional, ya que esta afecta a la vegetación ornamental y exótica, y no a aquellas especies que son de importancia comercial. No obstante a lo anterior, la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) inicialmente estaba encargada de analizar la problemática que el hongo negro generaba en la vegetación (Testimonio de personal SEMARNAT, delegación Baja California), para lo cual, realizaban algunos tratamientos y recomendaciones, las cuales fueron podar las ramas infectadas, riego periódico, colocar sombra a los arboles pequeños y lavar las herramientas con detergentes. Asimismo realizaron monitoreo de álamos (*Populus fremontii* S. Watson), de los cuales en la década de los 80's hubo un auge en su plantación, pero que años más tarde fueron derribados debido a que se estableció que esta especie arbórea era la hospedera del hongo negro, lo que fue un postulado erróneo, ya que estos eran hospederos de la mosquita blanca (*Bemisia argentifolii* Bellows & Perring). Posteriormente la problemática pasó a ser responsabilidad de la Dirección de Servicios Públicos de Mexicali B. C., sin embargo, el Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Baja California (CESVBC) reporta que el agente causal de la enfermedad es *H. toruloidea*, realizó una propuesta de cómo contraatacar al cáncer

carbonoso, no obstante esta resultaba costosa, ya que el tratamiento con fungicidas como metalaxil (Ridomil Gold MZ 68 PH 20), benomyl (Promyl 50 PH 10) captafol (Quifolatan 4F) y fosetil-aluminio (Aliette), no pueden ser aplicados ya que son exclusivos para uso agrícola.

En el año 2008, en el Acta de la sesión Ordinaria de Cabildo No. 21, el Regidor Jesús H. Beltrán López, propuso a la Dirección de Servicios Públicos Municipales, programar acciones de tipo preventivo y correctivo para las áreas verdes en la ciudad de Mexicali y emprender una campaña de difusión dirigida a los ciudadanos sobre las distintas medidas preventivas y correctivas del hongo negro. Como resultado de esto, la Dirección de Servicios Públicos Municipales del Ayuntamiento de Mexicali generó un folleto denominado "*Guía para Prevenir: Cuidemos de nuestros árboles, el hongo negro puede acabar con ellos*", en ella, se mencionan algunas características del hongo negro, señalando que el agente causal es *H. toruloidea*, además proporcionan medidas preventivas del daño que causa el hongo y brinda consejos para combatir al patógeno. Sin embargo, es la única acción realizada sobre la propuesta antes mencionada, sin efectuarse otras acciones para contrarrestar o prevenir la enfermedad hasta el momento, además esta información no valida que *H. toruloidea* sea el agente causal de la enfermedad debido a que no se cuenta con un reporte técnico oficial o referencia científica.

En relación al reporte de *H. toruloidea* en otras regiones del mundo, Holliday (1980) reportó a esta especie como patógeno, indicando que genera heridas en cultivos tropicales y templados, siendo frecuente en arboles leñosos causando cancro y

la muerte gradual de las extremidades de la planta; pudiendo también causar la pudrición de los frutos en almacenamiento.

Reckhaus y Adamou (1987) indicaron que desde inicios de la década de los 80's, una enfermedad causó graves daños y la muerte en árboles de mango (*Mangifera indica* L.) en la República del Níger, citando a *H. toruloidea*, como el patógeno más frecuentemente aislado, en dicho trabajo también indican que realizaron pruebas de patogenicidad logrando desarrollar la enfermedad a los 4 días de la inoculación en los árboles de estudio, indicando que consideran que el estrés hídrico aumentan considerablemente el establecimiento del hongo.

Por otro lado, Olsen y Young en 1998; Olsen en 1999 y 2003; y Olsen et al., 2000, realizaron un estudio en Arizona, E. U. A., donde encontraron que una enfermedad conocida como cancrrosis de hollín o marchites de las ramas, era causada por el hongo *H. toruloidea*, el cual tiene un amplio rango de hospederos y puede ocasionar infecciones en vegetación no relacionada a los cítricos. Señalan, que el patógeno tiene la capacidad de invadir las heridas en la corteza de cítricos y moreras que han sido dañados por congelación, quemaduras de sol o daños mecánicos, enfatizando que este patógeno no infecta el tejido ileso de la corteza. Los autores citados anteriormente, indican que la característica más común que presenta sobre las plantas que parasita, son los restos en forma de hollín o de ceniza que se deben a la presencia de masas de esporas negras del hongo que aparece debajo de la corteza y en la superficie de las heridas generadas. Señalando que el hongo crece en la albura, mata las hojas de las ramas con cancros, las cuales se vuelven pardas y mueren.

Añadiendo que la mayoría de los canchros se desarrollan sobre troncos o ramas sin sombra donde la cara se encuentra hacia el sol, de lo que deducen que los troncos y ramas quemadas por el sol son muy susceptibles a la infección. Con respecto al ciclo de vida del patógeno, indican que este es muy sencillo y que el hongo produce conidias pequeñas que son producidas en masas de polvo negro por debajo de la corteza, las cuales son fáciles de diseminar por el viento y que estas esporas, se derivan de hifas segmentadas que llegan a los tejidos dañados de la corteza donde germinan e inician la infección generando que el micelio se expanda en el tejido vivo, el cual cuando se ubica en albura tiñe de gris a negro las infecciones.

Tsahouridou y Thanassouloupoulos (2000) reportaron que en la primavera de 1997 y 1998, en el área de Chalkidiki, norte de Grecia, en las hojas del madroño silvestre (*Arbutus unedo* L.) se presentaban unas pequeñas manchas necróticas de color marrón con el centro gris claro, el agente causal fue identificado como *H. toruloidea*, comprobando esto con pruebas de patogenicidad, también mencionan haberlo observado en *Musa* spp. y *Rhus* spp.

Oren et al., 2001, citaron que en julio de 1998, observaron un marchitamiento repentino del toronjo rosado (*Citrus paradisi* Macf.) en una zona con clima mediterráneo en Israel, caracterizado por la marchitez del follaje medio y superior del dosel, principalmente en las ramas de árboles de diez años de edad, en las que se revelaba una coloración oscura y un desprendimiento de la corteza derivada de la esporulación abundante de conidios. El hongo fue identificado como *Scytalidium lignicola* Pesante, haciendo referencia a su incidencia en otras especies de cítricos.

Asimismo, mencionan que la enfermedad se desarrolla por la poda completa de los arboles seguida por condiciones climáticas extremadamente calientes.

El cancro de hollín causado por *H. toruloidea*, es indicado como la causa más común de la muerte de varias especies de árboles, principalmente en fresnos (*Faxinus* spp.) y moreras (*Morus* spp.); en el Valle Imperial, California, derivada por el clima de la región. Indicándose que esta enfermedad además de dañar a moreras y fresnos también afecta todas las especies de cítricos (*Citrus* spp.), olmos (*Ulmus* spp.), higueras y otras especies de *Ficus* (incluyendo al laurel de las indias [yucateco]), el álamo (*Populus* spp.) entre otras especies. Enfermedad en la que el primer síntoma que manifiesta el árbol se aprecia a mediados del verano, cuando el hongo daña las pequeñas ramas y hojas, las cuales se tiñen de color marrón por las esporas impregnadas en la corteza. A medida que la enfermedad progresa, la capa externa de la corteza expone masas de esporas negras en forma de hollín. Las esporas se diseminan por el viento, insectos, pájaros y herramientas de poda (Turini, 2001).

Timmer et al., 2002, encontraron en cultivos de cítricos en California, que *H. toruloidea* infecta las ramas dañadas por el frío. Indicando que esta enfermedad es conocida como marchitez producida por *Hendersonula*.

Padin et al. (2005) realizaron una investigación para confirmar la presencia de *Scytalidium dimidiatum* (Penz.) B. Sutton & Dyko en árboles de *M. indica* (mango), en una plantación atendida por un paciente diabético con micetoma podal de granos blancos ocasionada por ese hongo el cual fue aislado en laboratorio. Los

investigadores tomaron muestras de ápices y raíces necróticas, hojas quemadas y tallo en pudrición de ocho árboles. Aislado a partir de fragmentos de los ápices, varias colonias que se pudieron comparar con la cepa patógena para el hombre. Por lo que proponen que dicho hongo puede considerarse un parásito oportunista tanto para el hombre como para *M. indica*.

Ray et al. (2010) mencionan que en 2008 el Servicio Australiano de Cuarentena e Inspección (AQIS) y el Departamento de Agricultura y Alimentación Australia Occidental (DAFWA) detectaron que árboles de mango (*M. indica*) y de higuera (*Ficus carica* L.) presentaban síntomas de marchitez, podredumbre de las raíces y decaimiento del árbol, causados por *N. dimidiatum* y *N. novaehollandiae* Pavlic, T.I. Burgess & M.J. Wingf., los cuales habían sido afectados por las condiciones extremas del clima, factor que indicaron contribuye significativamente a la susceptibilidad de los arboles a contraer la enfermedad. Asimismo, reportaron por primera vez a *N. dimidiatum* de Australia.

Polizzi et al. (2011) reportaron que en el este de Sicilia, Italia en 2 plantaciones de cítricos injertados (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck); un deterioro en los brotes y un cancro de hollín en retoños y tronco de los injertos. Realizando pruebas moleculares para identificar el hongo, determinaron a *Neoscytalidium dimidiatum* (Penz.) Crous & Slippers como el agente causal, asimismo desarrollaron los postulados de Koch, a través de los cuales determinaron la patogenicidad del hongo.

Mayorquin et al. (2012) realizaron un estudio referente a una enfermedad conocida como cancro de hollín, causada por el hongo *N. mangiferae*, el cual afecta a *Ficus microcarpa* L. f., esta enfermedad se caracteriza por la muerte de las ramas, reduce la cobertura de la corona del árbol y progresa hasta el tronco provocándole la muerte. La investigación fue realizada en la primavera de 2011 en el estado de California, en cuatro ciudades del Condado de Los Ángeles incluyendo a esta ciudad, Culver City, Lakewood, Santa Mónica y Whittier, recolectaron cinco muestras por ciudad, principalmente de ramas con la presencia del cancro; aislaron el agente causa en papa dextrosa agar (PDA) y este fue identificado por características morfológicas, tales como patrón y velocidad de crecimiento y coloración de las colonias, las cuales se asemejan a los *Botryosphaeriaceae*. Dos aislados de cada sitio fueron secuenciados, dando como resultado a *Botryosphaeria dothidea*, *Neofusicoccum luteum*, *N. mediterraneum* y *N. parvum*. Llevaron a cabo pruebas de patogenicidad en invernadero empleando arboles de *F. microcarpa* de 6 meses de edad, siendo inoculadas con las cepas, después de 6 semanas, observaron que las lesiones variaron según la especie, cumpliendo así los postulados de Koch, concluyendo que el desarrollo de los hongos se debe a heridas provocadas por la poda o lesiones mecánicas.

Respecto al nombre científico del agente causal de la enfermedad conocida como hongo negro existe una fuerte controversia. Penzig (1882) describió al hongo como *Torula dimidiata* Penz., como parásito en un cultivo de cítricos, específicamente en *Citris limonum* (= *Citrus limon* (L.) Burm) en la región Mediterránea de Italia hace más de 130 años. Posteriormente, *H. toruloidea* fue descrito por R. M. Nattrass en 1933 al encontrarlo en huertos de Egipto como parásito de árboles frutales.

En el año de 1989, Sutton y Dyko realizaron un análisis del género *Hendersonula*, considerándolo sinanamorfo de *Nattrassia mangiferae* (Syd. & P. Syd.) B. Sutton & Dyko, mencionando que se diferencian bastante por la morfología de los conidios. Con base en esto, propusieron el cambio de nombre de *H. toruloidea* al de *Scytalidium dimidiatum* (Penz.) B. Sutton & Dyko. Por su parte, Sydow et al., 1916, describieron a *Dothiorella mangiferae* Syd. & P. Syd., originalmente en mango. Posteriormente, Natrass (1933) describe un hongo similar en árboles frutales de hueso y pepita, destacando un estado conidial pigmentado, que le llevó a citar a *H. toruloidea*.

Sutton y Dyko (1989) revisaron el género *Hendersonula* Speg. y el sinanamorfo *D. mangiferae* y *H. toruloidea* renombrando a ambos como *N. mangiferae*. Citando además, el sinanamorfo micelial como *S. dimidiatum* (Op. Cit. y Johnson, 1992; citado en Crous et al., 2006) re-examinaron a *D. mangiferae*, no observando a *Scytalidium* como anamorfo del tipo muestra, de acuerdo con Sydow et al. (1916).

Posteriormente, Farr et al. (2005) señalaron que el nombre más antiguo del hongo es *T. dimidiata*, y por lo tanto, introdujeron la combinación de *Fusicoccum dimidiatum* (Penz.) D. F. Farr, considerándolo sinónimo de *Hendersonula toruloidea* Natrass, a partir de aislamientos de *Nattrassia mangiferae* y el sinanamorfo *Scytalidium dimidiatum* y aplicándoles pruebas moleculares, determinaron que el nombre correcto de todos los sinónimos que presenta *N. maniferae* y *S. dimidiatum* (*Dothiorella mangiferae*, *Torula dimidata*, *S. dimidiatum*, *Fusicoccum eucalypti*, *H.*

toruloidea, *H. cypria*, *Exosporina fawcettii*, *H. agathidia*, and *S. lignicola*) es *Fusicoccum dimidiatum* (Penz.) D.F. Farr.

En ese mismo año, Slippers et al. (2005) estudiaron aislamientos de mango en Australia identificados como *D. mangiferae* (= *N. mangiferae*) y encontraron que pertenecían a *Fusicoccum*, por lo cual introdujeron el nombre de *F. mangiferae* (ahora *Neofusicoccum*) considerando la sinonimia de *H. toruloidea* (que tiene como sinanamorfo a *Scytalidium*) con *F. mangiferae* (que no parecen tener como sinanamorfo a *Scytalidium*). Por lo que los autores, proponen un nuevo género para dar cabida a este hongo.

Para el siguiente año, Crous et al. (2006), realizaron un análisis riguroso de la filogenia de la familia *Botryosphaeriaceae*, citando algunos caracteres particulares de los sinónimos del hongo. Indicando, que este hongo, con micelio aéreo desarticulado en polvo, es un género por derecho propio dentro de la familia *Botryosphaeriaceae*. Por otra parte, la cepa *ex tipo* de *Scytalidium*, caracterizada por *S. lignicola* Pesante (CBS 233.57), coloca las agrupaciones fuera de la familia *Botryosphaeriaceae*. Sin embargo, los datos obtenidos de la secuenciación de ADN de las especies de *Scytalidium* presentes en la colección de CBS los llevan a concluir que este género es también polifilético (resultados no especificados en la publicación) por lo que el género *Scytalidium* no está disponible para este hongo. Por otro lado, los autores mencionan que *Fusicoccum mangiferae* (\equiv *D. mangiferae*, \equiv *N. mangiferae*) es un taxón diferente que no debe confundirse con *F. dimidiatum*.

Respecto a esto, en el año de 2011, en el Código Internacional de Nomenclatura Botánica, en su sección hongos, se estableció el uso de un solo nombre para hongos en los casos que tuvieran un nombre basado en la fase asexual (anamorfica) y otro nombre para la fase sexual (telomorfica). Ya que por muchos años, se consideraron validos ambos epítetos; hoy en día, con la evidencia molecular se ha podido identificar su correspondencia, aprobándose en dicho código, una serie de reglas a fin de que los hongos tengan un único nombre aceptado para ambas fases (Rico-A, 2011). Concluyéndose de todos estos antecedentes, que el nombre correcto para el agente causal de cancrrosis de hollín es el de *Neoscytalidium dimidiatum* (Penz.) Crous & Slippers.

Neoscytalidium dimidiatum (Penz.) Crous & Slippers. Mycobank [MB#500869].

Basónimo	<i>Torula dimidiata</i> Penz., <i>Michelia</i> 2: 466. 1882
Sinónimos homotípicos u obligados:	<i>Scytalidium dimidiatum</i> (Penz.) B. Sutton & Dyko, <i>Mycol. Res.</i> 93: 484. 1989.
	<i>Fusicoccum dimidiatum</i> (Penz.) D.F. Farr, <i>Mycologia</i> 97: 740. 2005.
Sinónimos heterotípicos o facultativos:	<i>Hendersonula toruloidea</i> Nattrass, <i>Trans. Brit. Mycol. Soc.</i> 18:197. 1933

Tabla I. Sinonimia de *Neoscytalidium dimidiatum* reconocida en Mycobank (Crous et al., 2005).

Hipótesis.

Los signos de la afectación conocida como cancro en la vegetación arbórea en el área biogeográfica del Desierto de Sonora han sido atribuidos primariamente a *Hendersonula toruloidea*, por lo que se considera que este mismo agente causal provoca el cancro que afecta a la diversidad arbórea afectada de la zona urbana y periurbana de Mexicali B.C., México.

Objetivo general.

Determinar los organismos asociados al cancro de la vegetación arbórea en la zona urbana y periurbana de Mexicali B.C., México.

Objetivos particulares.

- Determinar las áreas con vegetación arbórea afectada por el cancro en la zona urbana y periurbana de Mexicali B.C., México.
- Determinar las especies de la vegetación arbórea afectada por el cancro de la zona urbana y periurbana de Mexicali B. C.
- Caracterizar los signos y sintomatología producidos por el cancro la vegetación arbórea afectada de la zona urbana y periurbana de Mexicali B. C.
- Caracterizar el agente o los agentes causales del daño generado en la vegetación arbórea urbana y periurbana de Mexicali B. C.

MATERIALES Y MÉTODOS.

El presente trabajo se realizó principalmente en el Laboratorio de Micología Aplicada, Facultad de Ciencias, de la Universidad Autónoma de Baja California, *campus* Ensenada.

Descripción del área de estudio.

Características generales.

El municipio de Mexicali se localiza en la porción noroeste del estado de Baja California, entre las coordenadas 30° 51' y 32° 44' de latitud norte y las coordenadas 114° 43' y 115° 41' de longitud oeste; colindando al norte con el estado de California (E.U.A.), al noreste con los estados de Arizona (E.U.A.) y Sonora; al este con el Golfo de California; al sur con el municipio de Ensenada y al oeste con los municipios de Tecate y Ensenada, Baja California (Ley-García et al., 2011).

El municipio de Mexicali representa aproximadamente 20% de la superficie del estado de Baja California con una superficie aproximada de 13,000 km², en donde se distribuyen, de acuerdo con el Censo de Población y Vivienda de INEGI (2010), 1650 localidades -en su mayoría (98.8%) rurales- tres de ellas son localidades urbanas: La ciudad de Mexicali, capital del estado de Baja California, colindando con el estado de California; el poblado Guadalupe Victoria en el valle de Mexicali y San Felipe en la parte sureste del territorio como puerto de cabotaje (Ley-García et al., 2011).

Climatología.

En el municipio de Mexicali predominan los climas de tipo muy secos, son climas extremosos, con temperaturas máximas, principalmente durante los meses de julio y agosto donde la evaporación excede en gran medida a la precipitación. Este tipo de clima se subdivide en dos subtipos el semicálido y el templado. A continuación se detallan los principales subtipos que caracterizan al municipio (Ley-García et al., 2011).

Muy seco muy cálido y cálido (lluvia de verano): Las lluvias en estos climas son en verano, aunque también se presentan en invierno mínimamente. La precipitación total anual se encuentra alrededor de 40 a 60 mm. Septiembre es el mes en el que se registra mayor precipitación, mientras que los meses más secos son mayo y junio. Las temperaturas medias más altas se presentan en julio y agosto apenas menores a 32 °C y la mínima mensual se presenta en enero y oscila entre 11 y 14 °C (Conagua, 2008; citado en Ley-García et al., 2011).

Muy seco semicálido (lluvias de invierno): Este tipo de clima se distribuye a lo largo de la parte este del municipio de Mexicali. Es el más cálido de los climas muy secos, con lluvia invernal en la entidad. El mes de mayor precipitación es diciembre con un promedio mensual de 25 a 30 mm, siendo los meses más secos mayo, junio y julio, con promedio de precipitaciones en orden de décimas de milímetro. En cuanto a las temperaturas, registra una temperatura media anual entre los 18 y 22 °C, las medias mensuales más elevadas se presentan en los meses de julio y agosto,

superiores a los 25 °C, mientras que el mes más frío es enero, con una media mensual apenas mayor a los 13 °C (Conagua, 2008; citado en Ley-García et al., 2011).

Muy Seco Templado (lluvia en invierno): Estos climas se distribuyen en la porción oriental de la sierra de Juárez y noreste de la sierra de San Pedro Mártir, donde las elevaciones sobre el nivel del mar oscilan entre 600 y 1300 m, en las porciones de mayor elevación de las sierras que bordean al Golfo de California. La temperatura en las porciones montañosas y las mesetas son más extremas, en los meses de julio y agosto se tienen la máxima media mensual de 25 a 26 °C y la mínima de 6 a 7 °C en enero. La precipitación más alta se da en los meses de diciembre y enero, con medias de 15 a 20 mm en zonas de mayor elevación. Las mínimas se registran en los meses de mayo, junio y julio con medias menores a 1 mm (Conagua, 2008; citado en Ley-García et al., 2011).

García-Cueto et al. (2009) mencionan que Mexicali B. C., presenta condiciones térmicas extremas, ya que ha presentado temperaturas máximas que superan los 50°C en el verano, y se han presentado temperaturas inferiores a 0 °C en el invierno, con un promedio de precipitación anual de 75 mm.

- **Área de recolección.**

Se recolectó material biológico en la zona urbana y rural de Mexicali, B. C., principalmente de aquellas especies que presentaban los signos característicos de la enfermedad, principalmente de ramas y de la corteza del tronco. Las muestras fueron tomadas de forma aleatoria, en los meses de enero, marzo, abril, septiembre y octubre de 2010; enero y octubre de 2011; diciembre de 2012 y enero de 2013. Las localidades visitadas fueron: el Ejido Paredones (32° 36' 0" N y 114° 55' 59" O) y el Ejido Nuevo León (32° 24' 34" N y 115° 11' 20" O) pertenecientes al Valle de Mexicali y varios puntos de la ciudad de Mexicali (32° 39' 48" N y 115° 28' 04" O).

Los sitios de recolecta en la zona rural se establecieron en las antiguas rutas del Ferrocarril Inter-California.

Asimismo se obtuvieron algunas muestras de la Ciudad de La Paz (24° 08' 32" N y 110° 18' 39" O) y Loreto (26° 00' 46" N y 111° 20' 36" O) B. C. S., en el mes de agosto de 2012, dado que dicha zona presenta una problemática muy similar a la de Mexicali, en donde la vegetación muestreada estuvo constituida por las mismas potenciales especies hospederas.

- **Muestreo de material de árboles afectados por el cancro.**

En los sitios de recolección, se identificaron las especies arbóreas muestreadas y se obtuvieron muestras representativas de aquellas especies arbóreas que presentaban mayor incidencia y susceptibilidad al hongo negro, tales como *Ficus carica* (higuera), *F. microcarpa* (yucateco), *Morus* spp. (Morera) y de algunos *Citrus* spp. (Cítricos).

Se tomaron trozos de corteza y en algunos casos ramas delgadas, las cuales fueron colocadas en bolsas de papel y etiquetadas, con las características siguientes:

- Clave de muestra.
- Lugar y fecha de colecta.
- Especie hospedera.
- Coordinadas geográficas.
- Colector.

Durante los muestreos realizados se empleó el siguiente material:

- Espátula y/o navaja.
- Bolsas de papel.
- Libreta.
- Pluma o lápiz.
- Plumón permanente.
- *Lysol*.
- Cámara fotográfica.
- GPS.

Es importante señalar que antes y después de recolectar alguna muestra se limpiaban o esterilizaban las manos con *Lysol* aerosol desinfectante antibacterial para evitar la contaminación de las muestras y potencial infección con el agente causal muestreado.

- **Determinación de la sintomatología de la enfermedad.**

- **Caracterización de los signos de la enfermedad.**

In situ, los arboles a muestrear fueron estudiados para determinar los signos que presentaban de la enfermedad, considerando en particular la presencia y disposición de manchas negruzcas, heridas en la corteza, marchitez y estado general de la planta.

En el laboratorio, el material vegetal recolectado fue estudiado para determinar los signos que presentaban, mediante la observación directa y bajo el estereomicroscopio considerando en particular los siguientes elementos: aspecto de la corteza, presencia de manchas negruzcas, desprendimiento de la corteza y grado de penetración de la herida.

Aislamiento y cultivo de potenciales agentes causales.

- **Cultivo en cámara húmeda.**

Para el aislamiento de potenciales agentes causantes de la enfermedad directamente de los materiales vegetales recolectados, se realizó un cultivo en medio húmedo, después de secar el material se cortaron trozos cuadrados de papel secante, se colocaron los pedazos del papel en el fondo del recipiente y se agregó agua destilada hasta llegar a la saturación del papel, después se acomodó un fragmento de corteza de árbol que presentaba la sintomatología del cancro de aproximadamente 5

cm de longitud. Estos se dejaron incubar a temperatura ambiente hasta el desarrollo de las colonias de los agentes causales.

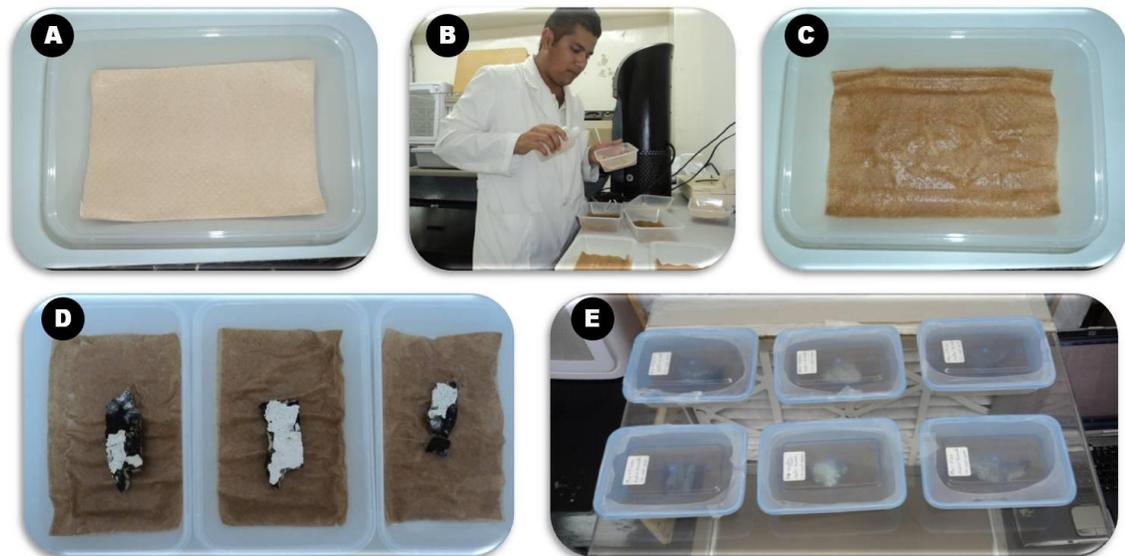


Figura 2. Cultivo en cámara húmeda. **A.** Colocación de papel secante en recipiente. **B–C.** Humidificación de papel secante. **D.** Colocación de los trozos de fragmentos de corteza. **E.** Posición final de los cultivos.

Posteriormente se dio seguimiento al desarrollo de las colonias sobre el material afectado, se aislaron las colonias desarrolladas y se observaron al microscopio compuesto para su caracterización micro-morfológica.

Aislamiento y cultivo del agente causal obtenido directamente de muestras vegetales.

Para el aislamiento y multiplicación del agente causal, se realizaron cultivos de este en 3 medios nutritivos gelificados: Extracto de Malta Agar (EMA), Papa Dextrosa Agar (PDA) y Sabouraud Dextrosa Agar (SDA).

Preparación de Papa Dextrosa Agar.

Gramos por litro de agua destilada:		
Infusión de papa		4.0
Dextrosa		20.0
Agar		15.0
pH 4.6 ± 0.2		

Preparación de Extracto de Malta Agar.

Gramos por litro de agua destilada:		
Agar		15.0
Dextrosa		2.75
Glicerol		2.35
Maltosa		12.75
Peptona		0.78
pH 4.6 ± 0.2		

Preparación de Sabouraud Dextrosa Agar.

Gramos por litro de agua destilada:		
Agar		15.0
Dextrosa		40.0
Peptona especial		10.0
pH 5.6 ± 0.2		

Todos los medios fueron vertidos en matraces Erlenmeyer y esterilizados en autoclave a una temperatura de 120 °C, 18 lbs de presión por un periodo de 15 minutos. En estas mismas condiciones se esterilizaron las cajas de petri de vidrio envueltas en papel traza. Posterior a la esterilización el medio se dejó enfriar por un tiempo de 15 a 30 minutos aproximadamente para vaciarlos en las cajas de petri estériles, se dejaron gelificar; ya gelificados los medios en las cajas de petri, se sellaron las cajas con papel *parafilm* para evitar la entrada de contaminantes y se etiqueto cada caja. Después se realizó la prueba de esterilidad, la cual consistió en colocar las cajas de petri en una incubadora a 25 °C por un periodo de 24 horas, esto con el objetivo de corroborar que los medios de cultivo no presentaran agentes contaminantes.

Los cultivos se realizaron principalmente en cajas de petri de vidrios de 20 x 100 mm, en cajas desechables de 15 x 90 mm y en cajas desechables chicas de 15 x 60 mm.

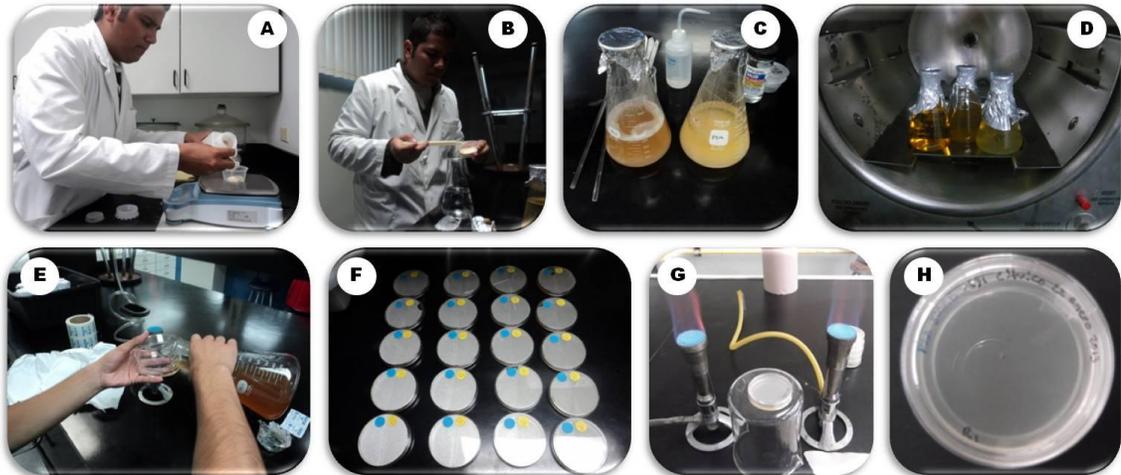


Figura 3. Elaboración de medios de cultivo e inoculación. **A.** Peso del medio de cultivo. **B–C.** Preparación del medio en matraz Erlenmeyer. **D.** Disposición de los matraces Erlenmeyer en autoclave. **E.** Vaciado del medio en cajas petri. **F.** Proceso de gelificación del medio. **G.** Esterilización del área de trabajo. **H.** Caja petri inoculada.

Es importante señalar que también se emplearon cajas de petri desechables, las cuales no requieren un proceso de esterilización en autoclave como las de vidrio; para el caso de las cajas de petri reutilizadas se esterilizaron con el siguiente método: estas son colocadas en un microondas por un periodo aproximado de 2 minutos, el agar residual es depositado en una bolsa de residuos biológico-infecciosos y las cajas se dejan reposar en agua con cloro para desinfectarlas por un tiempo de 24 horas, posteriormente son lavadas con detergente comercial, después de poner a escurrir, enseguida, las cajas son colocadas a un tratamiento de esterilización con peróxido de hidrogeno (H_2O_2) al 5% por 30 minutos y luego se ponen a secar en una campana de flujo laminar.

Asimismo, se realizaron cultivos en tubos de ensayo con tapa rosca, para lo cual el medio de cultivo fue preparado como se mencionó anteriormente pero antes de ser introducido a la autoclave, fue sometido a un calentamiento breve en un microondas por un periodo de 2 minutos con el objeto de generar una mezcla homogénea del medio de cultivo a través del calor y con una jeringa se agregaron 6 ml del medio a cada tubo; posteriormente se sometieron a esterilización en la autoclave bajo las condiciones anteriormente mencionadas.

Para el aislamiento e inoculación de las muestras, el área de trabajo fue sanitizada con Ionizadores por un periodo de 30 minutos y la mesa fue limpiada con etanol y *Lysol* Aerosol Desinfectante antes y después de trabajar, con el objetivo de tener el área estéril; posteriormente, se colocaron dos Mecheros Fisher encendidos para mantener estéril el ambiente y evitar contaminantes en las muestras. La inoculación se llevó a cabo por dos técnicas, la primera, fue con el método de raspado de la zona de la corteza del material arbóreo recolectado que presentaba mayor incidencia de los signos del cancro, para lo cual con un bisturí se tomó una pequeña muestra de aquellas zonas en que había depósitos de esporas y con un toque ligero se insertó en el medio gelificado, se continuo así con cada muestra y replica realizada. El segundo método consistió en la inoculación utilizando una aguja de disección para tomar una muestra muy pequeña de esporas para inocularlas en el medio. Todas las cajas de petri fueron selladas con papel *parafilm* y etiquetadas adecuadamente, posteriormente se colocaron en una incubadora a 25 °C.

Aislamiento y cultivo del agente causal a partir de material fúngico desarrollado en cámara húmeda.

Para este propósito, se utilizaron dos medios de cultivo: Papa Dextrosa Agar (PDA) y Sabouraud Dextrosa Agar (SDA), siguiendo la misma metodología empleada del cultivo del material fúngico obtenido directamente del material vegetal recolectado.

Para lo cual, se tomaron muestras de las colonias desarrolladas del hongo en cultivos de cámara húmeda con una aguja de disección de punto fino, con la cual se pinchó suavemente la colonia y así sucesivamente hasta transferir 9 aislamientos el nuevo medio. Se observó el crecimiento, la coloración y el comportamiento que presento en su desarrollo.

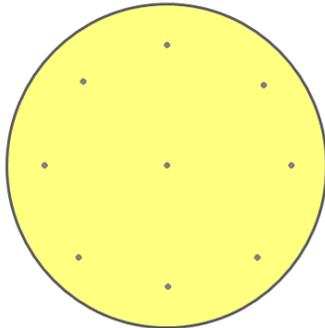


Figura 4. Ejemplo de la primera metodología empleada para el proceso de aislamiento.

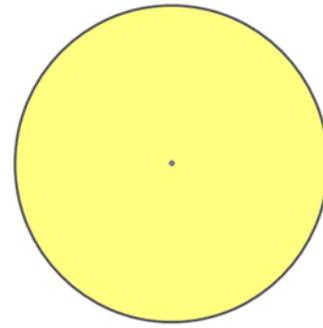


Figura 5. Ejemplo de la segunda metodología empleada para el proceso de aislamiento.

Posteriormente se cambió la técnica y en lugar de hacer nueve aislamientos se acoto a solo uno ya que resulto más eficiente y productivo hacerlo de esta manera.

Método de Riddel o microcultivo en portaobjetos.

Para la obtención de estructuras reproductivas del agente causal, se realizó un microcultivo, para ello, se preparó PDA, el cual, fue vaciado en cajas de Petri, con un espesor de aproximadamente de 3 mm, posteriormente, el PDA fue cortado en cuadros de 1 cm² con un bisturí estéril, estos fueron colocados en un portaobjetos que está sobre una varilla de vidrio doblada en forma de “V” en una caja de Petri previamente esterilizada. Bajo la varilla de vidrio de colocó una gasa, la cual, se saturó con agua destilada, después, el cuadro de PDA fue inoculado con una aguja de disección en cada uno de los lados del cuadro de agar.

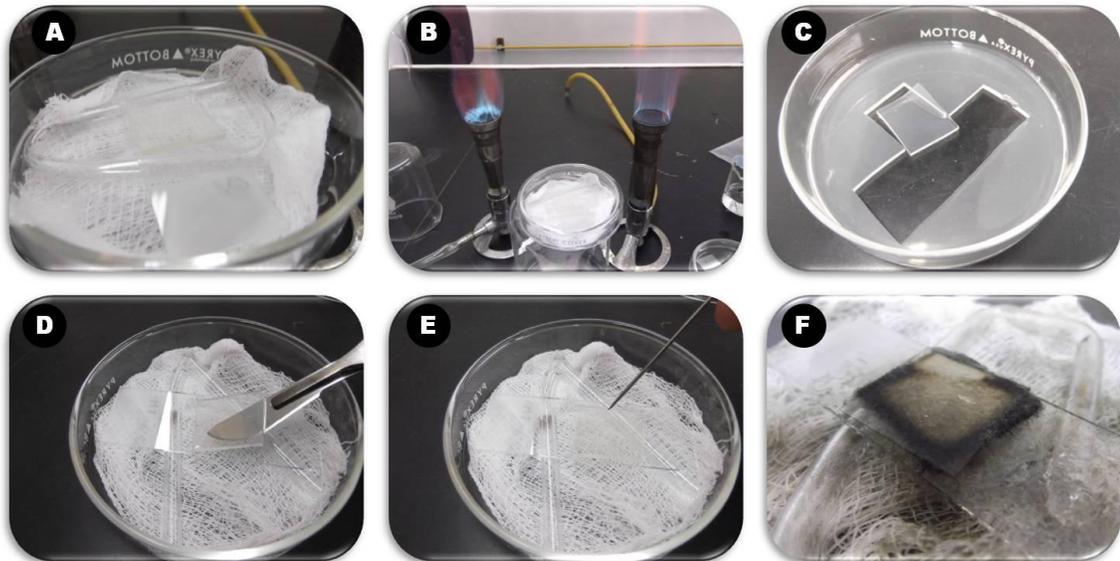


Figura 6. Método de Riddel o microcultivo en portaobjetos. **A.** Acomodo de material en caja de petri. **B.** Condiciones asépticas del área de trabajo. **C.** Corte del PDA. **D-E.** Colocación e inoculación del PDA. **F.** Obtención de estructuras reproductivas del agente causal.

Al concluir la inoculación se colocó sobre el cuadro de agar un cubreobjeto y se presionó ligeramente para que se adhiriera al medio. Se dejó incubar a 25 °C por un periodo de 7 días.

- **Caracterización micro-morfológica de los agentes causales aislados.**

Las cepas del hongo desarrolladas en los distintos medios de cultivo, fueron estudiadas, iniciando por la caracterización de las colonias, de las cuales se examinó: la morfología (bordes, elevación, textura), coloración, procedimiento que se llevó a cabo con la implementación de un estereoscopio para tener mayor visibilidad de la colonia. Para la caracterización micro-morfológica, se determinó: la morfología de la estructura reproductiva, esporas (observándose su morfología, coloración, ornamentaciones y tamaño) y características miceliales a través del uso del microscopio compuesto. Es importante señalar que las mediciones microscópicas fueron realizadas sobre imágenes digitales calibradas con el *software* Piximetre 5.5.

- **Determinación del agente causal**

Para la determinación del agente causal, se utilizaron distintas claves de identificación y referencias bibliográficas con especial atención a las descripciones citadas por Barnett & Hunter (1987), Crous et al. (2006), Phillips et al. (2013) y Campbell et al. (2013).

Algunas muestras fueron enviadas al Departamento de Producción Agrícola y Animal de la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM), *campus* Xochimilco, ubicada en el Distrito federal, en donde realizaron un cultivo en cámara húmeda para desarrollar estructuras reproductivas de los hongos. Las muestras fueron: M1 (*Citrus* spp.), M6 (*Ficus microcarpa*), M11 (*F. carica*) y M12 (*Morus alba*).

- **Estudio molecular del material aislado.**

- ♦ **Método 1.**

- **Extracción de ADN.**

Se realizaron numerosas pruebas, realizadas en: Laboratorio de Ecología y Epidemiología Molecular, Escuela de Ciencias de la Salud; Laboratorio de Ecología Molecular, Facultad de Ciencias Marinas y en el Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias, todos pertenecientes a la Universidad Autónoma de Baja California.

- **A partir de cultivos.**

La extracción de ADN se realizó a partir de la toma de dos inóculos con un asa microbiológica de cultivos realizados en medios de cultivo como PDA, SDA y MEA, el material obtenido fue colocado en un tubo *ependorf* correctamente etiquetados.

- **A partir de tejidos dañados con esporas.**

Para extraer el ADN, se realizó un raspado con un bisturí directamente de las zonas que presentaban la exposición de las esporas fúngicas, estas fueron dispuestas en tubos *ependorf* etiquetados adecuadamente.

- **Purificación de ADN.**

Para la extracción de ADN se utilizó el método CTAB (bromuro de cetil-trimetil amonio). Por cada muestra de cultivo en PDA se tomaron 2 inóculos. Posteriormente se depositaron en un tubo Eppendorf de 1.5 ml, se agregaron 800 μ l de búfer CTAB/PVP (50 mM EDTA, pH 8.0; 200 mM Tris-HCl, pH 8.0; 2.0 M NaCl, 2% (w/v); bromuro de cetil-trimetil amonio, 0.5% (w/v); PVP, Polivinilpirrolidona) y 15 μ l de proteinasa K 20 mg/ μ l, se agitó en Vortex por un periodo de 15 minutos. Las muestras se incubaron a 65 °C en agitación toda la noche. Después, fueron sometidas a un *shock* térmico, se metieron en un ultracongelador a una temperatura de -72 °C por 10 minutos, enseguida fueron colocados en baño María a 95 °C también por un periodo de 10 minutos, repitiendo 2 veces más estos últimos pasos. Posteriormente se agregaron 550 μ l de cloroformo alcohol: isoamílico [(24:1) $\text{CHCl}_3 + \text{C}_5\text{H}_{12}\text{O}$], en la cámara de extracción, se mezcló en Vortex durante 15 minutos y se centrifugó por 20 minutos a 6000 rpm. Se transfirió el sobrenadante a un tubo nuevo y se agregaron 2 veces más 550 μ l cloroformo alcohol: isoamílico (24:1), repitiendo los pasos de la agitación en Vortex y la centrifugación. El sobrenadante final fue transferido a un tubo nuevo y se adicionó 0.7 volúmenes de isopropanol ($\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$) frío, se dejó reposar a -20 °C toda la noche en congelador. Posteriormente las muestras se metieron a centrifugar 20 minutos a 13000 rpm; se decantaron las muestras y se dejaron reposar una hora. Después se lavó con 500 μ l de etanol $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ al 80% y se centrifugó por 20 minutos a 13000 rpm. Se realizaron dos lavados más y después de la última decantación los tubos fueron colocados boca abajo en papel secante toda la noche para que el pellet se secase a temperatura ambiente. El pellet fue disuelto en 20 μ l de búfer Tris-EDTA

(1X TE; 10 mM Tris-HCl, pH 8.0; 1 mM EDTA, pH 8.0), centrifugo por 2 minutos a 13000 rpm. Se dejaron reposar las muestras por un periodo de 30 a 60 minutos.

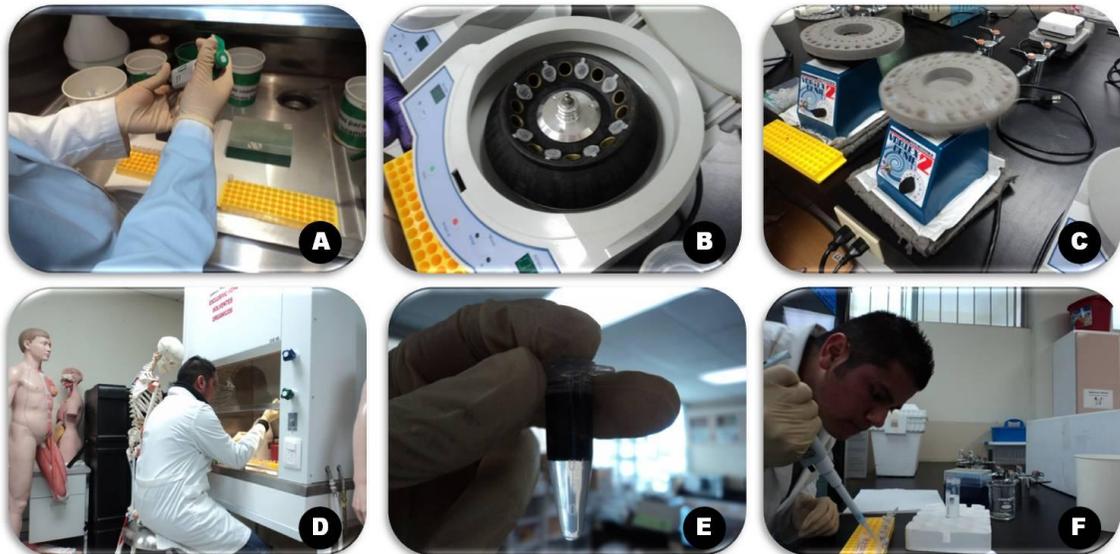


Figura 7. Proceso de Extracción de ADN. **A.** Adición de cloroformo alcohol: isoamílico (24:1) en los tubo eppendorf. **B.** Centrifugación de las muestras. **C.** Agitación en vortex de las muestras. **D-E.** Ultimo lavado del ADN. **F.** Agregación de Etanol frio al 80%.

- Electroforesis en Gel Agarosa.

Se preparó una placa de Gel Agarosa a concentración 1.4 %. Se pesan 2.8 g de agarosa y se disuelve en 200 mL de 0.5X TBE *Buffer* (Tris, Borato, EDTA) normalmente a 5X, se compone de la siguiente manera:

- 5X TBE Buffer (1L)
- 54 g Tris base
- 27.5 g de ácido bórico
- 20 mL de 0.5 M EDTA (pH 8.0)
- Aforado a 1 L con H₂O destilada

Después de la preparación del agarosa y de un previo enfriamiento, se vertió

sobre un *cassette* o molde de electroforesis previamente sellado con cinta adhesiva para que no se derramara el gel, se colocan los peines de 11-12 dientes y se agregó el gel, se dejó secar por un periodo de 5 a 10 minutos aproximadamente, al solidificar, se retiraron los peines y la cinta adhesiva. Posteriormente, la placa del gel se acomodó en la cubeta de electroforesis a una concentración apropiada para las corridas de electroforesis siendo de 0.5X TBE *Buffer*, la cual se elaboró con 100 mL de 5X TBE en 900 mL de H₂O destilada.

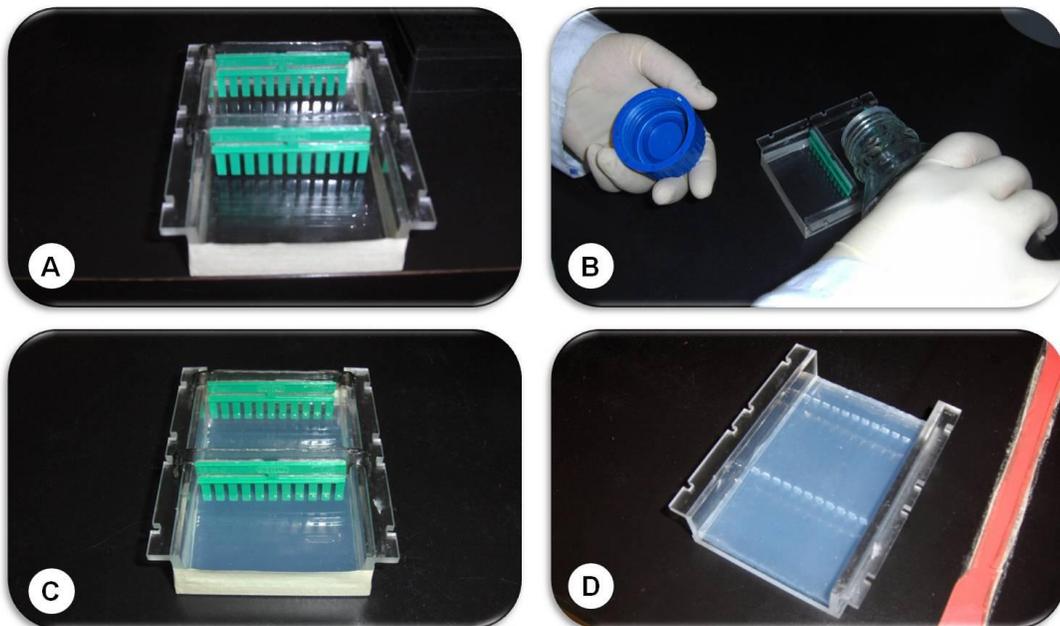


Figura 8. Preparación de placa de agarosa. **A.** Colocación de peines y sellos de cinta adhesiva. **B.** Vaciado de gel agarosa. **C.** Proceso de solidificación. **D.** Retiro de peines y sellos adhesivos.

Posteriormente, se colocó un trozo de papel *parafilm* en una gradilla donde se dio un pequeño toque para generar una pequeña depresión, en las cuales se agregaron 5 μ l de muestra y 2 μ l de *loading buffer* y fueron puestas en la placa de gel agarosa. Enseguida la placa fue sometida a 100 voltios por un periodo de 30 minutos en una cámara de electroforesis BIORAD. Después la placa fue colocada en una charola donde fue teñida con *gel star* (1.2 μ l de *gel star* y 2 μ l de agua desionizada) y

se dejó reposar por un lapso de 15 minutos. Finalizado el tiempo, la placa fue colocada en el transluminador con luz UV, solo con 1 lectura para determinar la concentración y presencia de ADN.

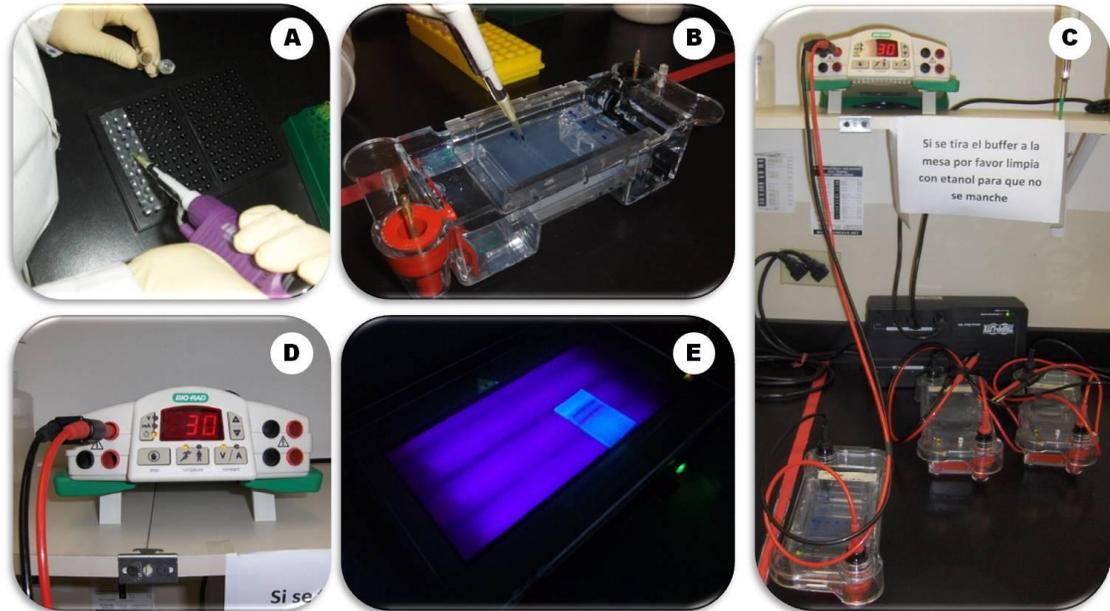


Figura 9. Proceso de Electroforesis. **A.** Adición de *loading buffer* en las muestras. **B.** Colocación de muestras en gel de agarosa en cámara de electroforesis. **C-D.** Cámara de electroforesis, corrido de bandas de ADN. **E.** Visualización de gel en luz UV.

- **Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).**

La reacción en cadena de la polimerasa se realizó inicialmente utilizando la metodología de amplificación de Martin & Rygiewicz (2005), se elaboró un Mastermix de 100 μ l (para 10 muestras) con 0.80 μ l de 25 mM de $MgCl_2$, 0.2 μ l de 10 μ M de cada cebador (*primers*), 2 μ l de 1 mM dNTP, 0,5 mM albúmina sérica bovina (BSA por sus siglas en ingles) y 0.08 μ l de 0.04 mM 5U/ μ l Fermentas de *Taq DNA Polymerase*, posteriormente las muestras fueron colocadas en un termociclador BIORAD. La desnaturalización inicial y activación de las enzimas fue de 2 minutos a 95 $^{\circ}C$, seguida

por la amplificación de 30 ciclos a las siguientes condiciones: 30 segundos a 95 °C, 40 segundos a 60 °C y 60 segundos a 72 °C. El último ciclo fue con un periodo de 5 minutos a 72 °C.

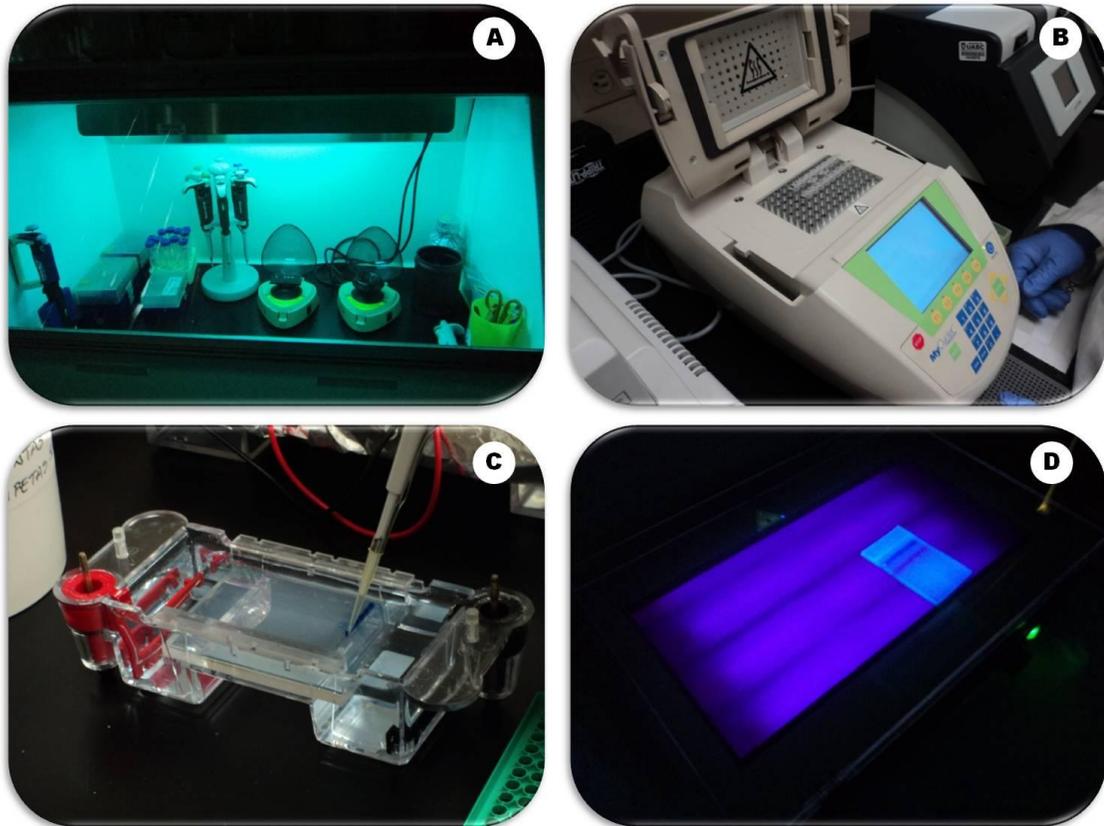


Figura 10. Reacción en Cadena de la Polimerasa. **A.** Cámara de PCR. **B.** Disposición de muestras en termociclador. **C.** Colocación de muestras en cámara de electroforesis. **D.** Visualización de gel en luz UV.

Para ello, se realizaron cálculos para determinar con exactitud las cantidades según las concentraciones planteadas:

$$V_1 C_1 = V_2 C_2 \quad \Rightarrow \quad V_2 = V_1 C_1 / C_2$$

$$\text{MgCl}_2 \quad V_2 = V_1 C_1 / C_2 \quad \Rightarrow \quad \text{MgCl}_2 \quad V_2 = (10\mu\text{L})(2.0 \text{ mM}) / (25 \text{ mM}) = \mathbf{0.80\mu\text{L}}$$

$$\text{dNTP} \quad V_2 = V_1 C_1 / C_2 \quad \Rightarrow \quad \text{dNTP} \quad V_2 = (10\mu\text{L})(0.20 \text{ mM}) / (1 \text{ mM}) = \mathbf{2.0\mu\text{L}}$$

$$\text{dNTP} \quad V_2 = V_1 C_1 / C_2 \quad \Rightarrow \quad \text{dNTP} \quad V_2 = (10\mu\text{L})(0.20 \text{ mM}) / (10 \text{ mM}) = \mathbf{0.20\mu\text{L}}$$

$$\text{BSA } V_2 = V_1 C_1 / C_2 \longrightarrow \text{BSA } V_2 = (10\mu\text{L})(0.50 \text{ mM}) / (20 \text{ mM}) = \mathbf{0.25\mu\text{L}}$$

$$\text{NSA3 } V_2 = V_1 C_1 / C_2 \longrightarrow \text{NSA3 } V_2 = (10\mu\text{L})(0.20 \text{ mM}) / (10 \text{ mM}) = \mathbf{0.20\mu\text{L}}$$

$$\text{NLC2 } V_2 = V_1 C_1 / C_2 \longrightarrow \text{NLC2 } V_2 = (10\mu\text{L})(0.20 \text{ mM}) / (10 \text{ mM}) = \mathbf{0.20\mu\text{L}}$$

$$\text{NLB4 } V_2 = V_1 C_1 / C_2 \longrightarrow \text{NSLB4 } V_2 = (10\mu\text{L})(0.20 \text{ mM}) / (10 \text{ mM}) = \mathbf{0.20\mu\text{L}}$$

$$\text{NSI1 } V_2 = V_1 C_1 / C_2 \longrightarrow \text{NSI1 } V_2 = (10\mu\text{L})(0.20 \text{ mM}) / (10 \text{ mM}) = \mathbf{0.20\mu\text{L}}$$

$$\text{Taq polymerase } V_2 = V_1 C_1 / C_2 \longrightarrow \text{Taq polymerase } V_2 = (10\mu\text{L})(0.04 \text{ mM}) / (15 \text{ mM}) = \mathbf{0.08\mu\text{L}}$$

Posteriormente se realizó una modificación a la metodología empleada ya que no estaba funcionando para el propósito que se buscaba. Para ello, se cambiaron las cantidades de *Taq DNA Polymerase* de 0.08 a 1.20 μl y las concentraciones de MgCl_2 primero de 0.80 a 1.20 μl y de 0.80 a 1.5 μl para determinar cuál generaba una mejor reacción. Asimismo se cambió la etapa final del último ciclo, de 5 a 10 minutos a la misma temperatura, de igual forma se realizó una dilución de muestras con agua desionizada debido a que unas muestras mostraron buena calidad en la electroforesis y otras se manifestaron tenues, por ello, se agregaron diferentes cantidades ADN, de tal forma que al correrlas en el gel de agarosa la banda se generaran barras uniformes de la replicación del ADN.

Muestra	1A	1B	2A
DNA microL (μ)	2.00	3.00	1.00

Tabla II. Ejemplo de dilución del ADN para PCR.

- ♦ **Método 2.**
 - **Extracción de ADN.**

- A partir de cultivos.

El ADN se obtuvo a partir de micelio de las colonias cultivadas en PDA crecidas a 25 °C. Se tomó un inóculo con un asa microbiológica de cultivos y fueron colocados en tubos *ependorf* etiquetados correctamente.

- Purificación de ADN.

Se empleó el método de Martínez y Soto (1993) con algunas modificaciones. El material fúngico, fue congelado y macerado en mortero, posteriormente se añadió Nitrógeno Líquido y se trituró, se transfirieron de 50-100 mg a un microtubo y se añadieron 400 µL de solución de extracción (1 % CTAB, 50 mM Tris-HCl pH 8.0, 0.7 M NaCl y 10 mM EDTA). Se incubó de 30-60 minutos a una temperatura de 65°C, con mezclado ocasional, después se agregaron 400 µL de Fenol/Cloroformo/Isoamil alcohol, fue mezclado en vortex por un tiempo de 2-3 minutos, posterior a este procedimiento, fue centrifugado a 14,000 rpm por 10 minutos en una microcentrifuga. La fase acuosa se separó en un microtubo nuevo, se añadieron 300 µL de Isopropanol frío, mezclándose por inversión, fue centrifugado por un periodo de 5 minutos a 14,000 rpm, se decantó el sobrenadante y se dejó escurrir sobre papel secante, dejándose secar por 5 minutos. El ADN se resuspendió en 50 µL de agua libre de DNAsas y se dio una ligera agitación en vortex, el cual fue almacenado a -20 °C.

- Electroforesis en Gel Agarosa.

Se preparó una placa de Gel Agarosa a concentración 1 %. El TBE *Buffer* (Tris, Borato, EDTA) a 1X, de la siguiente manera:

1X TAE Buffer:

- 4.84 gr Tris
- 1.14 ml de Ácido acético glacial
- 2.0 ml de EDTA 0.5 M (pH 8.0)

Después de realizar la placa de gel agarosa, se agregaron 2 µl de ADN del hongo y fue sometido a 80 voltios por un periodo de 30 minutos en una cámara de electroforesis.

- **Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).**

La reacción en cadena de la polimerasa se elaboró un Mastermix de 50 µl, con 3 µl de ADN, 1.5 µM de cada cebador (*primers*) ITS1 e ITS4, 19 µl de agua libre de DNAsas y 25 µl de mezcla de PCR, después las muestras fueron colocadas en un termociclador, la desnaturalización inicial y activación de las enzimas fue de 5 minutos a 95 °C, seguida por la amplificación de 40 ciclos a las siguientes condiciones: 1 minuto a 95 °C, 1 minuto a 56 °C y 60 segundos a 72 °C. El último ciclo fue con un periodo de 10 minutos a 72 °C.

Posteriormente, se realizaron pruebas con otros *primers* bajo la metodología anteriormente mencionada, utilizando los cebadores ITS4 e ITS5 y después empleando los *primers* LROR-LR5.

Análisis de secuencias.

Al obtenerse las secuencias, estas fueron analizadas en GenBank de *The National Center for Biotechnology Information* (NCBI: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) y se empleó el algoritmo de *BLAST* (*Basic Local Alignment Search Tool*) para comparar las secuencias de las cepas aisladas.

Con las secuencias se realizó un alineamiento múltiple usando ClustalX 2.0.9 (*multiple sequence alignment program*) usando los parámetros por defecto. El análisis filogenético se llevó a cabo empleando el software computacional GeneDoc 2.7.000 (*Multiple Sequence Alignment Editor & Shading Utility*).

También se realizó un árbol filogenético en el programa FigTree 1.3.1 (*Tree Figure Drawing Tool*) para analizar y comparar la relación de las secuencias arrojadas en la secuenciación.

Al finalizar, se compararon los resultados de la caracterización morfológica con los obtenidos en la caracterización molecular para poder definir la comparación taxonómica del hongo.

RESULTADOS.

La determinación de las áreas con vegetación arbórea afectada por el cancro en la zona urbana y periurbana de Mexicali B.C., México, arrojó los siguientes resultados:

Se obtuvieron un total de 38 muestras recolectadas de la Ciudad y Valle de Mexicali, adicionalmente se consiguieron 3 muestras procedentes de la ciudad de Loreto y La Paz, B. C. S.

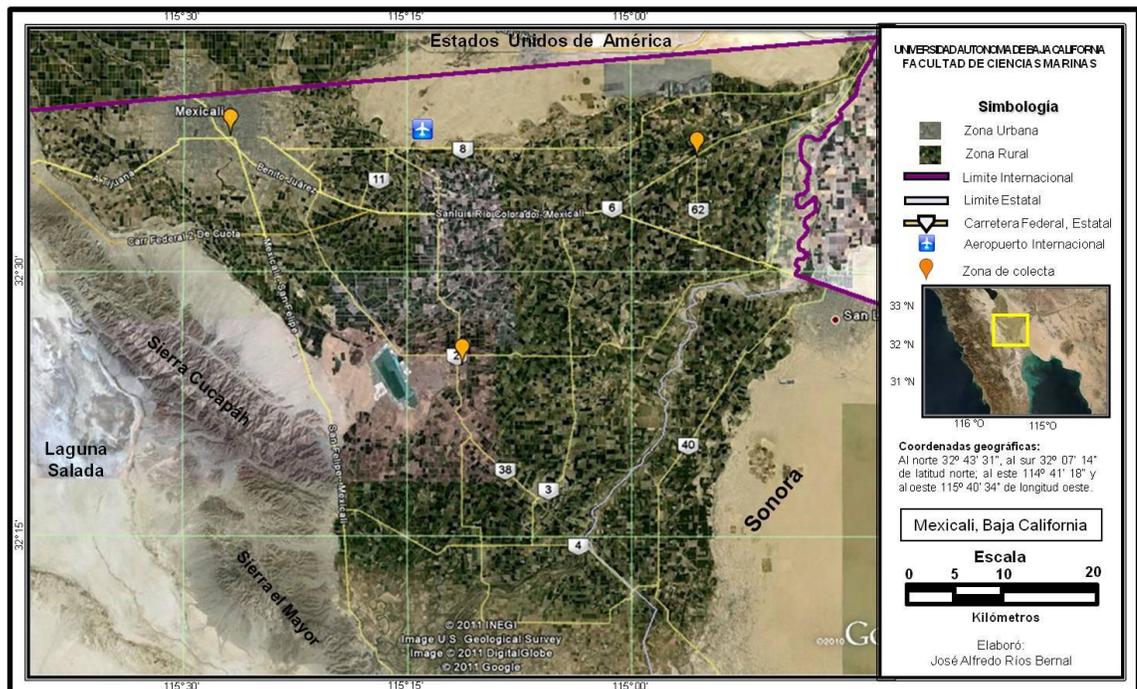


Figura 11. Localización de las zonas de recolección de muestras en el municipio de Mexicali, B. C. Obtenido de *Google Earth*.

Los datos de las muestras estudiadas, se presentan en las siguientes tablas:

Tabla III. Información referente a las muestras recolectadas en Mexicali B. C.

Muestra	Lugar	Ubicación	Sector	Fecha	Organismo afectado	Colector
M1	Ej. Paredones	32° 36' 13.18" N y 114° 55' 49.95" O	Lote particular	31-Ene-2010	<i>Citrus</i> spp.	José Alfredo Ríos Bernal
M2	Ej. Paredones	32° 36' 13.10" N y 114° 55' 49.85" O	Lote particular	31-Ene-2010	<i>Ulmus</i> spp. (Olmo)	José Alfredo Ríos Bernal
M3	Ej. Paredones	32° 36' 13.29" N y 114° 55' 52.10" O	Lote particular	31-Ene-2010	<i>Ficus microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M4	Ej. Nuevo León	32° 24' 10.48" N y 115° 11' 31.91" O	Lote particular	26-Mar-2010	<i>Citrus</i> spp.	José Alfredo Ríos Bernal
M5	Ej. Nuevo León	32° 24' 18.84" N y 115° 11' 32.35" O	Lote particular	26-Mar-2010	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M6	Mexicali B.C.	32° 39' 51.87" N y 115° 28' 31.85" O	Área pública	30-Mar-2010	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M7	Mexicali B.C.	32° 38' 35.61" N y 115° 28' 22.81" O	Área pública	31-Mar-2010	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M8	Mexicali B.C.	32° 39' 26.50" N y 115° 28' 43.06" O	Área pública	31-Mar-2010	<i>Ulmus</i> spp. (Olmo)	José Alfredo Ríos Bernal
M9	Ej. Paredones	32° 36' 13.93" N y 114° 55' 48.31" O	Lote particular	3-Abr-2010	<i>Citrus</i> spp.	José Alfredo Ríos Bernal
M10	Ej. Nuevo León	32° 24' 33.70" N y 115° 11' 18.49" O	Salón Ejidal	15-Abr-2010	<i>Casuarina</i> spp.	José Alfredo Ríos Bernal
M11	Ej. Paredones	32° 36' 16.5" N y 114° 55' 34.1" O	Lote particular	18-Abr-2010	<i>F. carica</i> (Higuera)	José Alfredo Ríos Bernal
M12	Ej. Paredones	32° 36' 18.4" N y 114° 55' 45.1" O	Lote particular	15-Abr-2010	<i>Morus alba</i> (Morera)	José Alfredo Ríos Bernal
M13	Ej. Paredones	32° 36' 17.9" N y 114° 55' 45.8" O	Lote particular	15-Abr-2010	<i>Melia azedarach</i> (Piocha)	José Alfredo Ríos Bernal
M14	Ej. Paredones	32° 36' 16.5" N y 114° 55' 34.1" O	Lote particular	12-Sep-2010	<i>F. carica</i> (Higuera)	José Alfredo Ríos Bernal
M15	Ej. Paredones	32° 36' 19" N y 114° 55' 38.2" O	Lote particular	12-Sep-2010	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M16	Ej. Paredones	32° 36' 18.4" N y 114° 55' 45.1" O	Lote particular	12-Sep-2010	<i>Morus alba</i> (Morera)	José Alfredo Ríos Bernal
M17	Ej. Paredones	32° 36' 13.5" N y 114° 55' 52.3" O	Lote particular	24-Oct-2010	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M18	Ej. Paredones	32° 36' 16.7" N y 114° 55' 34.2" O	Lote particular	24-Oct-2010	<i>Ficus carica</i> (Higuera)	José Alfredo Ríos Bernal
M19	Ej. Paredones	32°36'17.30" N y 114°55'55.30" O	Lote particular	2-Ene-2011	<i>Bougainvillea</i> spp.	José Alfredo Ríos Bernal
M20	Ej. Paredones	32°36'19.30" N y 114°55'38.60" O	Lote particular	2-Ene-2011	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M21	Ej. Paredones	32° 36' 16.2" N y 114° 55' 34" O	Lote particular	2-Ene-2011	<i>F. carica</i> (Higuera)	José Alfredo Ríos Bernal
M22	Ej. Paredones	32° 36' 16.2" N y 114° 55' 34" O	Lote particular	2-Ene-2011	<i>F. carica</i> (Higuera)	José Alfredo Ríos Bernal
M23	Ej. Paredones	32° 36' 18.4" N y 114° 55' 45.1" O	Lote particular	2-Ene-2011	<i>Morus alba</i> (morera)	José Alfredo Ríos Bernal
M24	Mexicali B. C.	32° 38' 31.2" N y 115° 24' 56" O	Lote particular	29-Ene-2011	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M25	Ej. Paredones	32° 36' 13.1" N y 114° 55' 50.6" O	Lote particular	30-Ene-2011	<i>C. aurantifolia</i> (Limón mexicano)	José Alfredo Ríos Bernal
M26	Ej. Paredones	32° 36' 14" N y 114° 55' 51.6" O	Lote particular	30-Ene-2011	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M27	Ej. Paredones	32° 36' 16.7" N y 114° 55' 34.2" O	Lote particular	23-Oct-2011	<i>Fi. carica</i> (Higuera)	José Alfredo Ríos Bernal
M28	Ej. Paredones	32° 36' 16.2" N y 114° 55' 34" O	Lote particular	23-Oct-2011	<i>F. carica</i> (Higuera)	José Alfredo Ríos Bernal
M29	Ej. Paredones	32°36'19.30" N y 114°55'38.60" O	Lote particular	23-Oct-2011	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal

M30	Mexicali B.C	32° 38' 31.2" N y 115° 24' 56" O	Lote particular	30-Dic-2012	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M31	Ej. Paredones	32°36'19.3" N y 114°55'48.9" O	Lote particular	14-Ene-2013	<i>Citrus</i> spp.	José Alfredo Ríos Bernal
M32	Ej. Paredones	32° 36' 19.2" N y 114°55'38.0" O	Lote particular	24-Feb-2013	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M33	Ej. Paredones	32°36'19.7" N y 114°55'37.0" O	Lote particular	24-Feb-2013	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M34	Ej. Paredones	32° 36' 19.2" N y 114°55' 36.7" O	Lote particular	24-Feb-2013	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M35	Ej. Paredones	32°36'13.2" N y 114°55'51.0" O	Lote particular	14-Jul-2013	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M36	Ej. Paredones	32° 36' 14.1" N y 114°55'51.7" O	Lote particular	18-Ago-2013	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M37	Ej. Paredones	32°36'14.0" N y 114°55'51.9" O	Lote particular	18-Ago-2013	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal
M38	Ej. Paredones	32° 36' 13.3" N y 114°55' 52.2" O	Lote particular	18-Ago-2013	<i>F. microcarpa</i> (Yucateco)	José Alfredo Ríos Bernal

Tabla IV. Información referente a las muestras recolectadas en Loreto y La Paz B. C. S.

Muestra	Lugar	Ubicación	Sector	Fecha	Organismo afectado	Colector
E1	Loreto, BCS	26° 00' 23.5" N y 111° 20' 55.4" O	Lote particular	23-Ago-2012	<i>Ficus benjamina</i> (Benjamina)	José Alfredo Ríos Bernal
E2	La Paz, BCS	24° 10' 56.0" N y 110° 18' 07.1" O	Lote particular	27-Ago-2012	<i>F. benjamina</i> (Benjamina)	José Alfredo Ríos Bernal
E3	La Paz, BCS	24° 10' 56.9" N y 110° 18' 06.6" O	Lote particular	27-Ago-2012	<i>F. benjamina</i> (Benjamina)	José Alfredo Ríos Bernal

Como se mencionó anteriormente, los sitios de recolección en la zona rural fueron elegidos basándose en las antiguas rutas del Ferrocarril Inter-California, puesto que estas son consideradas como agentes de desarrollo y civilización, sin duda, varios ejidos del Valle de Mexicali surgieron en torno a estas rutas. Asimismo, en el proceso de crecimiento y expansión de los poblados, se fueron introduciendo diferentes especies arbóreas, algunas utilizadas como fuente de alimento y otras para uso ornamental y de sombra, es por ello, la diversidad de especies presentes.

Esto aunado a lo observado en campo, la enfermedad ocasionada por el cancro también conocida como hongo negro es una problemática que ha existido durante

varios años, manifestándose totalmente en la zona urbana y periurbana del municipio de Mexicali.

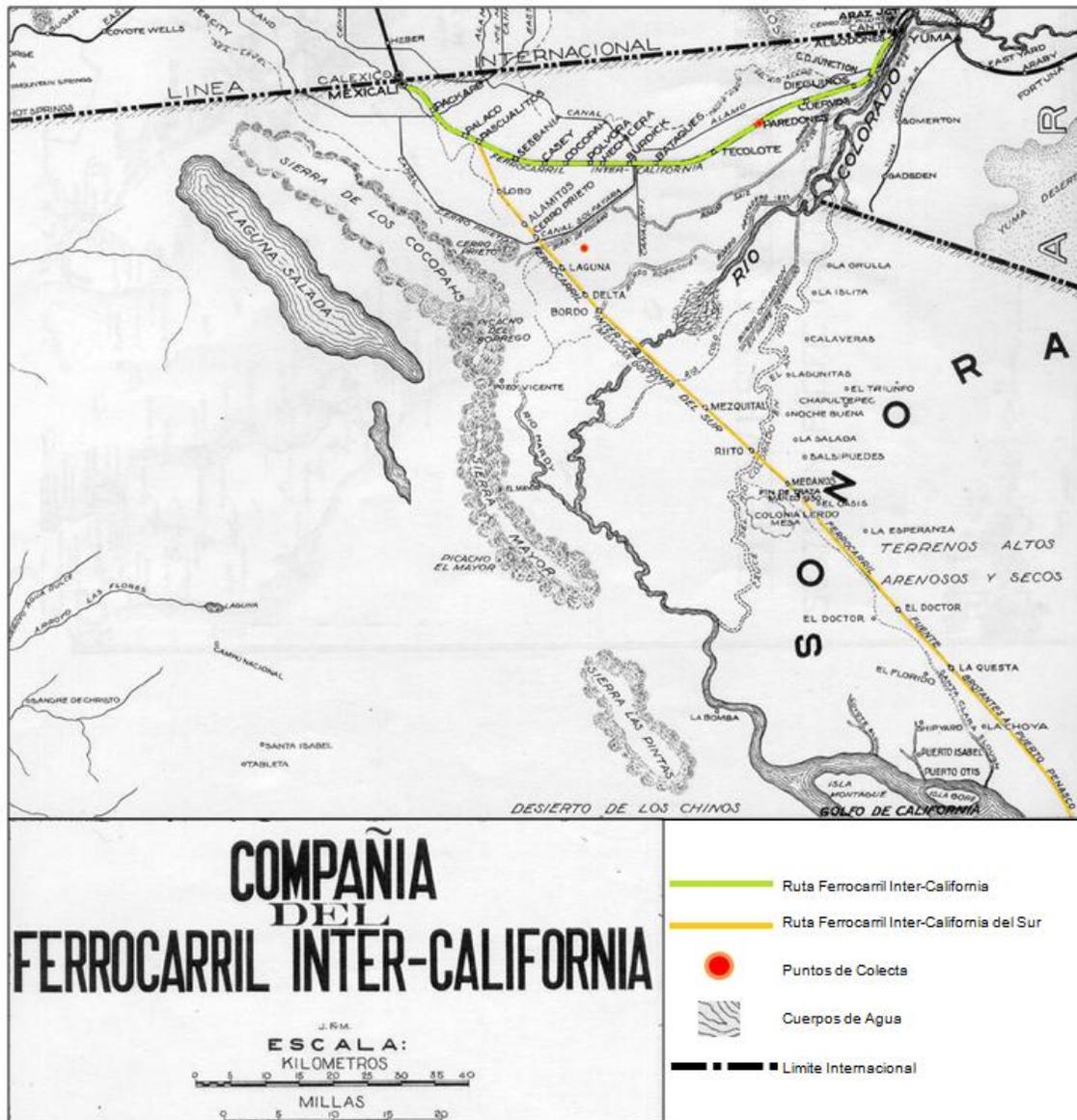


Figura 12. Mapa modificado de la ruta de La Compañía del Ferrocarril Inter-California en el área del Valle de Mexicali, B. C. Obtenido de http://www.wcroberts.org/Images/Images%20Web%20pages/Inter_California/Inter_California_1.html.

Determinación de los constituyentes de la vegetación arbórea afectada por el cancro de la zona urbana y periurbana de Mexicali B. C.

Constituyentes arbóreos afectados por el cancro.

Se observó una diversidad considerable de constituyentes arbóreos con los signos característicos de la enfermedad, sin embargo, las especies más afectadas son *Ficus benjamina* (Benjamina) y *Ficus microcarpa* (Yucateco), seguidos por *F. carica* (Higuera), varias especies de *Citrus* spp. (Limonero, naranjo, mandarino, toronjo, lima, limón mexicano, entre otros) y *Morus* spp. (Moreras), de igual forma pero en menor grado, se manifiesta una sintomatología similar en *Melia azedarach* (Piocha), *Casuarina* spp. (Casuarina o pino), *Jacaranda mimosifolia* (Jacaranda), *Fraxinus* spp. (Fresno), *Populus* spp. (Álamo), *Ulmus* spp. (Olmo), *Hibiscus* spp. (Árbol algodón) y algunas especies arbustivas como lo son *Bougainvillea* spp. (Buganvilia), *Nerium* spp. (Laurel) y *Euphorbia tirucalli* (Árbol lápiz).

En el caso de la ciudad de La Paz y Loreto, B. C. S., *Ficus benjamina* (Benjamina) y *F. microcarpa* (Yucateco, laurel de la india) son las especies que presentan una afección parecida a la presente en el municipio de Mexicali.

Es importante señalar que a pesar de la gran variedad de hospederos observados con en cancro, es muy variable la diversidad arbórea hospedera del hongo, acentuándose principalmente en aquellas especies que presentan mayor incidencia como lo es *F. benjamina*, *F. carica*, *F. microcarpa* y algunas especies de *Citrus* spp. y *Morus* spp., observándose también una sintomatología muy similar en *Casuarina* spp., *Fraxinus* spp., *Ulmus* spp, *Hibiscus* spp., *Populus* spp., entre otros, asimismo, se

presenta en algunos arbustos como *Bougainvillea* spp., *Euphorbia* spp. y en *Nerium* spp.

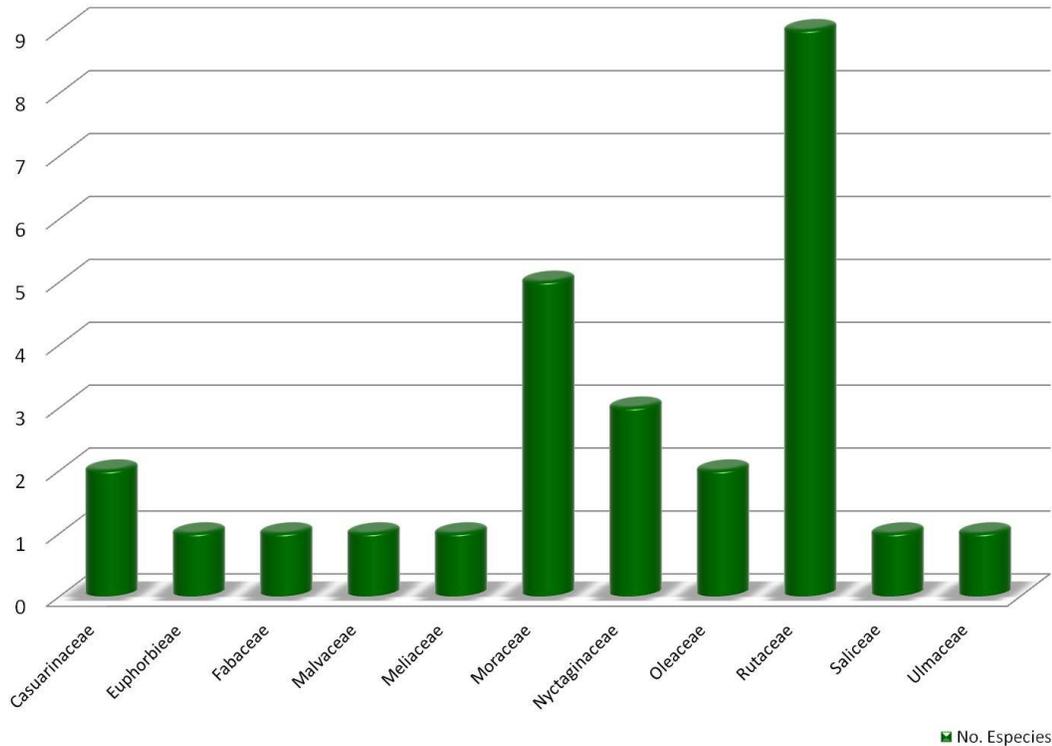


Figura 13. Organismos afectados por el hongo negro según su familia.

Caracterización de las especies de la vegetación arbórea estudiada:

Nombre científico:	Familia:
<i>Citrus aurantifolia</i> (Christm.) Swing.	Rutaceae
Nombre común:	Características de la corteza
Limón mexicano	De color castaño un tanto lisa (Little et al., 2001).
Requerimientos ambientales	
Temperatura: la temp. Mínima es de 13° C y la temp máxima es de 43° C. Precipitación: de 900 a 3000 mm al año. Altitud: en áreas subtropicales desde el nivel del mar hasta 750 msnm. En zonas tropicales, no muy por debajo de 1600 msnm. Se adapta muy bien a la luz solar alta, puede tolerar un mínimo de sombra. Los cítricos son susceptibles a daños en las hojas, ramas y frutos por los fuertes vientos (Manner et al., 2006).	
Características del suelo	
Crece en una amplia gama de suelos ligeros, medios y pesados (arenas, limos arenosos, limos, arcillas arcillas margas arenosas, arcillas, margas de arcilla, arena	

y arcillas). No tolera la salinidad. Prefieren suelos bien drenados; también crecen en suelos ácidos a neutros con un pH de 5 a 8, sin embargo, su crecimiento mayor es con un pH de 7.6 (Manner et al., 2006).

Usos	Desventajas
Preparación de jugos, jaleas, mermeladas, dulces, salsas, etc., bebidas, enlatados; la cáscara contiene un aceite esencial, medicinal y melífera (Geilfus, 1994).	Susceptible a plagas y enfermedades ocasionadas por hongos, nematodos, insectos, virus y bacterias.

Tabla V. Requerimientos ambientales de *Citrus aurantifolia* (Christm.) Swing.

Nombre científico:	Familia:
<i>Citrus aurantium</i> L.	Rutaceae
Nombre común:	Características de la corteza
Naranja agrio	De color castaño un tanto lisa, lisa (Little et al., 2001).
Requerimientos ambientales	
Temperatura: de clima subtropical, que puede adaptarse en las regiones donde la temperatura promedio anual este entre 13 °C y 39 °C. No tolera temperaturas por debajo de -2 °C ni tampoco superiores a 50 °C. Precipitación: mínima de 1200 mm anuales. Altitud: hasta 2000 msnm (Geilfus, 1994).	
Características del suelo	
Se adapta a una gran variedad de suelos. Lo mejor es un suelo profundo, liviano (franco o franco-arenoso), bien drenado y rico en nutrientes; mejor adaptados a los suelos pesados (Geilfus, 1994).	
Usos	Desventajas
Medicinal, comestible y combustible (Martínez-Alfaro et al., 2001). Para jugos, dulces y mermeladas (Geilfus, 1994).	Susceptible a plagas y enfermedades ocasionadas por hongos, nematodos, insectos, virus y bacterias.

Tabla VI. Requerimientos ambientales de *Citrus aurantium* L.

Nombre científico:	Familia:
<i>Citrus sinensis</i> (L.) Osbeck	Rutaceae
Nombre común:	Características de la corteza
Naranja dulce	De color castaño con surcos finos (Little et al., 2001).
Requerimientos ambientales	
Temperatura: de clima subtropical, que puede adaptarse en las regiones donde la temperatura promedio anual este entre 13 °C y 39 °C. No tolera temperaturas por debajo de -2 °C ni tampoco superiores a 50 °C. Precipitación: mínima de 1200 mm anuales. Altitud: hasta 2000 msnm (Geilfus, 1994).	
Características del suelo	
Se adapta a una gran variedad de suelos. Lo mejor es un suelo profundo, liviano (franco o franco-arenoso), bien drenado y rico en nutrientes (Geilfus, 1994).	
Usos	Desventajas
Medicinal, comestible, combustible, atenuante, instrumentos agrícolas (Martínez-Alfaro et al., 2001).	Susceptible a plagas y enfermedades ocasionadas

Preparación de jugos, mermeladas, jaleas, dulces, repostería etc., de las flores y cáscara del fruto se sacan esencias y perfumes y leña (Geilfus, 1994).	por hongos, nematodos, insectos, virus y bacterias.
---	---

Tabla VII. Requerimientos ambientales de *Citrus sinensis* (L.) Osbeck.

Nombre científico:	Familia:
<i>Ficus benjamina</i> L.	Moraceae
Nombre común:	Características de la corteza
Benjamina	Gris y finamente fina (Gordillo-Ulloa et al., 2007).
Requerimientos ambientales	
<p>Temperatura: Son adaptables, sin embargo están bien adaptados a climas mediterráneos (inviernos húmedos, veranos secos) con temperaturas medias mensuales de 20 – 25 ° C aproximadamente entre mayo y octubre. Precipitación: anual total de 500-550 mm (Jackson et al., 2011). Altitud: hasta los 1400 m (Thakur et al., 2007).</p>	
Características del suelo	
Tolerancias a suelos arcillosos, arenas, alcalinos, ácidos, ocasionalmente húmedos, con buen drenaje (Gilman and Watson, 2007).	
Usos	Desventajas
Ornamental (Sánchez de Lorenzo, 2007).	Susceptible a hongos; consume mucha agua.

Tabla VIII. Requerimientos ambientales de *Ficus benjamina* L.

Nombre científico:	Familia:
<i>Ficus carica</i> L.	Moraceae
Nombre común:	Características de la corteza
Higuera	Lisa de color grisáceo (Vázquez-Yanes et al., 1999).
Requerimientos ambientales	
<p>Temperatura: Le favorecen los climas de inviernos benignos y veranos calurosos con poca precipitación. Es una especie típica del clima mediterráneo (subtropical con inviernos cálidos, veranos secos y frescos) pero soporta también el frío. En México requiere una temperatura media anual de 17 a 19 °C. Precipitación: precipitación anual de 90-120 m (Vázquez-Yanes et al., 1999). Altitud: desde el nivel del mar hasta cerca de los 2,000 metros (Geilfus, 1994).</p>	
Características del suelo	
<p>Prefiere suelos frescos, permeables, ricos y bien drenados. Suelos: café claro, aluvión, derivados de roca volcánica, regosol eútrico. pH = 8-8.5. Prefiere suelos profundos más bien de naturaleza seca que húmeda. Para producir frutos de buena calidad convienen suelos ricos en calcio. Se desarrolla bien en terrenos de pH 8 a 8.5. No debe plantarse en suelos arenosos, ligeros y sumamente ácidos (Vázquez-Yanes et al., 1999).</p>	
Usos	Desventajas
El higo se come crudo, seco, en dulce, almíbar y entra en la composición de pasteles, galletas y otras reposterías (Geilfus, 1994).	Susceptible a hongos, insectos, nematodos, y virus.

Tabla IX. Requerimientos ambientales de *Ficus carica* L.

Nombre científico:	Familia:	
<i>Ficus microcarpa</i> L. f.	Moraceae	
Nombre común:	Características de la corteza	
Yucateco, Laurel de Indias	De color gris claro casi blanco con textura un poco lisa (Gordillo-Ulloa et al., 2007).	
Requerimientos ambientales		
Temperatura: Son adaptables, sin embargo están bien adaptados a climas mediterráneos (inviernos húmedos, veranos secos) con temperaturas medias mensuales de 20 – 25 ° C aproximadamente entre mayo y octubre. Precipitación: anual total de 500-550 mm (Jackson et al., 2011). Altitud: desde el nivel del mar hasta 1200 m (Weber, 2003; Berg & Corner, 2005; citados en Tan et al., 2009).		
Características del suelo		
Crecerá en suelos ácidos y alcalinos y tolerante de tierra húmeda. Tiene tolerancia a la sequía moderada pero alta tolerancia a la brisa marina (Tan et al., 2010).		
Usos		Desventajas
Árbol de sombra, ornamental (Sánchez de Lorenzo, 2007).		Susceptible a hongos y gran consumo de agua.

Tabla X. Requerimientos ambientales de *Ficus microcarpa* L. f.

Nombre científico:	Familia:	
<i>Morus alba</i> L.	Moraceae	
Nombre común:	Características de la corteza	
Morera	De color gris claro (Gordillo-Ulloa et al., 2007).	
Requerimientos ambientales		
Temperatura: entre 0° C y 43° C. en el trópico el crecimiento es continuo. Altitud: entre 1500 y 2500 msnm (Orwa et al., 2009). Humedad relativa: entre 65 y 80 %. Precipitación: necesita entre 600 y 2500 mm anuales (Datta, 2000).		
Características del suelo		
Crece en una variedad de suelos que van desde la arenosa a arcillosa franco, pero prefiere profundo, suelo aluvial, franco, con suficiente humedad y pH 6.0 a 7.5 (Orwa et al., 2009).		
Usos		Desventajas
Medicinal, comestible, maderable o material para construcción (Martínez-Alfaro et al., 2001). El follaje es un excelente forraje para los animales (Geilfus, 1994).		Puede ser atacado por hongos, bacterias e insectos; gran consumo de agua.

Tabla XI. Requerimientos ambientales de *Morus alba* L.

Nombre científico:	Familia:	
<i>Morus nigra</i> L.	Moraceae	
Nombre común:	Características de la corteza	
Morera negra	Oscura de color marrón grisáceo, áspera, con fisuras verticales, que exuda látex de color blanco o blanco amarillento (Orwa et al., 2009).	
Requerimientos ambientales		
Temperatura: se adapta tanto a los climas templados como tropicales, con		

temperaturas entre 13° C y 38° C. en el trópico el crecimiento es continuo (Geilfus, 1994). Precipitación: de 600 a 2500 mm anuales. Luz: de 9 a 13 horas al día. Humedad: la humedad atmosférica va de 65 a 80% (Datta, 2000).	
Características del suelo	
Prospera bien en suelos planos, profundos y fértiles, bien drenados, suelos francos a arcillosos, porosos con buena capacidad de retención de humedad. El pH ideal del suelo es de 6.2 a 6.8 (Datta, 2000).	
Usos	Desventajas
Comestible, el follaje es un excelente forraje para los animales, medicinal (Geilfus, 1994).	Puede ser atacado por hongos, bacterias e insectos; gran consumo de agua.

Tabla XII. Requerimientos ambientales de *Morus nigra* L.

Es importante citar, que en el área de estudio se observó que las herramientas de poda que eran utilizadas en árboles enfermos no eran desinfectadas, y el apilamiento de ramas o troncos podados por la muerte de los árboles enfermos, en la cercanía de árboles sanos.

- **Caracterización de los signos y síntomas producidos por el cancro en la vegetación arbórea afectada de la zona urbana y periurbana de Mexicali B. C.**

- **Signos producidos por el cancro.**

Se observó que la afección genera fragmentación y descascaramiento de la corteza externa, en la cual se manifiesta una masa de esporas negras, lo cual es característico de la enfermedad; en algunos casos, las áreas de la corteza que presentan mayor exposición a los rayos solares, se vuelven gruesas y leñosas.

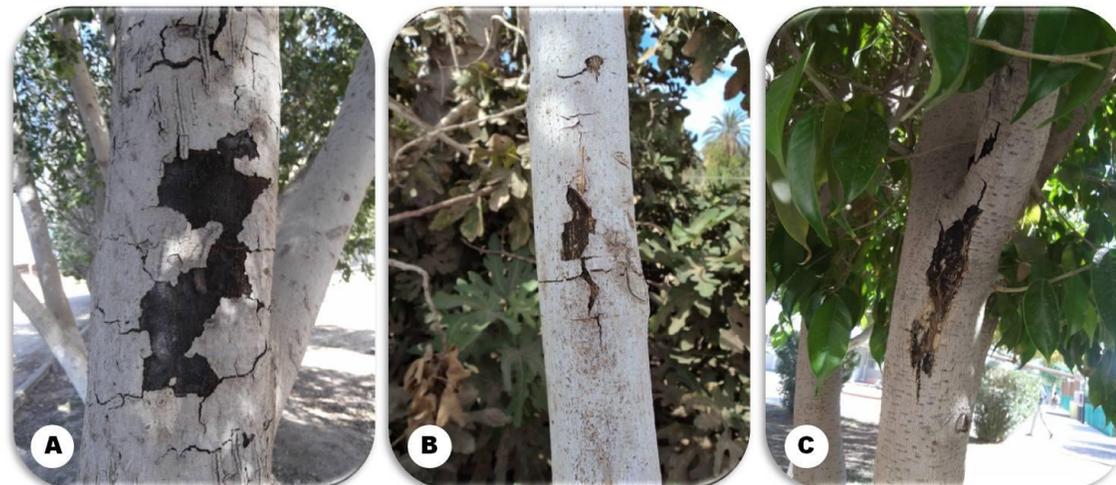


Figura 14. Descascaramiento generado por el cancro en *Ficus microcarpa* (A), *F. carica* (B) y *F. benjamina* (C).



Figura 15. Descascaramiento generado por el cancro en *Morus* spp. (A) y en *Citrus* spp. (B).

En algunos casos, se presentan unas colonias blanquecinas por encima de la masa de conidiosporas negras.



Figura 16. Presencia de colonias blancas por encima de la masa negra de conidiosporas en ramas de *Ficus microcarpa* (A-B).

El hongo, además de lo mencionado anteriormente, afecta la parte interna del tronco, este se desarrolla en la zona del cambium avanzando en albura, donde inhibe los procesos del xilema, avanzando así hasta el duramen e incluso llegar al centro o núcleo del tronco, provocando así su muerte.

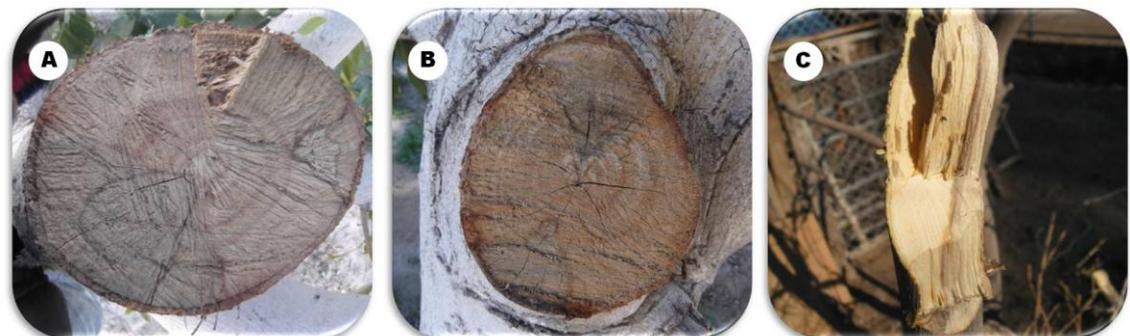


Figura 17. Corte transversal de ramas afectadas por el cancro, observándose la necrosis generada por el hongo en el árbol. **A-B.** Corte de *Ficus microcarpa* L. **C.** Corte de *Citrus* spp.

- **Síntomas producidos por el cancro.**

En los arboles muestreados, se observó la muerte progresiva de las ramas superiores y deshidratación de las mismas y estrés general del árbol. Al realizar cortes en el tronco o ramas, se apreció como el hongo penetra al árbol provocando su muerte.

- **Caracterización del agente o los agentes causales del daño generado en la vegetación arbórea urbana y periurbana de Mexicali B. C.**

- **Descripción macroscópica de las colonias fúngicas**

Coloración: en los medios de PDA, EMA y SDA, presentó inicialmente una coloración blanca, tornándose a gris oscuras, negruzcas y verde oscuro, todas con el reverso negro, en algunos casos la colonia se mostró blanca sin cambio alguno con el reverso de color amarillo suave; algunas colonias mostraron coloración amarillo suave con el reverso amarillo parduzco, esto para SDA y PDA, también se observó una colonia en PDA de coloración salmón a marrón con el reverso anaranjado a marrón.



Figura 18. Aspecto del anverso de algunas de las colonias. **A.** Colonia de coloración gris en PDA. **B.** Colonia blanca desarrollada en SDA. **C.** Colonia negra crecida en PDA.



Figura 19. Aspecto de algunas colonias en cultivos en ADS. **A.** Colonia de coloración crema **B.** Colonia amarillenta desarrollada. **C.** Colonia parduzca.

Algunas colonias fueron inoculadas directamente con trozos de tejidos dañados por el hongo, las cuales fueron lavadas con agua oxigenada con la finalidad de evitar el desarrollo de contaminantes, en estos cultivos se observó el crecimiento de esporodoquios en el centro del cultivo.

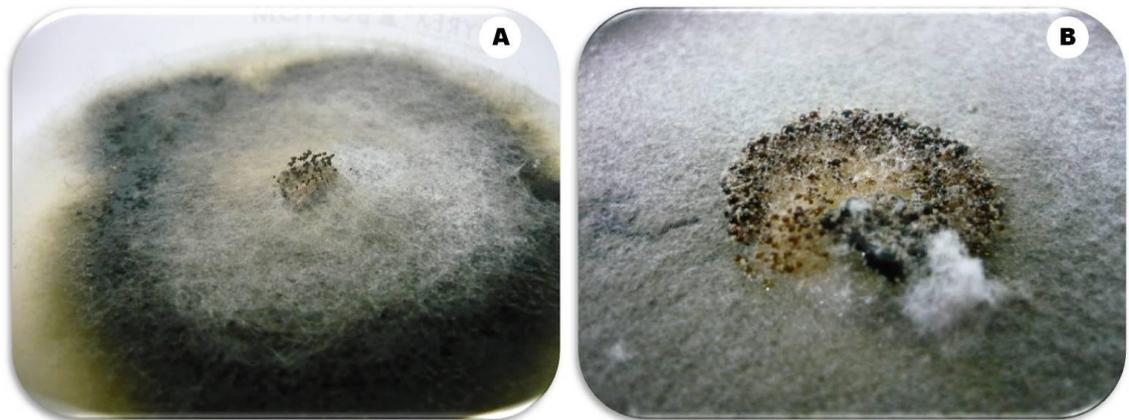


Figura 20. Presencia de esporodoquios crecidos en algunas colonias. **A.** Esporodoquios presentes en cultivo de PDA. **B.** Apariencia de esporodoquios en colonia desarrollada en ADS.

Superficie: Textura aterciopelada y en algunos casos algodonosa.

Consistencia: Friable (se disgrega al tocarla).

Crecimiento: Regularmente mostraron forma rizoide, con elevación plana y margen filamentoso, en algunos casos se mostraron colonias un crecimiento filamentoso con elevación convexa.

Desarrollo: Frecuentemente abundante, todos los cultivos crecieron a una temperatura de 25°C, alcanzando su máximo en un periodo de 7 días aproximadamente.

Las mediciones de crecimiento de las colonias se realizaron cada dos días, en la medición uno (2 días después de la inoculación) no se mostró crecimiento en ninguno de los medios utilizados, fue a partir de la segunda medida donde se observó desarrollo micelial. Presentándose un crecimiento más rápido en la mayoría de las cepas desarrolladas en medio de cultivo EMA, logrando su máximo en la tercera medición (tabla XIII, figura 22); mientras que en PDA fue ligeramente menor la tasa de crecimiento, aun cuando para la tercera medición se observó un incremento en la velocidad de crecimiento alcanzando en varias cepas su máximo desarrollo en el cultivo, (tabla XIII, y figura 21).

Medio	PDA			EMA		
Medida	1	2	3	1	2	3
C1	0	10.4	34.4	0	5.1	43.6
C2	0	27.5	51.4	0	5.5	24.35
C3	0	8.6	43.65	0	36.05	36.05
C4	0	11.7	43.8	0	15.15	42.2
C5	0	6.3	44.6	0	7.45	20
C6	0	14.9	45.05	0	37.65	37.65
C7	0	16.95	44.45	0	7	44.3
C8	0	9.15	30.85	0	20.4	46.5

Tabla XIII. Tabla de crecimiento del hongo en medio de cultivo PDA y EMA (mm).

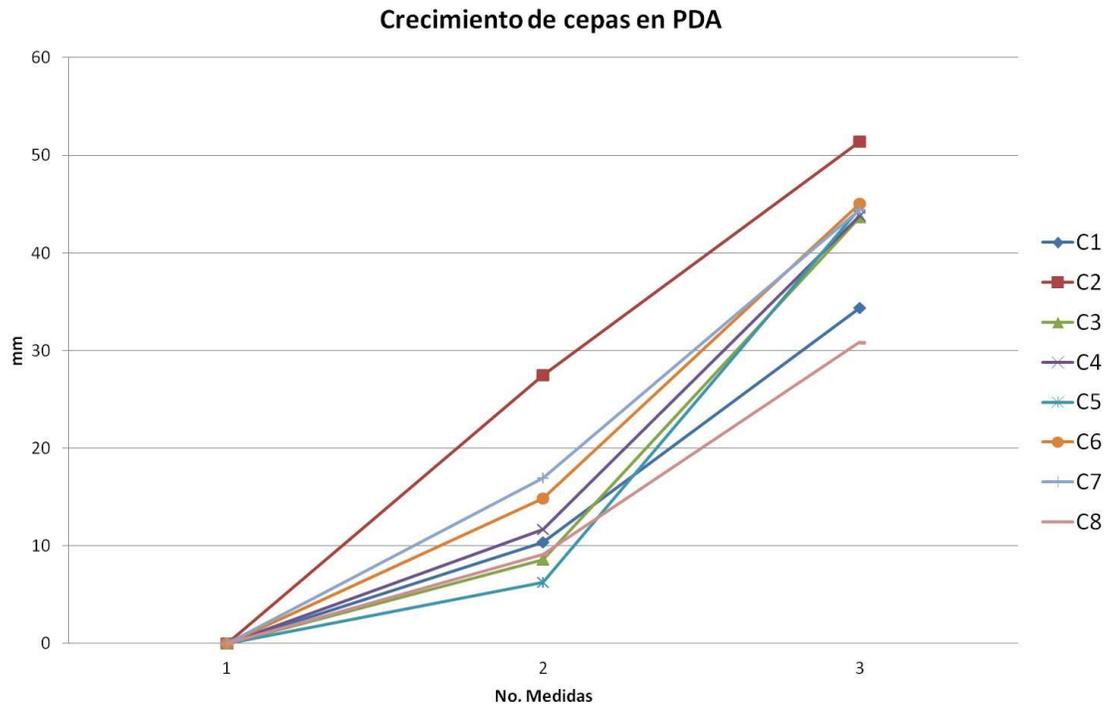


Figura 21. Gráfica de crecimiento del hongo en medio de cultivo de PDA.

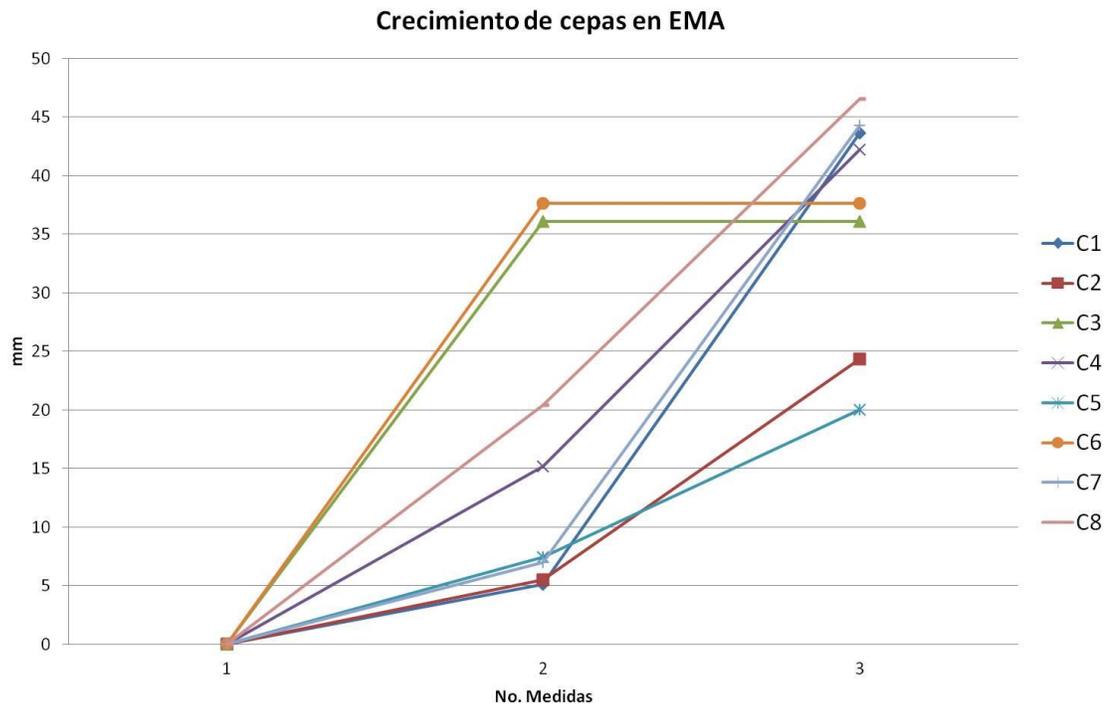


Figura 22. Gráfica de crecimiento del hongo en medio de cultivo de EMA.

- **Descripción microscópica de las colonias.**

En los cultivos en medio nutritivos se apreciaron conidiosporas elipsoides y globosas de doble pared, presentando en algunos casos de 1 a 2 tabiques, lisas de color hialino-pardo, algunas sin septos (amerosporas), otras con una división (didimosporas) en ocasiones se observaron agrupadas en cadena, con las mismas características de textura y coloración antes mencionadas, presentando las siguientes medidas: (5-) 7-8 (-14) x (4-) 5-7 (-9) μ ; el micelio en todos los casos es septado y de coloración hialino-marrón.

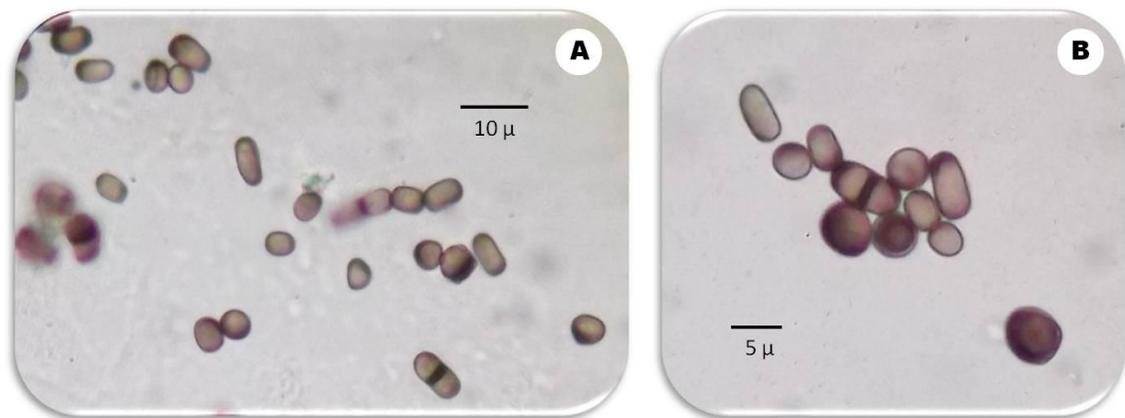


Figura 23. Morfología de las conidiosporas del agente causal. **A-B.** Vista de las estructuras en microscopio compuesto con el objetivo de 100X.

- **Descripción microscópica de muestras directas.**

Las muestras del tejido dañado por el hongo presentan conidiosporas con forma globosa y elipsoide principalmente, sin ornamentación, con textura lisa, de color hialino a marrón, algunas conidiosporas sin división (amerosporas), otras con una división

(didimosporas) en ocasiones agrupadas en cadena; las medidas resultantes son (3-) 5-6 (-10) x (2-) 4-5 (-9) μ .

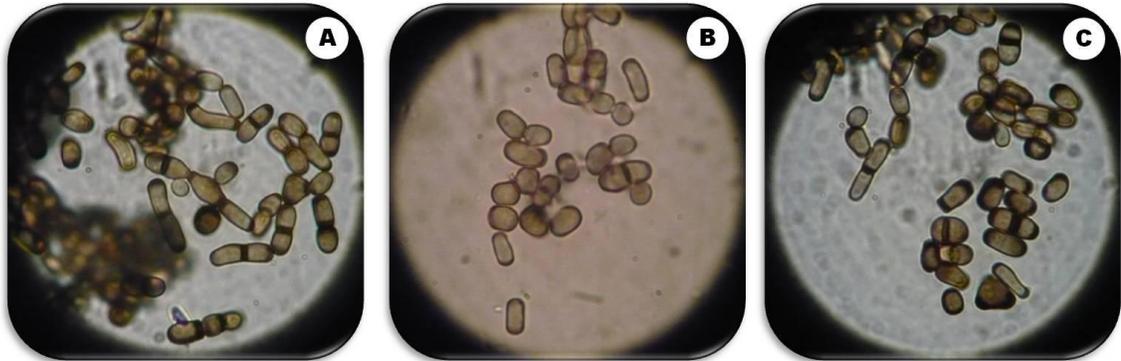


Figura 24. Conidiosporas del agente causal. **A, B, C.** donde se observan conidiosporas sin división (amerosporas) y con división (didimosporas).

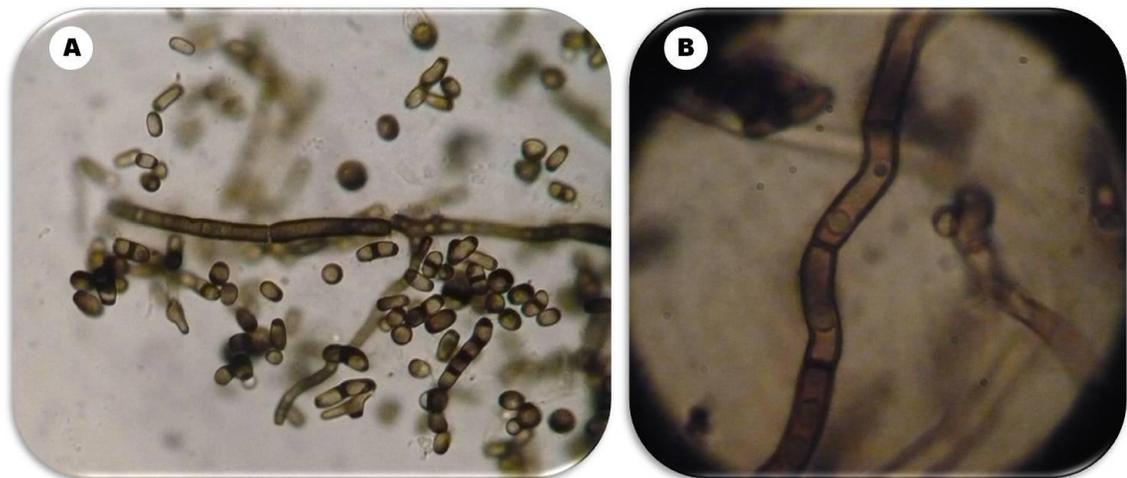


Figura 25. Micelio del agente causal. **A.** Micelio septado hialino-marrón rodeado de conidiosporas sin división y con división (didimosporas), algunas de ellas agrupadas en cadena. **B.** Micelio septado.

- **Determinación del agente o los agentes causales del daño generado en la vegetación arbórea urbana y periurbana de Mexicali B. C.**

- **Determinación de los agentes causales en cámara húmeda.**

En la identificación de los agentes causales de cultivos en cámara húmeda, se llegó hasta nivel de género, identificándose a *Verticillium* spp., *Fusarium* spp., y *Botrytis* spp., también se encontró a *Memnoniella* spp., y *Trichothecium* spp. y con menor incidencia la presencia de *Alternaria* spp. y *Stachybotrys* spp.

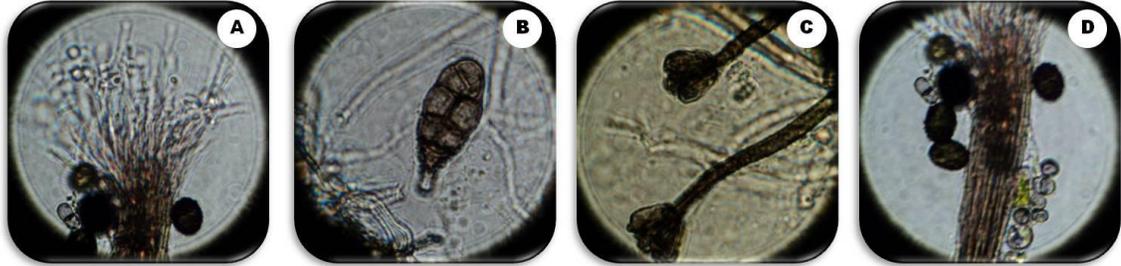


Figura 26. Diversidad de hongos encontrados en cámara húmeda. **A-D.** Hongos sin identificar. **B.** *Alternaria* spp. **C.** *Stachybotrys* spp.

- **Identificación por características macro y micromorfológicas.**

A través del estudio directo de su morfología macro y microscópica se determinó como *Neoscytalidium dimidiatum*.

Resultados moleculares.

El resultado arrojado de biología molecular y secuenciación fue *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., para su análisis, se obtuvieron algunas secuencias depositadas previamente en NCBI, el primero es *Fusarium cf. solani* (JX435221.1).

Las secuencias de los productos obtenidos de las muestras presentaron 758 y 950 nucleótidos, fueron comparadas con las adquiridas en NCBI, se alinearon en el programa GeneDoc 2.7.000, observándose poca relación entre las secuencias de *N.*

dimidiatum con las de *F. solani*, incluso estas últimas, presentaron una relación no significativa.

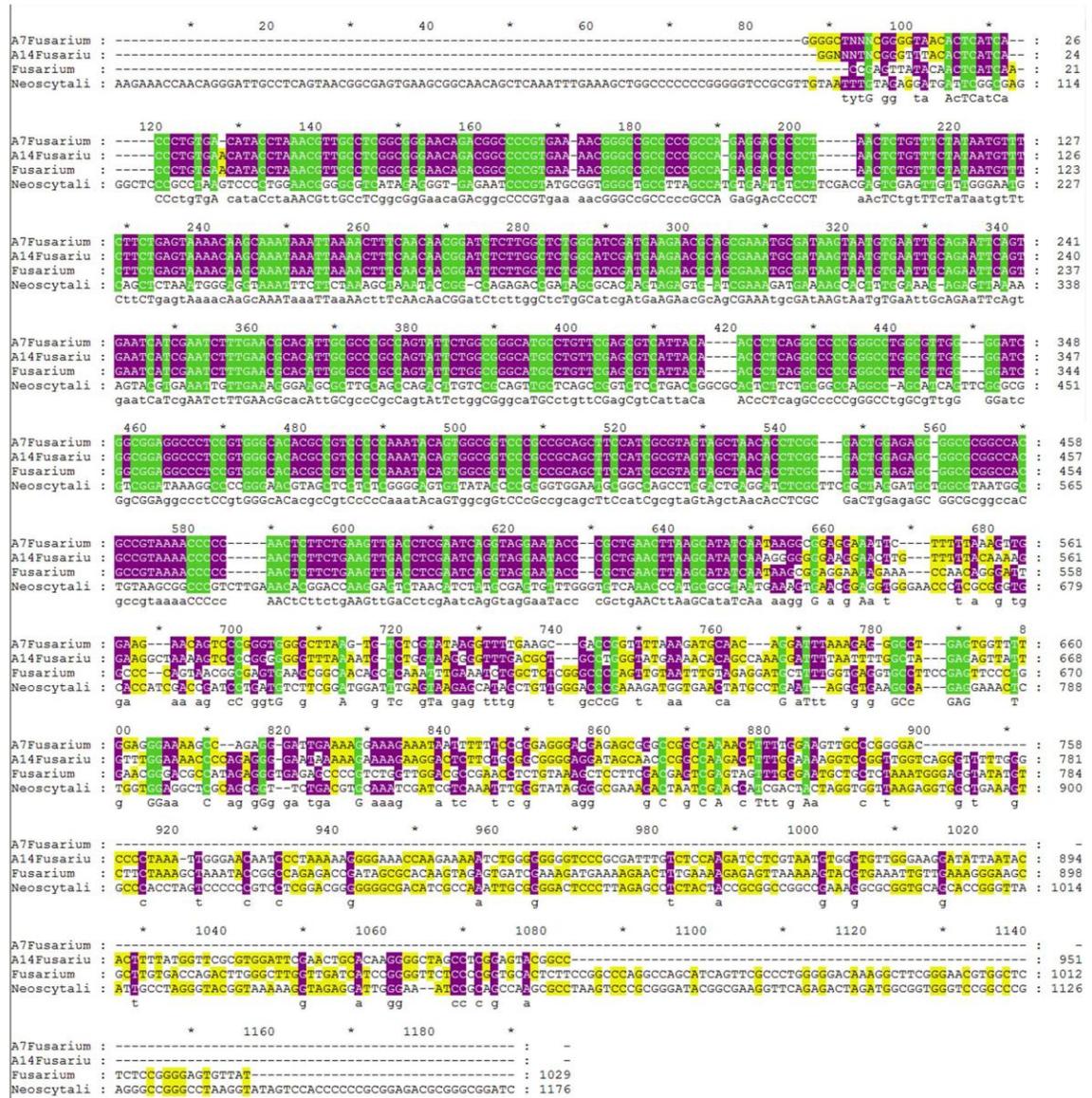


Figura 27. Alineamiento y comparación de las secuencias de *N. dimidiatum* y *Fusarium solani* en GeneDoc 2.7.000, donde los códigos verdes muestra la similitud de estos, los morados muestran la relación de 3 códigos, mientras que los amarillos representa la relación de un par de códigos y los incoloros no muestra relación alguna.

El árbol filogenético se generó para observar la cercanía entre las especies, ya que la determinación macro y micromorfológica indica que es *N. dimidiatum*, sin

embargo, los resultados de la secuenciación de las muestras indican que *F. solani* no presenta cercanía con *N. dimidiatum*.

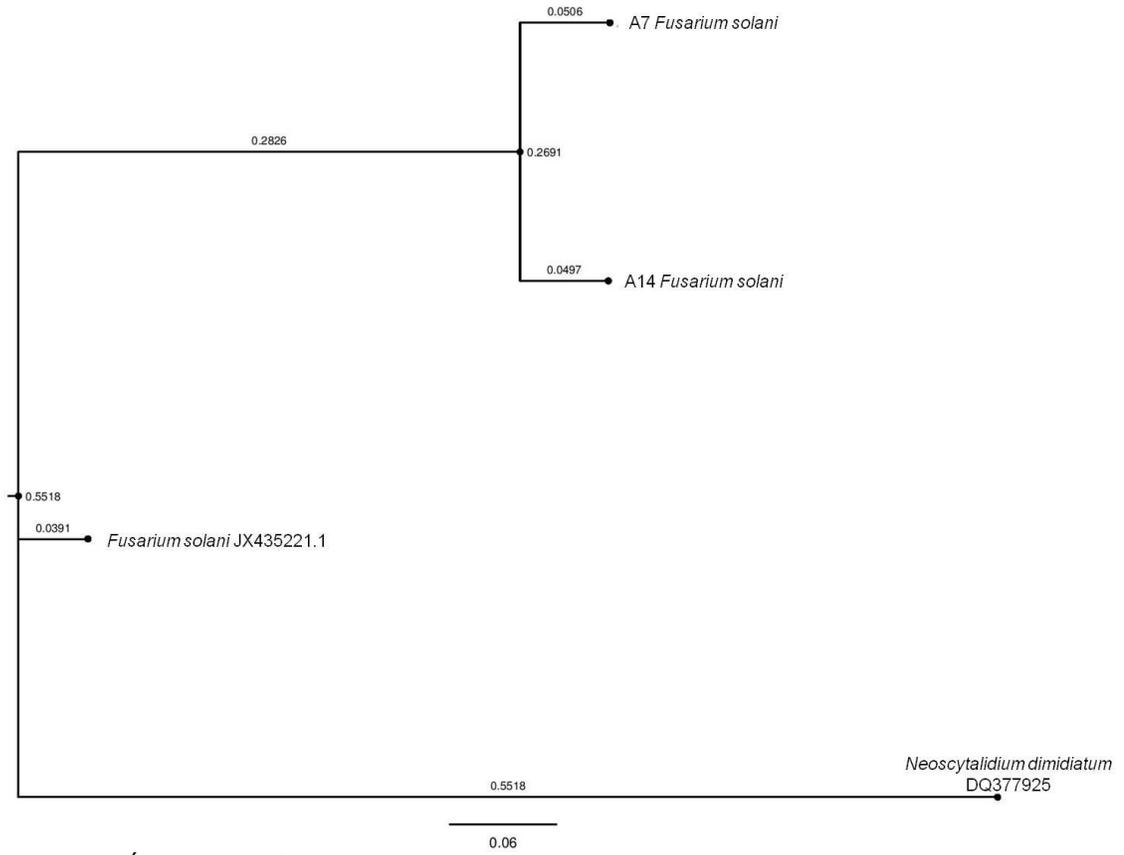


Figura 28. Árbol filogenético generado en el programa FigTree 1.3.1.

DISCUSIONES

Las condiciones climáticas parecen favorecer el desarrollo y propagación de la enfermedad, debido a que las temperaturas extremas producen el descortezamiento del árbol, lo que genera una vía de ingreso del parásito al hospedero. Aunado a esto se deduce que el uso de herramientas de poda que han sido utilizadas en árboles enfermos, sin la desinfección adecuada propicia el contagio de la enfermedad, por otra parte el apilamiento *in situ* de ramas o troncos podados por la muerte de los árboles enfermos, por vecindad parecen favorecer la propagación de la afección.

La diversidad de las especies arbóreas encontradas en el área de estudio, parece deberse a que la población tiene preferencia por los árboles frondosos, florales y frutales, razón por la cual, no consideran a las nativas, por ser de una estatura media, presencia de espinas y flores de tamaño pequeño. Además, parecen considerar de peligro las especies nativas por poseer espinas, desconociendo que es un mecanismo de defensa a la climatología del área, por ser plantas desérticas.

Con respecto a las familias con más especies hospederas, y en especial de familia Rutacea, lo determinado a través del presente trabajo, concuerda con autores como Oren et al., 2001 y Timmer et al., 2002, quienes encontraron esta afección en diversas especies de cítricos, los cuales son requeridos en la zona de estudio para la obtención de los frutos para autoconsumo y en algunos casos para ventas. Turini, 2001, indicó que la causa más común de la muerte de varias especies de árboles,

principalmente en fresnos (*Faxinus* spp.) y moreras (*Morus* spp.) en el Valle Imperial, California, se debió al cancro de hollín, lo que está en correspondencia con los resultados obtenidos. Cabe citar que las moreras, son plantadas para el consumo de sus frutos al igual que *Ficus carica*, Ray et al. (2010), realizando un estudio de este género en Australia, determinaron la incidencia del cancro de hollín en esta especie, tal y como fue determinado en este tratado. Por otra parte, especies altamente susceptibles en la región, como son *F. microcarpa* y *F. benjamina*, son utilizados, el primero como árbol de sombra y el segundo como ornamental en interiores y exteriores.

Es importante citar, que la mayoría de estas especies arbóreas citadas como especies con mayor riesgo de contraer la enfermedad, fueron introducidas, lo que las hace más susceptibles a las condiciones climatológicas extremas del valle de Mexicali y que su introducción fue coherente con el establecimiento y crecimiento de centros de población.

La sintomatología desarrollada por el cancro coinciden con las descritas por Olsen y Young en 1998; Olsen en 1999 y 2003; y Olsen et al. (2000); Oren et al. (2001), Turini en 2001, Polizzi et al. (2011) y Mayorquin et al. (2012).

Las características morfológicas del agente causal, difieren totalmente con las que determinan a *F. solani*, ya que esta especie se caracteriza por presentar una espora en forma de media luna o plátano, mientras que las del agente causal de este trabajo presentan conidiosporas en forma elipsoide y globosa, característica importante

que invalida a *F. solani* como el agente causal del cancro que afecta al arbolado urbano.

Se realiza una comparación de la morfología de *Fusarium solani* de y *Neoscytalidium dimidiatum* con los caracteres generados de las muestras obtenidas en la siguiente tabla (XIV), con la finalidad de establecer con claridad las diferencias estructurales entre ambas especies:

Característica	Hongo negro	<i>Neoscytalidium dimidiatum</i>	<i>Fusarium solani</i>
Coloración	Inicialmente blancas tornándose gris oscuro, negruzcas y verde oscura, en algunos casos blancas	Al inicio blancas después marrón oscuras a negras (Campbell et al., 2013).	Blanco grisáceo a crema o acre. Produce pigmentos crema a tono café, ocasionalmente con manchas verdes o azuladas (Dueñas-García et al., 2005)
Diámetro	90-100 mm en 7 días a 25 °C	90 mm en 3 días a 30 °C (Campbell et al., 2013).	70-85 mm en 7 días a 25-28° C (Dueñas-García et al., 2005)
Textura	Aterciopelada, en algunos casos algodonoso	Flocosa (Campbell et al., 2013).	Afelpada, algodonosa (Dueñas-García et al., 2005)
Morfología esporal	Globosa y elipsoide, 1 – 2 tabiques, forma artrocronidias	Elipsoide a ovoide, hialinas a marrón, inicialmente aseptada hasta 2 septos (Polizzi et al., 2011)	Macroconidios ligeramente curvos, con el plano ventral y dorsal paralelos en la mayor parte de su longitud, con 5 -6 septos, pudiendo presentar 7, microconidios, ovoides, con 0-1 septos y ocasionalmente con 2 (Dueñas-García et al., 2005)
Textura de espora	Lisa	Lisa (Polizzi et al., 2011)	Suave (Brundrett et al., 1999; citado en Mora-castillo, 2001)
Coloración espora	Hialino marrón	Marrón (Polizzi et al.,	Hialino (Dueñas-

		2011)	García et al., 2005)
Medida esporas	En cultivo (5-) 7-8 (-14) x (4-) 5-7 (-9) µm; en el tejido (3-) 5-6 (-10) x (2-) 4-5 (-9) µm	(10-)12-13(-14) x (4-)5(-6) µm (Polizzi et al., 2011)	Macroconidias 23-67 x 4-6 µm, microconidias 8-16 x 3-5 µm (Dueñas-García et al., 2005)
Tipo de micelio	Septado	Septado desarticulado 0-1 septos(Polizzi et al., 2011)	Septado y delgado (Dueñas-García et al., 2005)
Coloración micelio	Hialino marrón	Marrón (Polizzi et al., 2011)	Hialino (Dueñas-García et al., 2005)

Tabla XIV. Comparación de la morfología de las colonias y estructuras fúngicas del hongo negro; *Neoscytalidium dimidiatum* y *Fusarium solani*.

Estas variaciones morfológicas nos indican la separación entre la especie determinada por pruebas moleculares (*F. solani*) y las determinadas a través de la observación directa a través de microscopía convencional y estudio de morfología de las colonias generadas (*N. dimidiatum*). Lo que sugiere que las muestras procesadas se contaminaron con *F. solani*. Sin embargo, es importante citar que el tamaño de las conidiosporas del material estudiado es más pequeño que las reportadas por Polizzi et al. (2011), para *N. dimidiatum*. El análisis molecular no arrojó resultados significativos para este trabajo, lo cual nos sugiere que se requiere estandarizar técnicas para la caracterización del hongo, con lo que se podrá precisar con exactitud a esta especie.

Por otra parte, diferentes autores han reportado variaciones en la morfología de *N. dimidiatum*, algunas de ellas se presentan en la tabla XV.

Autor	Coloración y forma esporas	Medidas esporas	Micelio (hifa)
Phillips et al., 2013	Cilíndrica truncada, rectangular-obtusa a doliforme, marrón oscura, 0-2 septos	4-16.5 x 8.5 µm y 6.5-14 x 2.5-4 µm	Septado hialino
Polizzi et al., 2011	Elipsoide a ovoide, hialinas a marrón, inicialmente aseptada hasta 2 septos	(10-)12-13(-14) x (4-)5(-6) µm	Septado marrón, desarticulado 0-1 septos

Elshafie & Ali, 2005	Arthroconidias cilíndricas, marrón oscuras a negras, septos 0-2	5–12 x 5–7.5 µm	Septado, hialino a marrón, ramificado
Elshafie & Ba-Omar, 2002	Arthroconidias cilíndrica a truncada, rectangular-obtusa, marrón oscuro a negro, 0-2 septos	9-14 x 2.6 -7.8 µm principalmente 11,6 x 5 µm	Septado, hialino a pardo, ramificado
Natrass, 1933	Oblonga a ovalada, al inicio hialino, 0-2 septos marrones	12-13.5 (17) x 4-5.5 µm	Septado, hialino, ramificado

Tabla XV. Comparación de los caracteres morfológicos de *Neoscytalidium dimidiatum*, *Scytaalidium dimidiatum* y *Hendersonula toruloidea*.

Con esto, los caracteres obtenidos en este trabajo concuerdan a los presentes en la tabla XV, con mayor similitud con lo reportado por Elshafie & Ali, 2005, con esto podemos considerar que el hongo que causa el cancro carbonoso en varios componentes arbóreos del municipio de Mexicali es *Neoscytalidium dimidiatum*.

CONCLUSIONES

- El cancro se ubica en las zonas urbanas y periurbanas del municipio de Mexicali B. C., y en algunas ciudades de Baja California Sur, como lo es Loreto y La Paz.
- Las condiciones climáticas del Municipio de Mexicali, B. C., influyen al desarrollo y propagación del cancro.
- En la zona de estudio, las especies más afectadas son *Ficus benjamina* (Benjamina) y *Ficus microcarpa* (Yucateco), seguidos por *F. carica* (Higuera), varias especies de *Citrus* spp. (Limonero, naranjo, mandarino, toronjo, lima, limón mexicano, entre otros) y *Morus* spp. (Moreras).
- Se requiere promover al arbolado nativo de la región, ya que estos, están adaptados a la climatología de la zona y por tanto, tienen menos posibilidades de desarrollar esta enfermedad fúngica.
- Factores humanos que favorecen la propagación de la enfermedad, son: el uso de herramientas de poda que han sido utilizadas en árboles enfermos, sin la desinfección adecuada, y el apilamiento de ramas o troncos podados por la muerte de los árboles enfermos.
- El agente causal del cancro de la vegetación arbórea del municipio de Mexicali, B.C. es *Neoscytalidium dimidiatum*.
- La determinación del agente causal del cancro en Mexicali, B.C. constituye el primer trabajo formal de esta problemática para Baja California y en México.

RECOMENDACIONES

- Para estudios futuros, es importante monitorear la calidad ambiental de la zona, prevenir y controlar la enfermedad, enfocado a la disminución de la problemática en cuestión ecológica.
- Se recomienda generar un plan de manejo que incluya la problemática del cancro, que propicie menos pérdidas económicas en las inversiones gubernamentales o privadas realizadas en las áreas verdes.
- Se considera de primera importancia realizar estudios en torno a las patologías humanas que puede generar este hongo. Dado, que el hongo estudiado se ha reportado como oportunista para el ser humano, y reportado como causante de Rinosinusitis en Irán (Bakhshizadeh et al., 2014), también Feohifomicosis subcutánea (Khan et al., 2009), feohifomicosis cerebral (Mani et al., 2008), onicomicosis (Lacaz et al., 1999) entre otras enfermedades, por lo cual, se tiene que hacer algo a la brevedad posible. Además de lo anterior, en Mexicali se tienen reportes del incremento en el número de enfermedades en las vías respiratorias debido a la presencia de hongos en el ambiente, principalmente asma infantil (De la Fuente-Ruiz et al., 2009), no reporta a *N. dimidiatum* pero se intuye que puede contribuir al desarrollo de este grupo de afectaciones.

- Debido a la importancia de la problemática, es de primera importancia generar conocimiento de los factores que están implicados en el desarrollo de la enfermedad, para así poder generar acciones reales y significativas para mitigar esta problemática que afecta a la vegetación arbórea del municipio de Mexicali, B. C.

GLOSARIO

ADN: Ácido desoxirribonucleico, material hereditario de las células y de algunos virus (Madigan et al., 2004).

Cancro: Lesión necrótica y con frecuencia profunda que se produce en el tallo, ramas o ramitas de una planta (Agrios, 1995).

Cepa: Progenie de un solo aislamiento en un cultivo puro; aislado; grupo de aislados similares; una raza (Agrios, 1995).

Colonia: Conjunto de hifas que crecen a partir de un único punto y forman un talo discoidal o globoso (Alexopoulos y Mims, 1985).

Cultivo: Crecimiento artificial de microorganismos o tejidos vegetales en un medio nutritivo preparado; colonia de microorganismos o células vegetales mantenidos artificialmente en dicho medio nutritivo (Agrios, 1995).

Conidio (conidiospora): Espora asexual de un hongo formada en el extremo de un conidióforo (Agrios, 1995).

Conidióforo: Hifa especializada sobre la cual se forman uno o más conidios (Agrios, 1995).

Didimospora: Conidio dividido en dos células (Barnett & Hunter, 1987).

Dimórfico: Hongo capaz de crecer en forma de levadura o en forma micelial (Alexopoulos y Mims, 1985).

Doliforme: Que tiene la forma de barril (Clark y Moyer, 1991).

Enfermedad: Cualquier mal funcionamiento de las células y tejidos del hospedante, que resulta de la irritación continua por un agente patogénico o factor ambiental y que lleva al desarrollo de síntomas (Agrios, 1995).

Esporodoquio: Estructura fructífera que consta de un racimo de conidióforos entretreídos que forman una masa de hifas (Agrios, 1995).

Esterilización: Eliminación de los patógenos y otros organismos vivos del suelo, recipientes, etc., mediante calor o sustancias químicas (Agrios, 1995).

Flocoso: Flojamente algodonoso o lanoso (Romero-Cabello, 2007).

Hospedador: Organismo que alberga a un parásito (Madigan et al., 2004).

Inoculación: Arribo o transferencia de un patógeno sobre su hospedante (Agrios, 1995).

Micelio: Hifa o masa de hifas que constituyen el soma de un hongo (Agrios, 1995).

Oblongo: aproximadamente el doble de largo que ancho, con extremos embotados (Barnett & Hunter, 1987).

Patógeno: Entidad que causa enfermedad (Agrios, 1995).

Septado: Que tiene septos o paredes transversales (Agrios, 1995).

Septo: Pared transversal de las hifas o esporas (Agrios, 1995).

Signo: Patógeno o sus partes o productos que se observan sobre una planta hospedante (Agrios, 1995).

Síntoma: Reacciones o alteraciones internas y externas que sufre una planta como resultado de su enfermedad (Agrios, 1995).

Susceptibilidad: Incapacidad de una planta para resistir el efecto de un patógeno u otro factor perjudicial (Agrios, 1995).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G. N. 1995. Fitopatología. Editorial Limusa S.A. De C.V., 2da reimpresión. México. 838 pp.
- Alexopoulos, C. J. y C. W. Mims. 1985. Introducción a la Micología. Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España, 638 pp.
- Bakhshizadeh, M., H. R. Hashemian, M. J. Najafzadeh, S. Dolatabadi and Hossein Zarrinfar. 2014. First report of rhinosinusitis caused by *Neoscytalidium dimidiatum* in Iran. Journal of Medical Microbiology 63 (7): 1017–1019.
- Barnett, H. L. & B. B. Hunter. 1987. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Macmillan Publishing Company. 4th ed. United States of America. 218 p.
- Campbell, C. K., E. M. Johnson and D. W. Warnock. 2013. Identification of Pathogenic Fungi. Wiley-Blackwell. 2nd edition. Oxford, UK. 348 pp.
- Clark, C. A. y J. W. Moyer. 1991. Compendio de enfermedades de la Batata (camote, Boniato). Centro Internacional de la Papa. Lima, Perú, 97 pp.
- Crous, P. W., W. Gams, J. A. Stalpers, V. Robert and G. Stegehuis. 2004. MycoBank: an online initiative to launch mycology into the 21st century. Studies in Mycology 50: 19–22
- Crous, P. W., B. Slippers, M. J. Wingfield, J. Rheeder, W. F. O. Marasas, A. J. L. Phillips, A. Alves, T. Burgess, P. Barber and J. Z. Groenewald. 2006. Phylogenetic lineages in the *Botryosphaeriaceae*. Studies in Mycology, 55: 235–253.
- Datta, R. K. 2000. Mulberry Cultivation and Utilization in India. Central Sericultural Research & Training Institute, Central Silk Board. FAO Electronic Conference on Mulberry for animal production (*Morus1-L*). Central Sericultural Research & Training Institute. Central Silk Board, Srirampura. Mysore, India. 24 pp. Available at: <<http://www.fao.org/livestock/agap/frg/mulberry/Papers/PDF/Datta.pdf>>.
- De la Fuente-Ruiz, R. A., M. Quintero-Núñez, S. E. Ahumada & R. O. García. 2009. The relationship between air pollution caused by fungal spores in Mexicali, Baja California, Mexico, and the incidence of childhood asthma. In: C. A. Brebbia & V. Popov. WIT Transactions on Ecology and the Environment. Modelling, monitoring and management of air pollution International Conference, 17th. Air Pollution XVII 123: 309-318.
- Dueñas-García, J. M., T. Shagarodsky; J. A. Fresneda; Y. Hernández-Fundora y J. González. 2005. Caracterización de especies del género *Fusarium* en el cultivo del garbanzo (*Cicer arietinum*) en las provincias Ciudad Habana y la Habana. Agrotecnia de Cuba, número especial.

- Elshafie, A.E. and O. M. M. Ali. 2005. First report of *Ficus benghalensis* dieback by *Scytalidium dimidiatum* in Sudan. *Phytopathologia Mediterranea* 44 (1): 80–81.
- Elshafie, A.E. & T. Ba-Omar. 2002. First report of *Albizia lebbeck* dieback caused by *Scytalidium dimidiatum* in Oman. *Mycopathologia* 154 (1): 37–40.
- Farr, D. F., M. Elliott, A. Y. Rossman and R. L. Edmonds. 2005. *Fusicoccum arbuti* sp. nov. causing cankers on Pacific madrone in western North America with notes on *Fusicoccum dimidiatum*, the correct name for *Scytalidium dimidiatum* and *Nattrassia mangiferae*. *Mycologia*, 97 (3): 730–741 pp.
- García-Cueto, O. R., A. Tejeda-Martínez and Bojórquez-Morales. 2009. Urbanization effects upon the air temperature in Mexicali, B. C., México. *Atmósfera* 22 (4): 349-365.
- Geilfus, F. 1994. El árbol al servicio del agricultor. Manual de agroforestería para el desarrollo rural. Vol. 2. Guía de especies. Numero 9 de Serie técnica: Manual técnico. Enda-Caribe/ CATIE. 2da edición. Costa Rica. 778 pp.
- Gordillo-Ulloa, C. C., M. Torres-García y V. Vital Franco. 2005. Guía de Forestación para el Municipio de Mexicali, B. C. Dirección de Ecología Municipal. Mexicali B. C. 64 pp.
- Holliday, P. 1980. *Fungus Diseases of Tropical Crops*. Cambridge University Press. Cambridge, England 607 pp.
- Jackson, D., N. E. Looney, M. Morley-Bunker and G. Thiele. 2011. *Temperate and Subtropical Fruit Production*. 3rd edition. CABI, United Kingdom, 327 p.
- Khan, Z. U., S. Ahmad, L. Joseph and R. Chandy. 2009. Cutaneous phaeohyphomycosis due to *Neoscytalidium dimidiatum*: First case report from Kuwait. *Journal de Mycologie Médicale* 19 (2): 138-142.
- Lacaz, C. S., A. D. Pereira, E. M. Heins-Vaccari, L. C. Cucé, C. Benatti, R. S. Nunes, N. T. de Melo, R. S. de Freitas-Leite & G. L. Hernández-Arriagada. 1999. Onychomycosis caused by *Scytalidium dimidiatum*. Report of two cases. Review of the taxonomy of the synanamorph and anamorph forms of this coelomycete. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo* 41 (5): 319-323.
- Ley-García, J., F. M. Denegri de Dios, O. R. García-Cueto, F. R. Venegas-Cardoso† y M. J. Ochoa-García. 2011. Atlas de riesgos del municipio de Mexicali. Actualización 2011. Mexicali: UABC- XX Ayuntamiento de Mexicali-Sedesol. 304 pp.
- Little, E. L., F. H. Wadsworth y J. Marrero. 2001. Árboles comunes de Puerto Rico y las Islas Vírgenes. 2da edición. Editorial de la Universidad de Puerto Rico. Puerto Rico. 764 pp.

Madigan, M. T., J. M. Martinko y J. Parker. 2004. Brock, Biología de los Microorganismos. Pearson Educación, 10ma ed. Madrid, España, 1011 pp.

Mani, R. S., Y. T. Chickabasaviah, S. Nagarathna, A. Chandramuki, M. R. Shivprakash, J. Vijayan, D. K. Prashantha, P. S. Vasudevan, A. Natarajan and J. Kovoov. 2008. Cerebral phaeohyphomycosis caused by *Scytalidium dimidiatum*: a case report from India. Medical Mycology 46 (7): 705-711.

Manner, H. I., R. S. Buker, V. Easton-Smith, and C. R. Elevitch. 2006. *Citrus* (citrus) and *Fortunella* (kumquat), Rutaceae (rue family). ver. 2.1. In: Elevitch, C.R. (ed.). Species Profiles for Pacific Island Agroforestry. Permanent Agriculture Resources (PAR), Hōlualoa, Hawai'i. Available at: <<http://www.traditionaltree.org>>.

Martin, K. J., and P. T. Rygiewicz. 2005. Fungal-specific PCR primers developed for analysis of the ITS region of environmental DNA extracts. BMC Microbiol. 5: 28.

Martínez S. T. y C. Y. Soto. 1993. Extracción de ADN de *Fusarium oxysporum f.sp. Dianthi*. Revista Colombiana de Química, Bogota, Colombia 22 (1): 79-88.

Martínez-Alfaro, M. A., V. Evangelista-Oliva, M. Mendoza-Cruz, G. Morales-García, G. Toledo-Olazcoaga y A. Wong-León. 2001. Catálogo de plantas útiles de la sierra norte de Puebla, México. Cuadernos del Instituto de Biología 27. 2da edición. Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F. 303 pp.

Mayorquin, J. S., A. Eskalen, A. J. Downer, D. R. Hodel, and A. Liu. 2012. First Report of Multiple Species of the Botryosphaeriaceae Causing Bot Canker Disease of Indian Laurel-Leaf Fig in California. Plant Disease 96 (3): 459-459.

Mora-Castillo. J. R. 2001. Control biológico de la pudrición radicular por *Fusarium oxysporum* en semilleros de café usando endomicorriza y *Trichoderma harzianum*. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Agrónomo. Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. Zamorano, Honduras. 25 pp.

Natrass, R. M. 1933. A new species of *Hendersonula* (*H. toruloidea*) on deciduous trees in Egypt. Transactions British Mycological Society. 18: 189-197.

Olsen, M. W., and D. J. Young. 1998. Sooty Canker. Plant Disease Management: Horticultural Crops. Cooperative Extension, College of Agriculture & Life Sciences, The University of Arizona. Available at: <<http://ag.arizona.edu/pubs/crops/az1032.pdf>>.

Olsen, M. 1999. Diseases of Urban Plants in Arizona. Plant Disease Publications. Cooperative Extension, College of Agriculture & Life Sciences, The University of Arizona. 27 pp. Available at: <<http://ag.arizona.edu/pubs/diseases/az1124.pdf>>.

Olsen, M., M. Matheron, M. McClure and Z. Xiong. 2000. Diseases of Citrus in Arizona. Plant Disease Publications. Cooperative Extension, College of Agriculture & Life Sciences, The University of Arizona. Available at: <<http://cals.arizona.edu/pubs/diseases/az1154.pdf>>.

- Olsen, M. 2003. Diseases of mulberry (*Morus*) in Arizona. Plant Disease Publications. Cooperative Extension, College of Agriculture & Life Sciences, The University of Arizona. Available at: <<http://ag.arizona.edu/PLP/plpext/diseases/trees/mulberry/mulberrysoot.html>>.
- Oren, Y., A. Sadowsky, D. Gefen, Z. Solel and M. Kimchy. 2001. *Scytalidium* wilt of citrus. European Journal of Plant Pathology 107: 467–470.
- Orwa C., A. Mutua, R. Kindt, R. Jamnadass and S. Anthony. 2009. *Morus nigra* L., Moraceae. Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0. Available at: <http://www.worldagroforestry.org/treedb2/AFTPDFS/Morus_nigra.pdf>.
- Padin, C., G. Fernández-Zeppenfeldt, F. Yegres y N. Richard-Yegres. 2005. *Scytalidium dimidiatum*: hongo oportunista para el hombre y árboles de *Mangifera indica* en Venezuela. Revista Iberoamericana de Micología 22: 172-173.
- Pavlic, D., M. J. Wingfield, P. Barber, B. Slippers, G. E. St. J. Hardy and T. I. Burgess. 2008. Seven new species of the Botryosphaeriaceae from baobab and other native trees in Western Australia. Mycologia 100 (6): 851-866.
- Penzig, A. J. O. 1882. Funghi agrumicoli: Contribuzione allo studio dei funghi parassiti degli agrumi. Michelia. 2 (8): 385-508 pp.
- Phillips, A. J. L., B. Slippers, J. Z. Groenewald and P. W. Crous. 2013. Plant pathogenic and endophytic *Botryosphaeriales* known from culture. Studies in Mycology 76. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands. 167 pp.
- Polizzi, G., D. Aiello, I. Castello, A. Vitale, J. Z. Groenewald and P. W. Crous. 2011. Occurrence, Molecular Characterisation, and Pathogenicity of *Neoscytalidium dimidiatum* on Citrus in Italy. In: Proceedings of the II International Symposium on Citrus Biotechnology, ISHS Acta Horticulturae 892: pp. 237-243.
- Ray, J. D., T. Burgess and V. M. Lanoiselet. 2010. First record of *Neoscytalidium dimidiatum* and *N. novaehollandiae* on *Mangifera indica* and *N. dimidiatum* on *Ficus carica* in Australia. Australasian Plant Disease Notes, 5: 48–50
- Reckhaus, P., and I. Adamou. 1987. Hendersonula Dieback of Mango in Niger. Plant Disease. 71 (11): 1045-1045.
- Rico-A. L. 2011. Próximos cambios en la nomenclatura de algas, hongos y plantas. Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica 46 (3-4): 381-385 pp.
- Romero-Cabello, C. 2007. Microbiología y parasitología humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. Editorial Médica Panamericana, 3ra edición. México, D. F., 1000 pp.

Sutton, B. C. and B. J. Dyko 1989). Revision of *Hendersonula*. Mycological Research 93: 466-488.

Tan, H. T. W., C. K. Yeo & A. B. C. Ng, 2009. Native and Naturalised Biodiversity for Singapore Waterways and Water Bodies No. 1. *Ficus microcarpa*, Malayan Banyan. Raffles Museum of Biodiversity Research, Department of Biological Sciences, National University of Singapore, and Singapore-Delft Water Alliance, Faculty of Engineering, National University of Singapore, Singapore, 22 p.

Thakur, B., G. Pomeroy, C. Cusack and S. K. Thakur. 2007. City, Society, and Planning: Planning. Volumen 3 de City, Society, and Planning: Essays in Honour of Professor A.K. Dutt, Association of American Geographers. Regional Development and Planning Specialty Group. Concept Publishing Company. New Delhi, India, 506 p.

Timmer, L. W., S. M. Garnsey y J. H. Graham. 2002. Plagas y enfermedades de los cítricos. The American Phytopathological Society. 2da edición ilustrada. Ediciones Mundi-Prensa Libros. Madrid, España. 95 pp.

Tsahouridou, P. C. and C. C. Thanassouloupoulos. 2000. First Report of *Hendersonula toruloidea* as a Foliar Pathogen of Strawberry-tree (*Arbutus unedo*) in Europe. Plant Disease. 84 (4): 487-487.

Turini, T. 2001. Sooty canker: What it is, what to do. Imperial Valley Press Online - University of California-Imperial County Cooperative Extension. November 05, 2001. Available at: <http://articles.ivpressonline.com/2001-11-05/tree-canopy_24202706>.

Vázquez-Yanes, C., A. I. Batis-Muñoz, M. I. Alcocer-Silva, M. Gual- Díaz y C. Sánchez-Dirzo. 1999. Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. Reporte técnico del proyecto J084. CONABIO - Instituto de Ecología, UNAM. Disponible en: <http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/J084_Fichas%20de%20Especies.pdf>.

ANEXOS

Determinación de los agentes causales asociados al cancro carbonoso que afectan la vegetación arbórea urbana de Mexicali B. C., México.

Las enfermedades generadas por hongos en la vegetación arbórea urbana de Mexicali, B. C., México, constituyen una seria problemática. Destacando la enfermedad conocida como cancro carbonoso, la cual es generada por una serie de agentes causales que es necesario determinar con precisión para poder erradicarlos satisfactoriamente. Al respecto, no se cuentan con estudios referenciales de esta enfermedad en la región y los estudios más próximos a la zona de estudio corresponden los trabajos realizados en Arizona, USA, por Olsen ,1999 y Olsen et al., 2000, quienes determinaron una enfermedad conocida como cancrrosis de hollín, causada *Hendersonula toruloidea*, en la corteza de árboles dañados por congelación, quemaduras de sol y daños mecánicos. Por lo que el presente trabajo está centrado en la determinación de estos agentes causales a través de: técnicas de biología molecular, caracterización micro-morfológica de esporóforos y observación de sus signos.

Determinándose hasta el momento como principales agentes causales a: *Hendersonula toruloidea*, *Botrytis* spp., *Memnoniella* spp., *Trichotecium* spp., *Verticillum* spp. y *Fusarium* spp., los cuales afectan principalmente a cítricos y a moreras. Observándose que los troncos y ramas con estrés hídrico y desecación son más susceptibles a la infección, en los cuales se manifiestan como áreas negruzcas debajo de la corteza y en la superficie de las heridas.

Bibliografía:

Olsen, M., Matheron, M., McClure, M. & Xiong Z. 2000. Diseases of Citrus in Arizona. Plant Disease Publications, The University of Arizona.

Olsen, M. 1999. Diseases of Urban Plants in Arizona. Plant Disease Publications, The University of Arizona.



Asociación
Latinoamericana
de Micología



VII CONGRESO
LATINOAMERICANO
DE MICOLOGÍA



UNIVERSIDAD DE
COSTA RICA

Confieren el presente
Certificado de participación a:

**José Alfredo Ríos Bernal, Nahara Ernestina Ayala Sánchez
Raquel Muñiz Salazar**

en el Poster

Determinación de los agentes causales asociados al cancro carbonoso
que afectan la vegetación arbórea urbana de Mexicali B.C., México

SAN JOSÉ, COSTA RICA

Del 18 al 21 de julio de 2011



J. H. Jensen

Julieta Carranza V.

Dr. Henning Jensen P.
Vicerrector de Investigación

Dra. Julieta Carranza V.
Presidenta de la ALM



DETERMINACIÓN DE LOS AGENTES CAUSALES ASOCIADOS AL CANCRO CARBONOSO QUE AFECTAN LA VEGETACIÓN ARBÓREA URBANA DE MEXICALI B. C., MÉXICO.

Ríos-Bernal, J. A. (1,2), N. Ayala-Sánchez (1) y R. Muñoz-Salazar (2).

(1) Laboratorio de Micología Aplicada. Facultad de ciencias. Universidad Autónoma de Baja California. Campus Ensenada. Km. 103 Carretera Tijuana – Ensenada. C.P. 22860. Ensenada, Baja California.
 (2) Laboratorio de Ecología y Epidemiología Molecular. Escuela de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma de Baja California. Unidad Valle Dorado. Campus Ensenada. Blvd. Zertuche y Blvd. de los Lagos s/n Fracc. Valle Dorado. C.P. 22890. Ensenada, Baja California

Introducción.

La afección que se ocasiona por hongos en la vegetación arbórea urbana de Mexicali B. C., México, genera una severa problemática. Una de estas enfermedades es el cancro carbonoso, con una etiología compleja dado el número de agentes causales de la enfermedad, los cuales deben ser determinados para disminuir la incidencia del daño que produce.

Metodología.

Las muestras fueron colectadas en la Ciudad y Valle de Mexicali, varias de las muestras se utilizaron para realizar cultivos en PDA y MEA, además en medio húmedo.



MEA: Miel Extract Agar (Extracto de Miel y Agar)
 PDA: Póstrato Dextrina-Agar (Agar de dextrina y papa)

Resultados.

La identificación de los agentes causales se realizó mediante la caracterización micro-morfológica de esporóforos y observación de sus signos típicos directamente de árboles infectados.



Al respecto, en la actualidad, no se cuenta con referencias respecto a la enfermedad en la región; las investigaciones más próximas al área de estudio son los de Olsen, 1999, Olsen *et al.*, 2000 y Olsen, 2003 quienes detectaron en varias especies de árboles como agente causal a *Hendersonula toruloides*, productor de la enfermedad denominada cancrrosis de hollín, caso en el cual, los árboles presentaban daños por congelación, quemaduras de sol y daños mecánicos en Arizona.

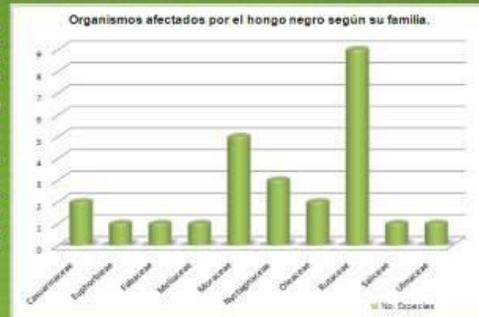
Área de Estudio.

La ciudad de Mexicali se encuentra ubicada al noreste de Baja California, México, entre los 30° 51' y 32° 44' de latitud norte; 114° 43' y 115° 51' de longitud oeste, una altitud que fluctúa entre los -2 hasta los 45 metros sobre el nivel del mar. Mexicali presenta un clima árido – desértico, con variabilidad térmica extrema, alcanzando temperaturas máximas hasta de 54° C en verano y mínimas hasta de -7° C en invierno. La precipitación promedio anual es de 75 mm (García-Cueto *et al.*, 2007; Corona-Zambrano, 2009).



También se identificaron las especies de árboles que han manifestado la sintomatología del hongo negro, en la ciudad de Mexicali se ha manifestado principalmente en: *Ficus benjamina*, *Ficus thonningii* (*Ficus microcarpa*) y *Ulmus spp.*.

En el Valle de Mexicali se ha presentado una alta incidencia en: *Citrus spp.* (varias especies), *Ficus carica*, *Fraxinus spp.*, *Morus alba*, *Morus nigra* y *Populus spp.*, y especies de arbustos como: *Bougainvillea glabra* y *Bougainvillea spectabilis*.



Conclusiones.

Hasta el momento se ha determinado como principales agentes causales del hongo negro es: *Hendersonula toruloides*, *Botrytis spp.*, *Memnoniella spp.*, *Trichothecium spp.*, *Verticillium spp.* y *Fusarium spp.*, los cuales afectan principalmente a *Citrus spp.*, *Ficus spp.*, y a *Morus spp.* Observándose en los troncos y ramas con estrés hídrico una desecación con manifestación negraza debajo de la corteza y en la superficie de las heridas.

Bibliografía.

- Corona-Zambrano, J. A. 2009. Las redes de la plantación urbana ante la contaminación atmosférica: El caso de la ciudad de Mexicali, B.C. XVII Reunión Nacional del capítulo SCLPER-México. La Práctica de la Plantación en el contexto de la Sustentabilidad. Sociedad Latinoamericana de Percepción Remota y Sistemas de Información Espacial. 28-31 de octubre, 2009. Mexicali B.C., México. 10 pp.
 - García-Cueto, G. R., E. Saenz-Gutiérrez, D. Tiznado and A. Tejeda-Martínez. 2007. Detection of the urban heat island in Mexicali, B.C., Mexico and its relationship with land use. *Atmosfera* 20(5): 111-121.
 - Olsen, M. Diseases of mulberry (*Morus*) in Arizona. 2003. Plant Disease Publications, Cooperative Extension, College of Agriculture & Life Sciences, The University of Arizona.
 - Olsen, M., Matheron, M., McClure, M. & Xiong, Z. 2000. Diseases of Citrus in Arizona. Plant Disease Publications, The University of Arizona.
 - Olsen, M. 1999. Diseases of Urban Plants in Arizona. Plant Disease Publications, The University of Arizona.

VII Congreso Latinoamericano de Micología
 San José, Costa Rica. Del 18 al 21 de julio de 2011