

SEP



SUBSECRETARÍA DE EDUCACIÓN SUPERIOR

SECRETARÍA DE
EDUCACIÓN PÚBLICA



INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CONKAL

DIAGNÓSTICO E IDENTIFICACIÓN DE ENFERMEDADES Y PLAGAS DEL RAMÓN (*Brosimum alicastrum* Swarts)

TESIS

Que presenta:

EMY GUADALUPE HUCHIN POOT

Como requisito parcial para obtener el título de:

LICENCIADA EN BIOLOGÍA

Conkal, Yucatán, México
2012

La presente Tesis fue realizada por Emy Guadalupe Huchin Poot, pasante de la carrera de Licenciatura en Biología, con especialidad en Parasitología Agrícola y con número de control 06800244, dirigida y revisada por el jurado que fue asignado en su oportunidad, y cuyos integrantes firman su consentimiento para que este trabajo sea presentado como requisito parcial para la Titulación de acuerdo con la opción I del Manual de Procedimientos de Titulación y con las bases normativas vigentes.

PRESIDENTE

DR. JAIRO CRISTÓBAL ALEJO

SECRETARIO

ING. FRANCISCO JAVIER NAVA GUIZAR

VOCAL

M.C. FRANCISCO ALFONSO LARQUÉ SAAVEDRA

Conkal, Yuc., Septiembre 2012

AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme dado la vida, sabiduría, fortaleza y paciencia; principalmente por mi familia que siempre me ha apoyado, por haber puesto en mi camino a amigos, compañeros y personas que me han brindado su apoyo, conocimiento y sobre todo su amistad, y la oportunidad de alcanzar una meta más en mi vida.

Al Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán, por brindarme los conocimientos necesarios para una formación profesional y conducirme hacia el éxito.

Al maestro Nava y Jairo por la revisión, las observaciones de este documento y por su amistad, conocimientos y consejos brindados durante mi estancia en esta institución y para la realización de este trabajo.

Al Dr. Alfonso Larqué por permitirme participar en este proyecto, por sus observaciones y opiniones acerca del trabajo y por el apoyo brindado.

Al Ing. Rodolfo Martín Mex por su apoyo, consejos, conocimientos brindados y su amistad, sobre todo por su codirección y sugerencias proporcionadas para la redacción, realización y revisión de este documento.

Al Centro de Investigación Científica de Yucatán (CICY), por brindarme las facilidades para realizar la tesis de licenciatura.

A Jonathan, Otilio y Carla quienes me apoyaron con la parte experimental del trabajo, por su paciencia, enseñanza y amistad.

A los alumnos de tesis de licenciatura y posgrado del laboratorio GeMBio quienes me brindaron su amistad incondicional, por sus consejos y conocimientos compartidos.

En general al personal del laboratorio GeMBio por haberme permitido formar parte de sus estudiantes y por sus conocimientos y apoyo brindados.

DEDICATORIAS

Principalmente a mis padres Gustavo y Emiliana a quienes amo profundamente y a quienes a pesar de mis terquedades siempre están conmigo apoyándome y dándome consejos, cariño, amor y todo para alcanzar mis metas.

A mi Familia en general que a pesar de las adversidades y problemas siempre me han apoyado y brindado más de lo que está en sus posibilidades, por sus consejos, paciencia y por darme tanto amor.

A mis amigos por una amistad tan linda, sus consejos y conocimientos que me brindan día a día

“Se dice que soñar y alcanzar una meta todos pueden, es cierto, se puede y todos podemos pero sin amor, cariño, amistad, consejos y conocimientos de los que nos rodean y nos quieren en realidad no es nada, pues ellos son los que nos impulsan a lograrlas en la vida”.....Gracias a todos por acompañarme en el sendero de la vida y espero siempre estén conmigo.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Origen y distribución del ramón	3
2.1.1. Distribución del ramón a nivel nacional	4
2.1.2. Distribución del ramón en la Península de Yucatán	5
2.2. Taxonomía	6
2.3. Características de la planta	6
2.3.1. Forma	6
2.3.2. Hojas	7
2.3.3. Flores	7
2.3.4. Frutos	8
2.3.5. Semillas	8
2.4. Fenología del ramón	9
2.5. Clima, topografía y suelos	9
2.6. Importancia del cultivo del ramón	10
2.7. Usos generales	12
2.8. Plagas y enfermedades del ramón	13
2.9. Diagnóstico	13
2.9.1. Métodos no moleculares o tradicionales	14
2.9.2. Métodos moleculares	15
III. OBJETIVO	17
3.1. Objetivo general	17
3.2. Objetivos específicos	17
IV. HIPÓTESIS	18
V. MATERIALES Y MÉTODOS	19
5.1. Localización del experimento	19
5.2. Colecta de material	19
5.3. Enfermedades	20
5.3.1. Aislamiento y purificación de los patógenos	20

5.3.2. Pruebas de patogenicidad	22
5.3.3. Identificación de los patógenos	23
5.4. Plagas	24
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	26
6.1. Colecta de material vegetal	26
6.2. Aislamiento y purificación	27
6.3. Descripción de los síntomas y agente causal	28
6.3.1. <i>Fusarium solani</i>	28
6.3.2. <i>Cladosporium cladosporioides</i>	30
6.3.3. <i>Alternaria alternata</i>	31
6.3.4. <i>Colletotrichum capsisci</i>	33
6.3.5. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	36
6.3.6. <i>Rhizoctonia solani</i>	37
6.3.7. <i>Aspergillus niger</i>	40
6.3.8. <i>Curvularia lunata</i>	42
6.4. Pruebas de patogenicidad	44
6.5. Colecta de insectos	47
VII. CONCLUSIONES	50
VIII. LITERATURA CITADA	51

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Síntomas de las muestras colectadas de ramón en los estados de Yucatán y Campeche.	26
2. Síntomas y agentes causales identificados de las muestras colectadas de ramón en los estados de Yucatán y Campeche.	27

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Distribución geográfica de <i>Brosimum alicastrum</i> en México.	4
2. Distribución de <i>B. alicastrum</i> en la Península de Yucatán.	5
3. Comparación nutritiva de semillas de ramón (<i>B. alicastrum</i>) con otros granos básicos consumidos actualmente.	11
4. Colecta de material vegetal y muestreo de insectos.	20
5. Cámaras húmedas para la inducción de crecimiento de las estructuras reproductoras de los patógenos.	21
6. Inoculación de plántulas por aspersion de conidios y plántulas en invernadero para la inducción de síntomas.	23
7. Preparación de laminillas semipermanentes para la identificación de los patógenos.	24
8. Insectos colectados conservados en alcohol al 70%	25
9. Características morfométricas de <i>F. solani</i>	29
10. Síntomas que presentaron las muestras colectadas en los sitios de colecta.	30
11. Características morfométricas de <i>C. cladosporioides</i> .	31
12. Síntomas en hojas de donde se aisló <i>A. alternata</i> .	32
13. Características morfométricas de <i>A. alternata</i> .	33
14. Síntomas presentes en las hojas colectadas y estructuras de <i>C. capsisci</i> .	34
15. Características morfométricas de <i>C. capsisci</i> .	35
16. Síntomas que presentaron las hojas de las cuales se aisló <i>C. gloeosporioides</i> .	36
17. Características morfométricas de <i>C. gloeosporioides</i>	37
18. Síntomas observados en las plántulas causados por <i>R. solani</i> .	38
19. Crecimiento inicial de <i>Rhizoctonia</i> en medio PDA.	39
20. Características morfométricas de <i>R. solani</i> .	39
21. Síntomas presentes en las hojas colectadas causadas por <i>A. niger</i> .	40

22. Características morfométricas de <i>A. niger</i> .	41
23. Plántula con un severo daño en hojas causado por <i>C. lunata</i> .	42
24. Características morfométricas de <i>C. lunata</i> .	43
25. Síntomas de las pruebas de patogenicidad y testigo correspondiente a <i>A. niger</i> .	44
26. Síntomas de las muestras colectadas de donde se aisló <i>A. niger</i> .	44
27. Síntomas observados en las pruebas de patogenicidad y testigo correspondientes a <i>C. capsici</i> .	45
28. Síntomas observados en las muestras colectadas pertenecientes a <i>C. capsici</i> .	45
29. Síntomas observados en pruebas de patogenicidad dando como resultado el aislamiento de <i>C. lunata</i> y testigo correspondiente.	46
30. Síntomas observados en las hojas colectadas donde se aisló <i>C. lunata</i>	46
31. Síntomas observados en las hojas inoculadas en las pruebas de patogenicidad y testigo correspondiente a <i>F. solani</i> .	47
32. Síntomas observados en las hojas colectadas de donde se aisló <i>F. solani</i> .	47
33. Características de ninfas y adultos de <i>L. zonatus</i> .	48
34. Ninfas y adultos de <i>L. zonatus</i> ocasionado daños en frutos de Ramón.	49

RESUMEN

El presente trabajo se desarrolló con el árbol conocido como Ramón (*Brosimum alicastrum*), el cual es usado como forraje para el crecimiento de animales principalmente en Mesoamérica. El fruto de este árbol también es consumido por lo menos por 50 especies de diferentes animales, incluyendo los seres humanos. El presente trabajo de investigación se estableció, dado que este árbol ha sido propuesto para ser probado en las plantaciones comerciales.

El principal interés de este trabajo fue estudiar los agentes patógenos de este árbol que podrían afectar a su progreso en las plantaciones comerciales y se llevó a cabo para conocer en primer lugar, los agentes patógenos y las plagas presentes en las plantas establecidas situadas en diferentes lugares de la Península de Yucatán. El material vegetal y los insectos fueron recolectadas y se llevaron al laboratorio para su aislamiento e identificación. Los patógenos aislados y plagas fueron identificados con el uso de técnicas morfométricas. Se aislaron ocho especies de hongos de siete géneros y una especie de insecto (*Leptoglossus zonatus*) que pertenecen a la *Coreidae* (*Hemimptera*) de la familia que dañó la fruta.

SUMMARY

The present work was carried out with a tree known as Ramón (*Brosimum alicastrum*) that is use as forage for animals that grows mainly in Mesoamerica. The fruit of this tree is as well consumed by at least 50 different species of animals including the humans. Since this tree has been proposed to be tested in commercial plantations, the present research work was set.

The main interest of this work was to study the pathogens of this tree that could affect its progress in commercial plantations. It was carried out as to know in the first place the pathogens and pest present in established plants located in different locations of the peninsula de Yucatan. .Plant material and insects of this tree were collected taken to the laboratory and using well known techniques the pathogens and insects were isolated and identified. It was found that eight species of fungi of seven genera were isolated and one species of insect (*Leptoglossus zonatus*) which belong to the *Coreidae* (*Hemimptera*) family that damaged the fruit.

I. INTRODUCCIÓN

El ramón (*Brosimum alicastrum* Swartz), es uno de los árboles dominantes de las selvas de México y Centroamérica, toma su nombre científico del griego *brosimos*, que significa comestible. En México y Guatemala se le conoce comúnmente como “ramón” (Meiners *et al.*, 2009). Es un árbol muy apreciado debido a la calidad de su forraje y a su disponibilidad durante la sequía (Ayala y Sandoval, 1995).

El ramón es un componente importante de las selvas, pero también es muy tolerante a la sequía y puede prosperar en micrositios húmedos dentro de regiones con poca humedad (Meiners *et al.*, 2009).

Actualmente la mayoría de la población desconoce la utilización de la semilla del árbol de ramón u ojoche (*B. alicastrum* Swartz) como comúnmente se le llama, el cual se utilizó como complemento alimenticio de las civilizaciones precolombinas (Alvarado *et al.*, 2006).

En la actualidad, el principal uso del ramón en la Península de Yucatán es como forraje, aprovechándose las hojas y ramas tiernas en la alimentación de los animales, las cuales pueden presentar entre 8% y 30% de proteína cruda (Pardo-Tejeda y Sánchez, 1980).

En el caso del Ramón, existen pocos reportes de plagas que causen daño en el árbol. Arguedas (2007) reporta a la familia *Cerambycidae* como plaga de este árbol en costa rica y en el Salvador, Serrano y Sermeño (2010), mencionan muerte de árboles por daños de barrenadores de tallos por coleópteros de la familia *Cerambycidae* (*Mallodon* sp. y *Acrocinus longimanus*) y por termitas de la familia *Rhinotermitidae* (*Coptotermes* sp.). En el caso de enfermedades, no existe ningún reporte por lo que con este proyecto se pretende generar información para que en proyectos futuros se tome como base, así como ofrecer opciones de manejo de plagas y enfermedades asociadas a esta especie.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Origen y distribución del ramón

El ramón es nativo de América tropical. Se extiende del sureste de México y gran parte de América Central, hasta Colombia, Perú, Venezuela y en las islas del Caribe: Cuba, Jamaica y Trinidad. La especie pertenece a bosques perennifolios húmedos o lluviosos y bosques semicaducifolios premontanos, así como en riberas en zonas semiáridas (Pennington y Sarukhan, 1968).

La investigación antropológica indica que *Brosimum alicastrum* fue uno de los principales medios de apoyo de los antiguos mayas, el cual cultivaban intensamente. Una de las características más destacadas de esta planta es que permanece verde durante la estación seca, siendo así la única fuente existente de forraje en muchos lugares. El nombre de *Brosimum*, viene del griego *Brosimos* que significa comestible (Peters y Pardo-Tejeda, 1982).

Se le conoce como: ox (Maya, Yucatán), ramón (Yucatán), a-agl (Tepehuanes, Durango), jash, oxotzin, ramón blanco, ramón colorado, ramón de naranjillo, moju, moju, osh, oxo, ram'on de hoja ancha (Chiapas), capomo, ash (Tzetal, Chiapas), axltab, ojito, ojoche (Veracruz), juksapuo, jushapu (Totonaca, Veracruz), mujcuji (Ppoluca, Veracruz), capacho, hairi, hairi-te (Huichol, Jalisco), huje (Michoacán), jauri (Cora, Nayarit), samaritan, samaritano, tlatlacotic, nazareno (Oaxaca), lan-fe-la (Chontal, Oaxaca), mojote (Colima),

ojosh, oshte, oxitle (San Luis Potosí), ramón de mico (Quintana Roo), tanumitajan (Mixteco), uji, oxotzzin, apomo (Sinaloa) (Ojeda, 1996).

2.1.1. Distribución del ramón a nivel nacional

Brosimum alicastrum es uno de las especies principales en selvas tropicales perenifolias y subperenifolias, bosques espinosos y en los matorrales xerófilos, crece en ambas costas, desde Sinaloa hasta Chiapas en el litoral del Pacífico, en el litoral del Golfo, desde Tamaulipas hasta Quintana Roo, también se le encuentra en la cuenca del Balsas de Michoacán hasta Morelos (Figura 1). A altitudes de 50–80 msnm (Rzedowski, 1963; Pennington y Sarukhan, 1968). En México *B. alicastrum* se le conoce con más de 50 nombres como por ejemplo, ramón (del verbo ramonear), ojite, ojoche y capomo. Su nombre maya es “ox”.



Figura 1. Distribución geográfica de *Brosimum alicastrum* en México (Pennington y Sarukhán, 2005).

2.1.2. Distribución del ramón en la Península de Yucatán

En el estado de Yucatán, el ramón tiene una distribución natural en la parte central, sur y oriente, ya que forma parte de la composición de la selva baja subcaducifolia y selva mediana subcaducifolia. En la actualidad, se pueden observar ejemplares en casi todo el territorio del estado, siendo parte importante de la estructura de los huertos familiares mayas en comunidades rurales y como árbol de ornato en parques, jardines y áreas verdes en las ciudades, por su follaje perenne (Peters y Pardo-Tejeda, 1982).

Las áreas con la mayor adaptabilidad del ramón se presentan en los estados de Yucatán, Quintana Roo y Sur de Campeche (Figura 2), de igual forma en el noroeste de Nayarit.

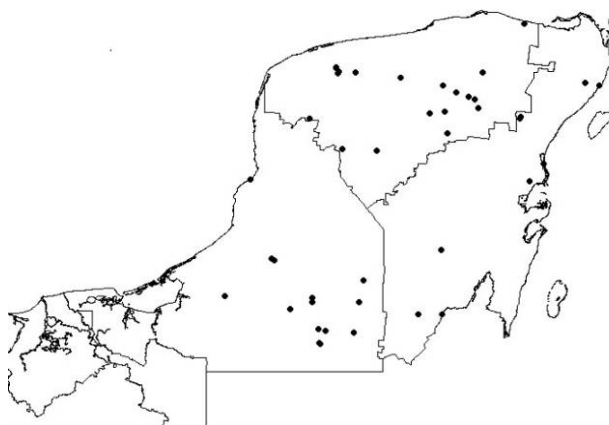


Figura 2. Distribución del ramón en la Península de Yucatán (Pennington y Sarukhán, 2005).

2.2. Taxonomía

Según el Instituto Nacional de Biodiversidad (1997) la clasificación botánica del Ramón es la siguiente:

Reino *Plantae*

División *Magnoliophyta*

Clase *Magnoliopsida*

Orden *Urticales*

Familia *Moraceae*

Género *Brosimum*

Especie *Brosimum alicastrum* Sw

2.3. Características de la planta

2.3.1. Forma

Árbol silvestre, ornamental, siempre verde, generalmente dioico que puede alcanzar alturas hasta de 30 a 45 m y de 1.5 m de diámetro, copa redondeada, piramidal y densa, follaje verde oscuro y denso, con ramas ascendentes; fuste recto, cilíndrico, su corteza externa es lisa en árboles jóvenes y escamosa en arboles adultos, delgada y clara (Petit, 2000), con tonos amarillentos, lenticelas redondeadas o más largas que anchas. La corteza interna de color crema amarillento, fibrosa a granular con abundante exudado lechoso, ligeramente dulce y pegajoso (López, 1993). Posee contrafuertes (ensanchamiento de la base del tronco) grandes y bien formados, de 1.5 a 4 m de alto, 6 a 10 por tronco, redondeados a ligeramente tubulares, aplanados

(Berg, 1972) sin embargo, geográficamente, las poblaciones de ramón despliegan una notable variación en altura, diámetro del tronco, apariencia de la corteza, fecha de floración y tamaño de la semilla (Meiners, 2009).

2.3.2. Hojas

Las hojas son alternas, simples; láminas de 7 a 14 cm de largo coriáceas, glabras, ovaladas-oblongas, algunas veces lanceoladas, de margen entero de color verde oscuro en el haz y en el envés de color verde grisáceo blanquecino por la presencia de numerosas escamas blancas entre el tejido de las nervaduras, glabras en ambas superficies, con una nervadura submarginal a lo largo de los bordes ápice agudo acuminado especialmente en las hojas jóvenes, la base es obtusa, aguda o truncada, tienen un peciolo corto, grueso de 0.5 cm de largo con estípulas puntiagudas, dejando una cicatriz que no rodea todo el tallo (Pardo-Tejeda y Sánchez, 1980; Aragón, 1990; Pennington y Sarukán, 2005).

Yemas hasta de 1 cm, agudas, cubiertas por una estípula muy aguda, verdes, glabras. Una estípula para cada hoja, hasta de 1 cm de largo; verde, glabra; caediza, dejando una cicatriz anular. En las axilas de cada peciolo hay una yema florígena (Aragón, 1990).

2.3.3. Flores

Sus inflorescencias se encuentran en cabezuelas axilares de 1 cm de diámetro, son globosas, pedúnculos de 1-5 mm de largo, glabros (Aragón, 1990), por lo general los sexos están separados, pero algunas veces se

encuentran casos de árboles monoicos, con inflorescencias inconspicuas subglobosas de color verdoso que consisten de varias flores masculinas y una sola femenina (Pardo-Tejeda y Sánchez, 1980; Díaz y Sosa, s/a). Flores unisexuales, solitarias y axilares. Las masculinas están reunidas en amentos globosos, compuestos de escamas peltadas persistentes en el fruto (Aragón 1990), carecen de corola. Las flores femeninas están en cabezuelas oblongas, ovals, con escamas más pequeñas. Flor estaminada amarilla, flor pistilada verde (Berg, 1972).

2.3.4. Frutos

Los frutos se originan en las axilas de las hojas, son drupas de sabor y olor dulce, casi redondo de color verde amarillento a anaranjado en completa madurez, su diámetro puede variar desde 1.5 hasta 2.5 cm, constan de pericarpio y mesocarpio un poco carnoso, cubierta en la superficie de numerosas escamas blancas, que apenas cae el fruto al suelo, se pudre y aparece una semilla (Aragón, 1990; Geilfus, 1994; Pennington y Sarukán, 2005).

2.3.5. Semillas

Semillas de 9 a 13 mm de largo por 16 a 20 mm de ancho, esféricas y aplanadas en ambos extremos, cubiertas de una testa papirácea de color moreno claro, con los cotiledones montados uno sobre el otro, verdes, gruesos y feculentos. La semilla fresca tiene 45 a 55% de humedad (Soihet y Méndez, 1997). Según Ramírez y Álvarez (1996), las semillas poseen una excelente capacidad germinativa, con un rango de 96.7% a 97.7% y un tiempo de germinación entre 8 y 25 días.

2.4. Fenología del ramón

Según López (1993) la planta del ramón se caracteriza por presentar las características fenológicas que a continuación se describen:

Follaje: perennifolio/caducifolio. Los árboles por lo general son perennifolios, pero caducifolios en las partes más secas de su distribución.

Floración: florece principalmente de octubre a febrero, pero se pueden encontrar flores fuera de esta época. En Tuxtla, Veracruz, florece de enero a mayo; en la Península de Yucatán, de enero a junio.

Fructificación: los frutos maduran de (febrero) marzo a mayo (junio). En la Península de Yucatán entre junio y septiembre. El desarrollo de los frutos es muy rápido (Martínez y González, 1997).

Polinización: anemófila (por viento). No existe evidencia de que algún agente biótico desempeñe la función de polinizador (Berg, 1972).

2.5. Clima, topografía y suelos

El ramón se encuentra en áreas muy húmedas de la zona tropical y subtropical en sitios con un nivel de precipitación de casi 600 mm anualmente, como en Tamaulipas (Martínez y González, 1997), hasta 4 000 mm, como en el norte de Chiapas y el sur de Tabasco (Pérez y Sarukian, 1970). Se encuentra

en áreas con una temperatura media anual de unos 18 a 25°C. Resiste la fuerza de los vientos fuertes de huracanes y vientos septentrionales fríos y a veces húmedos (Martínez y González, 1997).

En la Península de Yucatán (Cuanalo, 1964), la especie crece en suelos de tipo redzina, cuyos nombres locales son tzekel, kancab y bosh luum. Estos son entre varios tipos de suelo en los cuales el agua es el factor que determina el tipo de vegetación presente.

2.6. Importancia del cultivo del ramón

El ramón protege el suelo, los cuerpos de agua y la biodiversidad, también es una especie promisoría para la restauración. Las plántulas poseen características fisiológicas que le permiten establecerse en selvas secundarias (por ejemplo, acahuales o selvas perturbadas), donde la apertura del dosel y condiciones lumínicas son dinámicas; puede mantenerse por largos periodos en baja luminosidad con crecimiento lento y acelerar su desarrollo cuando se abre un claro en el dosel (Meiners *et al.*, 2009).

La especie exhibe un patrón de comportamiento típico de especie tolerante a la sombra. Constituye parte del dosel superior de la selva. Presenta una abundancia reducida en la comunidad, pero su papel en la dinámica y estructura de la misma puede ser importante. Bajo los árboles masculinos se ha presentado una elevada diversidad de plántulas sin que domine alguna especie. Esto sugiere que *B. alicastrum* favorece la regeneración de otras especies, facilitando la coexistencia de especies de árboles del dosel. Bajo la cobertura de los árboles femeninos de *B. alicastrum* se ha encontrado una baja diversidad de plántulas, la mayoría (>80%) de esta especie (Berg, 1972).

Es un árbol muy apreciado en la ganadería por poseer follaje con altos contenidos nutritivos para el ganado vacuno y caprino principalmente, así como por la excelente sombra que proporciona a lo largo de todo el año en parques, aceras, áreas verdes, escuelas y solares a lo largo y ancho del estado. También representa un elemento ecológicamente importante en la composición florística de las selvas baja y mediana, siendo sus hojas y frutos alimento para animales y aves silvestres (CONAFOR-CONABIO, 2006).

La semilla del ojushte es bajísima en grasa y abundante en proteínas y vitaminas si se compara con otros cereales (Figura 3), es rica en calcio, fibra, ácido fólico, triptófano (un relajante natural), y las vitaminas A, C, E, zinc, hierro, potasio y las del complejo B. De ésta puede producirse harina; al tostarla y molerla, se usa como sustituto del café; hervida, puede ingerirse como sustituto de la papa. En preparados alimenticios para animales, por ser alta en proteínas, carbohidratos y vitaminas, puede ser un sustituto parcial de granos comerciales como el sorgo (Núñez y Dhondt, 2009).

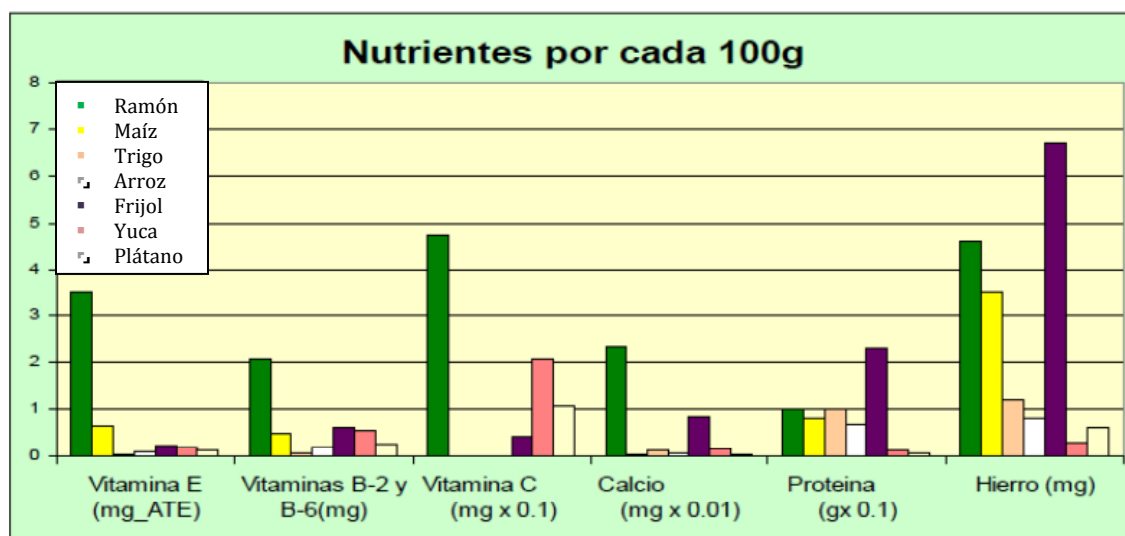


Figura 3. Comparación nutritiva de semillas de ramón (*B. alicastrum*) con otros granos básicos consumidos actualmente (Núñez y Dhondt, 2009).

2.7. Usos generales

Brosimum alicastrum es un árbol perenne con un historial de uso humano como un alimento que se extiende desde el período clásico maya hasta el presente. Históricamente, todas las partes de los árboles de ramón: frutos, semillas ("nuez"), corteza, madera, hojas, y látex, han sido utilizadas. La semilla, en particular, es ampliamente reconocida por su valor nutritivo. Además, diversas partes de la planta también se han utilizado en la medicina popular, con el uso de látex y/o de semillas como una decocción galactagogue (lactancia estimulante) más comúnmente citados (Morton, 1977).

El ramón es un árbol frondoso muy utilizado para ornato y sombra en los patios de las casas, parques y avenidas del estado de Yucatán, México. Es nativo del sureste de México y gran parte de América Central, aunque se le puede encontrar en el oeste de Jamaica y Cuba (Burns y Mosquera, 1988).

Pardo-Tejada y Sánchez, (1980) indicaron que con la pulpa del fruto, se pueden hacer mermeladas; las semillas asadas se comen a manera de castañas y si están hervidas se consumen como sustitutos de la papa. Tostadas y molidas, sustituyen al café. Es ingrediente de otros platillos y bebidas tanto dulces como salados, que constituyen sabrosos manjares.

El árbol, lo utilizan como ornamental, para cercas vivas, cortinas rompivientos, y como sombra para el cultivo del café; además se puede utilizar como combustible, para fabricar panales, mangos de herramientas, cajas de empaque y muebles para el hogar. También es sustituto de la madera de maple que se importa a Estados Unidos y Canadá (Pardo-Tejada y Sánchez, 1980; Geilfus, 1994).

2.8. Plagas y enfermedades del ramón

En la actualidad se desconoce el comportamiento y problemas de plagas y enfermedades que pudiera tener el ramón. Según Serrano y Sermeño (2010), en un informe realizado en el área natural protegida en El Salvador y Arguedaz (2007), en plagas y enfermedades forestales en Costa Rica, mencionan como plaga importante a la familia *Cerambycidae* del género *Mallodon* y a la familia *Rhinotermitidae* del género: *Coptotermes*. Actualmente no se encuentran referencias acerca de enfermedades en el ramón.

2.9. Diagnóstico

El diagnóstico de enfermedades no puede hacerse basándose solamente en los síntomas, aunque pueden hacerse algunas generalizaciones. Los síntomas causados por agentes infecciosos (hongos, bacterias, virus, nematodos) y no infecciosos (toxicidades, exceso o escasez de agua, contaminantes ambientales, acidez o alcalinidad del suelo) son similares. Un diagnóstico preciso sólo puede hacerse luego de evaluar la planta afectada por observación directa o cultivar los patógenos en medios específicos (Almodóvar, 1996).

La identificación adecuada de organismos patógenos de las plantas cultivadas es importante en la implementación de estrategias para el manejo y control de enfermedades (Weiland y Sundsbak, 2000). Según Pupiro *et al.*, (2003), el diagnóstico de las enfermedades de forma rápida y precisa evita el uso desmedido o incorrecto de compuestos químicos como plaguicidas.

La identificación y detección de organismos fitopatógenos se ha nutrido de la ciencia con nuevos conocimientos teóricos y prácticos; así, con el desarrollo de nuevos métodos y tecnologías que han llevado a separarlos en dos grandes grupos: métodos de diagnóstico tradicionales que aún se siguen utilizando y los nuevos métodos de diagnóstico moleculares, basados en la tecnología de los ácidos nucleicos (Cabezas, 2004).

2.9.1. Métodos no moleculares o tradicionales

La identificación de organismos fitopatógenos por medio de métodos tradicionales, incluye el aislamiento del patógeno y la caracterización de éstos a través de pruebas de patogenicidad y características morfológicas que son laboriosas, con un alto consumo de tiempo y propensas a errores si no se tiene la debida experiencia y cuidado (Alves *et al.*, 2002). Se pueden considerar dos fases:

Diagnóstico macroscópico el cual se basa en la observación de síntomas. Es muy importante la experiencia del fitopatólogo y su conocimiento de las variables que inciden en la enfermedad, como el cultivo a investigar, el suelo, clima, patógeno, etc. y el diagnóstico microscópico, que consiste en la observación de la estructuras del microorganismo fitopatógeno. Esta observación puede ser directamente al microscopio de luz, para el caso de las bacterias, hongos, nematodos o en el uso de microscopía electrónica para identificar a los virus. Para el diagnóstico de los hongos se necesita la formación de estructuras reproductivas, como esporas o conidios y cuando se trata de las bacterias, el proceso de identificación debe complementarse con pruebas bioquímicas (Flores-Olivas, 1997).

2.9.2. Métodos moleculares

Entre los métodos moleculares se encuentran los basados en la detección de proteínas y marcadores moleculares basados en ADN que a continuación se describirán brevemente.

Entre los métodos basados en la detección de proteínas se encuentran el uso de inmunoensayos en la detección de patógenos de plantas ha sido rutinario en los últimos años, especialmente en virus (Clark, 1981 y Millar, 1988). Entre los más usados están:

- ♦ Método por aglutinación: Consiste en hacer reaccionar cantidades equivalentes de los reactantes. La formación de gránulos aglutinados o agregados indican una reacción positiva. Las reacciones de aglutinación son menos específicas pues tienen la desventaja de depender grandemente de los factores físicos-químicos, tales como, concentración de electrolitos, pH, temperatura y tiempo.
- ♦ Técnica inmunoenzimática ELISA: El ensayo se basa en la interacción específica de un antígeno (patógeno) y un anticuerpo. Es un método rápido de gran sensibilidad, especificidad y bajo costo, que supera a muchas técnicas de diagnóstico empleadas. Existen diferentes variantes de la técnica de ELISA, todas basadas en el mismo principio. El tipo de técnica y anticuerpo a emplear dependerá del objetivo de la aplicación (campo, laboratorio), tipo de muestra (suelo, agua, tejido) y nivel de sensibilidad y rapidez requerida. La técnica ELISA con sandwich de doble anticuerpo es una de las más empleadas, en este caso el antígeno es ubicado entre dos anticuerpos específicos, el de captura y el de marcaje, este último está conjugado a una enzima y puede cuantificarse

en el espectrofotómetro. Esta técnica es de gran utilidad en la detección de patógenos de mezclas complejas, tales como, suelo, extractos de plantas, etc. (Clark, 1981; Millar, 1988).

Según Pupiro *et al.*, (2003), el uso de marcadores moleculares es importante en la caracterización genética de las plantas, donde no solamente se identifican genótipicamente los materiales, sino que se establecen relaciones citogenéticas entre los mismos, permitiendo el diseño de mejores estrategias de selección y mejoramiento genético.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR): Es uno de los métodos moleculares de mayor eficiencia en el diagnóstico de enfermedades vegetales. Es utilizada en la detección de patógenos en semillas, el cultivo de tejidos, detección de toxinas y residuos de pesticidas (Alaniz, 2011). Una de las ventajas sobre los métodos tradicionales es que no se necesita cultivar los organismos antes de la detección.

La elección del método de análisis dependerá del organismo estudiado y sobre todo de su variabilidad genética, para delimitar especies o grupos dentro de especies se han utilizado ampliamente marcadores de tipo proteínas o isoenzimas. Las técnicas basadas en el análisis comparado del tamaño de los fragmentos de ADN permiten distinguir aislamientos específicos (Baró, 1998).

III. OBJETIVO

3.1. Objetivo general

Identificar los patógenos e insectos plagas asociados al cultivo del ramón (*Brosimum alicastrum* Swarts) en Campeche y Yucatán.

3.2. Objetivos específicos

Aislar y purificar los agentes causales de las enfermedades del ramón.

Identificar mediante técnicas tradicionales (claves morfométricas) los patógenos y plagas que afectan al ramón.

IV. HIPÓTESIS

Las enfermedades y plagas de *B. alicastrum* Swats, encontradas en los estados de Yucatán y Campeche son totalmente diferentes.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Localización del experimento

El proceso de aislamiento, purificación e identificación de los patógenos de los tejidos con síntomas de enfermedades y las plagas colectadas de las plantas de ramón, se realizaron en el Área de Micología del Laboratorio GeMBio del Centro de Investigación Científica de Yucatán el cual se encuentra ubicado en la calle 43 No 130, Col. Chuburná de Hidalgo, Mérida, Yucatán, México.

5.2. Colecta de material

Se colectaron muestras de hojas y tallos con síntomas de enfermedades en plantas de ramón (Figura 4) en los estados de Yucatán (Motul y Mérida) y Campeche (Santa Rosa Xtampak). Las muestras colectadas se colocaron en bolsas de plástico, se etiquetaron y llevaron al laboratorio GeMBio, del CICY, para su estudio y análisis.



Figura 4. Colecta de material vegetal y muestreo de insectos.

5.3. Enfermedades

5.3.1. Aislamiento y purificación de los patógenos

Para el aislamiento de los patógenos en las muestras colectadas se hicieron cámaras húmedas de la siguiente manera:

Las muestras colectadas, se lavaron con detergente comercial, se enjuagaron con agua de la llave y se secaron con papel absorbente, enseguida, las muestras se trasladaron a la campana de flujo laminar previamente desinfectado con hipoclorito de sodio comercial al 2% y alcohol al 70% y con la ayuda de un bisturí estéril se cortaron secciones de los tejidos de 1x1 cm que incluyeron partes con síntomas y sin síntomas de enfermedades. Para la desinfección de las secciones, se colocaron en un recipiente con una solución de hipoclorito de sodio al 2% en el que se sumergieron los tejidos durante un minuto con agitación constante, posteriormente las muestras se enjuagaron por

duplicado con agua destilada estéril para eliminar el exceso de hipoclorito de sodio comercial, con la ayuda de una pinza de relojero, se retiraron de las soluciones y se colocaron sobre papel absorbente estéril para eliminar el exceso de agua, posteriormente los tejidos seccionados se depositaron en cajas de petri con papel absorbente húmedo (Figura 5) (Cedeño, 1993; Dhingra y Sinclair, 1995).



Figura 5. Cámaras húmedas para la inducción de crecimiento de las estructuras reproductoras de los patógenos.

Transcurrido el periodo de desinfestación, las secciones de tejidos desinfectados se colocaron en cajas de petri con papel absorbente estéril húmedo, se sellaron con parafilm y se incubaron en una cámara ambiental a $24 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y fotoperiodo de 12 horas de luz-oscuridad para estimular el desarrollo de micelio o la formación de cuerpos fructíferos del hongo para su posterior aislamiento e identificación.

En el transcurso de tres a cinco días de incubación de las cámaras húmedas se observó el crecimiento de micelio y estructuras del patógeno y con la ayuda de un estereoscopio se tomaron secciones de micelio o estructuras reproductivas del patógeno con la ayuda de una aguja de insulina y se depositaron en cajas de petri de 100 x 15 mm. con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), la purificación se realizó en una campana de flujo laminar con la ayuda del estereoscopio mediante la siembra de los cultivos en agar-agua al 2%, transcurridos tres días se resembraron por punta de hifa a medio PDA asegurándonos de esta forma la purificación de los cultivos.

5.3.2. Pruebas de patogenicidad

Para las pruebas de patogenicidad se utilizaron los cultivos puros de los hongos con siete días de crecimiento y plántulas sanas de ramón de tres meses de edad las cuales se llevaron al área de Micología del laboratorio GeMBio donde las hojas se desinfestaron con hipoclorito de sodio al 2% y después se limpiaron con papel absorbente húmedo con agua destilada estéril, posteriormente se colocaron en bandejas de plástico (en cada bandeja se colocaron cuatro plántulas) para la inoculación. Las pruebas se realizaron por aspersión de conidios (Figura 6) utilizando una suspensión de 1×10^6 conidios por mL de agua. Se realizaron cuatro repeticiones por cada patógeno identificado, cada plántula representaron una repetición. Después de la aspersión, las plantas se cubrieron con bolsas de plástico a las cuales se les asperjó agua estéril por dentro y se trasladaron a un invernadero a temperaturas de 30°C y HR 100% ubicado en las instalaciones del CICY hasta la aparición de síntomas.



Figura 6. Inoculación de plántulas por aspersión de conidios y plántulas en invernadero para la inducción de síntomas.

5.3.3. Identificación de los patógenos

Para la identificación de los hongos se realizaron preparaciones semipermanentes (Figura 7) con el micelio y esporas (conidios) o cuerpos fructíferos de los hongos aislados y purificados de la siguiente manera:

Bajo el estereoscopio, con una aguja de insulina, se tomó una porción del micelio o cuerpo fructífero según el caso del hongo y se depositaron sobre un porta objetos limpio y esterilizado al cual se le agregó previamente dos gotas de azul de lacto-fenol, posteriormente se colocó un cubre objetos y la preparación se observó en un microscopio de luz transmitida a 40 y 100X. Para observar sus estructuras reproductoras y poderlos identificar con las claves dicotómicas de Hanlin (1990), Barnett y Hunter (1998), Watanabe (2000) y Melgarejo *et al.*, (2010).



Figura 7. Preparación de laminillas semipermanentes para la identificación de los patógenos.

5.4. Plagas

Para la colecta de insectos, se realizaron muestreos directos, los cuales consistieron en ir a los sitios donde se encontraban los árboles de ramón y a la plantación y se tomaron hojas al azar en el dosel bajo y medio de cada árbol, siendo el caso de arboles y en las plántulas todas las hojas que tenían y en algunos casos se observaron hojas con agallas.

En los muestreos realizados, se utilizaron pinzas de relojero, pinceles delgados, para recoger los insectos blandos o pequeños, frascos de plástico pequeños en los que se depositaron los insectos colectados, etiquetas para marcar los frascos correspondientes a cada plantación, lápiz para etiquetar los frascos. Los insectos colectados se colocaron en los frasquitos con alcohol al 70% para su conservación y su posterior identificación.

Los insectos colectados se llevaron al laboratorio GeMBio para identificarlos con ayuda de las claves taxonómicas de Borror y White (1970) y Apablaza (1994). Una vez en el laboratorio los insectos se vaciaron en cajas petri para poder manipularlos con facilidad y bajo el estereoscopio se observaron para poderlos identificar (Figura 8).



Figura 8. Insectos colectados conservados en alcohol al 70%

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Colecta de material vegetal

De las colectas realizadas, los síntomas o lesiones que presentaron las hojas en los lugares de colecta fueron similares (Cuadro 1).

Cuadro 1. Síntomas de las muestras colectadas de ramón en los estados de Yucatán y Campeche.

Síntomas	Lugar de colecta
Manchas circulares plateados con bordes rojizos y estructuras en el centro	Mérida y Motul, Yucatán; Sta. Rosa, Campeche
Hojas deformadas con bordes quemados	Mérida y Motul, Yucatán; Sta. Rosa, Campeche
Hojas con quemaduras en el ápice	Mérida, Yucatán; Sta. Rosa, Campeche
Hojas con bordes quemados	Mérida y Motul, Yucatán; Sta. Rosa, Campeche
Hojas con manchas cafés en la lámina	Mérida, Yucatán; Sta. Rosa, Campeche
Hojas con quemaduras en los bordes y en la lámina	Mérida, Yucatán; Sta. Rosa, Campeche
Tallos oscuros y marchitamiento de hojas	Motul, Yucatán

6.2. Aislamiento y purificación

A los cinco días de incubación de los tejidos en cámara húmeda se observó crecimiento micelial en la mayoría de los tejidos y estructuras en algunos según el tipo de síntomas que presentaban los tejidos y el agente causal. En total se aislaron ocho hongos pertenecientes a siete géneros (Cuadro 2) coincidiendo la mayoría en los tres lugares de colecta.

Cuadro 2. Síntomas y agentes causales identificados de las muestras colectadas de ramón en los estados de Yucatán y Campeche.

Síntomas	Hongo	Lugar de colecta
Manchas circulares plateados con bordes rojizos y estructuras en el centro	<i>Colletotrichum capsici</i> , <i>C. gloeosporioides</i>	Mérida y Motul, Yucatán; Sta. Rosa, Campeche
Hojas deformadas con bordes quemados	<i>Fusarium solani</i> , <i>C. gloeosporioides</i>	Mérida y Motul, Yucatán; Sta. Rosa, Campeche
Hojas con quemaduras en el ápice	<i>Aspergillus niger</i> , <i>Alternaria alternata</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i>	Mérida, Yucatán; Sta. Rosa, Campeche
Hojas con bordes quemados	<i>C. gloeosporioides</i> , <i>A. alternata</i> , <i>C. cladosporioides</i>	Mérida y Motul, Yucatán; Sta. Rosa, Campeche
Hojas con manchas cafés en la lamina	<i>C. gloeosporioides</i> , <i>Curvularia lunata</i> F. <i>solani</i>	Mérida y Motul, Yucatán; Sta. Rosa, Campeche
Hojas con quemaduras en los bordes y en la lamina	<i>C. capsici</i> A. <i>niger</i> , <i>C. cladosporioides</i>	Mérida, Yucatán; Sta. Rosa, Campeche
Tallos con puntos oscuros y marchitamiento de hojas	<i>Rhizoctonia solani</i>	Motul, Yucatán

6.3. Descripción de los síntomas y agente causal

6.3.1. *Fusarium solani*

Los síntomas que presentaron las hojas colectadas fueron deformaciones con bordes quemados, manchas amarillas con bordes quemados, y manchas cafés en la lámina como se muestra en la Figura 9, en este caso el patógeno afecto a las hojas y no los tallos donde comúnmente se encuentra.

En medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) presentó colonias algodonosas y de color crema o rosa púrpura y con masa de espora de color naranja de crecimiento rápido (Figura 9C).

Forma esporodoquios. Conidióforos hialinos, simples de donde nacen los conidios, presenta fiálides. Conidios hialinos, de dos tipos: los microconidios son ovales o cilíndricos de 1-2 células, rectas o ligeramente curvos y los macroconidios curvos, fusiformes, largas, con 3-5 células y miden de 31-35 μm x 8.0-9.0 μm como se puede observar en la Figura 9D, 9E1 y 9E2.

Estas características coinciden con las reportadas por Watanabe, 2000 y Melgarejo *et al.*, 2010.

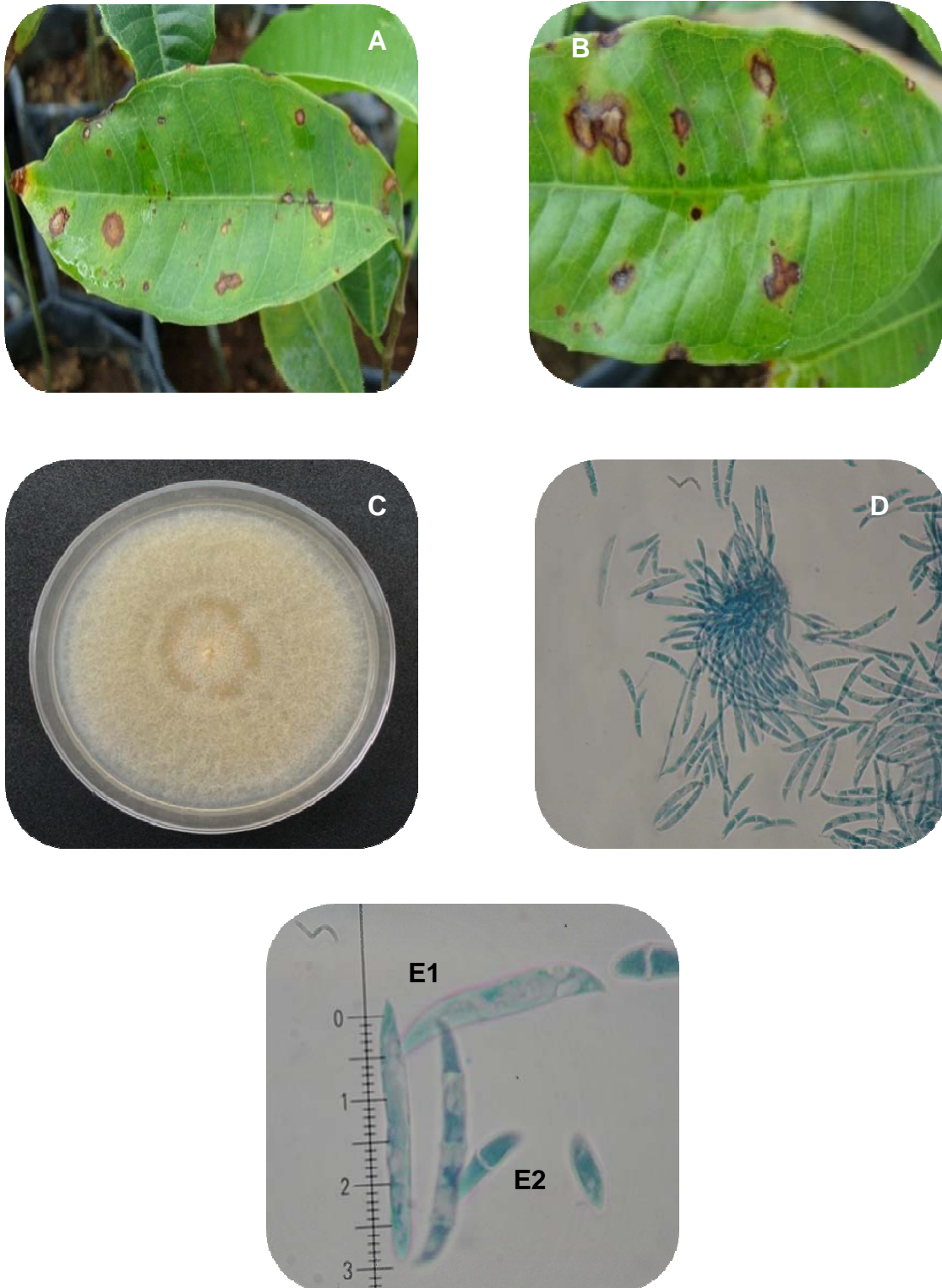


Figura 9. Características morfométricas de *F. solani*. A y B) Bordes quemados y manchas amarillas en la lamina, C) Crecimiento en medio PDA, D), Esporodocio con conidios, E1). Macroconidios y E2) Microconidios.

6.3.2. *Cladosporium cladosporioides*

Los síntomas presentados en las hojas por efecto de este hongo fueron quemaduras en el ápice, quemaduras en los bordes y en la lámina (Figura 10). En medio de cultivo PDA presentó colonias aterciopeladas y de color café oliváceo o verde oliva (Figura 11A).

Presenta conidióforos claramente diferenciados, largos y rectos con forma cilíndrica, de color café claro a oliváceo de donde nacen los conidios de cadenas cortas. Conidios de color oscuro elipsoidales, o con forma de limón, estructura uni o bicelular, de color café oliváceo pálido, pared lisa y miden $4\text{-}5\ \mu\text{m} \times 3.0\text{-}4.0\ \mu\text{m}$ (Figura 11 B, C y D).

Estas características morfométricas fueron comparadas por las descritas por Watanabe (2000) y Melgarejo *et al.*, (2010), coincidiendo con las observadas en el microscopio.

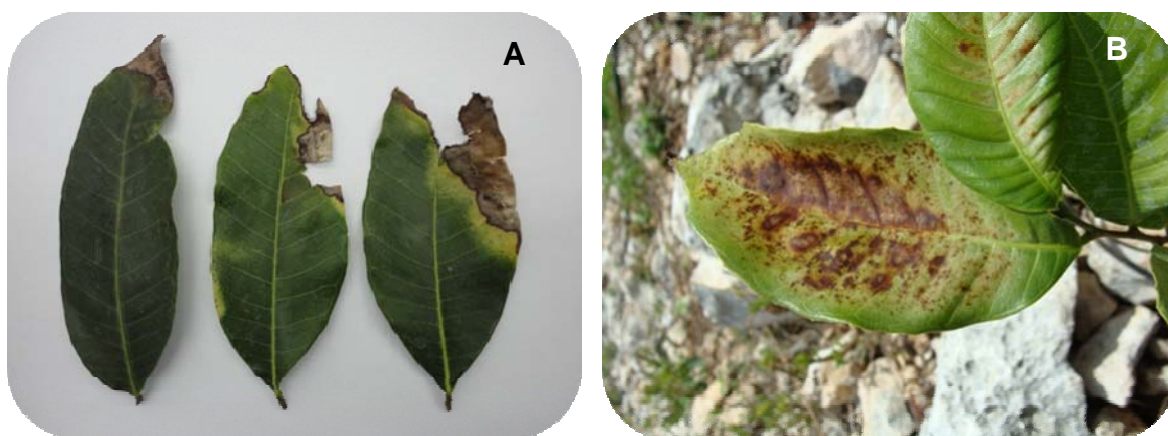


Figura 10. Síntomas que presentaron las muestras colectadas en los sitios de colecta A) Quemaduras en el ápice y en los bordes y B) Quemadura en la lámina.

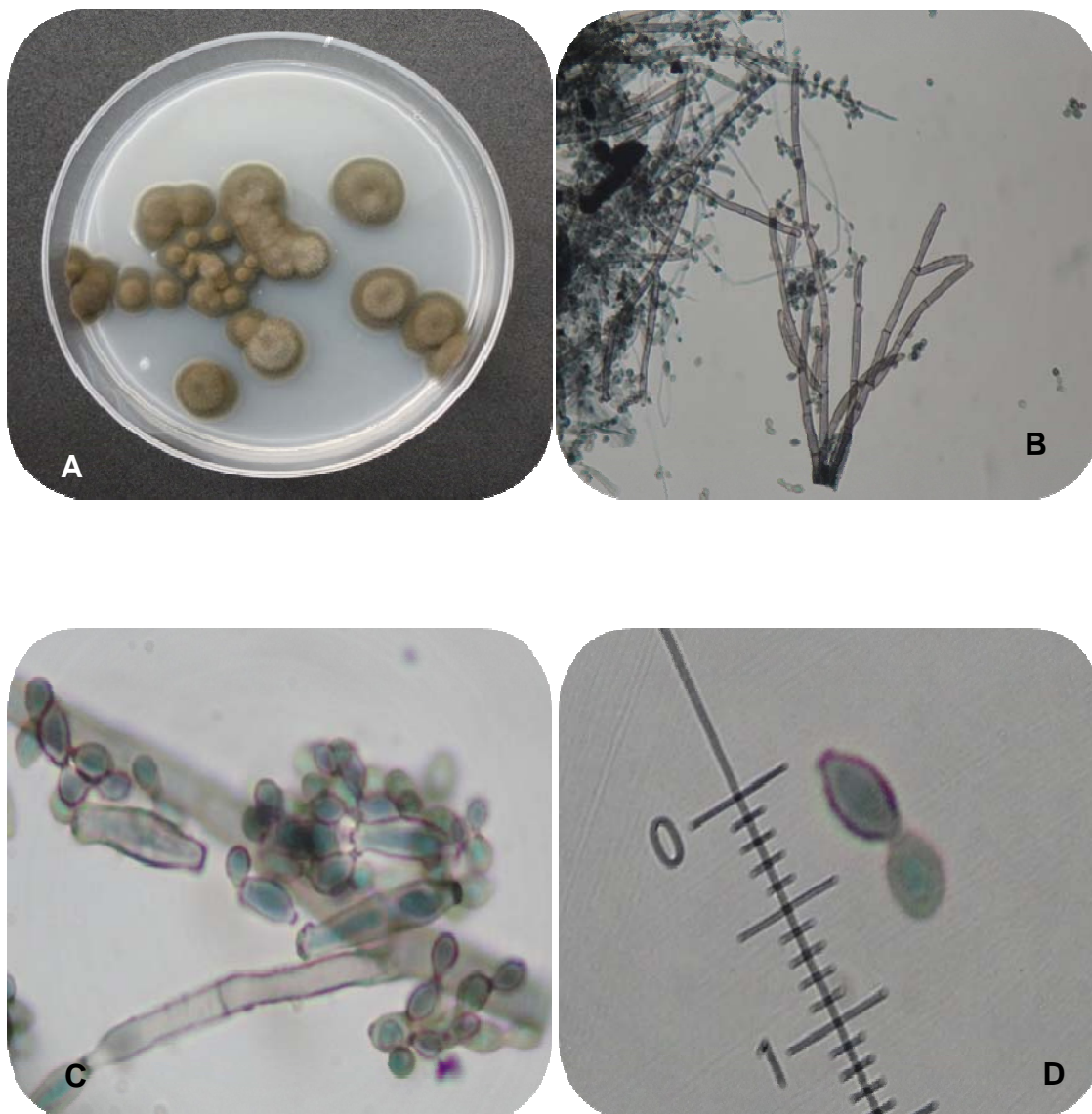


Figura 11. Características morfométricas de *C. cladosporioides* A) Aspecto de la colonia en medio PDA, B) Conidióforo cilíndricos de color café claro, C) Conidios cilíndricos y en forma de limón, D) Conidio típico en forma de limón.

6.3.3. *Alternaria alternata*

Los síntomas que presentaron las hojas en los sitios de colecta fueron quemaduras en el ápice y hojas con bordes quemados rodeados por un halo amarillo (Figura 12).

En medio de cultivo PDA presentó micelio algodonoso, con una coloración gris posteriormente se va tornando de color verdoso oscuro a medida que va envejeciendo (Figura 13 B).

Presenta conidióforos de color marrón pálido, simples o ramificados, de donde nacen los conidios catenulados, generalmente arriba de nueve en una cadena. Conidios café oscuros, obclavados, elípticos, muriformes, con 3-8 septos transversales y 1-2 longitudinales, con superficie lisa o rugosa, miden de 18.0-45.0 μm \times 6.5-9.0 μm (Figura 13) coincidiendo con las características reportadas por Watanabe (2000) y Melgarejo *et al.* (2010).



Figura 12. Síntomas en hojas de donde se aisló *A. alternata*. A) Deformación de los bordes con quemaduras y B) Hojas con quemaduras en el ápice y en los bordes.

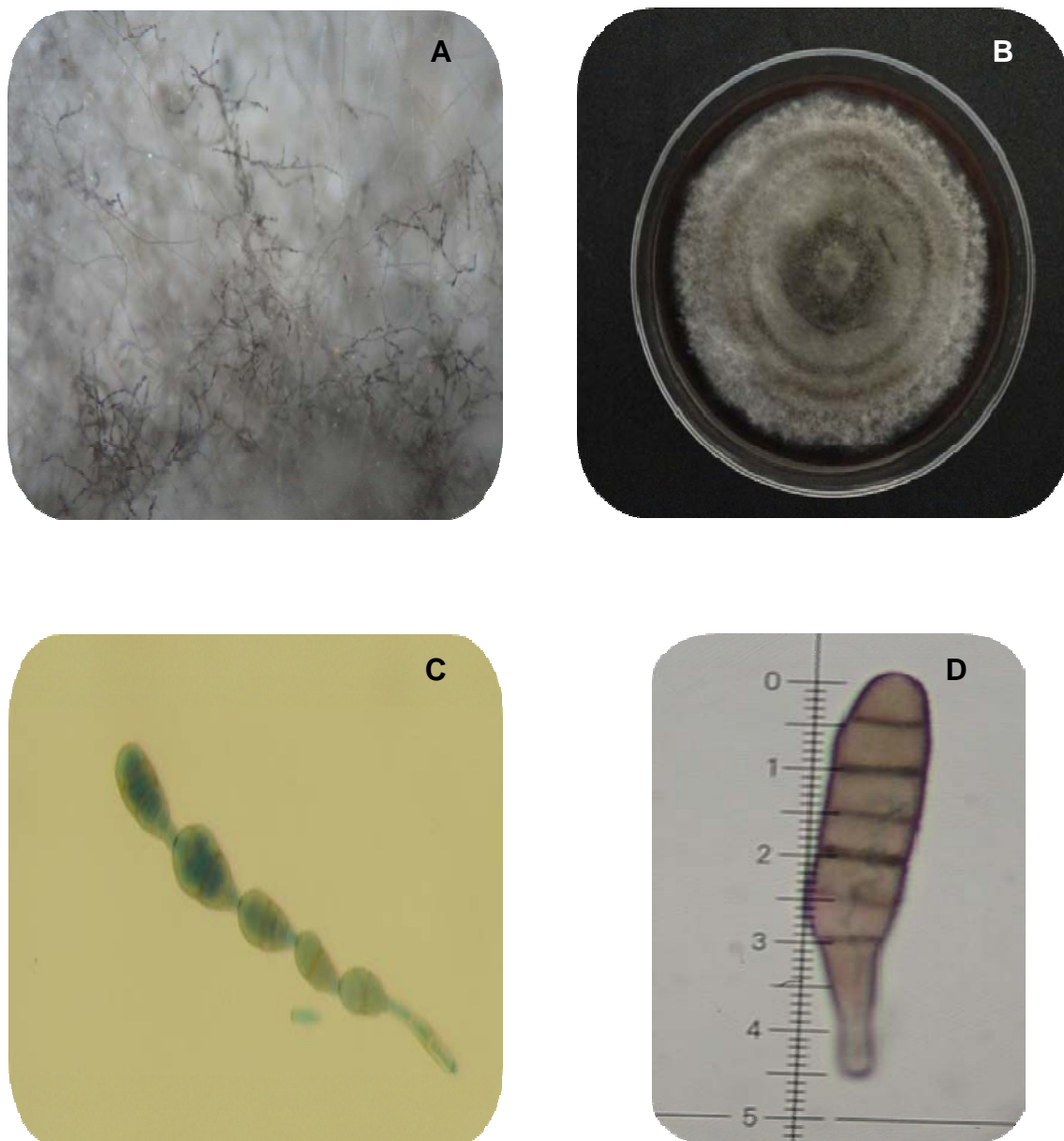


Figura 13. Características morfométricas de *A. alternata* A) Conidióforos y conidios en cadenas en cámara húmeda B) Aspecto del cultivo en medio PDA, C) Conidios catenulados en laminillas, D) Conidio.

6.3.4. *Colletotrichum capsisci*

En este caso algunas de las hojas colectadas ya contenían estructuras correspondientes a este patógeno y la característica que tenían las hojas eran

quemaduras en los bordes y en la lámina y manchas circulares plateadas con bordes rojizos y estructuras en el centro (Figura 14).

En medio de cultivo PDA presentó micelio blanco y posteriormente gris oscuro, con círculos concéntricos (Figura 15A).

Presenta acérvulos oscuros, subcuticulares, conspicuos, con setas de consistencia firme, oscuras. Conidióforos simples, cortos y erectos, con conidios hialinos, falcados, con ápices en forma de punta de flecha, que miden entre 25-30 μm de largo y de 3.0-4.0 μm de ancho (Figura 15), estas características fueron comparadas con las descritas por Watanabe (2000) y Melgarejo *et al.*, (2010).

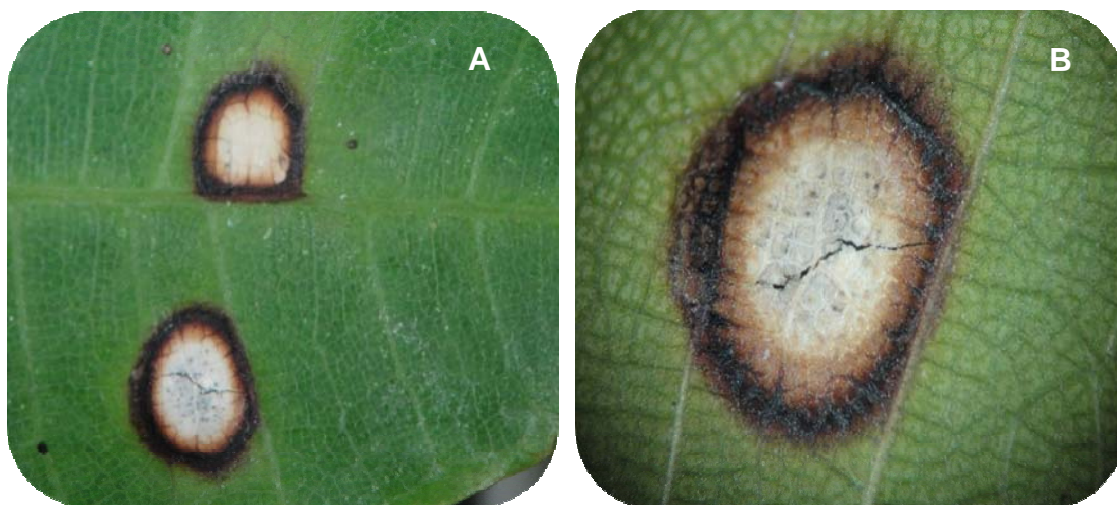


Figura 14. Síntomas presentes en las hojas colectadas y estructuras de *C. capsisci*. A) Manchas circulares plateadas con bordes rojizos y B) Quemaduras en los bordes.

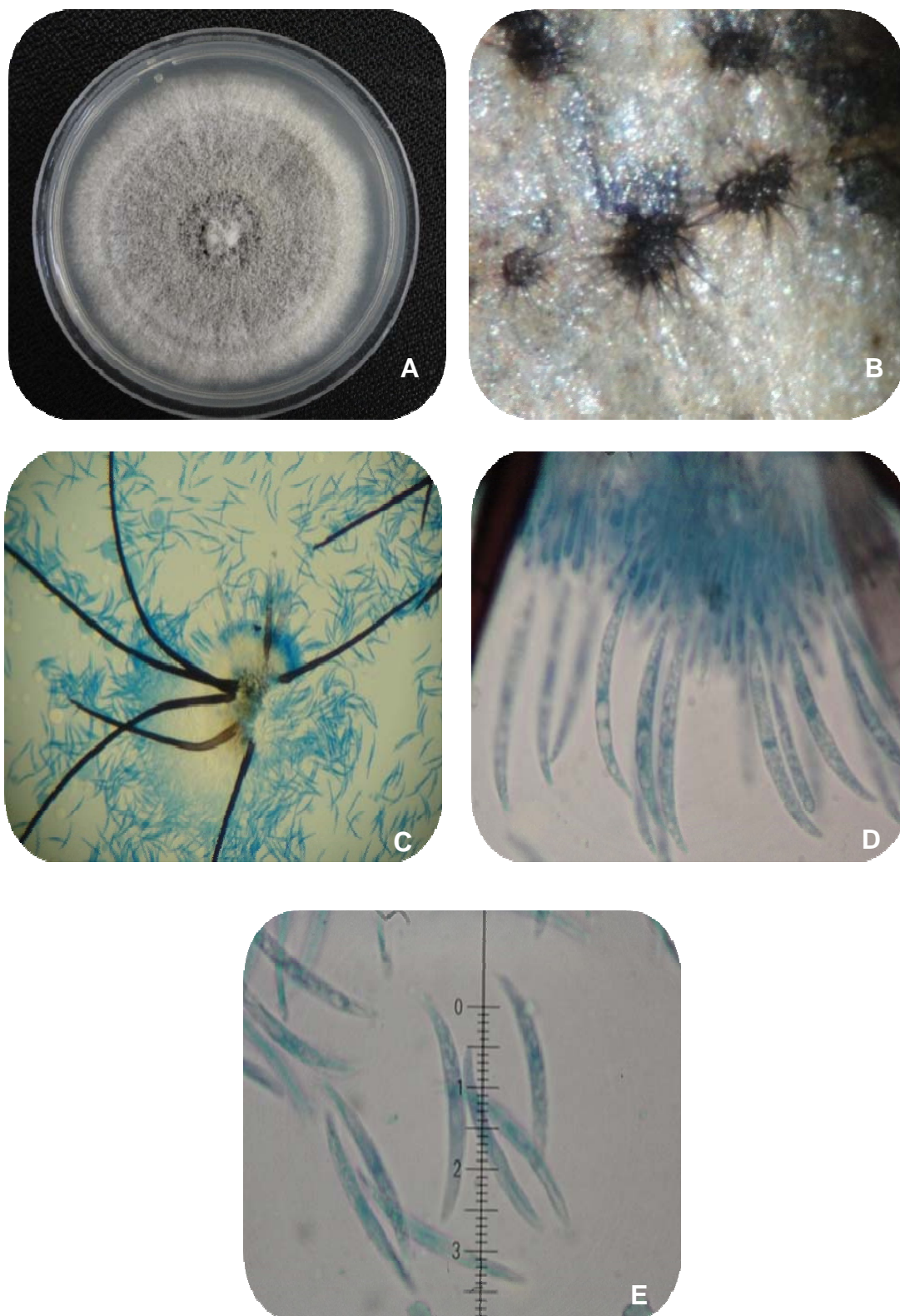


Figura 15. Características morfométricas de *C. capsisci*. A) Aspecto de cultivo en medio PDA, B) Acérvulos en tejido, C) Acérvulo con conidios en laminillas, D) Conidióforos con conidios, E) Conidios falcados.

6.3.5. *Colletotrichum gloeosporioides*

Los síntomas en las hojas de donde se aisló este hongo fueron quemaduras de los bordes de las láminas y en algunos casos donde se aisló *C. capsici* también se encontró este hongo en hojas con manchas cafés en la lámina como se puede observar en la Figura 16.

En medio de cultivo PDA el micelio fue de color blanco-rosado, con círculos concéntricos. Posteriormente se forman acérvulos de color naranja.

Los acérvulos no presentan setas, conidióforos simples, cortos y erectos de donde se producen grandes cantidades de conidios. Conidios hialinos, unicelulares, elipsoidales, de ápices redondeados o ligeramente puntiagudos, miden de 9.0-15.0 μm \times 4.0-5.0 μm en masa dan una coloración rosada (Figura 17), características comparadas con las descritas por Watanabe (2000) y Melgarejo *et al.*, (2010).



Figura 16. Síntomas que presentaron las hojas de las cuales se aisló *C. gloeosporioides*.

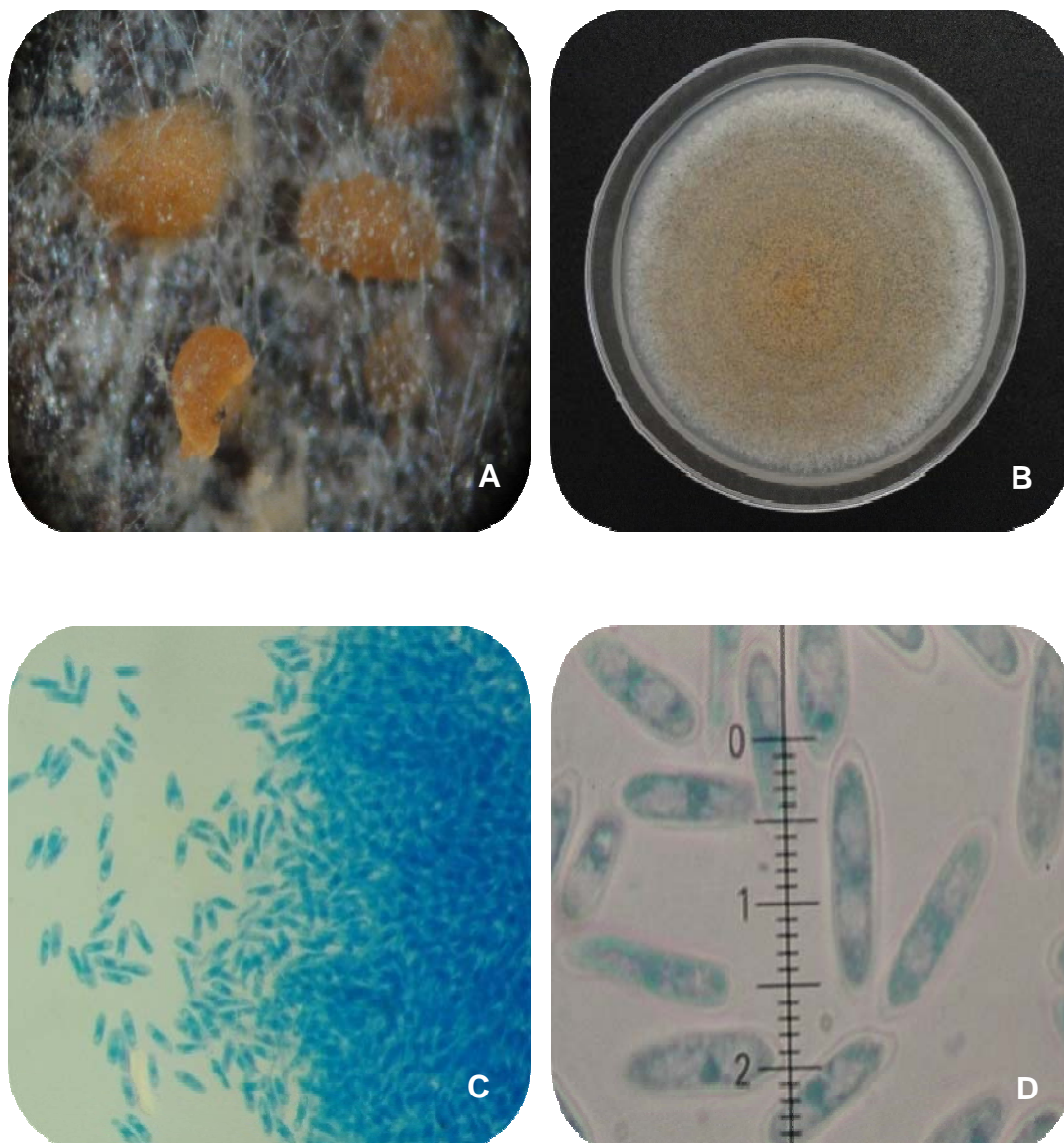


Figura 17. Características morfométricas de *C. gloeosporioides*. A) Acérvulos en cámara húmeda, B) Aspecto del cultivo en PDA, C) Masa de conidios en laminillas, D) Conidios unicelulares.

6.3.6. *Rhizoctonia solani*

La característica que poseían los tallos colectados fueron puntos oscuros y follaje seco, en casos severos, la muerte de las plántulas (Figura 18).

En medio de cultivo PDA presenta micelio aéreo de color gris oscuro y posteriormente negro, sin círculos concéntricos como en la Figura 19 A y B se pueden observar.

El micelio se observa de color café claro o amarillento, ramificado en ángulo recto de 90°, con una constricción en el punto de origen de la ramificación de la hifa, presenta un septo cerca de la hifa principal y la lateral. Hifa de 5-8 μm de ancho y esclerocios de 1-3 μm de diámetro como se puede apreciar en la Figura 20 coincidiendo con las descritas por Barnett y Hunter (1998), Watanabe (2000) y Melgarejo *et al.*, (2010).

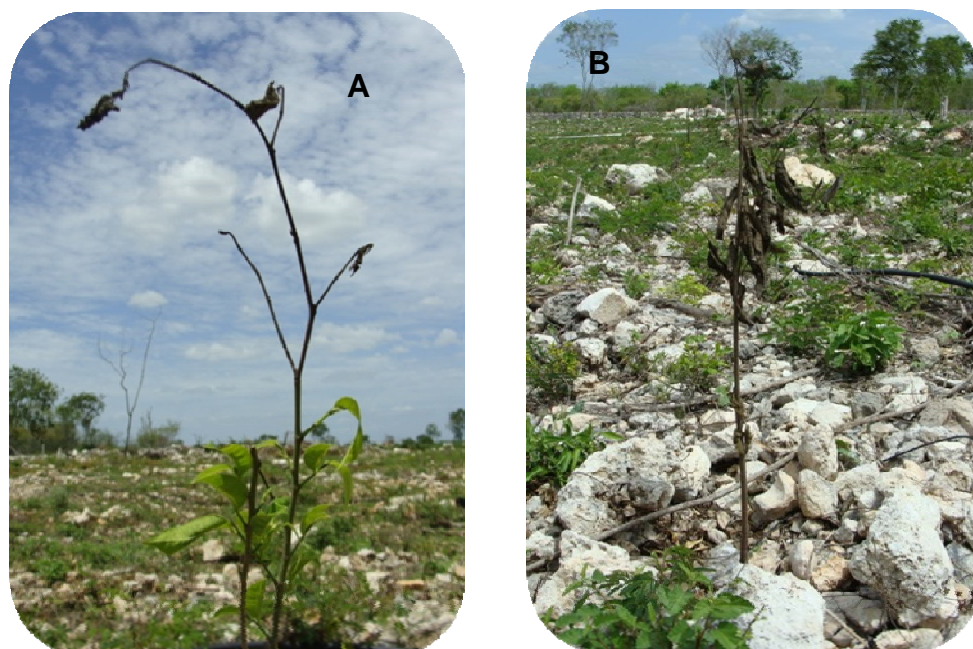


Figura 18. Síntomas observados en plántulas causados por *R. solani* A) Muerte de hojas jóvenes y B) Muerte de las plántulas.

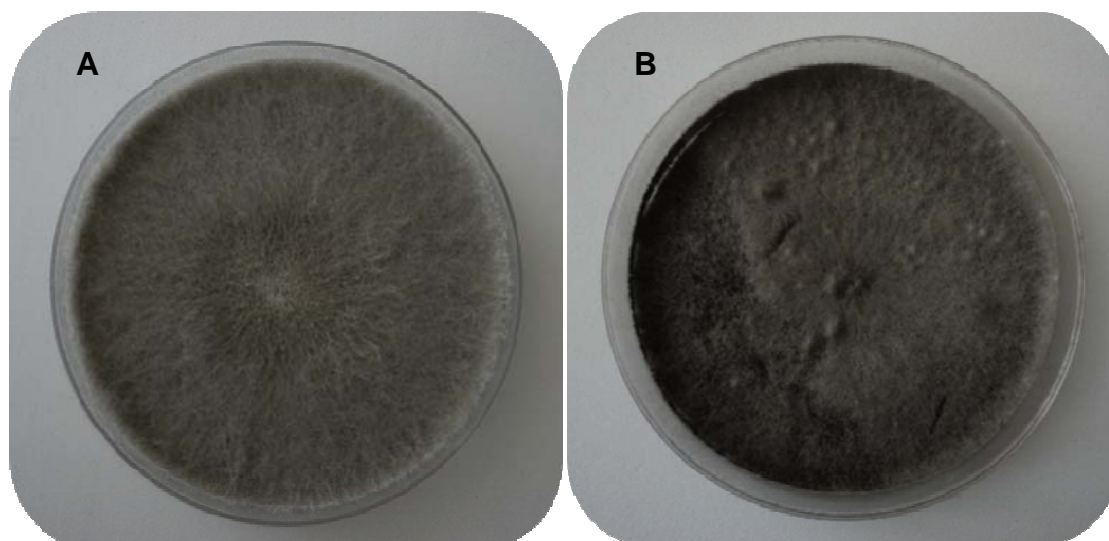


Figura 19. Crecimiento inicial de *R. solani* en medio PDA. A) Coloración gris y con micelio aereo, B) Cultivo a los siete días de coloración más oscura.

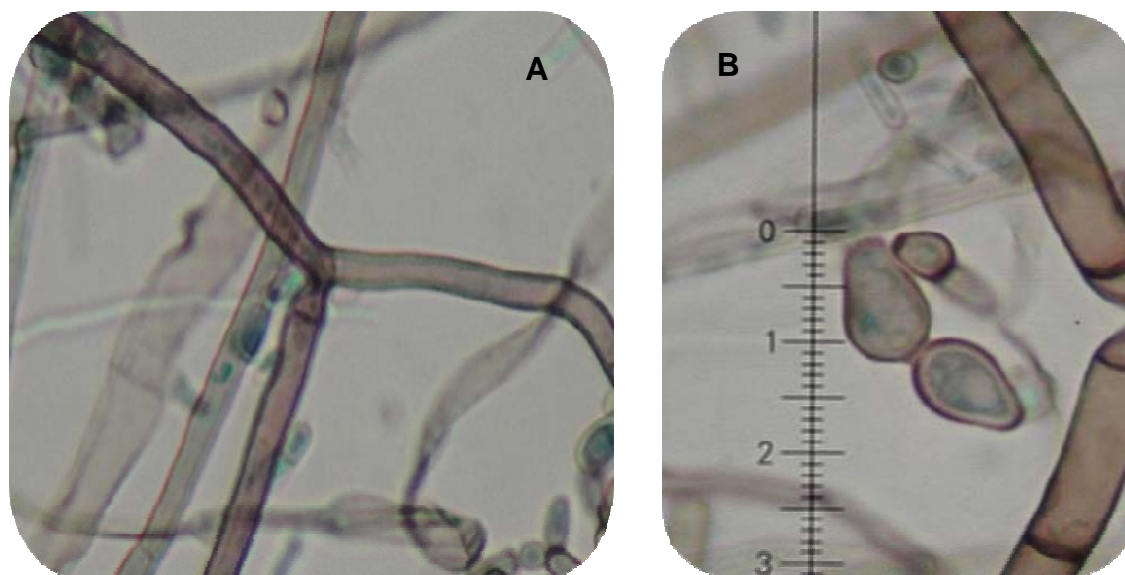


Figura 20. Características morfométricas de *R. solani*. A) Micelio o Hifa con constricción y septo cerca de la base, B) Esclerocios formados en PDA.

6.3.7. *Aspergillus niger*

Los síntomas que presentaban las hojas fueron quemaduras en los bordes y en la lámina y hojas con quemaduras en el ápice como se muestra en la Figura 21.

En medio de cultivo PDA primero forma micelio blanco que posteriormente se va cubriendo de cabezas conidias globosas (Figura 22).

Presenta conidióforos hialinos a café claro, rectos, lisos y de pared gruesa, con vesículas globosas cubiertas por las fiálides y conidios. Conidios de color café y en masas negras, globosos y ligeramente equinuladas y miden 3.7-4.5 μm de diámetro (Figura 22) estas características coinciden con las descritas por Watanabe (2000) y Melgarejo *et al.* (2010).



Figura 21. Síntomas presentes en las hojas colectadas causadas por *A. niger*.

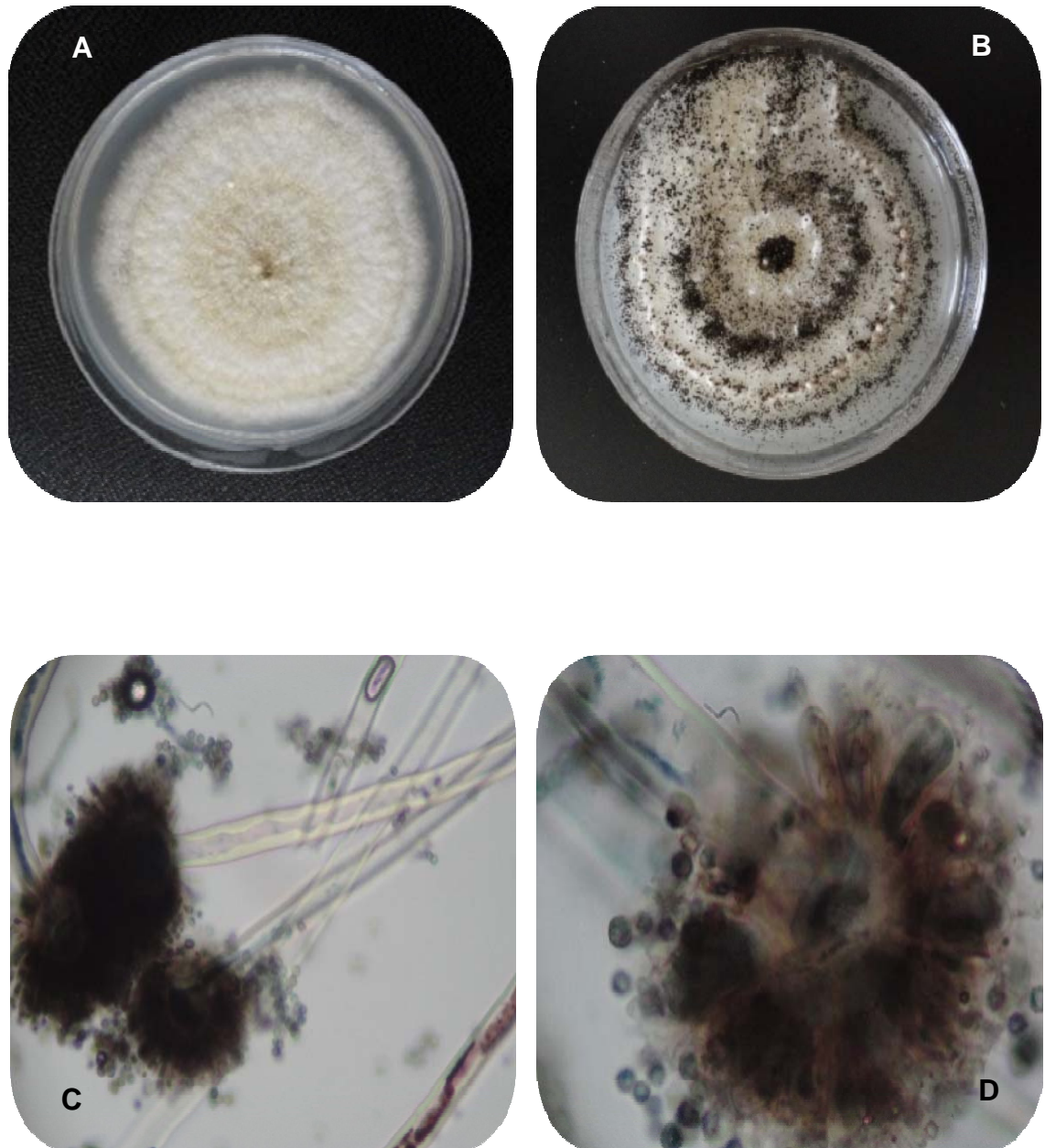


Figura 22. Características morfométricas de *A. niger*. A) A unos días de crecimiento en PDA tiene una tonalidad blanca, B) A los cuatro días se van tornando color negro, C) Conidióforos hialinos y masa de conidios, D) Vesícula con fiálides y conidios.

6.3.8. *Curvularia lunata*

Las hojas colectadas presentaban necrosis en los bordes de las láminas que cuando avanzan producen el deterioro de las mismas y se puede observar micelio algodonoso oscuro sobre la necrosis (Figura 23).

En medio de cultivo PDA presenta micelio liso, de color gris negruzco hasta café oscuro como se puede observar en la Figura 24.

Presenta conidióforos geniculados de color café, simples o ramificados, rectos o curvos, el conidio nace apical y lateralmente (Figura 24). Conidios oscuros generalmente de cuatro células, típicamente curvados, con una de las células centrales alargadas, las células de los extremos más claros que las otras, con un hilum basal y miden de 16-21 μm x 8.0-9.0 μm como se observa en la Figura 24 características comparadas con las descritas por Barnett y Hunter (1998) y Watanabe (2000).



Figura 23. Plántula con un severo daño en hojas causado por *C. lunata*.

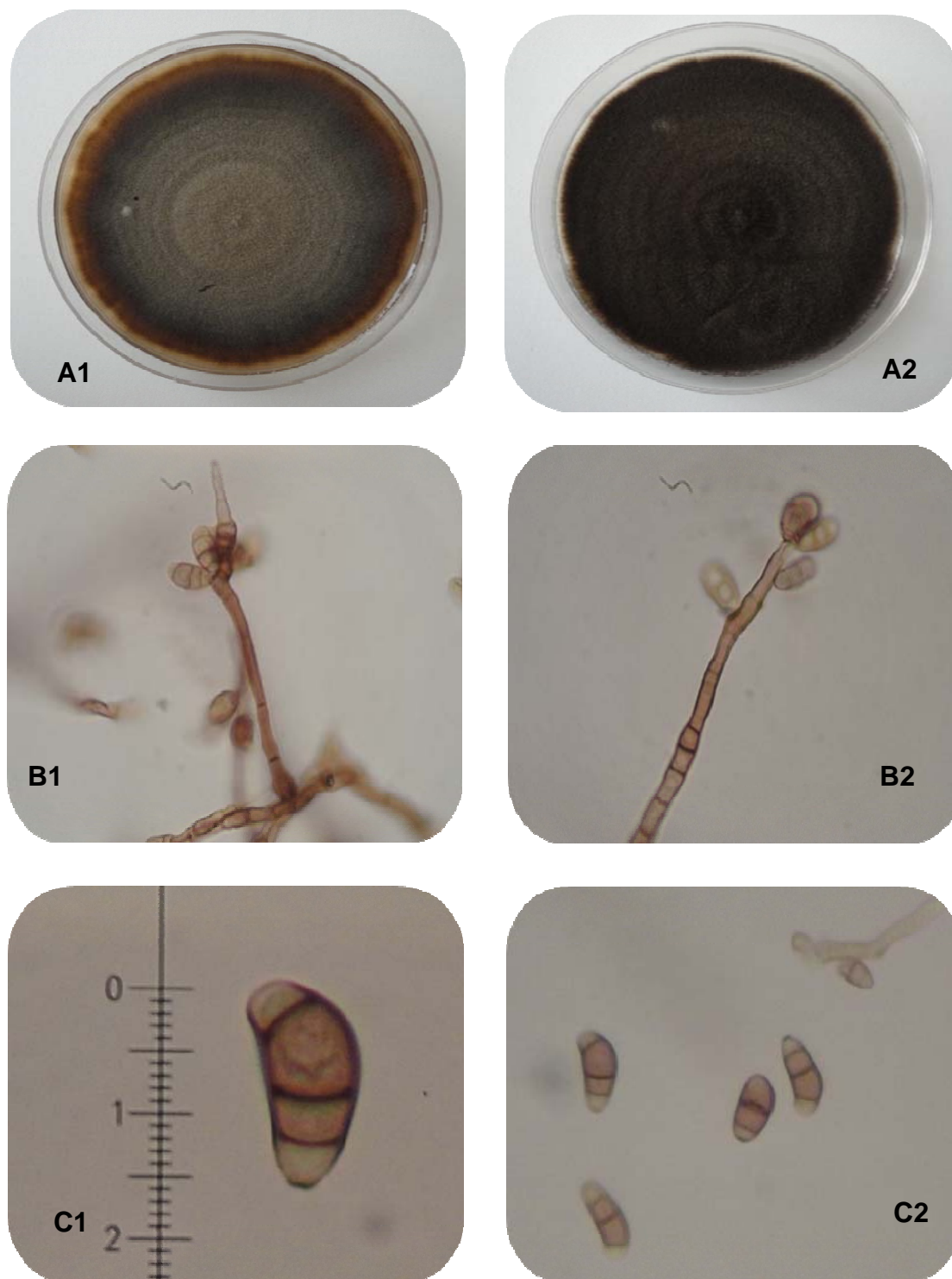


Figura 24. Características morfométricas de *C. lunata*. A1) y A2) Crecimiento de los cultivos en medio PDA inicialmente tiene una coloración café aterciopelada y en el transcurso de los días se torna negro con anillos concéntricos, B1) Conidióforo con conidios en el ápice, B2) Conidióforo con conidios en el ápice y lateralmente, C1) Medición de conidios, C2) Conidios y conidióforo.

6.4. Pruebas de patogenicidad

De las plántula evaluadas utilizando una suspensión conidial de 1×10^6 conidios/mL de agua solamente cuatro especies dieron sintomatologías pertenecientes a los patógenos aislados y presentados por las muestras colectadas al principio.



Figura 25. Síntomas de las pruebas de patogenicidad y testigo correspondiente a *A. niger*.



Figura 26. Síntomas de las muestras colectadas de donde se aisló *A. niger*.



Figura 27. Síntomas observados en las pruebas de patogenicidad y testigo correspondientes a *C. capsici*.



Figura 28. Síntomas observados en las muestras colectadas pertenecientes a *C. capsici*.



Figura 29. Síntomas observados en pruebas de patogenicidad dando como resultado el aislamiento de *C. lunata* y testigo correspondiente.



Figura 30. Síntomas observados en las hojas colectadas donde se aisló *C. lunata*



Figura 31. Síntomas observados en las hojas inoculadas en las pruebas de patogenicidad y testigo correspondiente a *F. solani*.



Figura 32. Síntomas observados en las hojas colectadas de donde se aisló *F. solani*.

6.5. Colecta de insectos

Los resultados obtenidos en los muestreos realizados en las plantaciones se colectaron insectos tanto benéficos como perjudiciales observando únicamente una familia de insectos causando daño a los frutos correspondiendo al orden *Hemíptera*, familia *Coreidae* y género *Leptoglossus*.

6.5.1. *Leptoglossus zonatus*

Las ninfas son anaranjadas-negras se vuelven más oscuras con el desarrollo y son gregarias en los primeros estadios (Figura 32); en los últimos se parecen a los adultos, pero sin alas. Los adultos miden de 20-25 mm, de longitud, son pardo oscuros a negros claros. Las antenas son alargadas y con bandas alternas negras y naranjas. Las alas cuando están plegadas, se caracterizan porque una banda amarilla en zigzag las conecta transversalmente. Sus características más distintivas son las tibias posteriores extendidas a modo de “hojas”, como se puede observar en la Figura 32. Estas características coinciden con las descritas por Sermeño *et al.* (2005), causando daños en frutos de marañón y King y Saunders (1984), en las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central.

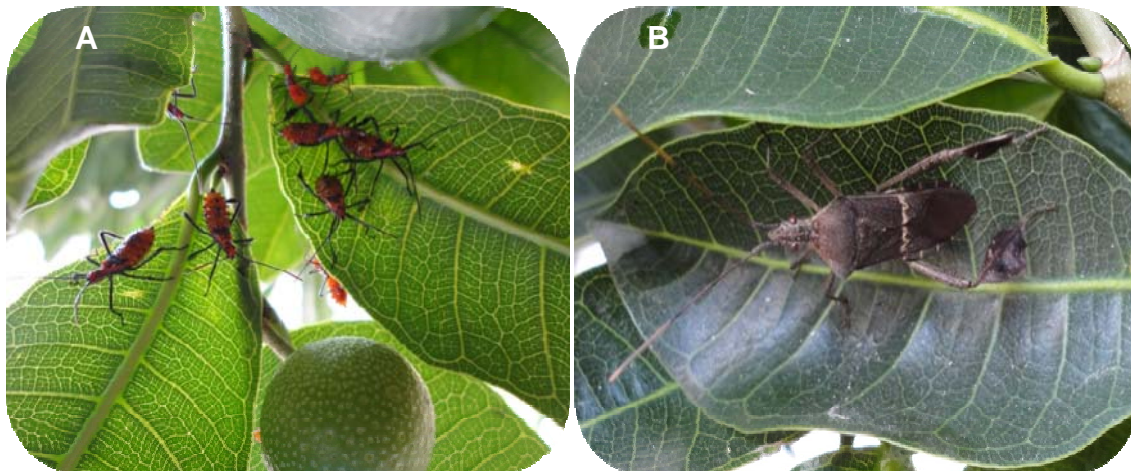


Figura 33. Características de ninfas y adultos de *L. zonatus*. A) Ninfas de *L. zonatus* y B) Adulto de *L. zonatus* en la parte superior de las alas nótese la banda en forma de zigzag y las tibias posteriores ensanchadas en forma de hoja.

A esta especie se le consideró como plaga única del ramón porque se le encontró tanto a ninfas como adultos ocasionando daños en los frutos (Figura

33) lo que ocasionaba su caída. Estos daños coinciden con los reportados por King y Saunders (1984), en frutos de marañón en el que ocasionaban daño cuando chupan los jugos de la semilla en desarrollo, causando decoloración parcial. En otros casos de daño intenso puede causar el secado y caída de frutos; cuando el daño se presenta en semillas desarrolladas, éstas se secan y caen.



Figura 34. Ninfas y adultos de *L. zonatus* ocasionado daños en frutos de ramón.

VII. CONCLUSIONES

Las especies de mayor incidencia en las áreas muestreadas fueron *Colletotrichum capsici*, *C. gloeosporioides*, *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides* y *Fusarium solani*.

Rhizoctonia solani, solamente se aisló en plantas de Motul, Yucatán. Mientras que *Curvularia lunata* se aisló en plantas de Mérida, Yucatán. *Aspergillus niger* se aisló en plantas de Motul y Mérida, Yucatán.

Los hongos que presentaron patogenicidad fueron: *Colletotrichum capsici*, *Curvularia lunata*, *Aspergillus niger* y *Fusarium solani*.

En los muestreos realizados para insectos plaga, solamente se encontró a *Leptoglossus zonatus* ya que se colectó en los árboles de Sta. Rosa, Campeche y Mérida, Yucatán, causando daños en frutos.

VIII. LITERATURA CITADA

Alaniz, S. 2011. Diagnóstico de microorganismos fitopatógenos mediante técnicas moleculares. Unidad de Fitopatología.

Almodóvar, W. 1996. Clínica al día. Enfermedades en las plantas, Identificación y Diagnóstico.

Alvarado, D., J. Sosof; Sánchez, M. 2006. Informe final proyecto: Búsqueda, colecta, caracterización y preservación de materiales de Ramón (*Brosimum alicastrum*) en la región Sur-Occidental de Guatemala. p. 2

Alves, M. F., B. Ramos, M. A. García-Sánchez, A. P. Eslava y J. M. Díaz-Mínguez. 2002. A DNA-based procedure for in plant detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Phytopathology. 92: 237-244.

Apablaza, J. 1994. Introducción a la entomología general y agrícola. Manual de laboratorio. 1ª Ed. Ediciones universidad católica de Chile.

- Aragon, B., U. R. 1990. Caracterización preliminar del Ramón (*Brosimum alicastrum* Swarts), in situ en el bosque muy húmedo subtropical cálido del Petén, Guatemala. Tesis Ing. Agr. Facultad de Agronomía. Universidad de San Carlos de Guatemala. Gua. 123 p.
- Arguedaz, M. 2007. Plagas y enfermedades forestales En costa rica. Kurú: Revista Forestal (Costa Rica) 4(11 y 12 especial).
- Ayala S.M., Sandoval, 1995. Establecimiento y producción temprana de forraje de ramón (*Brosimum alicastrum* Swarts). En plantaciones a altas densidades ene l norte de Yucatán. Agroforestería en las Américas.
- Barnett, H. L. y B. B. Hunter. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. APS Press. Saint Paul, Minnesota
- Baró, Y. 1998. Caracterización molecular de Hongos entomopatógenos. Fitosanidad (CU) 2(1): 67, Junio.
- Berg, C.C. 1972. *Brosimum alicastrum* Sw. subsp. *Alicastrum* publicado en: Flora Neotrópica. Monograph 7: 170-171.
- Borrer, D. y White, R. 1970. A Field Guide to Insects.

- Burns, R.M. y M. Mosquera. 1988. Árboles útiles de la parte Tropical de América del Norte. Comisión Forestal de América del Norte, Publicación 3. Washington DC, EE-UU.
- Cabezas, O. 2004. Curso taller: "diagnostico y evaluación de plagas". Universidad nacional agraria de la selva.
- Cedeño L.R. 1993. Rhizoctonia causante de la mancha agregada de arroz en Venezuela. Rev. For. Vene.
- Clark, M. F. 1981 Immunosorbent assays in plant pathology. Ann. Rev. Phytopathol. 19: 83-106.
- CONAFOR-CONABIO. 2006. Sistema de información para la reforestación. Comisión Nacional Forestal y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México.
- Cuanalo, C., H. E. 1964. Suelos del Campo Experimental Forestal "El Tormento", Campeche. Bol. Tecn. 15. Mexico, D.F. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. 32 p.
- Dhingra O, Sinclair, J. 1995. Basic Plant Pathology Methods. CRC Lewis Publishers. Boca Raton, Florida. DIOP T.

- Díaz, C. y B. Sosa s/a. Manual agroforestal para la península de Yucatán. Forrajes para la agroforestería, sección 6; Ramón. Ed. ICRAF-México.
- Flores-Olivas, A. 1997 Nuevas tecnologías en la detección y el análisis genético de fitopatógenos. Tomado de Fitopatología (Mex) 32 (2).
- Geilfus, F. 1994. El árbol al servicio del agricultor. Manual de agroforestería para el desarrollo rural. 2. Pp: 656-657.
- Hanlin, R.T. (1990). Illustrated Genera of Ascomycetes. Vol.1. The American Phytopathological Society Press, USA. 263 p.
- Instituto Nacional de Biodiversidad. 1997. Jerarquía Taxonómica.
- King, A.B. y Saunders, J.L. 1984. Las plagas invertebradas de cultivos anuales alimenticios en América Central. CATIE. Costa Rica. 179 pp.
- López, G.F.M. 1993. Explotación del ramón (*Brosimum alicastrum*) como fuente de forraje. Tesis de Licenciatura. Univ. Autónoma de Chapingo. Dpto. de Zootecnia. 76 p. Chapingo, Méx.
- Martínez, O. E. y R. González. 1997. Vegetación del sureste de Tamaulipas. Biótica (Méx.) 2(2): 1-45.

- Meiners, M., C. Sanchez y S. de Blois. 2009. El Ramón: Fruto de nuestra cultura y raíz para la conservación. CONABIO. Biodiversitas, 87:7-10.
- Melgarejo, P., J. García-Jiménez, Jordá, M. C., M. M. López, Andrés, M. F., N. Duran-Vila. Patógenos de plantas descritos en España. Ministerio de medio ambiente y medio rural y marino. España. Madrid. pp 854.
- Millar, S. A., and Martin, R. R. 1988 Molecular diagnosis of plant disease. Annu. Rev. Phytopathol 26: 409-432p.
- Morton, J.F. 1977. Some folk-medicine plants of Central American markets. Quart J Crude Drug Res. pp 15:165-192.
- Núñez, C. M. Dhondt. 2009. Sistematización de experiencias de la producción, transformación y comercialización de la semilla del árbol de música.
- Ojeda BL. C. 1996. Planeación y establecimiento de la colección de plantas: jardín etnobotánico Alfredo Herrera Vázquez de la UADY. Tesis de licenciatura. FMVZ-UADY.
- Pardo-Tejeda, E. y Sánchez, M, C. 1980. *Brosimum alicastrum* (ramón, capomo, ojite, ojoche). Recurso silvestre tropical desaprovechado. Xalapa, Ver., México, Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos (INIREB).1-8;31 pp.

- Pennington, T.D., Sarukhan, J. 1968. Manual para la identificación de campo de los principales árboles tropicales de México. México D. F. FAO-Instituto Nacional de Investigaciones Forestales. 413 p
- Pennington, T.D y Sarukhan, J. 2005. Árboles tropicales de México/Fondo de Cultura Económica/ Universidad Autónoma de México/México, D.F/Págs. 138-139.
- Pérez, J, L. A. Sarukhan, J. 1970. La vegetación de la región de Pichucalco, Chis. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Publ. Esp. No. 5. México, D.F. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. 49-123.
- Peters M.C; Pardo-Tejeda, E. 1982. "*Brosimum alicastrum* (Moraceae): uses and potential in México".
- Petit, J. 2000. Manejo de semillas de 100 especies forestales de America Latina.
- Pupiro, M. L., Malagón, Rodríguez, L. 2003. Técnicas del diagnóstico de las enfermedades en las plantas. Trabajo de patología vegetal. Universidad Agraria de La Habana. La Habana.
- Ramírez, J. A. y Álvarez, R. R. 1996. Evaluación de tratamientos pre-germinativos en semillas de *Brosimum alicastrum* (masica). Informe de avance.

Rzedowski, J. 1963. The northern limit of tropical rain forests in continental North America. *Vegetatio* 11: 173-198.

Sermeño, J., A. W. Rivas; Menjivar, R. 2005. Guía técnica de las principales plagas artrópodos y enfermedades de los frutales. Ministerio de agricultura y ganadería. Programa nacional de frutas del salvador. Primera edición. Bib. Orton IICA / CATIE.

Serrano, L.; J.M. Sermeño. 2010 Informe Y Recomendaciones De Visita Al Área Natural Protegida De Chaguantique, Jiquilisco Puerto El Triunfo, Departamento De Usulután, El Salvador, C.A. Universidad de El Salvador Facultad de Ciencias Agronómicas Departamento de Protección Vegetal.

Soihet, C. y J.M. Méndez. 1997. Notas sobre Manejo de Semillas Forestales. No. 24. CATIE. Turrialba, Costa Rica.

Watanabe, T. 2000. Pictorial Atlas of Soil and Seed fungi: Morphologies of Cultured fungi and Keys. 2^{ad}. Ed CRC Press. 486p.

Weiland, J. J. y J. L. Sundsbak. 2000. Differentiation and detection of sugar beet fungal pathogens using PCR amplification of actin coding secuencias and the ITS region of the rRNA gene. *Plant. Dis.* 84: 475-482.