



UNIVERSIDAD MICHUACANA DE
SAN NICOLAS DE HIDALGO.

FACULTAD DE QUIMICO FARMACOBIOLOGIA.

"Colletotrichum gloesporioides COMO AGENTE CAUSAL DE
ANTRACNOSIS EN GUAYABA CULTIVAR MICHUACAN.

TESIS:

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA:

FERNANDO MEJIA RUIZ.

ASESORA:

Dra. CONSUELO DE JESUS CORTES PENAGOS.

Morelia Michoacán a Noviembre del 2007.





UNIVERSIDAD MICHUACANA
DE SAN NICOLAS DE HIDALGO.

FACULTAD DE QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA.

Colletotrichum gloesporioides COMO AGENTE CAUSAL DE
ANTRACNOSIS EN GUAYABA CULTIVAR MICHUACAN.

TESIS:

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACOBIOLOGO.

PRESENTA:

p.Q.F.B. FERNANDO MEJIA RUIZ.

Dra. CONSUELO DE JESUS CORTES PENAGOS.

Asesor.

Q.F.B. JUAN BOSCO GUZMAN PEREZ.

Co- asesor.

SINODALES.

M.C. BERENICE YAHUACA JUAREZ.

Presidente.

Dra. MONTSERRAT HERNANDEZ ITTURRIAGA.

Primer vocal.

Q.F.B. RICARDO VEGA TAVERA.

Segundo vocal.

M.C. JORGE CAMPOS AVILA.

Primer suplente.

Q.F.B. ROSA ELENA TORRES RUIZ.

Segundo suplente.

***Colletotrichum gloesporioides* como agente causal de antracnosis en Guayaba cultivar Michoacán.**

RESUMEN.

La guayaba es una fruta originaria de las regiones tropicales de América. Su nombre científico es *Psidium guajava*.

La guayaba está ampliamente distribuida en toda la franja tropical y en algunas zonas subtropicales, tanto de forma silvestre como comercial; y es una de las 50 especies frutales más conocida y consumidas a nivel mundial.

La guayaba es una de las frutas tropicales más importantes desde el punto de vista dietético. Puede presentar un peso entre 60 y 500 gr por pieza, un pH ácido entre 3.4-4.2, una concentración de sólidos solubles entre 5-10° Brix y una resistencia a la compresión entre 9-16 lb/pulg.

Su pulpa es rica en azúcares, fibra, carotenos, hierro, fósforo y se distingue por su elevada concentración de vitamina C y vitamina A

En México los principales Estados productores de guayaba son Michoacán, Aguascalientes y Zacatecas los cuales aportan en conjunto un volumen de 275,931 toneladas equivalente al 50% de la producción nacional.

El 57% de todas las frutas que se venden en el mundo, se consumen en la Unión Europea (UE).

A pesar de todos los valores nutrimentales que esta fruta nos ofrece no se conoce mucho acerca de las enfermedades que esta fruta presenta desde su origen como la que abordaremos que es la **Antracnosis** que es causada por el hongo *Colletotrichum gloesporioides* que afecta a la planta desde su crecimiento para la posterior infección del fruto hasta poscosecha, lo que impide su comercialización y mas aun su exportación por lo que su valor

económico disminuye de manera considerable por las lesiones físicas que la fruta sufre y con esta disminuyen sus características organolépticas.

En el presente trabajo se estudio el proceso de patogénesis del hongo *Colletotrichum gloesporioides* en frutos de Guayaba cultivar Michoacán en estado verde y maduración fisiológica, para observar los síntomas que presenta la fruta con la infección del hongo, así como los tiempos en los que aparecen lo síntomas después de una inoculación intencionada con una cepa pura de *Colletotrichum gloesporioides*.

El presente trabajo se realizo en el Laboratorio de Biotecnología

M.C. Victor Manuel Gómez Alcocer

De la Facultad de Químico Farmacobiología en la

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo,

Bajo la asesoria de la Dra. Consuelo de Jesús cortes Penagos.

INDICE GENERAL.

	Pagina
INDICE DE TABLAS.	i
INDICE DE FIGURAS.	ii
I. - INTRODUCCION	1
II. - ANTECEDENTES.	
2.1 Frutas y verduras	3
2.1.1 Definición	3
2.2 Descripción del cultivo	4
2.3 Clasificación de la Guayaba de acuerdo a la Norma del Codex alimentario.	5
2.3.1 Clasificación por calibres	7
2.3.2 Clasificación por peso	7
2.3.3 Cultivo	8
2.3.3.1 Índices de cosecha	9
2.3.3.2 Índices de calidad	9
2.3.3.3 Temperatura optima	9
2.3.3.4 Humedad relativa optima	10
2.3.3.5 Tasa de producción de etileno.	10
2.3.3.5 Efectos del etileno	10
2.3.3.6 Efectos de atmósferas controladas	10
2.3.3.7 Fisiopatías	11
2.4 Composición química y valor nutricional de la Guayaba	11
2.5 Propiedades medicinales de la Guayaba	14
2.5.1 Fuentes y mecanismos de contaminación	16
2.5.2 Precosecha	17
2.5.3 Durante la cosecha	18

2.5.4	Poscosecha	19
2.5.5	Sobrevivencia y multiplicación. Factores.	20
2.5.5.1	Deterioro	21
2.5.5.2	Factores ecológicos que afectan la sobrevivencia y desarrollo	
	Microbiano en alimentos	22
2.6	Tratamientos poscosecha	23
2.6.1	Choque termico	25
2.6.2	Tratamiento con calcio	26
2.6.3	Tratamiento con cloro	27
2.7	Principales enfermedades que atacan a la Guayaba	28
2.7.1	Falta de humectación	28
2.7.1.1	Pudricion por Sclerotium	28
2.7.1.2	Phytophthora foliar	28
2.7.1.3	Pudrición por nematodos	28
2.7.1.4	Raiz blanca	29
2.7.1.5	Enfermedad rosada	29
2.7.1.6	Antracnosis	29
2.7.1.7	Lasiodiplodia	30
2.7.1.8	Phytophthora de la fruta	30
2.7.2	Plagas que atacan la guayaba	31
2.7.2.1	La mosca de la fruta	31
2.7.2.2	Enfermedades	33
2.7.2.3	Control de insectos	33
2.7.3	Importancia economica y social	34
2.7.3.1	Ubicación de Mexico en el contexto mundial	35
2.8	Generalidades de los hongos	37
2.8.1	Division nuclear	40
2.8.2	Micelio	40

2.8.3	Dimorfismos	41
2.8.4	Terminología fúngica	43 - 46
2.8.5	Nutrición	47
2.9	<i>Colletotrichum gloesporioides</i>	48
2.9.1	Aspectos biológicos del genero <i>Colletotrichum gloesporioides</i>	48
2.9.2	Aspectos biológicos de <i>Glomerella cingulata</i>	53
2.9.3	Patrón típico de infección de <i>Colletotrichum gloesporioides</i>	54
2.9.3.1	Dispersión de <i>Colletotrichum gloesporioides</i>	54
2.9.3.2	Aerobiología de <i>Colletotrichum</i>	56
2.9.3.3	Aspectos de la aerobiología de hongos	57
2.9.4	Proceso de infección	57
2.9.5	Preinfección	58
2.9.6	Infección	59
2.9.7	Colonización	59
2.9.8	Expresión de enzimas	61
III.-	JUSTIFICACIÓN	64
IV.-	HIPOTESIS	65
V.-	OBJETIVOS	65
5.1	General	65
5.2	Específicos	65
VI.-	MATERIALES	66
VII.-	METODOLOGIA	67
7.1	Crecimiento de <i>Colletotrichum gloesporioides</i> en caldos	67
7.1.1	Preparación del inóculo	68
7.1.2	Inoculación	68
7.1.3	Recuperación	68
7.1.4	Cuenta viable	69
7.1.5	Diagrama de cuenta viable	69

7.2	Diagrama de preparación del inóculo	70
7.3	Diagrama de preparación de caldo BHI	70
7.4	Diagrama de preparación de APD	71
7.5	Diagrama de preparación de Buffer de peptonas	71
7.6	Diagrama de inoculación	72
7.7	Diagrama de recuperación	73
7.8	Metodología de diagrama general	74
VIII. -	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	75
IX. -	CONCLUSIONES	85
X. -	BIBLIOGRAFIA	86
XI. -	ANEXOS	87

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS.

	Pagina
1. Clasificación por calibres de la Guayaba	7
2. Clasificación por peso de la Guayaba	7
3. Contenido calórico de frutas tropicales en comparación con la guayaba	13
4. Componentes y cantidad en 100 grs de pulpa de Guayaba	15
5. Tablas de tiempos de recuperación	77 - 79

INDICE DE FIGURAS.

1. Síntomas de Antracnosis en Guayaba	81
2. Síntomas de Antracnosis en Guayaba	81
3. Síntomas de Antracnosis en Guayaba	81
4. Crecimiento de <i>Colletotrichum gloesporioides</i> en APD	82
5. Crecimiento de <i>Colletotrichum gloesporioides</i> en APD	82
6. Crecimiento de <i>Colletotrichum gloesporioides</i> en APD	82
7. Esporas e hifas de <i>Colletotrichum gloesporioides</i>	83
8. Esporas e hifas de <i>Colletotrichum gloesporioides</i>	83
9. Esporas e hifas de <i>Colletotrichum gloesporioides</i>	83
10. Esporas e hifas de <i>Colletotrichum gloesporioides</i>	84
11. Esporas e hifas de <i>Colletotrichum gloesporioides</i>	84
12. Esporas e hifas de <i>Colletotrichum gloesporioides</i>	84
13. Apresorio de <i>Colletotrichum gloesporioides</i>	85
14.	
15.	
16.	

Í.- INTRODUCCION.

En Michoacán la guayaba se vincula a un grupo considerable de productores que en total manejan aproximadamente 6,288 hectáreas (SAGARPA, 2004), las cuales producen anualmente cerca de 16.2 toneladas por hectárea de fruto (MPC, 2000); destinada al consumo en fresco y a la industria en el mercado nacional y de exportación.

El fruto de *Psidium guajava* y sus derivados son de amplia aceptación en los consumidores (Añez *et al.*, 1993) debido a las excelentes propiedades de la pulpa, disponibilidad durante todo el año y bajo costo. La guayaba posee un elevado valor nutritivo demostrado, contiene valores importantes de vitamina A, ácido ascórbico, azúcares, taninos, flavonoides, fibras, entre otros (Laguado *et al.*, 1998). Compuestos indispensables en la dieta alimenticia.

En la actualidad en nuestro país, el estado de Michoacán sobresale como primer productor de guayaba abarcando el 41% de la producción nacional (Sagarpa, 2005). Sin embargo, por la falta de conocimiento sobre la tecnología usada en el cultivo y a las prácticas que obedecen a la propia autogestión del productor, el cultivo es poco rentable.

Los problemas que con mayor frecuencia enfrenta el fruto son daños físicos, enfermedades por varios géneros de microorganismos (generalmente por Hongos y Levaduras), daños directos e indirectos por insectos, daños fisiológicos, daños mecánicos, además del daño por frío cuando el fruto es almacenado a bajas temperaturas (Fernández- Trujillo 2000).

Debido a estos problemas y a la importancia de producir alimentos inocuos ha crecido el interés por el uso y mejoramiento de tratamientos poscosecha.

La desinfección es uno de los tratamientos utilizados en poscosecha que tiene la función de eliminar los agentes patógenos y de modificar las condiciones ambientales, ayudando así a la preservación de la salud de los consumidores, durante su vida de anaquel. El cloro es uno de los agentes desinfectantes más utilizado (Martínez, 2006). En base a lo anterior en la presente investigación se estudió el proceso de infección de *Colletotrichum gloeosporioides* en frutos de guayaba cultivar Michoacán en dos diferentes estados de maduración (Maduración fisiológica y verde), mediante microscopio. Los resultados obtenidos demuestran que la germinación de los conidios ocurrió entre las 48 y 72 h después de la inoculación; la punta del tubo germinativo penetró directamente la cutícula observándose a las 72 h después de la inoculación. En frutos con maduración de consumo e inicio de climaterio, la infección fue rápida y las primeras hifas intercelulares se presentaron 90 h después de la inoculación; mientras que en frutos con maduración fisiológica, la invasión del tejido fue lenta y ocurriendo después de 120 h. Ocho días después de la inoculación, la infección avanzó, ocasionando colapso y separación celular, dando lugar a la formación de grandes cavidades en el mesocarpio, correspondientes a las lesiones hundidas típicas de la antracnosis vistas a nivel macroscópico. Finalmente, se observó rompimiento de la cutícula y formación de acérvulos y conidios. (Mills et al 1998)

II.- ANTECEDENTES

FRUTAS Y VERDURAS.

Definición.

Botánicamente un fruto es el ovario maduro de una flor, incluyendo la semilla o semillas. Los frutos que se ajustan estrictamente a esta definición se llaman frutos verdaderos e incluyen nueces, legumbres, bayas (frutos cítricos) y drupas (ciruelas y duraznos). Los frutos como la manzana, la pera y la fresa que incluyen alguna otra parte de la flor y el ovario maduro, se llaman frutos falsos (García 2005).

Los frutos están compuestos de pericarpio, epicarpio, mesocarpio y endocarpio; pueden ser simples si se derivan del pistilo de una flor, agregados si provienen de varios pistilos simples y múltiples si se trata del eje de una inflorescencia.

Los frutos pueden considerarse importantes desde dos puntos de vista: 1) como una estructura de la planta que forman parte del mecanismo de dispersión de sus semillas y 2) como alimento para animales incluyendo al hombre. En este ultimo caso las frutas y verduras son alimentos sanos, pero cuando son consumidos crudos existe el riesgo de transmitir enfermedades microbianas u hongos o levaduras los cuales en cierto caso pueden ser patógenos para el hombre. Dependiendo del patógeno, de la susceptibilidad individual y del estado inmunológico de la persona afectada, así como de la atención que se le de a la enfermedad, esta puede pasar de un caso inadvertido a un caso grave, incluso la muerte (Garcia, 2005).

DESCRIPCION DEL CULTIVO.

La guayaba (*Psidium guajava*) es un frutal tropical originario de América Central que se ha cultivado ampliamente de manera comercial en países como India, Taiwán, México y Sudáfrica. A pesar que México ocupa el segundo lugar en producción mundial, existe poca información acerca de las enfermedades de postcosecha que afectan a la guayaba, así como del manejo de la fruta durante la cosecha. Uno de los principales problemas que presenta este fruto es la antracnosis causada por el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* el cual provoca manchas cafés en el fruto lo que ocasiona que este se pudra. Estudios indican que el almacenamiento de frutos entre 5 y 10 °C en refrigerador comercial permitieron mantener en buen estado sus características fisiológicas y bioquímicas; los frutos almacenados en condiciones ambientales manifestaron pérdida de color, humedad y síntomas de antracnosis al octavo día. De los frutos de Guayaba con síntomas de antracnosis se aislaron cepas de *Colletotrichum sp*, los cuales correspondieron a *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. (Sánchez y Escarlante, 1983).

CLASIFICACIÓN TAXONOMICA.

Nombre científico o latino: *Psidium guajava*

Familia: Mirtáceas (*Myrtaceae*).

Origen: América tropical.

Etimología: Deriva del griego "psidion", granada, por la aparente semejaza entre los frutos. Árbol pequeño o arbusto, no suele superar los 5 m de altura, tronco con corteza escamosa de color marrón grisáceo, tiene

ramillas cuadrangulares, hojas coriáceas, opuestas, de oblongo-elípticas a ovadas-enteras, de 7-15 cm de longitud. Envés pubescente y nerviación destacada, con 10-20 pares de nervios laterales, flores blancas, axilares, solitarias o en pequeños grupos, de unos 2,5 cm de diámetro, sobre pedúnculos delgados. (Mata y Rodríguez, 2000).

Frutos:

Fruto esférico, ovoide o piriforme de 3-10 cm de diámetro, amarillo con la pulpa blanca, rosada, o rojiza, algo ácida con olor suigeneris. Según las diversas variedades, la guayaba puede tener forma redondeada semejante a un limón o parecida a una pera. Su cáscara es cerosa; en algunas variedades de piel lisa, otras rugosa y de un color, de verde a amarillento según la especie y su grado de maduración. Bajo la cáscara se encuentra una primera capa de pulpa, consistente y firme. La capa interior es más blanda, jugosa y cremosa albergando un gran número de semillas de constitución leñosa y dura. (Mata y Rodríguez, 2000).

COMPOSICION QUIMICA Y VALOR NUTRICIONAL DE LA GUAYABA.

Su componente mayoritario es el agua. Es de bajo valor calórico, por su escaso aporte de hidratos de carbono y menor aún de proteínas y grasas. Destaca su contenido en vitamina C; concentra unas siete veces más que la naranja. Aporta en menor medida otras vitaminas del grupo B (sobre todo niacina o B3, necesaria para el aprovechamiento de los principios inmediatos, hidratos de carbono, grasas y proteínas). Si la pulpa es anaranjada, es más rica en provitamina A (carotenos). Respecto a los minerales, destaca su aporte de potasio. La vitamina C interviene en la formación de colágeno, huesos y dientes, glóbulos rojos y favorece la absorción del hierro de los alimentos y la resistencia a las infecciones. Los frutos muy maduros pierden

vitamina C. La provitamina A o beta-caroteno se transforma en vitamina A en nuestro organismo conforme éste lo necesita. Dicha vitamina es esencial para la visión, el buen estado de la piel, el cabello, las mucosas, los huesos y para el buen funcionamiento del sistema inmunológico. Ambas vitaminas, cumplen además una función antioxidante. El potasio, es un mineral necesario para la transmisión y generación del impulso nervioso y para la actividad muscular normal, interviene en el equilibrio de agua dentro y fuera de la célula. Su aporte de fibra es elevado por lo que posee un suave efecto laxante y previene o reduce el riesgo de ciertas alteraciones y enfermedades.(Quijano et al., 1999)

Los frutos y las ramas de las plantas de *P. guajava* tienen un apreciable valor nutritivo, razón que justifica su consumo. La composición química de la fruta varía gradualmente entre cultivares y localidades (Laguado et al., 1999 ; Marin et al., 1993), inclusive entre individuos de una misma plantación (Araujo et al., 1999). La pulpa de la fruta de la guayaba es rica en: vitaminas (A, B3, C, G4) azúcares (fructosa, glucosa), taninos y fibras, además de un alto coeficiente de digestibilidad (Añez. M y Bautizma 1993).

Los frutos se desarrollan en un tiempo que depende de la condición genética de la planta y la concentración hormonal, la división celular, que comienza desde antes de la antéesis y continúa hasta los primeros días después del "cuaje", y la expansión celular es responsable del aumento en tamaño y peso más evidentes (Laguado et al., 1999). En la medida en que los frutos avanzan en su estado de desarrollo aumenta la concentración de azúcares y el pH de los mismos; más no así la textura, debido a que existe un incremento en la velocidad de degradación de las sustancias celulósicas pépticas y por ende el ablandamiento del fruto. En cuanto al pH, aunque éste aumenta durante el desarrollo de la fruta, se mantiene en un rango relativamente bajo de 3,7a

4,02 Los ácidos libres en los frutos aumentan al comenzar el crecimiento, (cítrico, málico y fumàrico). Pero la concentración de ácidos disminuye por dilución, aumentando el pH a medida que el fruto madura (Laguado al., 1998)

P. guajava es una fruta que contiene altos niveles de ácido ascórbico, Su contenido es mayor en la cáscara que en la pulpa. La guayaba solo es superada por la ciruela en concentración de vitamina C. En relación con otras frutas. *P. guajava* es altamente nutritiva y su sabor es agradable. La cantidad de vitamina C de una guayaba mediana es proporcional a: 16,6 manzanas, 14,3 plátanos, 1,5 naranjas o a 2 vasos de jugo de *Passiflora edulis*. Además 100 g de guayaba contiene una cantidad de niacina equivalente a la de cualquiera de las siguientes frutas: 376 g de *C. sinensis*, 388 g de *C. Papaya*, 200 g de *Musa AAB*. (Qian, H. et al. 2002).

La guayaba contiene menos calorías que la mayoría de las frutas comerciales, demostrando que es competitiva para el equilibrio en dietas alimenticias. Contenido calórico de algunas frutas tropicales

Fruta	Calorías/100g
Guayaba	30
Naranja	43
Papaya	43
Piña	41
Plátano	89
Aguacate	211

La fruta como guayaba es aromática, contiene una gran diversidad de constituyentes volátiles, aromáticos (Jordan et al., 2003), 86 aproximadamente; entre ellas el acetato de cinamilo, el acetato de (Z)-3-hexenilo y el alcohol cinnamílico. Recientemente se detectó el acetato de 2-

hidroxietilo, el 1,2-propanodiol, el 1,2-etanodiol, el acetato de 3-metilbutilo y el 3-metil-2-butanol

En la medida que el fruto madura las enzimas invertasa, la amilasa, la polifenolasa y pectinesterasa comienzan a actuar, ellas son responsable del sabor dulce, textura blanda y pérdida de la astringencia de la pulpa de la fruta. (Beltrán y Mendoza, 1984).

PROPIEDADES MEDICINALES DE LA GUAYABA.

La guayaba además de ser cultivada por el alto contenido nutritivo de sus frutos se les atribuye diversas propiedades medicinales. La vitamina C tiene múltiples funciones, entre ellas el fortalecimiento del sistema inmunológico (Suntornsuk, 2002). El extracto de frutas y ramas verdes son usadas para neutralizar el efecto de las diarreas, atribuyéndosele un efecto significativo en la disminución de las enfermedades gastrointestinales por rotavirus (Wei et al. 2000). Las ramas tiernas debilitan el desarrollo bacterial (*Bacillus cereus*) que altera el tracto intestinal (Arima et al., 2002; Martínez et al., 1997)). También, la guayaba tiene propiedades antisépticas para úlceras gástricas y laceraciones producidas por parásitos en los intestinos. Otra ventaja de los componentes de la guayaba es el fortalecimiento del sistema cardiovascular, el consumo de guayaba disminuye el riesgo de debilidades cardiacas, como la arritmia (Yamashiro et al, 2003) Otro hecho conocido es el incremento de la hemoglobina por el consumo del jugo de la fruta, adicionalmente se reducen los niveles de colesterol perjudicial, y en contraparte aumenta la producción de colesterol benéfico (Singh et al., 1984). Por ultimo, un estudio comprobó que *P. guajava* presenta gran cantidad de antioxidantes, por lo que disminuye el riesgo de tumores malignos (Jiménez et al., 2001)

Tabla 2. Componentes y sus cantidades en 100 g de muestra de pulpa de la fruta de P. guajava

Componentes	Cantidad
Vitamina A	200 U.
Vitamina B ₃	40 U.
Vitamina C	300 U.
Vitamina G ₄	35 U.
Agua	77%
Proteínas	0.95%
Grasas	0.45%
Azúcares	8.85%
Carbohidratos	2.85%
Fibras	8.15%
Taninos	0.95
Cenizas	0.95
Coeficiente de digestibilidad	90%

CLASIFICACIÓN DE LA QUAYABA DE ACUERDO A LA NORMA DEL CODEX ALIMENTARIO

La clasificación y criterios de calidades se determinan por su aspecto, color, tamaño y estado fitosanitario, el peso promedio esta entre 100 y 165 gr.

La guayaba se clasifica en tres categorías:

* Categoría Extra.

Las guayabas deberán ser de calidad superior y características de la variedad y/o tipo comercial. No deberán tener defectos, salvo defectos superficiales muy leves, siempre y cuando no afecten al aspecto general del producto, su calidad, estado de conservación y presentación del envase.

* Categoría I.

Las guayabas deberán ser de buena calidad y características de la variedad y/o tipo comercial. Podrían permitirse, sin embargo, los siguientes defectos leves, siempre y cuando no afecten al aspecto general del producto, su calidad, estado de conservación y presentación en el envase:

- Defectos leves de forma y color
- Defectos leves en la cáscara provocados por rozaduras y otros defectos superficiales, tales como quemaduras producidas por el sol, manchas y costras, que no superen el 5 por ciento de la superficie.

En ningún caso los defectos deberán afectar a la pulpa del fruto.

* Categoría II.

Esta categoría comprende las guayabas que no pueden clasificarse en las categorías superiores, pero satisfacen los requisitos mínimos especificados anteriormente. Podrán permitirse los siguientes defectos, siempre y cuando las guayabas conserven sus características esenciales en lo que respecta a su calidad, estado de conservación y presentación:

- Defectos de forma y color
- Defectos de la piel debidos a rozaduras u otros defectos, tales como quemaduras producidas por el sol, manchas y costras que no superen el 10 por ciento de la superficie total.

En ningún caso los defectos deberán afectar a la pulpa del fruto (Norma del Codex, 2005).

Clasificación por calibres.

El calibre se determina por el diámetro de la parte central del fruto (<http://www.fao.org/docrep/meeting/005>), conforme a la tabla siguiente:

Letra de referencia	Diámetro en mm
A	>54mm
B	43-53mm
C	30-42mm
D	<29mm

Cuadro 1. Clasificación de los frutos de Guayaba por calibre.

Clasificación por peso.

La fruta también puede ser clasificada de acuerdo a su peso en las siguientes calidades: Primera, Segunda y Extra (<https://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/>)

Categoría	Peso en g.
Extra	>100g
Primera	75 a 100g
Segunda	50 a 75g

Cuadro 2. Clasificación de los frutos de Guayaba por peso.

Existe una tendencia a culpar al empaque inadecuado de los altos niveles de deterioro, sin antes llevar a cabo un análisis detallado de toda la cadena de

la manipulación y mercadeo. Allí donde las pérdidas son demasiado altas es poco probable que el cambio de envase de como resultado alguna disminución significativa, si no se mejoran al mismo tiempo las técnicas de cosecha, la manipulación en el campo, clasificación de calidad y sistema de transporte. Por lo tanto, deben introducirse nuevos tipos de envases para mejorar las técnicas de manipulación a lo largo de toda la cadena de mercadeo (<http://www.fao.org/docrep/>)

En el caso de la guayaba, esta se debe empacar en cajas de madera o de plástico con capacidad de 12Kg para garantizar la calidad del fruto (<http://huitoto.udea.edu.co/>)

CULTIVO

- Resistente a la sequía y al calor intenso.
- No resiste las heladas. Debe cultivarse protegido de los fríos intensos.
- Poco exigente en suelos, aunque con fines productivos le convienen los suelos profundos y ricos con abonados periódicos.
- Prefiere suelos ricos y bien drenados, con un pH entre 5 y 7.
- Riego frecuente y abono con nitrógeno reducido.
- Requiere de una humedad constante de las partes profundas de las raíces, especialmente en la fase de floración; una sequía temporal provoca la caída de los brotes de flor.
- Soporta podas de formación rigurosas sin que se vea afectado el crecimiento de los frutos, ya que éstos se desarrollan sobre ramas de renuevo. (Caldeira, 1967)

Índices de Cosecha.

Las guayabas se cosechan en madurez fisiológica, en el estado verde-maduro (cambio de color del verde oscuro al claro) en países donde los consumidores las prefieren en este estado. En naciones donde los consumidores prefieren las guayabas maduras, las frutas se cosechan en estados firme-maduro a madurez media de consumo (más blandas) para un transporte de larga distancia, o bien en plena madurez de consumo (amarillas y blandas) para mercados locales. (Soto T.M.F., 1997)

Índices de Calidad

El Color, es un buen indicador de madurez; tamaño y forma, pueden ser importantes en algunos mercados; ausencia de defectos, insectos y pudrición; firmeza y grado de arenosidad debido a la presencia de células pétreas (esclereidas); color de la pulpa, depende del cultivar y puede ser blanco, amarillo, rosa o rojo; cantidad de semillas en la pulpa (entre más baja mejor); intensidad del aroma; sólidos solubles y acidez. La guayaba es una de las fuentes más ricas de vitamina C (200 a 400 mg por 100g de peso fresco) y algunos cultivares son también ricos en vitamina A. (Añorga Morales, 1999)

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO.

Temperatura Óptima

- 8-10°C (46-50°F) para guayabas verde-maduras y parcialmente maduras (vida potencial de almacenamiento = 2-3 semanas)

5-8°C (41-46°F) para guayabas completamente maduras (vida potencial de almacenamiento = 1 semana) (Añorga Morales, 1999)

Humedad Relativa Óptima

- 90-95%

Fisiopatías

- **Daño por frío** Los síntomas incluyen incapacidad de las guayabas en estado verde-maduro o con parcial madurez de consumo para madurar normalmente, pardeamiento de la pulpa y, en casos severos, de la piel y un aumento en la incidencia y en la severidad de las pudriciones cuando se les transfiere a temperaturas más altas. Las guayabas en plena madurez de consumo son menos sensibles al daño por frío que las que se encuentran en estado verde-maduro y se les puede conservar hasta por una semana a 5°C (41°F) sin mostrar síntomas de esta fisiopatía.
- **Pardeamiento externo (piel) e interno (pulpa):** Las guayabas son sensibles al daño físico durante la cosecha y en todas las operaciones de manejo desde el campo hasta el consumidor. Los síntomas incluyen abrasiones y pardeamientos de las áreas magulladas.
- **Escaldado por el sol** Las guayabas expuestas al sol directo pueden escaldarse. En algunos países se les cubre con bolsas de papel para protegerlas de la radiación solar y del ataque de insectos mientras se desarrollan en el árbol. (Mata y Rodríguez,2000)

MICROBIOLOGIA DE FRUTOS.

Todas las plantas poseen una microflora residente; su fuente de nutrientes proviene de trazas de carbohidratos, proteínas y sales inorgánicas disueltas en el agua que se condensa de la atmósfera o que es liberada por la planta.

El Origen y características físicas y estructurales, y composición química de los frutos, son determinantes de su contenido cualitativo y cuantitativo de microorganismos, los cuales son patógenos para el hombre y animales.

Durante su desarrollo en el campo se mantienen expuestos a la contaminación directa por la tierra, el agua, la fauna y la manipulación humana.

Las frutas suelen estar protegidas por una cubierta externa que les preserva del ingreso de microorganismos en el caso de la Guayaba existen numerosos antimicrobianos que la protegen de la entrada directa de los microorganismos, pero el daño mecánico rompe dicha barrera la cual la hace vulnerable. (Wood y col, 1991)

FUENTES Y MECANISMOS DE CONTAMINACION.

En la actualidad los consumidores demandan y adquieren mas frutas y verduras como parte fundamental de su dieta incrementándose a la par su relativa importancia como fuente de enfermedad. Virtualmente todo tipo de frutas y verduras pueden llegar a contaminarse con bacterias patógenas así como hongos , sin embargo la sola presencia de una bacteria patógena no siempre resulta en enfermedad. No obstante, la amplia variedad de productos de los cuales las bacterias patógenas pueden ser aislados, solo pocos pueden ser confirmados como vehículos de enfermedades causadas por alimentos.

Las frutas y verduras pueden contaminarse mientras crecen en campos, huertos, viñedos o invernaderos, o bien durante la cosecha, manejo poscosecha, procesamiento, distribución y preparación en servicios de comida o en el hogar, a través del sistema pre y poscosecha. (Fox y Cameron, 2000)

El estado microbiológico del producto alimenticio hasta tiempo de consumo esta en función de su historia desde la tierra en que fue cultivado hasta las técnicas utilizadas para su cosecha y comercialización. Durante la precosecha, cosecha y poscosecha, existen diversas oportunidades para que los microorganismos puedan contaminar los alimentos, en general las prácticas intensivas del cultivo implican inapropiados procesos de control y contribuyen considerablemente a la rápida extensión de patógenos tanto en hombres como animales. (García Flores, 2005).

PRECOSECHA.

En el caso de productos frescos, diversos eventos ocurridos antes de la cosecha pueden afectar la calidad microbiológica y seguridad final del producto. La selección del lugar de crecimiento de las frutas y verduras es probablemente el factor inicial que contribuye a afectar su inocuidad microbiana. La tierra no es un factor importante de patógenos a plantas. Sin embargo, la contaminación fecal del agua de irrigación puede ser una importante fuente de patógenos a la tierra; Otro factor que puede afectar la microbiología de los frutos es la fuente del agua. La irrigación con agua que tiene una alta probabilidad de estar contaminada con microorganismos patógenos constituye una actividad peligrosa. La calidad del agua de uso agrícola varía, especialmente las superficiales que pueden estar expuestas a contaminación temporal e intermitente, tal es el caso de aguas procedentes de crianza de ganado, en terrenos situados en la parte alta de la corriente. Las compostas de estiércol usadas por los agricultores son otro problema,

ya que este puede contaminar alimentos cuando se utiliza como fertilizante de la tierra de cultivo, cuando contamina el agua de riego y cuando los animales defecan cerca del producto, dichos microorganismos pueden mostrar una resistencia especial en este material. Un factor que puede afectar la calidad microbiológica de tierras de cultivo es la inundación. Esta agua de inundación puede contaminarse con desechos animales a su vez contaminar tierras de cosecha. (Fernández, 2000).

DURANTE LA COSECHA.

La contaminación microbiana directa o indirecta de frutas y verduras antes y durante las actividades de recolección puede ocurrir como resultado del contacto con la tierra los fertilizantes, el agua, los trabajadores o el equipo de recolección. Cualquiera de estos elementos constituye una fuente potencial de microorganismos patógenos. El agua que se usa en la cosecha se asocia con numerosas actividades sobre el terreno, incluyendo el riego, la aplicación de plaguicidas y fertilizantes, el enfriamiento de las frutas y verduras y regulación de las heladas. La higiene de los trabajadores es una de las consideraciones mayores para el uso de las manos durante el corte o empaque de frutas y verduras en los campos o huertos en la mayoría de los huertos se utiliza esta practica, por esto es necesario adecuar las necesidades sanitaria de los trabajadores, como incluir lavabos, baños así como concientizar a los trabajadores del buen uso de estos y de su aseo personal.

Las frutas y verduras frecuentemente entran en contacto con el equipo de cosecha (cuchillos machetes, recortadoras y tijeras), contenedores, cajas remolques, y camiones de transporte. El equipo y los contenedores usados durante las operaciones, de cosecha son frecuentemente hechos de madera, que son difíciles de sanitizar, la tierra del campo se incrusta en estos y puede ser potencial fuente de contaminación. (Fernández, 2000)

POSCOSECHA.

La falta de la limpieza en el lugar de empaque puede aumentar considerablemente el riesgo de contaminación de frutas y verduras, ya que pueden existir microorganismos patógenos en el suelo, los desagües y las superficies del equipo de selección, clasificación y empaque. El uso de agua en esta zona de empaque durante el enjuagado enfriamiento, lavado, encerado y transporte podría funcionar como un factor importante de contaminación. (Fernández, 2000)

Las operaciones de carga, descarga, almacenaje y transporte pueden dar lugar a contaminación indirecta por contacto con otros productos, ya sean alimentos o no, y con superficies contaminadas. Las condiciones de almacenamiento no solo durante el transporte sino también en el expendio de los productos deben ser controlados para evitar la contaminación con bacteria patógenas. El control apropiado de la temperatura de frutas y verduras es crítico para la calidad de la seguridad. La temperatura optima varia de acuerdo al producto; sin embargo, los limites de temperatura para el almacenamiento de frutas y verduras es usualmente estrecho muchos patógenos aunque no todos son inhibidos por la temperatura de almacenamiento, por eso la temperatura es decisiva en el control de la seguridad de frutas y verduras una vez cortadas.

El transporte es un factor sobrestimado en el mantenimiento de la seguridad, debido a que estos camiones son utilizados para diversas actividades además del transporte de frutas y verduras lo que los coloca como una fuente importante de contaminación. (Yousef, Carsltrom, 2000)

Las operaciones de carga, descarga, almacenaje y transporte dan lugar a contaminación indirecta por contacto con otros productos por lo cual es importante cuidar estos pasos de la cadena de producción. (Yousef, Carsltrom, 2000)

SOBREVIVENCIA Y MULTIPLICACION. FACTORES.

En las partes externas de las frutas y verduras los microorganismos (potenciales, deterioradores y patógenos) pueden persistir por periodos variados sujetos al micro ambiente en que se desarrollan como los siguientes: Temperatura, pH, disposición de nutrientes, cambios de humedad relativa, aceites esenciales que se encuentran en la superficie de las frutas los cuales funcionan como sustancias antimicrobianas, actividad de agua.(Fernández, 2000)

La capacidad metabólica de los microorganismos patógenos determina su capacidad para sobrevivir y desarrollar en productos crudos y no pasteurizados. Sin embargo, la manifestación de esta capacidad se ve influenciada por factores intrínsecos (propios de cada alimento) y extrínsecos (ecológicos) naturalmente presentes en el producto o aplicados a lo largo de la obtención.

Al enfrentarse a nuevas condiciones ambientales, incluso relativamente adversas aunque no letales, los microorganismos manifiestan una sorprendente capacidad de adaptación que permite la sobre vivencia y multiplicación bajo altas y bajas temperaturas, pH, presión osmótica, y niveles de oxígeno que hacen inhabitables a los mas altas formas de vida.

DETERIORO.

Las frutas y verduras están en categoría de semiperecederos muestran alteraciones que respondan a cambios en los procesos fisiológicos propios de sus tejidos: hay una actividad respiratoria que generan calor, perdida de humedad por transpiración, perdida de turgencia, reblandecimiento, cambios en color perdida de cutícula etc. .(Fernández, 2000)

La cutícula cáscara, que cubren las frutas y verduras además de la capa cerosa externa, son una importante barrera contra la penetración y a veces

contra la colonización microbiana. La pérdida de la integridad abre el camino de los microorganismos a las partes internas. La mosca *Drosophila melanogaster* deposita esporas de hongos y sus propios huevecillos en heridas o grietas que presenta la fruta. (Moreno Gracia, 2002)

El deterioro de frutas y verduras consiste en un reblandecimiento progresivo que eventualmente llega a la desintegración total.

La pared de las células confiere un soporte elástico y estructura que permite el confinamiento de su contenido; la trama de esta estructura está formada de celulosa, un polímero de algunos miles de moléculas de B-D glucosa y cantidades apreciables de pectina. Una cantidad variable de agua es absorbida entre las macromoléculas. El proceso de ablandamiento que se presenta conforme las frutas maduran es el resultado de la conversión de las sustancias pecticas insolubles en solubles. Este proceso es llevado a cabo por microorganismos que sintetizan diversas enzimas pectinolíticas (pectin metil estearasa, poligalacturonasa) capaces de hidrolizar la lamina media de la pared celular de los tejidos. Aparte de las pectinasas, participan en la degradación de los tejidos vegetales en primer término las celulasas; liberan glucosa que es rápidamente aprovechada por los microorganismos, completan la lista proteasas, fosfatidasas y deshidrogenadas (Fernández, 2000).

FACTORES ECOLOGICOS QUE AFECTAN LA SOBREVIVENCIA Y DESARROLLO MICROBIANO EN ALIMENTOS.

INTRINSECOS:

Del alimento.

- ❖ Integridad física.
- ❖ Nutrientes disponibles.

- ❖ pH
- ❖ Eh (potencial de oxido reducción)
- ❖ Aa (actividad de agua)
- ❖ Sustancias antimicrobianas.

De los microorganismos.

- ❖ Número y tipo.
- ❖ Adaptación al sustrato.
- ❖ Estado fisiológico.
- ❖ Asociaciones microbianas.

EXTRINSECOS.

- ❖ Temperatura.
- ❖ Composición de la atmósfera.
- ❖ Humedad relativa (Fernández, 2000).

TRATAMIENTOS POSCOSECHA.

Tratamientos térmicos.

El uso de tratamientos térmicos además de evitar el daño por frío se han usado en los últimos años para el control de plagas, ataque por hongos patógenos y para alterar el proceso de maduración, ocasionando un retraso en el mismo. Su uso se ha incrementado por la creciente demanda de disminuir el uso de químicos contra algunos patógenos e insectos en poscosecha (Laurie, 1998a; Chaplin et al., 1982).

Existen varios métodos los cuales utilizan altas temperaturas para la desinfección de frutas:

- Aire a alta temperatura
- Hidrotermia (inmersión en agua caliente)

- Vapor de agua caliente
- Aire caliente forzado que es una modificación del tratamiento de vapor caliente
- Vapor saturado
- Aire seco
- Radiación infrarroja
- Radiación de microondas (Couey, 1989).

En el aire caliente forzado mantiene una humedad relativa a 50% y esta es utilizada para prevenir la condensación del agua sobre la fruta, ayudando a conservar la calidad de la fruta. La utilidad de este tratamiento es benéfica porque no altera las propiedades fisiológicas del fruto y al mismo tiempo previene la posible invasión de insecto y hongos.

El aire caliente es usado de manera práctica para la desinfección de frutos cítricos, mango y papaya (<http://www.fao.org/docrep/>)

La utilización de agua caliente fue empleada originalmente para el control de hongos, pero actualmente su uso se ha extendido para la desinfección del fruto (Lurie, 1998).

En el caso de la irradiación, se ha demostrado que la irradiación de productos frescos con rayos gama prolonga la vida de almacenamiento, destruye insectos y patógenos y conserva la calidad de cosecha en una amplia variedad de frutas y hortalizas. Sin embargo, la aplicación comercial ha estado limitada a la inhibición del brotación de las papas en algunos países (<http://www.fao.org/docrep/>)

La aplicación de dichos tratamientos también brindan termo tolerancia a los frutos o bien inducen tolerancia a temperaturas que pueden provocar daño por frío y como parte a todas estas respuestas se ven involucradas las proteínas de choque térmico conocidas como HSP (Paull, 1990).

Choque Térmico.

Una alternativa para reducir el daño por frío y la carga microbiana, es la exposición del fruto previo al almacenamiento a tratamientos térmicos con temperaturas de 38°C a 40°C por un tiempo de 30 -240 minutos, induciendo las proteínas de choque térmico (HSP17 y HSP70). Lo anterior le confiere termotolerancia al fruto inhibiendo el daño por frío prolongando así, la vida de anaquel (Fuentes, 2006). Este tratamiento dadas las condiciones de temperatura, puede tener efecto sobre la carga microbiológica del fruto.

Tratamiento con Calcio.

La restricción del calcio en las raíces y la falta de movilidad en la planta son las razones porque la aplicación de aspersiones de calcio ha sido más efectiva para combatir trastornos en el fruto por deficiencia de calcio e incrementar su vida de almacenamiento (Lonstrith, 1994).

Es por esto que el Calcio en fisiología de poscosecha, ha cobrado mayor importancia; siendo el mineral que más influencia tiene sobre el retraso de la senescencia, control de desordenes fisiológicos y efectos sobre diferentes tipos de patógenos en frutos y vegetales. Logrando así un retraso en la maduración y una mayor vida de anaquel (Saborío, 1997).

Estudios previos demuestran que los trastornos que con mayor frecuencia son asociados a la deficiencia de calcio en el fruto de manzano incluyen la podredumbre amarga, el corazón acuoso, el pardamiento interno, el desorden por bajas temperaturas y el resquebrajamiento (Shear, 1975).

Las aspersiones foliares de cloruro de calcio a los manzanos han demostrado ser eficaces para mejorar las características textuales del fruto y preservarlos por más tiempo durante su almacenamiento en frío.

Tratamiento con Cloro.

Desinfección.

La desinfección es un conjunto de medidas dirigidas a eliminar o destruir los agentes infecciosos causantes de enfermedades y que se encuentran diseminados en el medio ambiente. Es una medida de saneamiento y cumple la función de eliminar los agentes patógenos y de modificar las condiciones ambientales, ayudando así a la preservación de la salud.

Los agentes desinfectantes más comunes en el mercado son el cloro y el ozono. El más utilizado es el cloro. El cloro líquido se usa normalmente en concentraciones de 50 a 200 partes por millón (ppm) de cloro total, con un periodo de contacto de uno a dos minutos y un pH de 6.0-7.5.

La eficacia del desinfectante depende de su naturaleza física o química, la temperatura del agua, el pH, el tiempo de contacto, la resistencia de los microorganismos patógenos y la superficie de la fruta.

Es importante supervisar y controlar la concentración del desinfectante, la temperatura del agua y el tiempo de contacto del desinfectante con el

producto, durante el lavado y otras operaciones de desinfección, con el objeto de asegurar que se mantenga a niveles efectivos para la eliminación o disminución de microorganismos patógenos.

El cloro tiene acción principalmente sobre bacterias gram positivas (lácticas, clostridios, *Bacillus*, *Staphylococcus*) y bacterias gram negativas (*E. coli*, *Salmonella*, psicotrofas), siendo un poco menos eficaz contra hongos y levaduras. (Arreola, 2006).

PRINCIPALES ENFERMEDADES QUE ATACAN A LA GUAYABA

- ❖ Falta de humectación
- ❖ Pudrición por *Sclerotium*
- ❖ *Phytophthora* Foliar
- ❖ Pudrición por nemátodos
- ❖ Raíz blanca
- ❖ Enfermedad rosada

Antracnosis .- Es con mucho, la enfermedad más destructiva y extendida contra la guayaba, ataca a la fruta madura y se manifiesta con la presencia de cráteres en la cobertura, el hongo causante es *Colletotrichum gloesporoides*, para su control se deben eliminar los frutos y ramitas infectados, eliminar la maleza para evitar la humedad y permitir la respiración del tronco, la infección post cosecha se controla almacenando la guayaba a bajas temperaturas (5 - 8°C), se acostumbra sumergir la fruta en una solución que contenga 1 a 3 g de Benomyl por litro de agua durante 5 minutos, a 48 - 50°C, o utilizando irradiación gama de 10 - 30 krads.

PLAGAS QUE ATACAN A LA QUAYABA

A parte de la mosca de la fruta, hay muchas clases de plagas que atacan a la guayaba, sin embargo, la fruta los tolera, en cantidades razonables, con la inmersión en agua caliente suelen desaparecer sus efectos, sin embargo, hay que tener en cuenta que para el mercado internacional, es necesario eliminar todo vestigio de ataque de mosca de la fruta, lo que se logra desde el campo y luego en el tratamiento postcosecha.

La mosca de la fruta (Díptera: Tephritidae)

Enfermedades.

La mayoría de los problemas con enfermedades postcosecha empiezan en la huerta como infecciones latentes en las frutas en desarrollo. Las enfermedades incluyen: antracnosis (causada por Colletrotrichum gloeosporioides y especies asociadas), pudrición por aspergilus (causada por *Aspergillus niger*), pudrición por mucor (causada por *Mucor hiemalis*), pudrición por fomopsis (causada por *Phomopsis destructum*) y pudrición por rizopus (causada por *Rhizopus stolonifer*). Las estrategias para el control de enfermedades incluyen: buena sanidad de las huertas, manejo eficiente para reducir infecciones precosecha, manejo cuidadoso para reducir los daños físicos, inmediato enfriamiento a 10°C (50°F) y subsecuente mantenimiento de esta temperatura a través de todo el sistema de manejo. (Zeledón, 2000)

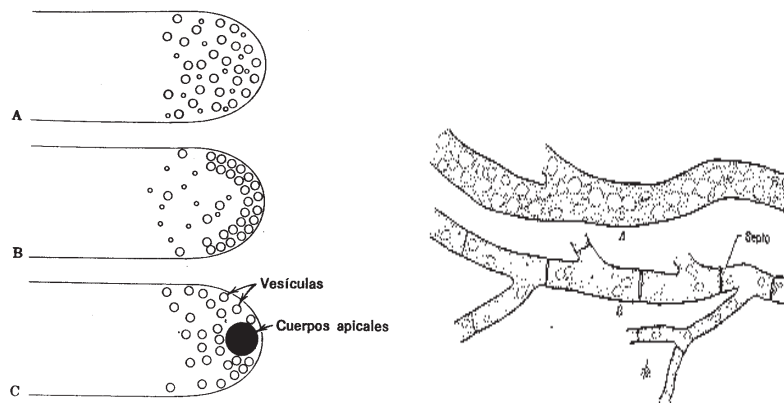
GENERALIDADES DE LOS HONGOS.

Los hongos son organismos eucariotas, que producen esporas no tienen clorofila, con nutrición por absorción, generalmente con reproducción sexual y asexual; el cuerpo consiste generalmente de filamentos ramificados con pared celular quitinosa (Molin y Gonzalez, 2002)

Aunque se ha fragmentado bastante, aún la mayoría de las especies pertenecen al reino Hongos y muy probablemente los grupos que han quedado incluidos sean polifileticos. Aún así, tienen características comunes de organización, nutrición, fisiología y reproducción. Los integrantes del grupo son generalmente filamentosos, aunque hay unicelulares. El tipo unicelular es típico de las levaduras. Pero algunos hongos, especialmente algunos patógenos de animales, pueden existir tanto como filamentosos o como unicelulares. Estos filamentos vegetativos de los hongos son denominados hifas y el conjunto de hifas se llama micelio. Las hifas que conforman el talo de los hongos filamentosos, se ramifican en todas direcciones en el sustrato de donde van absorbiendo los nutrientes necesarios. La pared de las hifas es delgada, transparente, tubular que interiormente puede tener una capa de protoplasma variable en su grosor. Las hifas crecen en forma apical. El ápice de las hifas presenta un gran número de vesículas citoplasmáticas que según se trate de hifas septadas o no se han observados diferentes disposiciones de las mismas. (Lopez Ruben, 1997)

Cuando el protoplasma se encuentra dividido en intervalos regulares a lo largo de la hifa, estas divisiones son llamadas septos (L. *septum*= *seto*, *tabique*). Las hifas que no poseen septos son cenocíticas (Gr. *koinos*=*común*+*koite*=*lecho*), es decir aseptadas. Sin embargo cuando la hifa

muere, se forma un septo que separa la porción muerta de la viva.
(Alexopoulos, C.; 1999)



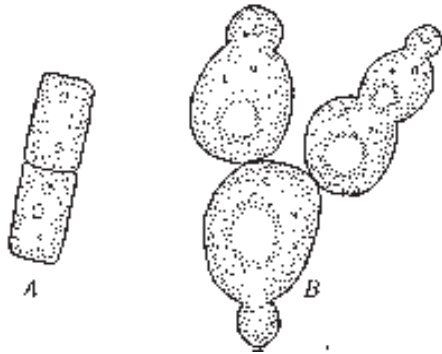
Organización apical de algunas hifas. A. Oomicetes. B. cenócita Zigomicetes. C. Hongos septados

Fig. 4 Hifas somáticas. A. hifa (aseptada). B. Hifa septada.

Podemos decir que hay dos tipos de septos: los **primarios** y los **adventicios**. Los septos primarios se forman con la división nuclear y quedan ubicados entre los núcleos hijos. Los septos adventicios se forman independientemente de la división nuclear y están relacionados con los cambios de concentración del protoplasma, a medida que este se desplaza en la hifa. Los septos pueden ser simples o complejos, en algunos casos el crecimiento del septo continua hasta formar una placa, en otros queda incompleto y forma un poro en el centro, este poro es lo suficientemente grande para dejar pasar los núcleos y otros orgánulos. (Alexopoulos, C.; 1999)

En el caso de las *Sacharomicetáceas* (Gr.. *saccharon*=azúcar+ *myketes*=hongo) que son las levaduras verdaderas o ascógenas, el término levadura se aplica a formas morfológicas de Ascomicetes, son hongos unicelulares que se reproducen asexualmente por gemación, división transversal (escisión) o por ambos métodos. Las levaduras ascosporógenas

se encuentran distribuidas sobre la superficie de la tierra y se destacan por su capacidad de fermentar los glúcidos. Debido a esta propiedad, al alcohol



y dióxido de carbono que resulta, se las emplea en la industria de la panificación, en la vinícola y en la cervecera, entre las más importantes. (Lopez Ruben, 1997)

La forma de la células de las levaduras varía con la especie, e incluso dentro de la misma especie se pueden encontrar algunas diferencias. Las formas pueden ser esféricas, ovoides, alargadas o rectangulares. A veces las levaduras quedan unidas en cadenas formando pseudomicelios. Las colonias en medios sólidos pueden presentarse desde color blanco, crema o con pigmentos.

La pared celular de los hongos posee diferentes constituyentes químicos como son polisacáridos, proteínas, lípidos y otras sustancias. La constitución varía entre las diferentes especies. También varia con la edad del hongo, ya que sustancias que pueden estar presentes en las hifas jóvenes, desaparecen en las más viejas o depositar otros materiales y enmascarar la presencia de constituyentes iniciales, también la composición del medio, el pH y la temperatura, influyen en la composición de las paredes de los hongos (Foster, 1949). Los componentes más comunes de acuerdo a su grupo taxonómico son: Celulosa-glucógeno, Celulosa-β-Glucana, Celulosa-quitina, Quitina-Quitosa, Quitina-β-Glucana, Manana-β-Glucana, Quitina-Glucana, Galactosamina-Polímeros de galactosa. (Alexopoulos, C.; 1999)

División Nuclear

La división nuclear en los hongos se realiza en forma organizada, cada núcleo tiene su cubierta un nucléolo y filamentos de cromatina que se organizan en cromosomas durante la división. En la mayoría de los casos la mitosis es intracelular (cerrada), y se destaca la presencia de centríolos, en este caso la división nuclear se denomina **céntrica**. Cuando se dice intranuclear, nos estamos refiriendo a que la envoltura nuclear no se deshace durante la profase, como sucede en las plantas y los animales. (Alexopoulos, C.; 1999)

Las divisiones nucleares meióticas también son intracelulares, pero típicas en todos los demás. Algunas veces, los cromosomas fúngicos son difíciles de contarlos con exactitud y tener la certeza que la reducción se produce después de una división. (Lopez Ruben, 1998)

Micelio

El conjunto de hifas que constituye el talo de un hongo se denomina **micelio**. El micelio de un hongo parásito crece en el hospedante, ya sea superficialmente o en el interior del mismo, extendiéndose por los tejidos. El micelio intercelular se alimenta por absorción a través de la membrana o la pared del hospedante. Si entra dentro de la célula, entra en contacto con el protoplasma del huésped. Las hifas intercelulares obtienen el alimento mediante los **haustorios** (*L. haptor=bebedor*). (Alexopoulos, C.; 1999)

Dímorfismos

Se denomina hongos dimórficos a aquellos que tienen la capacidad de producir micelios, en ciertas condiciones o pueden adoptar la formas de levaduras en otras condiciones ambientales. Uno de los factores ambientales más importantes a tener en cuenta para el crecimiento de una u

otra forma es la temperatura, a 25-28 °C, crecen en forma de hongos filamentosos y a 35-37°C ya crecen en forma de levaduras, la forma levaduriforme se puede obtener en cultivos de laboratorio con medios enriquecidos y a la temperatura de 28°C.

Las esporas (llamadas conidios, en algunos casos) de un hongo, están destinadas a la diseminación y reproducción, lo mismo que las semillas constituyen el medio de propagación de las plantas. Pueden constar de una sola célula o tener una estructura multicelular, consistiendo cada célula de una masa de protoplasma rodeada de una firme membrana. Las esporas de las distintas especies muestran variaciones considerables de tamaño, oscilando desde poco más de una micra en algunas especies de *Penicillium* hasta unas 200 micrones, las de mayor dimensión, en ciertas especies. Pero hasta las mayores esporas son lo suficientemente ligeras para poder ser transportadas a distancias considerables por las corrientes de aire, de modo que es raro encontrar la atmósfera libre de esporas de mohos lo mismo en el interior de un edificio que en el exterior. Cuando se deposita una espora o conidio, si el medio ambiente no es favorable para su desarrollo, puede quedar en estado latente durante cierto tiempo, pero germinará tan pronto como la humedad relativa del aire sea lo bastante elevada (la cifra varía según las especies).(Lopez Ruben, 1998)

La primera fase del desarrollo de una espora es la *absorción de agua*, con el *aumento consiguiente de la misma*. que se alargan rápidamente. Una espora unicelular puede dar origen a más de un filamento, mientras que en algunas esporas multicelulares cualquier célula puede desarrollar por su cuenta y hacer que broten *de la superficie unos o más filamentos*. Cada uno de estos filamentos se denomina HIFA (del griego *Hyphe*, tejido), estas aumentan su longitud mediante crecimiento apical, pero la mayoría de las partes del

organismo son capaces de crecer y basta un diminuto fragmento para ser capaz de dar origen a un nuevo individuo. El conjunto de hifas, micelio (del gr. *mykes*, hongo, y *elos*, verruga). Algunas hifas se extienden por la superficie del substrato, otras pueden penetrar cierto grado en el mismo, según la contextura de éste, en tanto que otras sobresalen de la superficie, ofreciendo en algunos casos un aspecto vellosa o esponjosa. Si disponen de una adecuada provisión de sustancias nutritivas y de la humedad suficiente los *filamentos se extienden* con rapidez y se ramifican repetidamente, de modo que llegan a cubrir la superficie del sustrato con una malla radiada de hifas. (Alexopoulos, C.; 1999)

La palabra espora se emplea en dos acepciones diferentes. La mayoría de los micólogos llaman esporas a toda clase de células diferenciadas que se forman dentro o sobre órganos especiales o bien se desprenden de los mismos que por supuesto están destinadas a la propagación y diseminación de la especie. No obstante, algunos reservan el término para el producto de lo que equivale a un proceso sexual. La índole sexual de la producción de esporas puede ser evidente, como sucede en los *Oomycetes* v *Zygomycetes*, pero en otros casos es oscura solamente se ha esclarecido mediante estudios citológicos. No obstante, la presencia de cuerpos reproductores o esporóforos que producen regularmente un número definido de esporas, en general un múltiplo de dos, es un dato más que suficiente para suponer que se trata de un proceso sexual.

Las esporas asexuales son de formas diversas, nacen en esporóforos de múltiples tipos y a diferencia de las esporas sexuales, se producen en número indefinido. Incluso en los órdenes de hongos que se han clasificado originariamente según las características de sus esporas sexuales, el modo de presentación, tamaño, forma y marcas de sus esporas accesorias

(asexuales) tiene mucha importancia taxonómica y más aún si nos referimos al inmenso grupo de los Hongos Imperfectos que comprende la mayor parte de los mohos comunes, en los que ésta es la única clase de esporas por consiguiente, constituye la única estructura en que poder basar un sistema de clasificación. La siguiente relación engloba casi todos los términos especiales que se emplean para designar las distintas clases de esporas y esporóforos. (Lopez Ruben, 1998)

Acérvulo (dim. del lat. *acervus*, cúmulo). Estructura característica de los *Melanconiales*. Los hongos de este orden, parásitos de las plantas, atraviesan la cutícula del huésped y producen una masa blanda de conidióforos que a veces se acompañan de hifas duras estériles llamadas setas.

Apotecio (del gr. *apo*, lejos de, y *theke*, receptáculo). Estructura en forma de copa ancha, en cuyo interior se encuentran, apretadas entre si, numerosas ascas de forma cilíndrica o claviformes. El nombre significa que no se trata de un verdadero receptáculo, puesto que está ampliamente abierto. (Alexopoulos, C.; 1999)

Asca (del gr. *askos*, saco de piel). Estructura característica de los *Ascomycetes* y que se encuentra sólo en ellos. Es un saco de paredes finas que contiene esporas. El número de éstas en cada asca es corrientemente de ocho; pero en algunos casos es otro multiplo de dos. En los *Ascomycetes* inferiores el asca es redondeada, con las esporas estrechamente apretadas en su interior, mientras que en las especies más diferenciadas es cilíndrica o claviforme y las esporas aparecen dispuestas en una o dos hileras. (Molin y Gonzalez, 2002)

Basidio (del gr. *basis*, pedestal, y *eidos*, semejante). Órgano característico de la clase Basidiomycetes. En los ejemplares superiores, o sea las distintas clases de setas, es una célula más ancha en el extremo superior que en la base y con cuatro finas proyecciones (esterigmas), cada una de las cuales lleva una espora. En el basidio es donde se funden los dos núcleos de «sexo» opuesto, siguiendo a la fusión dos divisiones sucesivas para dar lugar a cuatro núcleos hijos que entran a formar parte de sendas esporas.

Clamidoconidia (del gr. *chlamys*, clámide, capa). Espora protegida por una pared gruesa, formada por hinchazón y engrosamiento de pequeñas células independientes que se encuentran en hifas vegetativas sumergidas o aéreas o incluso en conidios multiseptados, como los de la especie *Fusarium*.

Conidióforo (de *conidium* y el gr. *foreo*, llevar). Hifa especializada que lleva conidios, bien en el ápice o, menos frecuentemente, a lo largo de ella. En algunos géneros el conidióforo acaba en una serie de ramificaciones, dispuestas según un patrón más o menos definido, en las que lleva los conidios.

Conidio (del gr. *konis*, polvo, y *eidos*, semejante). El término se aplica a menudo a diversos tipos de esporas asexuales; pero algunos autores lo restringen a las esporas que se separan sucesivamente de las «fiálides».

Coremio (del gr. *korema*, escobilla). Haz compacto y erecto de conidióforos. Estos pueden ser de longitud diferente, más o menos cilíndricos y revestidos de esporas en casi toda su extensión; o pueden ser de longitud aproximadamente igual, en cuyo caso el coremio tiene un tallo patente y una cabeza esporófora. (Lopez Ruben, 1998)

Oidios. El término se emplea por lo común sólo en plural. (*Oidio*, en singular, se refiere a una especie de hongos). En ciertos hongos algunas partes del micelio forman series compactas de células cortas que pueden conservar su forma rectangular que pueden redondearse para asemejar rosarios. El micelio se rompe en los septos, y los fragmentos, llamados oidios, actúan como esporas.

Peritecio (del gr. *peri*, en torno a, y *theke*, receptáculo). Estructura que se halla en la mayor parte de los *Ascomycetes*, consistente en un receptáculo en el que se producen las ascas, a menudo en gran cantidad. El peritecio puede ser irregularmente esférico y romperse en la madurez, liberando las esporas, o con más frecuencia, en forma de botella, expulsando las esporas a través del cuello.

Fialide (del gr. *phiale*, pomo, y *eidos*, semejante). Célula terminal y muy especializada de un conidióforo o más raramente el mismo conidióforo, de forma poco más o menos de botella que se alarga en su extremo superior, pero de la que se van separando sucesivamente los conidios, de modo que la longitud de la célula permanece sensiblemente constante. Las fialides se llaman con frecuencia esterigmas; pero la palabra debe reservarse para un tipo de estructuras muy diferentes, las proyecciones esporóforas de los basidios.

Picnidio (del gr. *pyknos*, compacto). Estructura reproductora que recuerda un peritecio, de forma de botella o algo irregular; en general, de tamaño fácilmente visible. A diferencia de los peritecios, los picnidios no contienen ascas, sino que están revestidos de conidióforos muy cortos. Cuando se rompe el picnidio libera una masa irregular de esporas

Esclerotio (del gr. *skleros*, duro). No esporas ni esporóforos, sino masas compactas de micelio, a menudo muy duras, cuyo tamaño varía en los mohos desde una fracción de milímetro a varios mm de diámetro. Algunos hongos superiores producen esclerotios mucho mayores.

Esporangio. Esporangio pequeño que contiene pocas esporas.

Esporangio (del gr. *angeion*, vaso). Receptáculo cerrado, generalmente redondo o piriforme, en el extremo superior de un tallo (esporangióforo) y que contiene un número indefinido de esporas. Los únicos mohos que producen esporas en esporangios son los *Mucorales*. (Molin y Gonzalez, 2002)

Esporodoquio (del gr. *docheion*, receptáculo). Haz de conidióforos, de forma almohadillada, estrechamente apiñados. En realidad es un tipo de coremio en el cual los conidióforos son demasiado cortos para formar un tallo.

Esporóforo (del gr. *phoreo*, llevar). Cualquier estructura portadora de esporas. Los esporangióforos y conidióforos pueden servir de ejemplo.

Estroma (del gr. *stroma*, lecho). Se trata, como puede verse en los cultivos de laboratorio, de una capa gelatinosa o coriácea que cubre la superficie del medio y que lleva las esporas en conidióforos muy cortos o enclavados en los peritecios o picnidios.

Sinemas (del gr. *syn*, junto a, y *nema*, hilo). Muy semejante a un coremio. El término se emplea también al referirse a asociaciones de conidióforos de forma menos definida que un coremio verdadero.

NUTRICIÓN.

En cuanto al tipo de nutrición, estos organismos desprovistos de clorofila e incapaces de sintetizar los glúcidos que necesitan para vivir, han desarrollado tres sistemas de vida:

1) Los **saprobios**, que pueden descomponer residuos orgánicos para alimentarse. Este es el caso de los hongos comúnmente hallados sobre troncos muertos, como los "Pleurotos" u hongo ostra, e incluso el más conocido "Champiñón".

2) Otros son **parásitos** y extraen las sustancias orgánicas que necesitan de un hospedador al que debilitan y a la larga lo matan.

3) El tercer modo de vida es el de los **hongos simbióticos**, que extraen las sustancias orgánicas de un hospedador, pero que en contrapartida le procuran cierto número de ventajas. Los más conocidos son los "Boletos" y las "Trufas".(Molin y Gonzalez, 2002).

Colletotrichum gloesporioides.

Ubicación Taxonómica.

Colletotrichum gloesporioides y *Glomerella cingulata*.

Fase: Sexual= Telomorfo.

Asexual: Anomorfo.

División: *Mycota*

Mycota

Subdivisión: *Eumycotina*

Eumycotina.

Clase: *Ascomycetes*

Deuteromycetes

Subclase: *Pirenomyces*

Grupo 3: *Diaporthe*

Orden: *Diaporthales*

Melanconiales

Familia: *Diaporthaceae*

Melanconiaceae.

Genero: *Glomerella*

Colletotrichum

Especie: *cingulata*

gloesporioides

ASPECTOS BIOLÓGICOS DEL GÉNERO COLLETOTRICHUM

El género *Colletotrichum* fue descrito por Tode en el 1790 bajo el nombre de *Vermicularia*, nombre que fue validado por Fries en el 1825 (Baxter et al., 1985). Penzig en el 1882, describió a *Vermicularia gloeosporioides*, hoy conocido como *C. gloeosporioides*, cuando fue aislado en Italia de las hojas de un cítrico (Walker, 1980). Más tarde, Saccardo en el 1884, transfirió a *Vermicularia* al género *Colletotrichum* y aplicó este nombre a los hongos habitantes de las hojas que eran similares a *Colletotrichum* (Baxter et al., 85).

Colletotrichum fue establecido como género por Corda en el 1831, quien lo describió como un hongo caracterizado por acérvulos setosos y conidias hialinas y fusiformes (Baxter et al., 1985).

Colletotrichum ha sido redescrito bajo diferentes géneros, siendo los dos más comunes *Vermicularia* y *Gloeosporium* Desm & Mont (Wharton, 2001). Han existido problemas para diferenciar a *Colletotrichum* de *Gloeosporium*. Inicialmente, en *Gloeosporium* su acérvulo glabroso era distintivo, pero más tarde se descubrió que este hongo podía desarrollar setas en algunos sustratos

(Jeffries et al., 1990). Duke en el 1928, demostró que la presencia o ausencia de setas y su arreglo en el acérvulo son extremadamente variables y no son relevantes a nivel de género (Wharton, 2001). Von Arx (1957, 1970) redujo la confusión entre géneros al escribir monografías sobre *Colletotrichum*, en las que reduce cientos de taxones a 13 especies aceptadas. Además, combinó 600 sinónimos en ocho formas para *C. gloeosporioides*, basado en la variabilidad del cultivo, la especificidad del hospedero, pero las relaciones entre estas formas aún necesitan

clarificación. Hoy día, aún existen problemas taxonómicos para *C. gloeosporioides* (Jeffries et al., 1990).

Glomerella cingulata (Stonem.) Spaulding & Schrenk se reconoce como el estado teleomorfo de *C. gloeosporioides*, pero no se ha relacionado con otros aislamientos de este taxón (Jeffries et al., 1990). Para algunas formas de *C. gloeosporioides*, no se ha encontrado el estado teleomorfo, pero pueden ser diferenciados morfológicamente. Estas formas están estrictamente limitadas a una planta hospedera específica y tienen formas de crecimiento distintas en cultivo puro (Von Arx, 1970).

Glomerella spp. es un ascomiceto que desarrolla un peritecio bien variable en estructura y se pueden encontrar muchas formas genéticas diferentes, de fisiología variable y específicos para algunos hospederos o sustratos (Von Arx, 1970). Presenta un ascocarpo de 85-300 µm, marrón oscuro, con pocas ascas, clavadas y de pared fina, contenidas por hasta ocho ascosporas. Las ascosporas son truncadas, biseriadas y elipsoidales a fusiformes, hialinas, de pared lisa, mayormente con una medida de 10-21 x 4-6 µm (Domsch et al., 1980).

Von Arx (1970) describe el estado anamorfo de *Glomerella*, el género *Colletotrichum*, con acérvulos intra o subepidermales, con variaciones en tamaño y forma, glabrosos o setosos. Las setas son oscuras u ocasionalmente casi hialinas que surgen de la base del acérvulo. Las conidias son elipsoidales, cilíndricas y forman apresorios al germinar. Además, describe para *C. gloeosporioides* acérvulos oscuros o claros, setosos o glabrosos. Las conidias son cilíndricas o elipsoidales, redondeadas en los extremos, atenuadas o truncadas, hialinas y forman masas de esporas anaranjadas a rosadas.

C. gloeosporioides es un hongo de distribución cosmopolita predominante en los trópicos y subtrópicos (Sutton, 1980). La especie muestra alta variabilidad morfológica por lo que se recomienda que la diferenciación debe realizarse mediante la integración de características ecológicas, morfológicas y moleculares, además, mediante pruebas de hospedero y patogenicidad (Sutton, 1980). Menciona que se han utilizado diferentes criterios para la diferenciación de taxones en *Colletotrichum*, pero a consecuencia del amplio rango de variabilidad de *C. gloeosporioides* es ineficiente proveer una descripción estandarizada. Aun así, describe las conidias de esta especie como rectas, obtusas en el ápice, con una medida de 9-24 x 3-4.5 μm y con apresorios de 6-20 x 4-12 μm .

Una herramienta adecuada para la identificación de *Colletotrichum* es la medida de sus apresorios. Para muchos hongos fitopatógenos, el apresorio es la estructura más importante en la invasión del hospedero. Éste aumenta el área de superficie y permite la adhesión del hongo a la planta hospedera. Además, provee la fuerza mecánica, las enzimas necesarias para la penetración y promueve la sobre vivencia en condiciones adversas (Hutchison et al., 2000).

La antracnosis causada por *Colletotrichum*, afecta diferentes cultivos, como Guayaba, la fresa, el mango, la papaya, el aguacate, la manzana, la almendra, la lenteja, el algodón, el café y el guineo, entre otras plantas.

Colletotrichum tiene subdivisiones sistemáticas y estos grupos pueden ser divididos en otros subniveles. Esta afirmación esta basada en el análisis de distintas partes del genoma, que podrían reflejar diferentes niveles de jerarquía taxonómica.

El problema con la taxonomía de *Colletotrichum* reside en que produce conidias secundarias provenientes de las conidias de germinación inicial.

Estas esporas secundarias generalmente son variables en tamaño y dificultan la identificación (Buddie et al., 1999). Debido a estos problemas se han utilizado una variedad de métodos moleculares para discriminar entre especies de *Colletotrichum* ya que los criterios morfotaxonómicos no son precisos (Freeman et al., 1996). En otro estudio realizado por Freeman y Rodríguez (1995) se identificó que existe variación entre las especies identificadas como *C. gloeosporioides*. Denoyes-Rothan et al., (2003) estudiaron patrones de RAPD de 14 aislados de *C. gloeosporioides* y estos patrones mostraron un alto nivel de polimorfismo entre aislados. En otro estudio realizado por Brown et al., (1996) se estudiaron diferentes aislados de *C. acutatum* y *C. gloeosporioides* y se amplificó el ADN ribosomal por el método de PCR con los *primers* específicos (*CaInt2* y *CgInt*) y el *primer* ITS4. A través de la secuenciación de nucleótidos complementado con el método RFLP, se pudieron reclasificar los aislados de *C. acutatum* previamente clasificados como *C. gloeosporioides*, basados en la morfología de los conidias.

Chongo y Bernier (2000) realizaron un estudio con lenteja donde se determinó que el desarrollo de la antracnosis en esta planta está influenciado por el genotipo de la planta hospedera, debido a que existen variedades más resistentes. Al aumentar la concentración del inóculo, disminuyó el tiempo requerido para la formación de lesiones y la primera esporulación. El período de humedad influyó en el desarrollo de la antracnosis. Se observó que luego de 24 horas de un período de alta humedad, la enfermedad fue más severa. La severidad de la antracnosis fue mayor en un rango de 20 a 28 C, bajo y sobre el rango la severidad disminuyó. Concluyeron que las plantas, en todas sus etapas de crecimiento, fueron infectadas por *Colletotrichum*. El período de cuatro a seis semanas

luego de la producción de semillas fue óptimo para la infección para todos los genotipos de plantas.

Yang et al., (1980) demostraron en su estudio que *C. acutatum* es dispersado en una siembra de fresas por salpicaduras de lluvia. La intensidad de la lluvia influye la razón de liberación de esporas del recurso de inóculo. Ntahimpera et al., (1997) utilizaron el método de exposición de plato por dos a tres minutos, luego de períodos de 12 y 27 minutos de lluvia simulada sobre una siembra de fresas, con el propósito de evaluar el efecto de la dispersión por lluvia de *C. acutatum*. Luego de la exposición de plantas sanas cerca de la fuente de inóculo, se encontró que la infección fue mayor en plantas colocadas más cerca del inóculo. En el 1999, Ntahimpera et al., demostraron que *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* y *C. fragariae* presentaban patrones similares entre sí, en términos de dispersión por salpicaduras de lluvia.

En un estudio sobre la antracnosis causada por *Colletotrichum musae* en se evaluó la importancia de la lluvia en la dispersión de conidias. Se cubrieron las flores de la mitad de las plantas y la otra mitad se dejó al descubierto. Se encontró que en las plantas cubiertas el flujo de la lluvia estaba restringido y por consiguiente también el transporte de conidias. La contaminación de las plantas estuvo altamente correlacionado con la lluvia (De Lapeyre de Bellaire et al., 2000).

ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Glomerella cingulata*.

Glomerella cingulata es un organismo eucariota, perteneciente a la familia Phyllachoraceae de la división Ascomycota (Hawksworth et al., 1995). Su fase asexual corresponde al género *Colletotrichum gloeosporioides*. En agar papa dextrosa *C. gloeosporioides* presenta macroscópicamente una colonia

con micelio algodonoso blanco con masas centrales del mismo aspecto anaranjadas.

Microscópicamente se caracteriza por fructificaciones acervulares con conidios hialinos fusiformes. Pueden observarse setas y apresorios al cultivarse en agar de avena, agar de papa y dextrosa, y agar de agua mineral con glucosa (Swart, 1999). *C. gloeosporioides* muestra el mayor grado de diversidad morfológica y biológica y tiene rango más amplio de hospederos de todas las especies de *Colletotrichum* (Du et al., 2005). Von Arx (1957) clasificó las especies de *Colletotrichum* y las unió a *C. gloeosporioides* basándose en la similaridad morfológica. Muchos investigadores han separado especies de *Colletotrichum*, en base a su especificidad de hospedero y sus características en el medio de cultivo (Du et al., 2005). También se pueden utilizar técnicas moleculares como alternativa complementaria para la identificación de las especies de *Colletotrichum* y para diferenciar entre aislados.

PATRÓN TÍPICO DE INFECCIÓN DE C. gloeosporioides

Las especies de *Colletotrichum* muestran un patrón típico en su proceso de infección. Las microconidias del hongo llegan al hospedero y se adhieren a la cutícula de la planta. La microconidia germina y se forma un tubo germinativo (Jeffries et al., 1990). A partir del tubo germinativo se forma un apresorio muy característico para el género, de morfología limitada por un rango de variación (Parbery 1981; citado por Jeffries et al., 1990). Una vez el apresorio germina, se forma un gancho de penetración que crece atravesando la cutícula y penetrando las células epidermales. La hifa se disemina intracelular e intercelularmente, causando necrosis de las células y la formación de la lesión (Jeffries et al., 1990).

DISPERSION DE C. gloesporioides

Una característica importante para la dispersión y adhesión de las conidias y ascosporas de muchas especies de *Colletotrichum*, es que estas están envueltas con una sustancia mucilaginosa hidrofílica. La sustancia mucilaginosa está compuesta principalmente de polisacáridos y glicoproteínas de alto peso molecular. Además, mantiene la viabilidad de las conidias bajo condiciones adversas como las temperaturas extremas, luz ultravioleta y humedad baja. Al mismo tiempo, protege las microconidias de los materiales tóxicos producidos por los tejidos vegetales hospederos durante el desarrollo de una lesión (Wharton, 2001).

La rápida diseminación de la enfermedad puede ser causada por el uso de cultivares susceptibles y condiciones de alta humedad (Echávez y Alameda, 1998). Ciertas condiciones ambientales como la alta humedad, aumentan la probabilidad de producir microconidio como inóculo primario y la dispersión de esta entre las plantas (Ellis y Paschal, 1977 y 1979). El factor ambiental que más influye en el desarrollo de la antracnosis es la humedad alta.

Otro factor clave es la temperatura que además, interactúa con la humedad (Wharton, 2001). Durante los períodos de lluvia, se forman acérvulos en la planta y las microconidias son dispersadas por salpicaduras causadas por la lluvia, sobre la siembra y plantas adyacentes (Buchwaldt et al., 1996). Las semillas contaminadas proveen inóculo, pero cualquier tejido contaminado o material vegetal en descomposición puede convertirse en un foco potencial de infección (Ellis y Paschal, 1977; 1979).

Muchos organismos utilizan la atmósfera para moverse de un hábitat terrestre a otro, algunos pasivamente, o mediante distintas características morfológicas que facilitan su movimiento, como la formación de apéndices (Isard y Gage, 2001). Muchos hongos han desarrollado estrategias para la

dispersión de sus esporas en la atmósfera. Algunos han desarrollado estructuras para liberar las esporas por sí mismos, otros utilizan insectos como vectores y la mayoría tienen esporas aerotransportables, que pueden ser dispersadas por el viento o por salpicadura de lluvia. Estas esporas aerotransportables son las de mayor importancia en la fitopatología (Deacon, 1997). Existen tres fases importantes en la dispersión aérea: la liberación de esporas, su dispersión y la deposición sobre el sustrato. La deposición de esporas puede ocurrir por sedimentación, en donde las esporas de mayor peso se asientan con mayor rapidez que las de menor peso. El impacto de esporas es la forma de deposición de mayor importancia para los patógenos de plantas.

Las esporas más pesadas tienen mayor probabilidad de impactar. A medida que la velocidad del viento aumenta, las esporas más pequeñas pueden impactar alguna superficie. Otra forma de deposición es mediada por la lluvia, un mecanismo más efectivo para remover las esporas del aire y depositarlas en superficies terrestres, como las plantas (Deacon, 1997).

Para conocer la diversidad de hongos con potencial patogénico en plantas, animales y seres humanos es importante estudiar la microflora de un lugar. Es necesario realizar estudios sobre la diversidad de hongos en diferentes épocas del crecimiento de la planta para determinar en que momento abundan propágulos viables que pueden causar enfermedades.

Aerobiología de Colletotrichum

Colletotrichum produce acérvulos en las lesiones, en donde se forman las conidias que son dispersadas por las gotas de lluvia a plantas vecinas. En todas las plantas infectadas se forman microesclerocios que permanecen en el campo como estructuras de resistencia. En un estudio realizado por

Buchwaldt et al., (1996) se estudió la distribución rápida de la antracnosis en la lenteja (*Lens culinaris* Medik.) causada por esta especie. Se determinó que la dispersión del hongo ocurría a través de la semilla, pero se encontraba en un 2%, aún en períodos de infección severa. Por tal razón, se estudiaron los materiales transportados por el viento tales como: residuos de las cosechas, polvo, desechos orgánicos y muestras de suelo, como potencial recurso de inóculo (Buchwaldt et al., 1996).

Los investigadores colocaron hojas de polietileno de 1mm en el suelo por seis horas, para la recolección de esporas. Se recolectó el polvo depositado en una aspiradora, se pegó cinta adhesiva sobre el polvo y se tiñó con lactofenol con azul de algodón. Mediante análisis microscópico se determinó que *C. gloesporioides* tiene un período de sobre vivencia en los residuos de la cosecha, de aproximadamente dos años (Buchwaldt et al., 1996).

Aspectos de la Aerobiología de hongos

Ingold en el 1953, discutió los mecanismos por los cuales las esporas se vuelven aéreas, su dispersión y liberación. Tradicionalmente se ha utilizado el método de exposición de plato para documentar la presencia de esporas de hongos sobre diversos cultivos. Para estudiar la incidencia de esporas sobre una siembra de maíz, Bothast et al., (1977) utilizaron el método de exposición de platos, ya que tiene similitud en la exposición de la planta a las esporas de hongos.

El transporte aéreo de esporas es responsable de dispersar enfermedades en plantas a través de distancias de 500 km ó más (Aylor, 1986)

PROCESO DE INFECCION.

El proceso de infección del hongo *Colletotrichum gloesporioides* en frutos cítricos como la Guayaba ocurre de la siguiente manera:

Los conidios germinan sobre la epidermis y tricomas, y forman un apresorio globoso o clavado 6-9 h después de la inoculación. El hongo induce la producción de polifenoles en las células epidermales y del parénquima, pero la infección no se detiene.

La penetración es directa a través de células epidermales y tricomas 24 h después de la inoculación. La colonización del hongo en el mesocarpio es inter e intracelular. Después se produjo colapso y necrosis celular. El hongo forma conidióforos cortos libres o agrupados en acérvulos subcuticulares y subepidermales en el tejido dañado. *C. gloesporioides* completó el ciclo de la enfermedad en 72 h en frutos inmaduros y sanos de cítricos.

En pecíolos de cítricos inoculados con *C. gloesporioides*, la germinación de conidios y formación de apresorios ocurre entre 6-16 h y 12-24 h después de la inoculación (Milholland, 1982; Curry *et al.*, 2002). La penetración del hongo fue directa a través de las células epidermales y las basales de los tricomas. La colonización del tejido fue inter e intracelular con una corta fase biotrófica previa a la fase necrotrófica. Los cambios estructurales se relacionaron con necrosis y colapso celular, desorganización del xilema y crecimiento anormal de los elementos del haz vascular, así como la formación de tílides dentro de los vasos del xilema.

Después de 72 h aparecieron síntomas de antracnosis y se formaron acérvulos, los cuales irrumpieron por la cutícula y liberaron conidios secundarios.

PREINFECCIÓN.

La patogénesis se inicia con la germinación de los conidios 46 a 72 h después de la inoculación y concuerda con los estudios anteriores realizados por Milholland (1982) y Curry *et al.* (2002) en plantas de cítricos. Los conidios germinaron sobre la superficie del fruto y tricomas. La adhesión de los conidios en la superficie del hospedante podría estar directamente relacionada con la naturaleza de las ceras epicuticulares, ya que en el cítricos estas ceras inducen la germinación de los conidios (Krishna *et al.*, 1993; Prusky y Keen, 1993); en chirimoya, tales ceras podrían también haber favorecido la germinación. El proceso de germinación involucró la formación del tubo germinativo, emitido en uno o ambos extremos del conidio. En los extremos de los tubos germinativos se formó un apresorio globoso o clavado 12-24 h después de la inoculación, que se tornaron café a las 24 h.

Frecuentemente se observa la producción de polifenoles café ó castaño en las células epidermales que tuvieron contacto con los conidios. Estos resultados contrastaron con los reportados por Mould *et al.* (1991a) quienes encontraron que en el patosistema *C. trifolii*-alfalfa (*Medicago sativa*), las reacciones de las células del hospedante se iniciaron sólo después del contacto con la punta de penetración y se observó porque las células infectadas se tiñeron intensamente por la presencia de los polifenoles.

INFECCIÓN

La penetración del hongo fue directa a través de una punta de penetración desarrollada en la base del apresorio, como se ha reportado para varias especies de *Colletotrichum* (Mould *et al.*, 1991b; Mims y Vaillancourt, 2002; Curry *et al.*, 2002). La penetración tiene lugar en las células epidermales y en las células de los tricomas 24-48 h después de la inoculación. Esto demuestra que la susceptibilidad de variedades de los frutos al hongo puede

estar asociada con elevadas cantidades de tricomas, ya que estas estructuras no evitaron que el hongo penetrara al fruto. Este resultado puede ser útil en programas de mejoramiento genético para desarrollar variedades resistentes de la enfermedad.

COLONIZACIÓN

No se observó fase de latencia del hongo en la etapa de apresorio, tal como ocurre cuando *C. gloeosporioides* infecta al aguacate que es un fruto el cual del hongo tarda mas en penetrar a la pulpa para llevar a cabo su proceso de infeccion y dar los síntomas característicos de la antracnosis. (Binyamini y Schiffmann, 1971; Dodd *et al.*, 1997). Los frutos inmaduros, inoculados en campo con conidios de *C. gloeosporioides* desarrollaron síntomas de antracnosis 9-13 d después. Esto demuestra que este hongo, puede infectar frutos inmaduros en precosecha, lo cual contrasta con lo reportado para los patosistemas *C. gloeosporioides* aguacate, mango o papaya donde el hongo infecta sólo en postcosecha (Dickman, 1998; Ploetz, 1998; Prusky, 1998).

La colonización del hongo fue inter e intracelular y avanzó de las células epidermales y tricomas al mesocarpio. En los tricomas se observó como la hifa del hongo creció hacia la célula basal y de ésta al parénquima.

En las células epidermales no sólo se indujo la producción de polifenoles al contacto de los conidios con la cutícula sobre la pared de las células, sino también cuando la hifa del hongo penetró al citoplasma. No obstante la inducción de polifenoles café o castaño en las células infectadas, el avance del hongo continuó a las células del parénquima del mesocarpio.

A las 48-72 h las células dispuestas más hacia la superficie del fruto colapsaron. Después, se observaron los primeros síntomas macroscópicos: lesiones necróticas café o café oscuro, con bordes delimitados, hundidas,

típicas de antracnosis y en ellas se produjeron conidios y conidióforos cortos libres que constituyeron una fuente de inóculo secundario.

Conforme los tejidos fueron colonizados por el hongo, los polifenoles rojos y guindas se metabolizaron quedando los primeros dispuestos en las paredes celulares, por lo que las alteraciones fueron más evidentes en la zona dañada; en contraste, los guindas se tornaron café y permanecieron en el citoplasma. Es probable que la alteración metabólica de los compuestos fenólicos ocasione la muerte celular, y ésta, junto con los polifenoles, sean los responsables del color y del límite de la lesión. En infecciones más desarrolladas que alcanzaron la epidermis interna del mesocarpio, se indujo hiperplasia celular con la diferenciación de abundantes esclereidas y células taníferas. En este estado de desarrollo de la lesión (72 h) se observó que el hongo establecido en la superficie del fruto produjo un estroma micelial, del cual se desarrolló el acérvulo.

Los acérvulos fueron subcuticulares y subepidermales y su erupción se llevó a cabo por setas de 4-9 septos que produjeron una gran cantidad de conidios una vez emergidas, pero la mayor producción de conidios ocurrió en conidióforos cortos acervulares embebidos en masas gelatinosas anaranjadas.

Así, el ciclo de la enfermedad por *C. gloesporioides* en frutos inmaduros se completó en 72 h.

EXPRESION DE ENZIMAS.

Bajo condiciones in vivo, el pH del pericarpio inmaduro de las frutas recientemente cosechadas como son los cítricos y la papaya, son un poco mas resistentes al ataque producido por *C. gloesporioides*, debido a que el pH es de 3.2, mientras que en frutas maduras, cuando los síntomas del decaimiento fueron expresados, el pericarpio pH había aumentado a 6.3. Los actuales resultados sugieren que el pH regule la secreción del PL, asi como de las celulasas y cutinasas siendo la mas importante la PL y pueda afectar patogenicidad del hongo *C. gloesporioides* El mecanismo encontrado en aguacate puede tener equivalentes en otros patosistema establece que regulando el pH de el micro ambiente se podría prevenir la infección del *Colletotrichum gloesporioides* o por lo menos controlarla.

El patógeno ataca las frutas temprano en su desarrollo y permanece como apresorio germinado durante el crecimiento de la fruta (infección quieta) . Después aparece como puntos marrón-negros en la fruta y la maduración favorece, el rápido-desarrollo en el pericarpio y de la putrefacción suave en el mesocarpio, los síntomas de la antracnosis, aparecen. (Prusky). Se han sugerido varias hipótesis para explicar el mecanismo de la resistencia de frutas inmaduras: (i) los alimentos disponibles para el patógeno se pueden limitar en anfitriones inmaduros, (ii) los compuestos antifungales preformados presentes en frutas inmaduras declinan durante la maduración, (iii) los compuestos antifungales en frutas inmaduras declinan durante la maduración, y (iv) los factores fungicidas del patógeno se pueden activar principalmente en frutas de maduración debido al pH.

El *C. gloesporioides* produce un arsenal de enzimas pectolíticas, incluyendo el poligalacturonasa, del liasa de la pectina (2), esterasa mutilen pectinasa (15), y Pectato liasa (PL) .

Nuestra hipótesis de funcionamiento es que las condiciones ambientales de la fruta afectan la secreción de la PL y previenen la activación de la colonización de *C. gloesporioides* en frutas inmaduras. En el actual estudio, demostramos la importancia del pH como regulador de la secreción pectolítica de las enzima de *C. gloesporioides* la patogenicidad del hongo es dependiente en su capacidad de secretar la enzima PL y no en la expresión del gene del PEL.

III.- JUSTIFICACIÓN.

El cultivo de Guayaba (*Psidium guajava*) es considerada dentro de los principales cultivos del estado de Michoacán, el fruto es comercializado bajo tres estados de maduración (verde, rayada y amarilla). Sin embargo debido a sus características fisicoquímicas y estado de maduración, el fruto sufre pérdidas poscosecha importantes, entre las causas se encuentran: sensibilidad a daños mecánicos y que debido a su fina cáscara es vulnerable al ataque de bacterias, levaduras y hongos, principalmente *Colletotrichum gloesporioides* agente causal de la Antracnosis enfermedad de mayores pérdidas económicas y de la cual no hay información precisa para proceder a erradicarla del fruto.

IV.- HIPOTESIS

Durante el desarrollo del fruto en campo la guayaba se encuentra expuesta a contaminación por hongos que causando perdidas en cosecha y poscosecha.

V.- OBJETIVOS

General.

Determinar el tiempo de la aparición de lesión característica de la antracnosis, así como los tiempos de recuperación en agar papa dextrosa después de inoculación intencionada y proceso de patogénesis del hongo *Colletotrichum gloesporioides* en frutos de Guayaba en estado de maduración fisiológica y verde.

Específicos:

- 1) Determinar que tipo de reproducción utiliza el hongo *Colletotrichum gloesporioides* en el fruto para llevar a cabo su patogénesis.
- 2) Determinar la incidencia del hongo *Colletotrichum gloesporioides* en frutos de Guayaba
- 3) Determinar el tiempo de la aparición de lesión característica de la antracnosis.
- 4) Establecer el tiempo de recuperación de *Colletotrichum gloesporioides* en agar papa dextrosa después de inoculación intencionada

VI.- MATERIALES

Autoclave.

Balanza granataria, sensibilidad 0.1 gr.

Campana de flujo laminar.

Incubadora de 25 - 27 °C.

Potenciómetro.

Vortex.

Bolsas de polietileno en rollo.

Gasas.

Cajas petri.

Micro pipetas

Material de uso común en el Laboratorio de Microbiología.

Medios de cultivo.

Caldo lactosado.

Caldo dextrosa sabouraud.

Caldo lauril sulfato de sodio.

Caldo Maltosa Sabouraud.

Caldo Lauril sulfato de sodio

Caldo nutritivo.

Agar papa dextrosa.

Buffer de peptonas.

Caldo infusión cerebro corazón.

Soluciones o Reactivos.

Acido tartàrico.

Azul de lactofenol.

Hidróxido de potasio (KOH) al 10%

Solución salina isotónica.

Diluyente de peptona (0.85 %)

Agua peptonada.

Solución salina isotónica.

Cloro a 150 ppm.

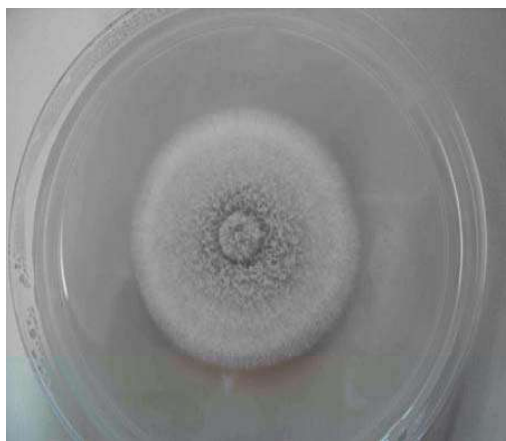
MATERIAL BIOLÓGICO.

Cepa de *Colletotrichum gloesporioides* utilizada durante este estudio la cual fue donada por la facultad de Agrobiología de la ciudad de Uruapan Michoacán.

Guayabas: se compararon en el mercado de abastos de la ciudad de Morelia Michoacán, las cuales provienen de la ciudad de Zitacuaro Michoacán,

VII.- METODOLOGIA.

Obtención de la cepa pura de *Colletotrichum gloesporioides* (donada por la facultad de Agrobiología en Uruapan Michoacán)



1.- PROBAR LOS CALDOS PARA EL CRECIMIENTO DE *C. gloesporioides*.
(La utilización de los caldos es con la finalidad de observar el mejor

crecimiento del hongo *Colletotrichum gloesporioides* para que no este en un proceso de stres y no se modifique la expresión de enzimas y por lo tanto podamos conocer los tiempos de la aparición de los síntomas de la Antracnosis)

De la cepa pura de *Colletotrichum gloesporioides* se tomo una azada en 10 ml de los caldos a evaluar para observar el crecimiento en los diferentes caldos de cultivo que se tenían en existencia y a evaluar fueron:

- Caldo Lactosado.
- Caldo lauril sulfato de sodio.
- Caldo infusión cerebro corazón (BHI)
- Caldo dextrosa Sabouraud.
- Caldo Maltosa Sabouraud.
- Caldo nutritivo.

Incubar a 25°C hasta obtener el crecimiento del hongo y evaluar los factores de virulencia del hongo.



PREPARACION DEL INOCULO de *Colletotrichum* para la inoculación en los frutos.

Adicionar a un frasco dilutor que contiene 90 ml de diluyente de peptonas 10 ml de caldo BHI previamente inoculado con el hongo *Colletotrichum gloesporioides* bajo el mechero o en una campana de flujo laminar, se agitó en vortex durante 15 minutos para homogenizar la suspensión.

INOCULACION DEL FRUTO CON *Colletotrichum gloesporioides*.

En un recipiente previamente desinfectado con cloro a 150 ppm, colocar 9 litros de agua estéril más 1 litro de Diluyente de Peptonas previamente inoculado con el hongo, se homogeniza con una varilla de vidrio estéril. En la solución anterior se incorporaron 20 frutos de Guayaba sanos previamente seleccionados.

Agitar periódicamente la solución anteriormente preparada durante 25 minutos, sacar del agua con guantes estériles y colocarlos en un recipiente desinfectado y colocarlos bajo campana de flujo laminar hasta que se sequen, después colocar 10 frutos en bolsa de polipiel y colocarlos en refrigeración de 4 - 8 °C y una humedad relativa del 85 %, los 10 restantes colocar a temperatura ambiente encima del refrigerador

RECUPERACION DEL HONGO *Colletotrichum gloeosporioides* en APD.

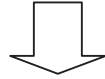
Observar los frutos 24 horas después de la inoculación, para reconocer los síntomas característicos de la Antracnosis y cortar los trozos donde se observa el daño con una hoja de bisturí estéril, y colocarlo sobre la superficie de agar papa dextrosa para esperar el crecimiento y determinar los tiempos de recuperación, y a la par del trozo cortado colocarlo sobre un portaobjetos y adicionar hidróxido de potasio al 10% para observar en microscopio objetivo 40X las hifas inter e intracelulares lo que nos indica la buena adaptación del hongo y por lo tanto la recuperación en agar papa dextrosa.

CUENTA VIABLE.

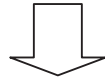
En 90 ml de diluyente de peptonas colocar 10 ml de caldo BHI previamente inoculado con *Colletotrichum gloeosporioides* de esta manera se obtiene una dilución 1:10, homogenizar en vortex durante 20 minutos, tomar con una pipeta estéril 10 ml y transferir a otro frasco dilutor con 90 ml de diluyente de peptona para así obtener una dilución 1:100, de estas diluciones tomar 1 ml de cada una y colocar sobre la superficie de agar papa dextrosa y aplicar la técnica de extensión por superficie con varilla de vidrio hasta que se seque sobre la superficie de la caja, incubar a 25 grados centígrados hasta obtener crecimiento.

CUENTA VIABLE.

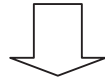
Colocar 90 ml de peptona en un matraz erlenmeyer + 10 ml de caldo BHI previamente inoculado.



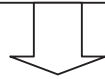
Colocar en vortex durante 10 minutos para que su homogenización.



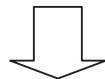
De la dilución 1:10 tomar 10 ml y colocarlos en otro buffer de peptonas para tener así una



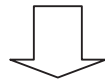
De las diluciones anteriores colocar 0.1 ml con pipeta automática y colocarlas sobre agar papa dextrosa y utilizar la técnica de extensión con varilla de vidrio.



Inocular a 27°C para obtener el conteo de colonias que nos indicaran el número de esporas que inoculamos en nuestro fruto.

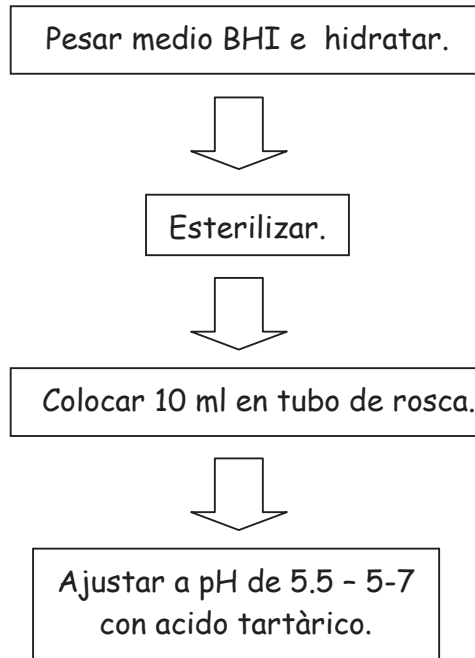


Agregar a un frasco dilutor con buffer de peptonas 10 ml de caldo BHI previamente inoculado.

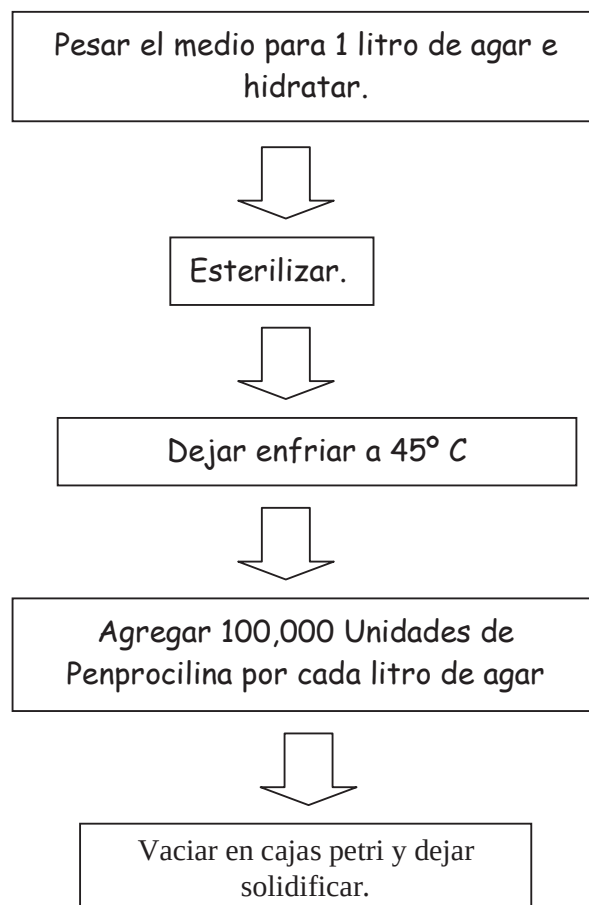


Agitar en vortex durante 15 min.

PREPARACION DEL CALDO BHI.

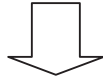


PREPARACION DE AGAR PAPA DEXTROSA.

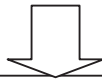


PREPARACION DE BUFFER DE PEPTONAS.

Pesar el medio para 1 litro e
hidratar.



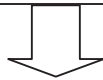
Colocar en botellas de dilución.



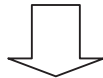
Esterilizar.

INOCULACION.

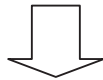
Colocar 10 litros de agua estéril en un recipiente
previamente desinfectado.



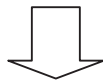
Agregar 1 litro de buffer de peptonas
previamente inoculado, para una obtener
una dilución 1:10



Colocar los frutos en el recipiente y agitar
periódicamente durante 15 min.



Colocar bajo campana de flujo
laminar hasta que se sequen.



Colocar en bolsas de polipapel.



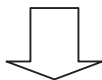
Dejar la mitad a temperatura ambiente y
la otra mitad en refrigeración de 2 - 4 °C
y 85 % de HR.

RECUPERACION.

Observar y distinguir los frutos con daños característicos de antracnosis tanto de refrigeración como de temperatura ambiente.



Cortar el pericarpio dañado de los frutos.

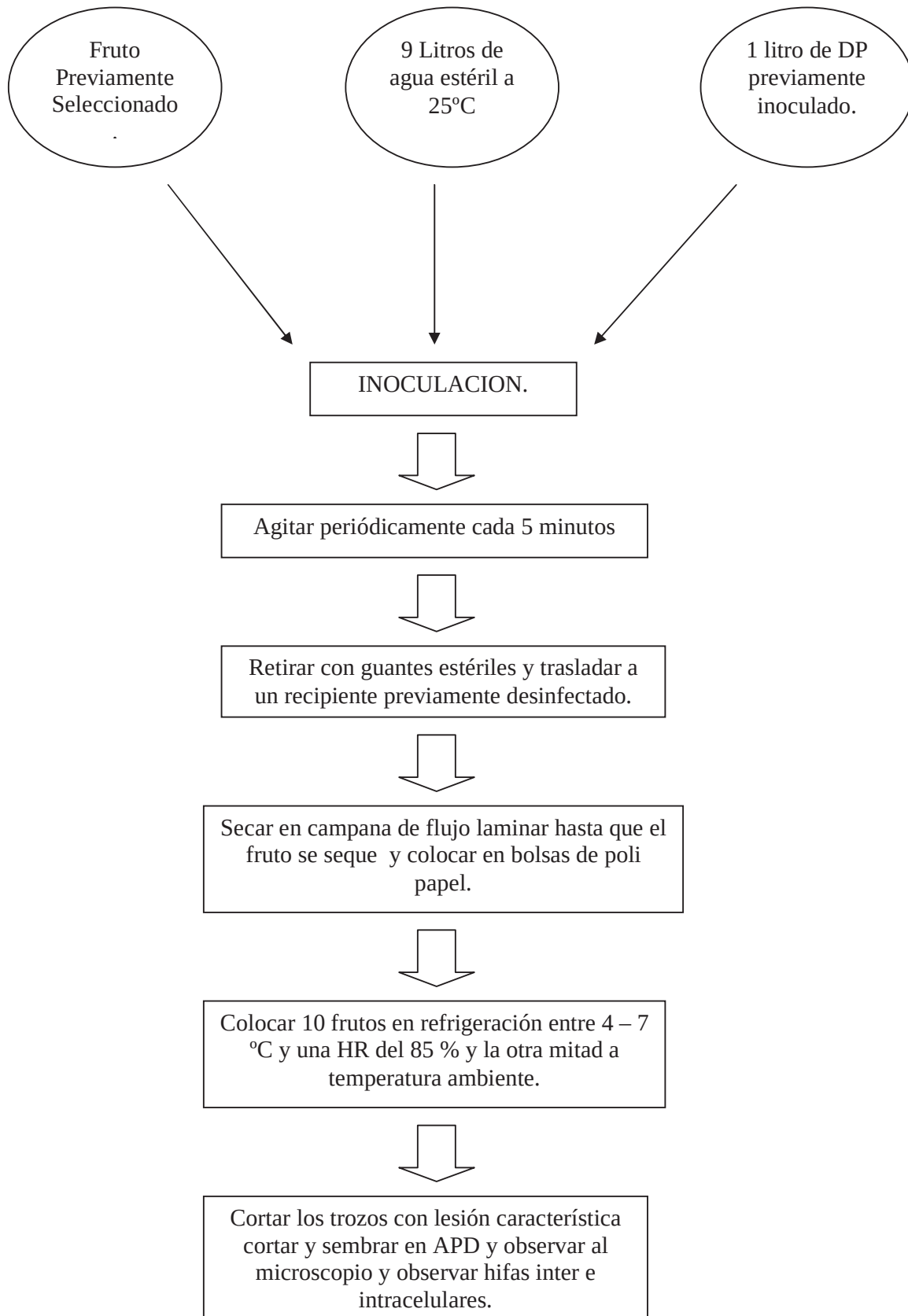


Sembrar la mitad del el trozo de pericarpio sobre la superficie de APD



Observar la otra mitad al microscopio para observar hifas inter e intracelulares.

METODOLOGIA GENERAL.



VIII.- RESULTADOS Y DISCUSION.

Síntomas característicos de la antracnosis provocado por Colletotrichum gloesporioides.

Los síntomas más frecuentes y variaciones que causa la ANTRACNOSIS son muy variables y se describen a continuación: Se inicia como pequeñas manchas de aproximadamente 0.5 cm de diámetro de color café y aspecto seco, no hundidas y de borde definido, antes de observarse este suceso se forma un exudado gomoso sobre el área donde se manifiesta la lesión sin embargo este exudado no siempre se presenta con regularidad debido a que no hay un cambio brusco de pH sobre el pericarpio del fruto.

Las lesiones tienden a hundirse en los bordes dejando el centro ligeramente levantado, en la mayoría de los casos ocurre coalescencia de las lesiones que llegan abarcar zonas bastante amplias del fruto sin embargo otra veces las lesiones permanecen aisladas sin coalescer.

Las lesiones de Antracnosis pueden variar de color, ya que a veces se torna de color café y en otras solo se manifiesta en oscurecimiento en el centro de la lesión, puede variar desde café hasta negro, también puede ocurrir que desarrollen un halo de color café en el borde de la lesión y en otras se mantiene el color natural de la fruta.

Otro de los aspectos que ocurre en la variación de la lesión es su capacidad de penetrar el tejido ya que cuando algunas veces se trata de lesiones bien definidas la lesión puede penetrar formando un característico tapón o área de forma cóncava que penetra en la parte central a la pulpa pero no más allá de 2 -3 milímetros. En los casos en que las lesiones coalescen penetra solo 2 o 3 milímetros y producen gran cantidad de tapones no tan característicos pero llegan a ocurrir.

También puede darse el caso en que las lesiones no penetran ocurriendo en daño únicamente el daño en el pericarpio. También las lesiones pueden variar en consistencia, de modo que algunos o son muy suaves y húmedas lo que ocurre cuando se presenta la coalescencia del pericarpio del fruto.

El último aspecto que puede observarse es la variación de la capacidad de la producción de acérvulos, las lesiones grandes e individuales presentan una gran cantidad de acérvulos a manera de círculos concéntricos que al envejecer se tornan de color negro en la parte central, se da el caso en que las lesiones muy pequeñas que coalescen no penetran y son muy secas y duras pero que desarrollan lesiones que se hunden poco y coalescen cuando están pequeñas, provocando que la zona afectada presente un color café de apariencia suave y que no desarrolla acérvulos.

CRECIMIENTO EN MEDIO DE CULTIVO APD.

Con relación a las características del patógeno en medio de cultivo se obtuvo lo siguiente: Desarrollo un crecimiento micelial poco profuso de color blanco, que cambio a verde y por ultimo a casi negro, desarrollando una serie de estructuras, a lo largo de la incubación se observaron manchas oscuras que variaban de negro hasta gris casi siempre 12 días después de la incubación, se presento poco crecimiento de acérvulos rosados y la mayoría de las tinciones hechas liberaron conidios en poca cantidad.

Se observaron variaciones en el crecimiento en APD como la formación de anillos circulares de color café de manera circular de el centro de la placa hacia fuera, otra variación fue la aparición de una gran cantidad de acérvulos en el centro del cultivo observados con un estereoscopio, que al paso de los días se tornaban de un color negro lo que nos indicaba el envejecimiento del cultivo.

CRECIMIENTO EN CALDO BHI.

El desarrollo en el caldo se observo mucha más rápido y con características un poco distintas a las observadas en placa.

El crecimiento fue micelial aéreo y profuso, primero de color blanco que después fue gris hasta un color casi negro, el micelio algodonoso muy denso y uniforme, a simple vista no había la formación de acérvulos sin embargo después de 8 días de incubación se observaban en la parte superior del tubo de color rosado con la ayuda del estereoscopio que crecían sobre el caldo y no sobre el micelio como generalmente sucede.

TIEMPOS DE RECUPERACION EN APD.

Uno de los factores que se evaluó en el trabajo fue la humedad relativa y la temperatura para el desarrollo de las síntomas de la antracnosis en frutos guardados en bolsas de poli papel a temperatura ambiente y en refrigeración a una temperatura de 4 - 8 ° C y una humedad relativa del 85%.

Un factor importante es la humedad relativa, la cual tiene gran influencia en el proceso infectivo de *C. gloesporioides*: la humedad relativa alta mayor del 85 % es de gran importancia para que ocurra la germinación de las esporas, formación de apresorio que es importante en la penetración porque es el sitio donde se acumulan las enzimas (celulasas, cutinasas y pectinasas), que degradan la pared celular de la planta, la temperatura también es un factor determinante en el crecimiento, pero debido a la humedad relativa tan elevada y la disposición de sustratos para su crecimiento es un factor que no fue determinante para su proceso de patogénesis.

○ Repetición 1.

TIEMPO (Hrs)	Temperatura Ambiente	Refireracion (4 - 7 °C y HR del 85 %)
24 horas	Negativo.	Negativo.
48 horas	Positivo.	Negativo.
72 horas	Positivo	Positivo.
96 horas	Positivo	Positivo.
120 horas	Positivo	Positivo.

○ Repetición 2.

TIEMPO (Hrs)	Temperatura Ambiente	Refireracion (4 - 7 °C y HR del 85 %)
24 horas	Negativo.	Negativo.
48 horas	Negativo	Negativo.
72 horas	Positivo	Negativo.
96 horas	Positivo	Positivo.
120 horas	Positivo	Positivo.

○ Repetición 3.

TIEMPO (Hrs)	Temperatura Ambiente	Refireracion (4 - 7 °C y HR del 85 %)
24 horas	Negativo.	Negativo.
48 horas	Positivo.	Negativo.
72 horas	Positivo	Positivo.
96 horas	Positivo	Positivo.
120 horas	Positivo	Positivo.

-
-

○ Repetición 4.

TIEMPO (Hrs)	Temperatura Ambiente	Refireracion (4 - 7 °C y HR del 85 %)
24 horas	Negativo.	Negativo.
48 horas	Positivo.	Negativo.
72 horas	Positivo	Positivo.
96 horas	Positivo	Positivo.
120 horas	Positivo	Positivo.

Los tiempos de recuperación y los diferentes grados de daños provocados por el hongo pueden deberse en gran parte a la variabilidad genética debido a que los frutos que se utilizaron durante el experimento no fueron de la misma procedencia y esto explica la variación en los tiempos de recuperación.

CUENTA VIABLE.

○ Repetición 1

Numero de repeticiones.	Dilución 1:100	Dilución 1:1000
Caja 1	1,900 u.f.c./ml	5,000 u.f.c./ml
Caja 2	1,700 u.f.c./ml	4,000 u.f.c./ml
Caja 3	1,800 u.f.c./ml	4,000 u.f.c./ml
Promedio.	1,800 u.f.c./ml	4,333.3 u.f.c./ml

○ Repetición 2.

Numero de repeticiones.	Dilución 1:100	Dilución 1:1000
Caja 1	1,800 u.f.c./ml	5,000 u.f.c./ml
Caja 2	1,900 u.f.c./ml	6,000 u.f.c./ml
Caja 3	1,600 u.f.c./ml	7,000 u.f.c./ml
Promedio.	1,766.6 u.f.c./ml	6,000 u.f.c./ml

- Repetición 3.

Numero de repeticiones.	Dilución 1:100	Dilución 1:1000
Caja 1	1,900 u.f.c./ml	4,000 u.f.c./ml
Caja 2	1,500 u.f.c./ml	3,000 u.f.c./ml
Caja 3	1,800 u.f.c./ml	3,000 u.f.c./ml
Promedio.	1,733.3 u.f.c./ml	3,333.3 u.f.c./ml

El numero de conidios que se cuentan para la inoculacion juega un papel importante porque de esto depende directamente la aparición rápida de los síntomas de Antracnosis, ya que bajo condiciones de cultivo en huerta el fruto no sufre daños tan severos ni de manera tan rápida como en el experimento realizado así que el numero de esporas es un actor determinante para la rápida aparición de los síntomas por lo cual quisimos tener una idea de el tamaño de inóculo.

DESCRIPCION MICROSCOPICA.

El genero *Colletotrichum* presenta conidias hialinas, unicelulares y de forma ovoide; estas conidias tienen una vacuola cerca del centro. Bajo ciertas condiciones ambientales las setas presenta acérvulos en forma de disco o almohadilla, cerosos, subepidermales, típicamente color salmón, setas en el

La temperatura base de crecimiento in vitro de *Colletotrichum gloesporioides* fue de 6°C. A 25°C los cultivos llegaron a su máximo crecimiento en el menor tiempo que fue de 12 días alcanzo en mayor diámetro en la caja de petri.

El desarrollo in vitro de *C. gloesporioides* de 6 - 25 °C explica porque este hongo se encuentra presenta en la mayoría de las huertas ubicadas en las diferentes áreas de la zona productora de Guayabas del estado de

Michoacán, esto podría explicar la capacidad que manifiesta el hongo para crecer y sobrevivir en una amplia variación de temperatura lo que explica porque la enfermedad es endémica del estado de Michoacán.

Los conidios de *Colletotrichum gloesporioides* constituyen la forma de inóculos más importante para la antracnosis, los cuales se encuentran con mucha frecuencia en hojas y frutos que las ascosporas de *Glomerella cingulata* la cual también se vincula a la enfermedad de la antracnosis. Los conidios presentes en el fruto son diseminados por agua de lluvia, viento y algunos insectos como la mosca de la fruta, debido a que *Colletotrichum gloesporioides* forma una masa de esporas con consistencia mucilaginosa, lo cual es el medio más común para la diseminación del hongo.



Síntomas característicos
de Antracnosis.



Síntomas característicos
De Antracnosis.



Síntomas característicos
de antracnosis.



Crecimiento de *Colletotrichum gloesporioides*
en APD + Penprocilina.

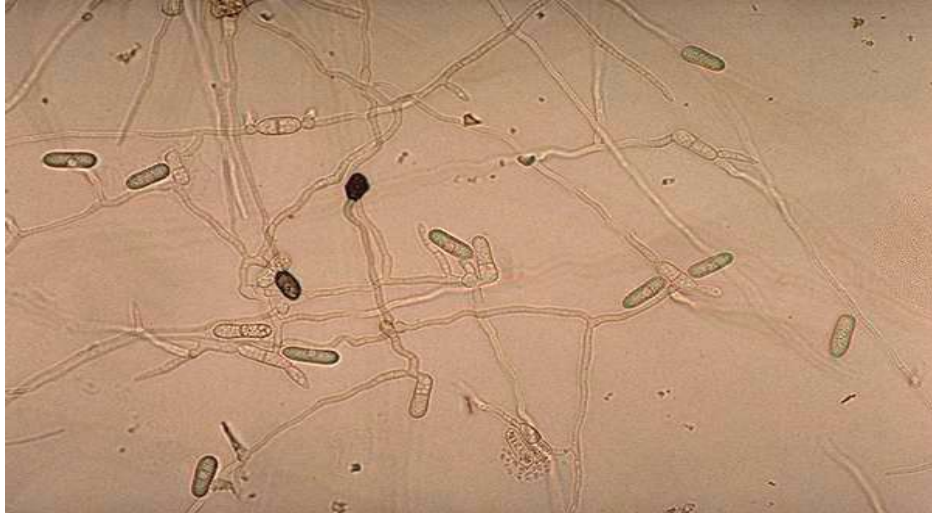


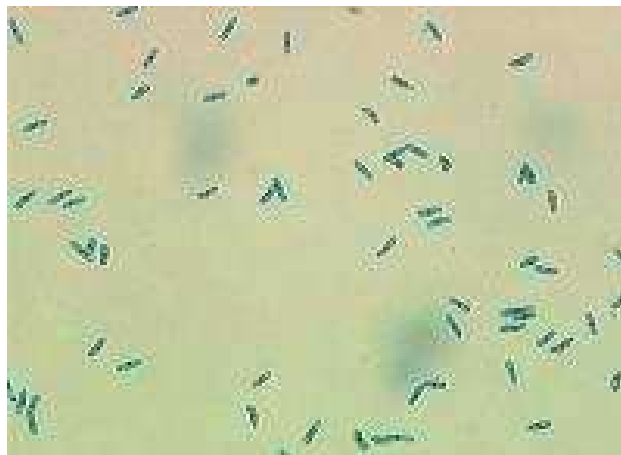
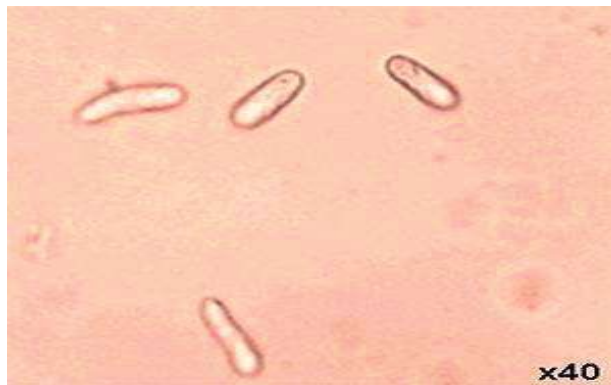
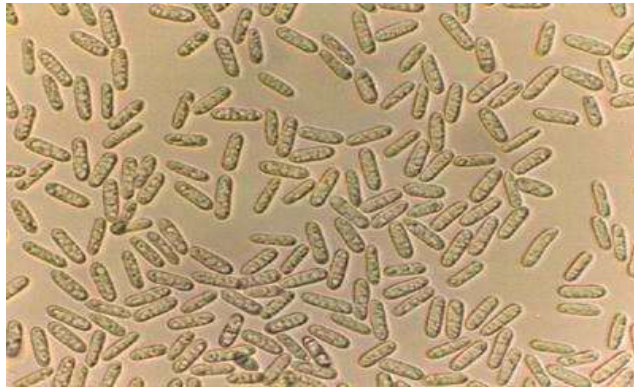
Crecimiento de
Colletotrichum gloesporioides
en APD + Penprocilina



Crecimiento de *Colletotrichum gloesporioides*
en APD + Penprocilina.

Fotografías obtenidas de los cortes realizados en Guayaba cultivar Michoacán.







IX.-CONCLUSIONES.

- Los factores climáticos que influyen directamente en la liberación y dispersión de esporas y por lo tanto la severidad de la antracnosis por *Colletotrichum gloesporioides*, son la lluvia, la temperatura y la humedad relativa elevada de ahí que las lluvias son un factor importante para que se presente la antracnosis.
- Por el grado de incidencia, severidad la antracnosis es una de las enfermedades más importantes del cultivo de la Guayaba en Michoacán, debido a que puede atacar al fruto en cualquier etapa de crecimiento, cosecha y poscosecha.
-

X.- BIBLIOGRAFIA

1. Servicio de información agroalimentaria y pesquera SAGARPA (2004).
2. Laguado, N.,E: Pérez, C. Alvarado y M. Marin 1998. Características Físico - Químicas en tipos de Guayaba cosechadas en dos plantaciones comerciales de manejo 68 - 72.
3. Servicio de información agroalimetaria y pesquera SAGARPA. Estadísticas sobre el cultivo de Guayaba en el estado de Michoacán 2000.
4. Fernandez - Trijullo, J.P y Artès, F. 2000. Keeping quality of cold stored peaches using inteimittent warning Food Res, Inter 441 - 450.
5. Martinez, J.M. Cuquerella, J. del Rio, M.A. y Navarro 2006 " High temperatura conditionig of " Fortune" mandarine to reduce chilling injury during low temperature storage. 88 -92.
6. Mills, P.R.,. Sreenivasaprasad, S. and Brown, A.E. 1998. Detection and differentiation of *Colletotrichum gloesporioides* isolates using PCR. Microbiology 138-143.
7. García Flores Martha, Fuentes de contaminación de *Salmonella enterica* y *Escherichia coli* en invernaderos de jitomate hidropónicos. 2005. 4 - 9.
8. Sanchez C. F y Escarlante R.E. 1983. Cultivo de la Guayaba y enfermedades que esta sufre durante su crecimiento. Universidad Autónoma de Chapingo.
9. Mata, I. A. Rodríguez 2000, Cultivo y producción del guayabo. Editorial Trillas, México 160 - 165.
10. Quijano, C., Suárez, m., y Duque, C. (1999). "Volatile constituents of two varieties of guava P. guajava". Revista Colombiana de química, 28: (1). Disponible en línea en <http://www.icfes.gov.co/revistas>.
11. Añez, M. y Bautista, D. (1993). "Descripción de cinco clones de guayaba". Disponible en línea <http://www.pegasus.ucla.edu.ve>.
12. Laguado, N., Rendiles, E., Marin, M., Arenas, L. Y Castro C. (1999) "Growth of guava fruits (*Psidium guajava* L.) of red Criolla type. Stage". IRev. Fac. Agron. (LUZ). 16 Supl. 1: 30-35
13. Qian, H. and Nihorimbere, V. (2004). "Antioxidant power of phytochemicals from *Psidium guajava* leaf". J Zhejiang Univ Sci. 5(6):676-83.
14. Yamashiro, S., Noguchi, K., Matsuzaki, T., Miyagi, K., Nakasone, J., Sakanashi, M., Sakanashi, M., Kukita, I., Aniya, Y. and Sakanashi, M. (2003). "Cardioprotective effects of extracts from *Psidium guajava*

- L and Limonium wrightii, Okinawan medicinal plants, against ischemia-reperfusion injury in perfused rat hearts". Pharmacology. 67(3):128-35.
15. Jimenez., Fernando Medina, D. y Esparza, D. (1991). "Variability on guava (psidium guajava l.) populations from the mara municipality of Zulia state". Rev. Agron. (LUZ) 8(1):15-27.
 16. http://www.codexalimentarius.net/web/index_es.jsp
 17. <http://www.fao.org/docrep/meeting/005>
 18. <https://www.aguascalientes.gob.mx/codagea/>
 19. <http://www.fao.org/docrep/>
 20. <http://huitoto.udea.edu.com>
 21. Caldeira N., Perez Marin., Hernández conociendo el cultivo. Instituto Nacional de Tecnología agropecuaria.
 22. Soto, T. 1997, el cultivo de la Guayaba en Puerto Rico. Revista de agricultura de puerto rico 120 -125.
 23. Añorga Morales. J., Uso de Dimensiones e Indicadores para evaluar la **calidad** de la Guayba e todos las etapas de cosecha. 456-478.
 24. Wood y col., 1998 Infección asociada al consumo de frutos en fresco estudio realizado a población abierta. Atlanta pp 69 - 73
 25. fox, B. y A. Cameron. 2000 Ciencia de los alimentos, nutrición y dietética. Editorial Limusa, Mexico. Pp 299,303 y 307.
 26. Fernández- Escartín, E. 2000 Microbiología e inocuidad de los alimentos. Editorial Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, México.
 27. Escartin, F.E. 1998 riesgos microbianos relacionados con el consumo de alimentos. Mas alla del síndrome diarreico. Enf. Infec. Microbiol. 130 - 136.
 28. Fernández-Escartín, E. 1991 Microbiología sanitaria. Agua y Alimentos volumen 1. Editorial Universidad de Guadalajara México,
 29. Food and drugs Administration and United Staes Department of agricultura (FDA y USDA) 1998 guia para reducir al minimo el riesgo Microbiano en los alimentos en caso de frutas y verduras crudas 2004.
 30. Yousef, A. and Calstrom 2000, Microbial stress adaptation and food safety. Universuty Ohio State.
 31. Laurie, Jhonson 1998a; Chaplin. Eduard et al., 1982 Uso del frió en la aplicación de las nuevas tecnologías utilizadas en postcosecha, revista latinoamericana.

32. Alexopoulos, C.J. Mims, C.W. Blacwell, M. 1999. *Introduction mycology*. Fourth edition. John Wiley and Sons, INC. New York, 868 p.
33. Alexopoulos, C.J. Mims, C.W. Blacwell, M. 1999. Patogénesis de hongo Fitopatógenos, *Mycology* 890-897.
34. Campbell, C. L. 1997 *Introducción a la epidemiología de los cultivos agrícolas*. Traducción Marban editores 46 - 53.
35. Morales, G.J.L. 1998 caracterización cultural, morfológica, patogénica y molecular de *Colletotrichum gloesporioides* Penz. Tesis de Maestría Colegio de Posgraduados, Montecillos, México 98 - 105.
36. Natalia a.R. Pérez, eiko E. Kuramae, Marios S.C. Identification and Characterization of *Colletotrichum sp.* Fruit after Harvest in latinoamerica. 2000.
37. Prusky, D., freeman S., Dickman, M.B. *Colletotrichum* host Specificity, Pathology, and Host - Pathogen Interaction. 339.
38. Bailey, J.A. And Jeger M.J. (1992) *Colletotrichum*: Biology, Pathology and Control.
39. Bailey, J.A. And nash, C. morgan, L.W. O'Connell Molecular taxonomy of *Colletotrichum* species causing anthracnose on the malvaceae. *Phytopathology* 1076 - 1083.
40. Bailey, J.A. And O'Connell (1997) infection strategies of *Colletotrichum* species: Biology and pathology and control Wallingord 88 - 95.
41. Bailey, J.A. And I. Jacoby, B., Keen. (1998) Involvement of epicatchin biosynthesis in the activation of mechanism of resistance of avocado fruits to *Colletotrichum gloesporioides*. 269 - 275.
42. Emmett, R., and Parberry, D.G. (1995) Appresoria. And Pathology of *Colletotrichum gloesporioides*. 23 - 29.
43. Freeman, S. and Rodriguez (1993) *Genetic conversion of a fungal pathogen to a non- pathogenic science*. 898 - 102.
44. Latunde-dada, A.O, O'Connell, R.J. (1999) *infection process and identity of the hemibiotrophic anthracnose fungus (Colletotrichum sp) from cowpea*. 95-99.
45. Mendgen, K., Hahn, M and Deisisng, H. (1996) *morphogenesis and mechanisms of penetration by plant pathogenic fungi*. 367-385.
46. Money, N.P. and Howard, R.J. (1996) *confirmation of a link between fungal pigmentation, turgor pressuere and pathogenecity using a new method of turgor measurement* 217-227.
47. Sutton, B.C. (1998) *the genus Glomerella and its anamorph Colletotrichum gloesporioides Biology, Pathology and control* 26-29.
48. Tiffany, L.H (1991) *Delayed sporulation of Colletotrichum on soybean*. *Phytopathology*, 975-979.

49. van der Bruggen, P.H. (1997) *Histopathology of cassava anthracnose disease caused by Colletotrichum gloeosporioides*, *Parasitica*. 3-21.
50. Bailey, J.A. And c. Morgan and O'Connell, R.J., teBeest DO, (1996) Molecular taxonomy of *Colletotrichum* species, causing anthracnose disease on the Mirtaceae. *Phytopathology* 86-94
51. Sèchenal Y, sanier C, Gohet E, J. (1997) different modes de penetration du *Colletotrichum gloeosporioides* in fruits of citrics *Academie de Sciences, Paris*. 537-545.
52. Duran JA, Mora D, (1999) Diagnostico de las enfermedades postcosecha de la papaya en costa rica. II Cuantificacion y epidemiologia de las enfermedades del fruto. 53-59
53. Gunnell PS, Gluber WD. Taxonomy and morphology of *Colletotrichum* species pathogenic *Mycologia*. 157-165.
54. Hunter JE, Buddenhagen IW (1992) Incidence, epidemiology and control of fruit diseases of papaya in Hawaii, *Tropical agriculture* 61-71
55. Andrus, C.F., B.L. Wade (1992) The factorial interpretation of anthracnose resistance in bean. 564-574
56. Balardin, R.S. M.A. variabilidad patogénica de *Colletotrichum gloeosporioides* en una población con humedad relativa elevada. 56-59
57. Pastos-Corrales: Síntomas característicos de antracnosis en frutos de Guayaba cultivados en el estado de Aguascalientes, Editorial Trillas 96-125.
58. Prusky, D.; Freeman, S. Pathology and Phytopathology of *Colletotrichum gloeosporioides* in Canada.
59. Scharpf, D; Freeman and Dickman, M.B. Cultural variation and pathogenicity of the *Colletotrichum* blight fungus of dwarf mistletoe. *Phytopathology* 905-906.
60. Beuchat, L.R 2002 Pathogenic microorganism associated with fresh produce. *J. Food Prot.* 204-216
61. Centro de Estadística Agropecuaria (CEA). 2003. Avances de siembras y cosechas. Año agrícola 2002. SAGART: INTERNET.
62. García Villanova R., B., Galvez Vargas. (1997) Contaminación fresh vegetables during cultivation and marketing. *Int J. Food Microbiol.* 285-291
63. INEGI. 2000 Cultivos anuales de México VII Censo agropecuario en México. 350-351
64. Ray, B. 1998 *Fundamental Food Microbiology* :CRC Press. Florida, U.S.A. 45-46
65. Baxter AP. Van der Westhuizen GCA (1993) Morphology and taxonomy of South African isolates of *Colletotrichum gloeosporioides*. 31-35

- 66.Freeman S. Rodriguez RJ. Differentiation of Colletotrichum species responsible for anthracnose of strawberry. 501-504
- 67.Green KR. Simons SA. Anthracnose caused by Colletotrichum gloesporioides Plant Pathology. 1062-5
- 68.Martin MP Garcia-Figueres (1999) Colletotrichum gloesporioides como agente causal de Antracnosis en Cultivo de olivo.
- 69.Valverde, M.E. y Paredes, L.O. 1997. el uso de Marcadores moleculares en el estudio de la biodiversidad en el caso de hongos. Ciencia y Desarrollo 28-37.
- 70.Lazaro, B.V. 1995 Incidencia de la Antracnosis Colletotrichum gloesporioides en aguacate "Hass" almacenado en refrigeracion y su relacion con el manejo cultural de la huertas en Michoacán. Tesis de Licenciatura UNAM. Mexico 76-80.
- 71.Rodríguez. G.P. 1998 *Evaluacion y medicion del tiempo fisiologico apunte sobre epidemiologia en enfermedades en cultivos agrícolas.*
- 72.Prescott., harley., Klein. *Microbiologia general.* 523-545.

ANEXOS.

Medios de cultivo

CALDO BHI

- ✚ Sólidos de infusión Cerebro Corazón.
- ✚ Cloruro de sodio.
- ✚ Glucosa.
- ✚ Fosfato Di sódico (Na_2HPO_4)
- ✚ Péptidos digeribles de tejido animal.
- ✚ Pancreatina Digestiva y gelatina.

En este medio la infusión de cerebro corazón y los tejidos funcionan como fuente de carbono, Nitrógeno sulfuro y vitaminas, la glucosa que también puede ser dextrosa funciona como fuente de energía, el cloruro de sodio mantiene el equilibrio osmótico, el fosfato di sódico actúa como buffer.

CALDO LACTOSADO

- ✚ Lactosa.
- ✚ Pancreatina digestiva.
- ✚ Extracto de carne.

El preenriquecimiento en un medio no selectivo como el Caldo Lactosado, permite reparar el daño celular y diluir las sustancias tóxicas e inhibidoras proporcionando factores nutricionales especialmente para el desarrollo de algunos microorganismos que no son muy exigentes en su crecimiento.

En este medio el extracto de carne y la peptona proporcionan la fuente de carbono y nitrógeno. La lactosa es el carbohidrato fermentable.

CALDO DEXTROSA SABOURAUD.

- ✚ Pancreatina digestiva y gelatina.
- ✚ Glucosa.
- ✚ Cloruro de sodio.

Las peptonas de carne y caseína suministran las fuentes de nitrógeno y carbono necesarios para el crecimiento de bacterias y hongos. La Dextrosa es la fuente de energía para aquellos organismos capaces de fermentarla.

CALDO LAURILSULFATO DE SODIO.

- ✚ Peptona.
- ✚ Lactosa.
- ✚ Extracto de levadura.
- ✚ Lauril sulfato de sodio.
- ✚ Fenol rojo.

Medio rico en nutrientes, que permite un rápido desarrollo de los microorganismos fermentadores de la lactosa, aún de los fermentadores lentos.

La triptosa es la fuente de nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos, la lactosa es el hidrato de carbono fermentable, las sales de fosfato proveen un sistema buffer, y el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico

Es un medio selectivo, ya que el lauril sulfato de sodio inhibe el desarrollo de la flora acompañante.

Por la fermentación de la lactosa, se produce ácido y gas, éste último se evidencia al utilizar las campanas Durham.

CALDO MALTOSA SABOURAUD.

- ✚ Pancreatina digestiva y gelatina.
- ✚ Maltosa
- ✚ Cloruro de sodio.

Las peptonas de carne y caseína suministran las fuentes de nitrógeno y carbono necesarios para el crecimiento de bacterias y hongos. La Maltosa es la fuente de energía para aquellos organismos capaces de fermentarla.

CALDO NUTRITIVO.

- ✚ Pncreatina digestiva de gelatina.
- ✚ Extracto de carne.

Medio de cultivo utilizado para propósitos generales, para el desarrollo de microorganismos con escasos requerimientos nutricionales. Su uso está descrito en muchos procedimientos para el análisis de alimentos, aguas y otros materiales de importancia sanitaria.

Medio no selectivo, contiene pluripeptona y extracto de carne que constituye la fuente de carbono y nitrógeno necesarios para el adecuado desarrollo bacteriano. Puede ser utilizado además, como preenriquecimiento en la búsqueda de *Salmonella* spp. a partir de alimentos, ya que permite recuperar células dañadas, diluir metabolitos tóxicos y sustancias inhibitorias.

AGUA PEPTONADA.

- ✚ Peptona de caseína.

Medio usado como diluyente y para enriquecimiento bacteriano a partir de alimentos y otros materiales de interés sanitario.

AGAR PAPA DEXTROSA.

- ✚ Infusión de papa.
- ✚ Glucosa.
- ✚ Agar.

Los hidratos de carbono y la infusión de papa favorecen el crecimiento de levaduras y hongos en tanto que por el bajo rango de pH, la flora acompañante se reduce significativamente. Para la enumeración de hongos se recomienda bajar aún más el pH, haciéndolo descender hasta 3,5.

AGAR MYCOSEL

- ✚ Agar.
- ✚ Glucosa.
- ✚ Cicloheximida.
- ✚ Cloramfenicol.

El agar de Mycosel es un medio altamente selectivo que contiene el cicloheximida y el cloranfenicol. Se recomienda para el aislamiento de hongos patógenos y además fitopatógenos de los materiales que tienen una cantidad grande de flora de los otros hongos y bacterias.

Las características nutritivas del agar de Mycosel son provistas por la peptona preparada de soya. La dextrosa es una fuente de energía para el metabolismo de hongos. El cicloheximida inhibe las bacterias saprofiticas. El cloranfenicol es un antibiótico del amplio-espectro que inhibe una amplia gama de bacterias gram-positivas y gram negativas.