

**MICROMYCETES EN SUELO COMO ÍNDICE DE DETERIORO
ECOLÓGICO Y CONTAMINACIÓN EN EL ÁREA CONURBADA
DE SALTILLO, COAHUILA**

JOSÉ LUIS VILLARREAL LÓPEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA



Universidad Autónoma Agraria

Antonio Narro.

PROGRAMA DE GRADUADOS

Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Noviembre de 2008

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIRECCIÓN DE POSTGRADO

**MICROMYCETES EN SUELO COMO ÍNDICE DE DETERIORO ECOLÓGICO Y
CONTAMINACIÓN EN EL ÁREA CONURBADA DE SALTILLO, COAHUILA**

T E S I S
POR
JOSÉ LUIS VILLARREAL LÓPEZ

**Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada como
requisito parcial para obtener el grado de:**

**MAESTRO EN CIENCIAS EN
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**

Comité Particular:

Asesor Principal:

Dr. Alberto Flores Olivas

Asesor:

Dr. Gustavo Frías Treviño

Asesor:

M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Dr. Jerónimo Landeros Flores
Director de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila. Noviembre de 2008.

DEDICATORIA

Le agradezco a Dios por brindarme la oportunidad de dar un paso más en la enseñanza diaria de mi vida.

Con gran cariño para mi familia, que siempre ha estado presente en todas las formas posibles, cuando más la necesito, ya que no permite que me doblegue ante las adversidades.

Mis padres:

Juan N. Villarreal González y

Celia López de Villarreal

Mis hermanos:

Diodoro, Felix, Juan, Gloria, Idalia, Alejandro, Guadalupe y Cristina.

Mi Esposa:

Ma. Del Carmen Flores Farías

Mis hijos:

José David y Miguel Alejandro

A todos ellos mil gracias por su apoyo

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por haberme brindado la oportunidad de superarme.

Agradezco con sinceridad y aprecio a mis asesores que me apoyaron para la realización de este trabajo:

Dr. Alberto Flores Olivas.

M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Dr. Gustavo Alberto Frías Treviño

Agradezco también a mis compañeros de Maestría y Doctorado, así como a los responsables de laboratorio, que me apoyaron durante mi estancia en el Departamento.

COMPENDIO

**MICROMYCETES EN SUELO COMO ÍNDICE DE DETERIORO
ECOLÓGICO Y CONTAMINACIÓN EN EL ÁREA CONURBADA DE
SALTILLO, COAHUILA.**

Por

José Luis Villarreal López

**MAESTRÍA EN CIENCIAS
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**

**Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
Buenavista, Saltillo, Coahuila. Noviembre de 2008**

Dr. Alberto Flores Olivas – Asesor --

Palabras clave: Hongos, indicadores, ecología, estandarización.

Los objetivos de esta investigación fueron el de aplicar el número de micromycetes de suelo a la identificación de áreas contaminadas, inicialmente urbanas, suburbanas e industriales; para en una segunda etapa y después de estandarizar el método, emplearlo en zonas agrícolas, en las cuales se sospeche de un importante deterioro, por el constante uso de plaguicidas, fungicidas, bactericidas, y otros.

Se seleccionaron dos tipos de muestras de suelos, una de ella sin ninguna aparente contaminación y la otra de zonas cercanas a industrias y en las que se apreciaban visualmente partículas contaminantes.

Con el empleo de diluciones seriadas y el vertido en placa, se cuantificaron las unidades formadoras de colonias de mohos y levaduras de las muestras de suelo en Agar Sabouraud y Agar Rosa de Bengala. La incubación se llevo a cabo a 25 grados centígrados durante 10 días y paralelamente se comprobó la temperatura de incubación más adecuada, la utilidad del medio Agar Czapek, el tiempo más conveniente para la toma de resultados, etc.

Con un diseño completamente al azar con arreglo factorial, que resultó ser satisfactorio, se determinó la eficacia de los dos medios de cultivo y las diferencias en los conteos de micromycetes de las muestras contaminadas y no contaminadas.

El número de mohos en el suelo de la ciudad de Saltillo y su zona conurbada no manifiesta una diferencia estadística cuando la muestra está contaminada o no, lo mismo que los tipos de medios con los que se trató de estandarizar la metodología. Sin embargo, si se observó visualmente un mayor crecimiento de mohos en Agar Sabouraud, en comparación con el Agar Rosa de Bengala, y el Medio Czapek, que no resultó de ninguna utilidad en esta investigación, lo que se debe a su alto potencial inhibitorio.

Se logró de manera particular el identificar algunas zonas con probable deterioro ecológico, tanto en las muestras sospechosas, como en las que se pensaban normales o sin contaminación. Aunque se detectó que se requiere de una mejor estandarización de la técnica, lo mismo que del control de una gran cantidad de variables, como la profundidad de la toma de muestra, la época de la colecta, la mejor validación del análisis estadístico, etc.

El aislamiento y la parcial caracterización de las cepas de micromycetes presentes en el área de estudio se realizó gracias a la observación microscópica directa y al empleo de microcultivos.

ABSTRACT.

MYCROMYCETES IN SOIL AS AN INDICATOR OF POLLUTION AND ECOLOGICAL DETERIORATION IN THE METROPOLITAN AREA OF SALTILLO, COAHUILA

By

José Luis Villarreal López

MASTER IN SCIENCE

AGRICULTURAL PARASITHOLOGY

Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Buenavista, Saltillo, Coahuila. November 2008

Dr. Alberto Flores Olivas –Adviser-

Key words: Fungi, indicators, ecology, standarization.

The objectives of this investigation were, applying the number of soil micromycetes to the identification of contaminated areas, initially urban, suburban and industrial secondly and finally standardize the method, use it in agricultural areas on which a major deterioration, caused by the constant use of pesticides, fungicides, bactericidal and others, were suspected.

Two types of soil samples were selected; one of them without any apparent contamination and another one from the areas close to industries where visually pollutants particles were seen.

Using serial dilutions and pour plate method, colony-forming units of molds and yeasts of the soil's samples in Sabouraud Agar and Rose Bengal Agar were quantified. The incubation was carried out at 25 degrees centigrade by 10 days and also the most suitable incubation temperature, the usefulness of the Czapek Agar, and the most convenient time for reading the results were evaluated.

With a completely randomized design with factorial arrangement, which turned out to be satisfactory; the effectiveness of the two growth media and the differences in the counts of micromycetes of the contaminated samples and not contaminated ones were determined.

The number of molds on soil en Saltillo City and its conurbated area, shows no statistical difference either if the sample is contaminated or not, as well as the types of media with which we tried to standardize the methodology. However, stronger growth of molds was observed en Sabouraud Agar, comparing to Rose Bengal Agar y Czapek Agar, which turned out not be useful in this investigation, due to its high inhibitory potential.

We achieved in a particular way, identification of some zones with probable ecological deterioration, either on suspicious samples; or the ones that were thought to be normal or without contamination. Although it was detected that a better standardization of the technique is required as well as the control of a large number of variables like the depth of sampling, the collection season, a better validation of the statistical analysis, etc.

The isolation and the partial characterization of the micromycetes strains present in the studied areas was done by direct microscopic observation and using micro cultures.

ÍNDICE GENERAL

Índice general.....	ix
Índice de figuras.....	xi
Índice de tablas.....	xii
Índice de cuadros.....	xii
Índice de gráficas.....	xiii
Índice de apéndices.....	xiv
I. Introducción.....	1
SUELO.	
A. Composición.....	1
B. Funciones.....	4
C. Organismos presentes en el suelo.....	5
1. Hongos de suelo.....	6
2. Antecedentes de estudio de los mohos de suelo....	8
3. Estructuras de los mohos de suelo.....	9
4. Algunos sustratos para el crecimiento de mohos de suelo...	11
5. Distribución de los hongos de suelo.....	11
6. Factores que afectan el crecimiento de los mohos de suelo...	12
7. Técnicas para el estudio de los hongos de suelo.....	12
a.- Métodos de observación directa.....	13

b.- Métodos de aislamiento.....	16
D. Contaminación de suelos.....	21
1. Tipos y fuentes de contaminación de suelos.....	22
2. El uso de microorganismos.....	22
3. Indicadores de contaminación.....	23
4. Acción de los mohos en el suelo con respecto a la contaminación.....	23
E. Biorremediación de suelos.....	26
1. Procesos de biorremediación.....	26
2. Tipos de tecnologías de biorremediación de suelos.....	27
3. Ventajas de las tecnologías de biorremediación.....	27
II. Justificación.....	29
III. Objetivos.....	32
IV. Hipótesis.....	32
V. Metodología.....	33
A. Muestreo.....	33
B. Sitos de Recolección.....	34
C. Características de las muestras	37
D. Aislamiento, Conteo e Identificación.....	37
VI. Resultados.....	40
VII. Conclusiones.....	54
VIII. Referencias bibliográficas.....	55
IX. Apéndices.....	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema general de las fracciones que componen un suelo.....	1
Figura 2. Perfil general de un suelo.....	2
Figura 3. Mapa de suelos del mundo.....	7
Figura 4. Mapa que señala los lugares que se muestrearon.....	36
Figura 5. Fotografía de la muestra 15 AS4.....	43
Figura 6. Fotografía de la muestra 15ARB6.....	43
Figura 7. Fotografía de la caja A3AS4.....	48
Figura 8. Fotografía de la caja A3ARB6.....	48
Figura 9. Fotografía de la caja E2AS4.....	48
Figura 10. Fotografía de la muestra E2ARB2.....	48
Figura 11. Fotografía de la caja F3AS2.....	48
Figura 12. Fotografía de la caja F3ARB2.....	48
Figura 13. Fotografía de la caja A2ARB2.....	49
Figura 14. Fotografía de la caja B1AS6.....	47
Figura 15. Fotografía de la caja D3AS2.....	49
Figura 16. Fotografía de la caja F1ARB2.....	49
Figura 17. Material que se requiere para el microcultivo.....	77
Figura 18. Colocación del agar en el portaobjetos del microcultivo.....	77
Figura 19. Siembra de la cepa en el microcultivo.....	78
Figura 20. Colocación del cubreobjetos sobre el medio sembrado del microcultivo.	78
Figura 21. Adición del glicerol estéril en el microcultivo.....	79

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Microorganismos involucrados en la biodegradación.....	25
Tabla 2. Resultados de los conteos de las muestras de suelo no contaminadas en tres medios de cultivo.....	40
Tabla 3. Ln de los conteos de las 18 muestras de suelo no contaminadas en tres medios de cultivo.....	42
Tabla 4. Conteos de las 18 muestras contaminadas en dos medios de cultivo....	44
Tabla 5. Ln de conteos de las muestras contaminadas en dos medios de cultivo.	46
Tabla 6. Logaritmos de los conteos de las muestras de suelo contaminadas y no contaminadas en Agar Sabouraud	50
Tabla 7. Logaritmos de los conteos de las muestras de suelo contaminadas y no contaminadas en Agar Rosa de Bengala	52

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Categoría de suelos encontrados en México.....	3
----------------------------------------------------------	---

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Comparativo de conteos de las muestras no contaminadas en tres medios de cultivo.....	41
Gráfica 2. Logaritmos de conteo comparativo de las 18 muestras de suelo no contaminadas en tres medios de cultivo.....	43
Gráfica 3. Comparativo de conteos de muestras de suelo contaminadas en dos medios de cultivo.....	45
Gráfica 4. Comparativo de Ln de las muestras de suelo contaminadas en dos medios de cultivo.....	47
Gráfica 5. Logaritmos comparativo de las muestras de suelo contaminadas y no contaminadas en Agar Sabouraud.....	51
Gráfica 6. Logaritmos comparativos de las muestras de suelo contaminadas y no contaminadas en Agar Rosa de Bengala.....	53

ÍNDICE DE APÉNDICES.

1.- Características de las muestras de suelo.....	61
2.- Análisis de varianza.....	64
3.- Cuadro de concentración de resultados de 18 muestras no contaminadas.	66
4.- Cuadro de concentración de resultados de 18 muestras de suelo contaminado.	67
5.- Imágenes de la morfología microscópica	68
6.- Hojas de captura de resultados.....	73
7.- Método de microcultivo.....	75
8.- Preparación y formulación de los medios y reactivos.....	80
9.- Descripción de la morfología macroscópica de 18 muestras no contaminadas.	83
10.- Descripción de la morfología macroscópica de 18 muestras contaminadas...	101
11.- Imágenes de los resultados de 18 muestras de suelo no contaminado.....	119
12.- Imágenes de los resultados de 18 muestras de suelo contaminado.....	131

I INTRODUCCIÓN

A. Composición.

El nombre suelo se deriva de la palabra latina *solum* lo cual significa piso o superficie.

(18)

El suelo es un medio heterogéneo y complejo constituido por minerales, materiales inorgánicos de la corteza terrestre ^(18, 20, 24 y 44) como piedras, grava, arena, limo, y arcilla; materia orgánica (desechos vegetales y animales), agua, aire (oxígeno, CO₂, nitrógeno entre otros gases) (Figura 1) y organismos vivos como la macro y micro flora y fauna. ^(8, 19, 20, 23, 25, 27 y 44)

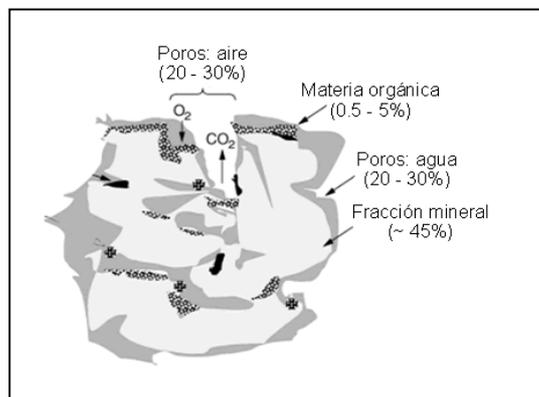


Figura 1. Esquema general de las fracciones que componen un suelo. ⁽¹⁹⁾

El suelo es un cuerpo natural, no consolidado, que se caracteriza por tener capas diferenciales ^(19, 20 y 44), dispuestas en una serie de zonas llamadas horizontes. El arreglo de éstos horizontes en un suelo se conoce como un perfil edáfico o perfil del suelo. Cada horizonte se caracteriza por tener diferentes propiedades como color, textura, estructura, espesor y composición, además de su consistencia y reacción. Todas estas propiedades son utilizadas para definir los tipos de horizontes, de los cuales se han identificado varios: O, A, B, C y R. (Figura 2). ^(6, 19 y 25)

La característica de cada horizonte es el resultado de las adiciones, pérdidas, transferencias y transformaciones de energía y materia a través del tiempo, y cuyo espesor en cada uno de los horizontes puede variar desde pocos centímetros hasta varios metros de profundidad. ^(19, 20 y 44)

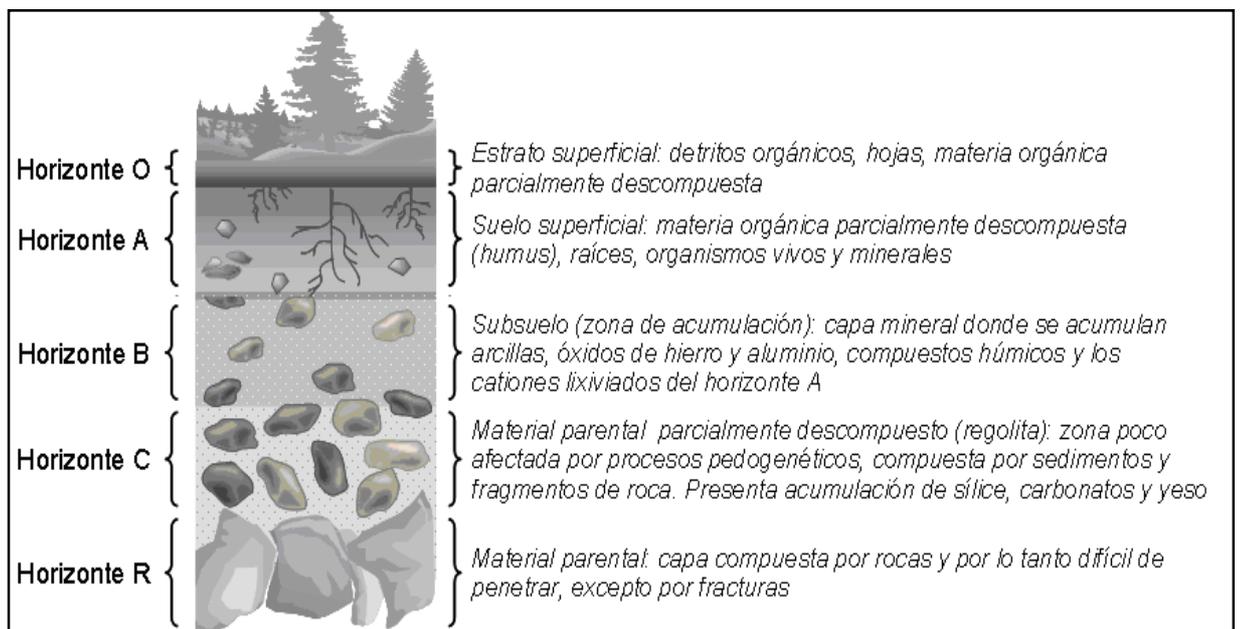


Figura 2. Perfil general de un suelo. El espesor, presencia y composición del horizonte, varía en función del tipo de suelo y las condiciones climáticas. ⁽¹⁹⁾

En general la composición química y estructura física del suelo están determinadas por el tipo de material geológico del que se origina, por la cubierta vegetal, por el tiempo en que ha actuado la meteorización, por la topografía y por los cambios artificiales resultantes de las actividades humanas. ^(19 y 20)

Debido a la compleja historia geológica de la superficie terrestre que México ocupa, y a los diferentes factores ambientales, fisiográficos, climáticos y biológicos, el país presenta una gran diversidad de suelos. La clasificación internacional de los suelos, de acuerdo al sistema FAO/UNESCO/ISRIC (Cuadro 1), divide a los suelos en unidades o categorías de acuerdo a ciertas características generales, como su morfología y composición, con énfasis en las propiedades que se pueden ver, sentir o medir; por ejemplo, la profundidad, el color, la textura, la estructura y la composición química; así como las características de los horizontes, junto con el grosor, número y naturaleza de las capas, entre otros factores. Las tres categorías dominantes en el territorio, en términos de superficie, son los Leptosoles, Regosoles y Calcisoles. ⁽¹⁹⁾

Cuadro 1. Categoría de suelos encontrados en México de acuerdo a la clasificación internacional de los suelos FAO/UNESCO/ISRIC. ⁽¹⁹⁾

Categoría	Características	Superficie ocupada km²	%
<i>Leptosoles</i>	Suelos muy delgados (espesor <30 cm) sobre roca dura	467978	2
<i>Regosoles</i>	Suelos en formación a partir de material consolidado (roca madre)	361335	1
<i>Calcisoles</i>	Suelos con alto contenido de calcio (CaCO ₃)	355475	1
<i>Feozems</i>	Suelos saturados de bases, hasta 125 cm. Muy fértiles. Presentan una superficie oscura	189457	
<i>Vertisoles</i>	Suelos con alto contenido de arcilla (>35%) hasta ~50 cm	162112	
<i>Arenosoles</i>	Suelos con alto contenido de arena hasta ~125 cm	121096	
<i>Cambisoles</i>	Suelos poco desarrollados de color claro, presentan cambios de estructura o consistencia por intemperización	91799	
<i>Lvisoles</i>	Suelos con arcillas, saturados en bases (alta CIC ⁺), en cualquier clima, excepto tropical y subtropical	46876	
<i>Gleysoles</i>	Suelos con saturación de agua permanente	29297	
<i>Alfisoles</i>	Suelos con alto contenido de aluminio, sólo se encuentran en climas tropicales y subtropicales	29297	
<i>Otras</i>		98440	

B. Funciones.

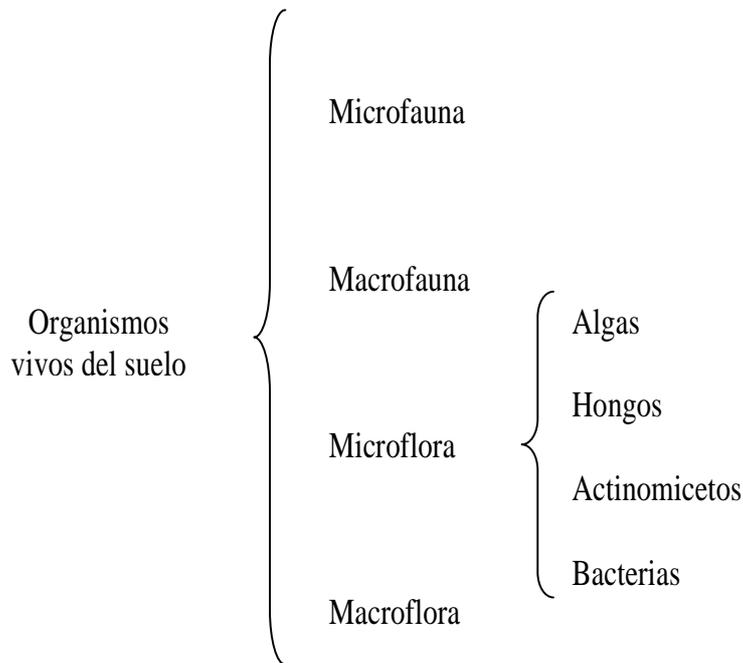
El suelo al ser un recurso natural de gran importancia, desempeña funciones en la superficie terrestre como:

1. Reactor natural.
2. Proporcionar un medio para el crecimiento vegetal, hábitat animal, de microorganismos y reserva genética.
3. Soporte físico y de infraestructura.
4. Fuente de materiales no renovables. ^(6, 19, 20, 23, 27, 33 y 44)

La capa más superficial del suelo es la más rica en microorganismos, los cuales intervienen en muchas transformaciones químicas vitales para los cambios geoquímicos y la fertilidad del suelo. ^(18, 31 y 33) Para estudiar los organismos de tamaño microscópico que incluyen bacterias, protozoos, virus, ciertas algas y hongos, utilizamos la microbiología. ^(4 y 15)

C. Organismos presentes en el suelo.

El suelo contiene una gran variedad de organismos. ^(4, 7, 8, 11, 17, 31 y 40)



Enfocándonos a los microorganismos, ellos juegan un papel importante al mantener la fertilidad de los suelos. Elementos esenciales para el crecimiento, tales como oxígeno, nitrógeno, carbón, azufre y fósforo, son reciclados por los microorganismos del suelo. ^(4, 11, 18, 23, 25, 31, 35 y 39)

A pesar de lo difícil que es estudiar los microorganismos en el suelo, su estado biológico y bioquímico proporciona una idea útil para monitorear los cambios que pueden darse, cuando son sometidos a procesos de contaminación o recuperación, permiten evaluar la incidencia de acciones diversas sobre el suelo y su influencia en su calidad biológica y bioquímica, al determinar diversas fracciones de materia orgánica (en particular de la más

lábil), carbono de biomasa y respiración basal, junto con parámetros bioquímicos tales como actividades enzimáticas (oxidoreductasas e hidrolasas).^(7, 8, 25, 33, 35 y 42)

En particular los hongos son organismos generalmente aeróbios, soportan cambios de temperatura y pH, son eucarióticos, no vasculares, que se reproducen principalmente por esporas, de reproducción facultativa asexual y sexual, con alternancia de generaciones, generalmente organismos no móviles (excepto los *Chytridiomycetes*). La unidad de crecimiento vegetativa puede ser unicelular en levaduras, o en grupos denominados hifas. Poseen pared celular, pero a diferencia de las plantas que tienen celulosa, éstos poseen quitina, son organismos heterótrofos y se alimentan a partir de absorción de nutrientes previa digestión, mediante enzimas extracelulares, una característica de las membranas de los hongos es la presencia de ergosterol.^(16 y 17)

1. Hongos de suelo.

Los hongos se pueden encontrar en el suelo como micelios, como fructificaciones o como una variedad de esporas inactivas.^(3 y 12) En los suelos ácidos, la mayor actividad se debe a hongos del género *Penicillium* y *Trichoderma* y en los suelos neutros éstos son sustituidos por *Stachybotrys*, *Botryotrichum* y *Micogone*.⁽²⁾

Para conocer algunos de los hongos en el suelo se han hecho estudios en una variedad de muestras, con muchos tipos de vegetación y en áreas geográficas diferentes (Figura 3). Se han estudiado suelos de bosques de coníferas, de bosques caducos, de matorral, de turbera, pradera, recientemente helados, de desierto, tropicales, manglares, dunas de arena, pantanos salinos, arenas de playa fangosas, y cultivados.^(3, 6 y 18)

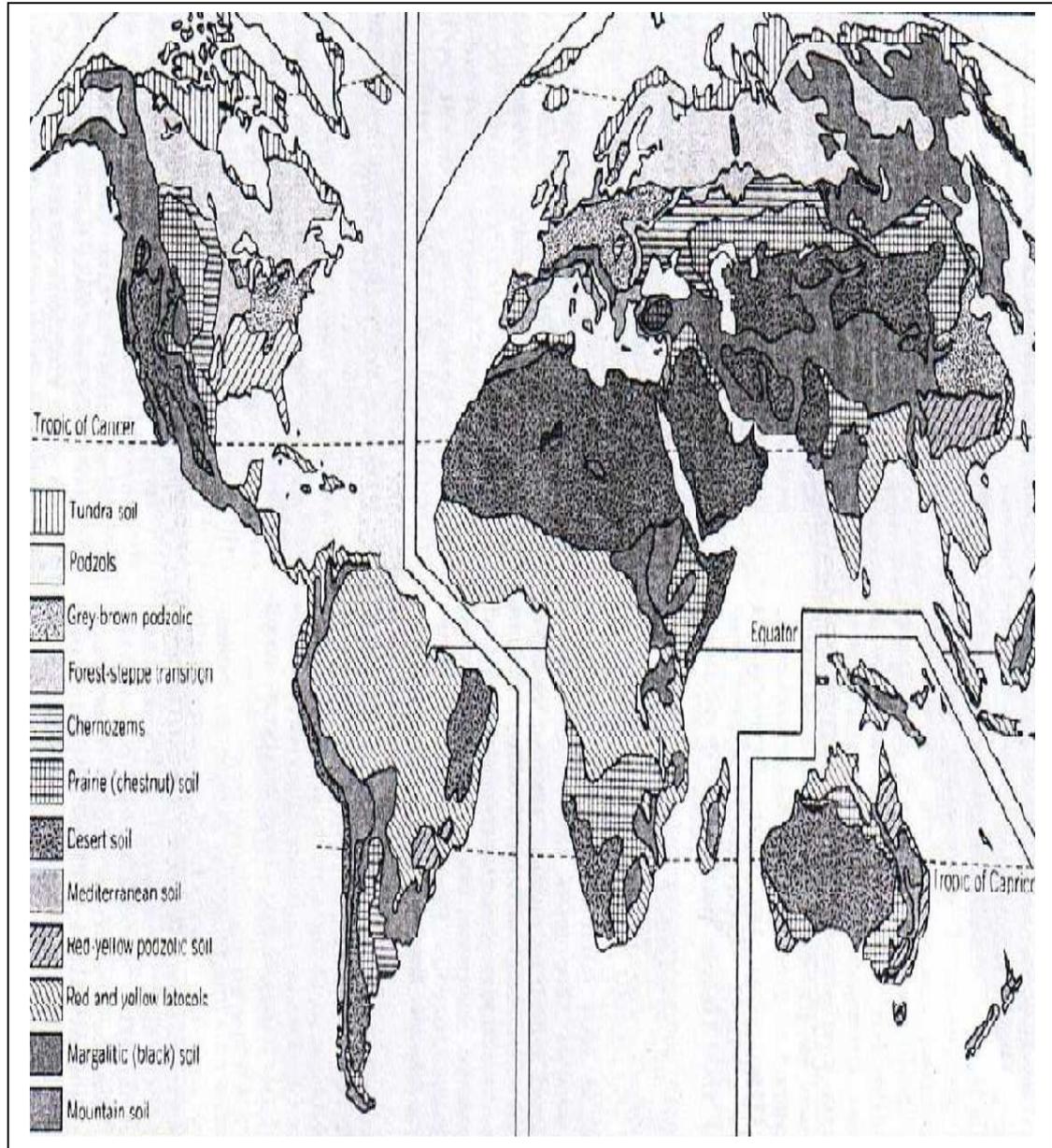


Figura 3. Mapa de suelos del mundo

Algunos de los géneros más comunes de hongos encontrados en diferentes tipos de suelo son *Aspergillus*, *Mucor*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Zygorrhynchus*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Cephalosporium*, *Acrostalagmus*,

Scopulariopsis, *Botrytis*, *Achyla*, *Mortierella*, *Pythium*, *Chaetomium*, *Saprolegnia* y *Monosporium* entre otros, así como micelios estériles y levaduras.^(3, 11, 15, 18 y 25)

2. Antecedentes de estudio de los mohos de suelo.

Los hongos que se encuentran en el suelo han sido estudiados a lo largo del tiempo, he aquí en breve las aportaciones realizadas poco a poco y que son de utilidad para nuestro conocimiento acerca de ellos:

- 1858.- Kuhn demostró que la putrefacción del tallo de las patatas se debía a la infección de *Rhizoctonia solana*.
- 1885.- Frank dio el nombre de “micorriza” al órgano compuesto de hongos y raíces de las Cupulíferas.
- 1886.- Adametz aisló por primera vez hongos de suelo.
- 1902.- Oudemans y Koning identificaron 45 especies de hongos al pulverizar fragmentos de materia orgánica extraídos del suelo en agua estéril e inoculando en placas de agar o gelatina sin purificar.
- 1904.- Hiltner describió como la superficie de las raíces estaba colonizada por bacterias y acuñó el término rizosfera para denominar el volumen de suelo influenciado inmediatamente por las raíces
- 1907-1910.- Hagem estudió los mucorales en suelo de Noruega.
- 1908.- Lendner estudió los Mucorales en Suiza.
- 1912-1914.- Dale aisló alrededor de 100 hongos de suelos arenosos, con yesos, turbas y tierras negras en Inglaterra.
- 1911.- Beckwith investigó algunos suelos “con la enfermedad del trigo” de Dakota del Norte.

- 1912.- Jensen estudió la flora de hongos de varios suelos en los EE.UU.
- 1916.- Waksman suscitó la cuestión de si el suelo era el hogar de una microflora indígena, o simplemente un lugar de descanso para las esporas de los hongos que flotan en la atmósfera.
- 1929.- Inicio de investigaciones de la influencia de los vegetales superiores sobre los microorganismos del suelo.
- 1949.- Chesters advirtió que hasta el momento únicamente se ha obtenido un esquema muy desdibujado de la actuación de los hongos.
- 1958.- Cooke considera que el suelo ha sido estudiado más que cualquier otro ecosistema.
- 1959.- Harley infiere que la condición micorriza se encuentra en algunos vegetales superiores; al menos parece algo muy normal entre las fanerógamas.
- 1960.- Harley dice que el término de hongos de suelo no tiene significado preciso, se aplica a la serie heterogénea de hongos que se pueden aislar del suelo. ⁽³⁾

3. Estructuras de los mohos de suelo.

Las especies de los hongos que viven en el suelo son notables por su diversidad de formas, de un grupo heterogéneo compuesto por diferentes familias y órdenes, varían mucho en su tamaño y en la complejidad de sus ciclos biológicos. Las estructuras de los hongos que se encuentran en el suelo se obtienen por exámenes microscópicos de portaobjetos en contacto con el suelo y de restos de lavados de raíces de vegetales, entre las que podemos observar:

- **Hifas.**- Pueden ser de ficomicetes no tabicadas, tabicadas delgadas o anchas, hialinas, de color oscuro, o coloreadas, con conexiones o con empalmes de los cuales se sabe muy poco acerca de ellas, pues su vida es muy corta. Se sabe que las hifas que se

encuentran sobre residuos tienen más tiempo de vida que las que están en las partículas minerales o atravesando los espacios aéreos del suelo.

- **Rizomorfos.**- También llamadas bandas de micelio, son muy usuales en el suelo, y se desarrollan típicamente cuando un micelio está creciendo sobre la superficie, son más desarrolladas por los Basidiomicetes, aunque también las forman algunos Ascomicetes o Hifomicetes.
- **Vesículas.**- No germinan en medio de agar y se encuentran en un número comparativo menor cuando se usan métodos como tamizado, flotación y partición para demostrar su presencia; son esféricas, cilíndricas, o de forma irregular; entre 100-800 μ de diámetro, normalmente tienen paredes gruesas, contienen muchos glóbulos de aceite y tienen un color de amarillo pálido a negro cuando maduran.
- **Clamidosporas.**- Esporas vegetativas en descanso con una pared engrosada a menudo oscura, pueden encontrarse en los conidios o esporangióforos, no son fáciles de detectar sin tinción en un examen microscópico.
- **Esclerota.**- Hifas íntimamente entrelazadas que pierden su forma original por lo que las células individuales se vuelven globosas o estrechamente unidas, es aquí en donde se acumulan reservas alimenticias y pueden germinar directamente por formación de hifas en el mismo suelo, sobre las partes externas o dentro de los tejidos vegetales.
- **Esporas.**- Hay de formación asexual y sexual. Los hongos producen gran variedad de esporas y muchas especies pueden dar lugar a más de un tipo. No se sabe mucho sobre la longevidad de las esporas pero es probable que haya una gran variabilidad en su supervivencia.

- **Fructificaciones.**- Varían en tamaño y en complejidad, las hay desde conidioforos hasta a esporóforos. ^(3 y 12)

4. Algunos substratos para el crecimiento de mohos de suelo.

Todos los hongos dependen de sustancias orgánicas para su crecimiento: Raíces, residuos vegetales, semillas, substratos animales, y sus mismas estructuras. ⁽³⁾

Es importante también considerar los factores de crecimiento para que su efecto no sea nulo, algunos de ellos pueden ser: pH, temperatura, humedad, presencia de oxígeno y nutrientes necesarios. ⁽¹⁴⁾

5. Distribución de los hongos de suelo.

La abundancia de la actividad fisiológica de la flora fúngica varía mucho en el espacio y en el tiempo, dentro del límite de un área. Factores como materia orgánica, pH, fertilizantes orgánicos, temperatura, posición en el perfil y estación del año, influyen de manera notoria, por ejemplo en el otoño y en el florecimiento de la primavera hay un aumento en la población de hongos debido al incremento de materia orgánica disponible por la alta composición de la vegetación, se consideran como los factores que condicionan la existencia y distribución de los hongos por su heterotrofismo.

Otro factor importante es el agua, pero de modo que no exista competitividad por el oxígeno, por tal motivo también es importante la aireación, ya que los hongos son organismos oxibióticos y se deduce que su crecimiento es menor en los horizontes inferiores, los límites de profundidad difieren según el tipo de suelo, alcanzando su máximo en los arenosos y orgánicos y su mínimo en limosos y áridos. ^(2, 12, 21, 25 y 39)

6. Factores que afectan el crecimiento de los mohos de suelo.

Desde el punto de vista fisiológico existen algunos factores que también afectan el crecimiento de los mohos en el suelo como:

a.-Propágulos de los hongos en el suelo.

- Micostasis.
- Letargo de esporas.

b.-Germinación de esporas.

c.-Crecimiento de las hifas.

d.-Tipos de crecimiento de los hongos en el suelo.

- Mohos.
- Basidiomicetes y Ascomicetes macroscópicos.

e.-Esporulación.

- Desarrollo de fructificaciones.
- Dispersión de esporas.

f.-Destrucción de las estructuras de los hongos.

- Lisis.
- Parasitismo.
- Predación.⁽³⁾

7. Técnicas para el estudio de los hongos de suelo.

El estudio de los hongos incluye diversos métodos para la obtención de información, la valoración de su conocimiento actual depende en gran parte de la comprensión de las técnicas

por las que se obtuvo la información. El suelo a comparación de otros hábitats es difícil de estudiar por el gran número de microorganismos presentes, de los ciclos biológicos de los hongos y la naturaleza compleja del suelo. ⁽³⁾

Una de las necesidades para un estudio ecológico de los organismos del suelo es que los métodos de estudio deben distinguir entre los individuos que son activos vegetativamente y juegan un papel en los procesos del suelo y aquellos que existen en una forma de letargo o inactivos, como esporas u otros propágulos. Muchos de los métodos usados no dan ésta información. ^(3, 25 y 9)

En general hay dos formas diferentes de estudiar los hongos del suelo. La primera es mediante examen microscópico, ya sea del suelo, de los substratos, o de los materiales, tales como un vidrio o nylon, después de haberlos situado en el suelo; la segunda es mediante el aislamiento de los organismos, ya sea directamente, o mediante técnicas de cultivo. Cada método tiene sus ventajas y desventajas. ^(3, 25 y 29)

a.- Métodos de observación directa.

Inicialmente se hicieron estudios con un microscopio de iluminación normal, y las observaciones eran limitadas a las superficies del suelo expuestas natural o artificialmente, esto proporcionaba información no dada anteriormente por otros métodos, sin embargo otros investigadores usaron como método el trasladar bloques de suelo con superficies expuestas recientemente para examinarlas en el laboratorio. ^(3 y 12). Este método consiste en:

- **Secciones de suelo.-** Se preparaban secciones de suelo.
 1. Usaban material plástico termolábil para preparar secciones de suelo.

2. Impregnaban el suelo con agar para cortarlo, empapando una parte con solución acuosa caliente con un 2% de agar, enfriarlo y endurecerlo en alcohol y cortar en láminas finas.
3. Adaptaron técnicas geológicas para cortar las rocas, impregnando resina sintética y una preparación final de los cortes, rebajándolos, esmerilándolos y puliéndolos.
4. Enfriar el suelo a -10°C e infiltrarlo con gelatina que se fija luego en formalina y tratándolo después con ácido hidrofúrico para disolver los granos de arena antes de preparar los cortes.

Estos métodos se utilizan para el estudio de los microorganismos en sus relaciones naturales con la estructura del suelo. ⁽³⁾

- **Tinción del suelo.**- Podría advertirse que es una técnica que tiende a despreciar las partículas de suelo más pesadas, con las que muchos organismos están asociados, para ello se basa en:

1. Teñir suspensiones de suelo, preparando una infusión de suelo (1: 9) en gelatina diluida (0,015%) y extender 0,1 mL de éste preparado en un portaobjetos, tiñendo con rosa bengala o eritrosina.
2. Suspender suelo en agar al 1.5% disuelto y enfriado, situar una gota de ésta suspensión en un hematocitómetro añadiendo rápidamente un portaobjeto, permitir que se seque y luego se tiñe con anilina azul fenólica y montar de manera permanente.

Los métodos de tinción permiten ver y contar los organismos, pero su relación con la estructura del suelo en general se pierde. ^(3 y 12)

- **Técnicas del portaobjetos o del enterramiento.**- Método de observación todavía predominante.
 1. Presionar un portaobjetos limpio contra una superficie de suelo recientemente expuesta, de tal manera que las partículas y las colonias microbianas se adhieran a él, se retira y se tiñe para ver los microorganismos tal como se encontraban en el suelo en ese momento.
 2. El mismo método anterior pero embadurnando los portaobjetos con nitrocelulosa, aclarándolo hasta una consistencia apropiada con acetato de amilo para ayudar a la retención del suelo sobre el portaobjetos.
 3. En lugar del portaobjetos de vidrio se pueden enterrar mallas de nylon en el suelo, el tejido se extrae y se estima la actividad de los hongos contando el número de hifas por malla.

- **Cajas de observación.**-Existe otro método de observación el cual usa:
 1. Portaobjetos y cubreobjetos, pueden incorporarse a la parte lateral de una caja que contiene suelo, haciendo un examen microscópico a gran aumento con luz reflejada.

Este método es conocido como cajas de observación, la observación directa tiene la desventaja de que la mayoría de los micelios que se ven en el suelo o sobre los portaobjetos carecen de fructificaciones y por lo tanto no se pueden identificar, a comparación de los

métodos microscópicos que proporcionan información sobre la localización y la forma de los hongos en el suelo.

b.- Métodos de aislamiento.

Se han usado métodos de aislamiento para estudiar a los hongos en el suelo, porque éstos, en general, permiten la identificación de los organismos. Muchos de las técnicas de aislamientos, son métodos indirectos y es difícil aseverar si los hongos que crecen sobre las placas proceden de micelios activos o de esporas inactivas. Algunos de ellos se pueden enumerar a continuación: ⁽³⁾

- **Método de dilución del suelo en placas.**- Método de aislamiento más ampliamente usado y clásico que consiste en:
 1. Agitar una cantidad conocida de suelo en agua estéril, obteniendo luego una serie progresiva de diluciones y de una o más de éstas diluciones, situar muestras de 1mL en placas de Petri dispersando con agar disuelto pero enfriado. Para evitar el crecimiento de bacterias y actinomicetes se puede ajustar el medio a pH 4.0 con algún ácido como sulfúrico, láctico, bórico o fosfórico, también se usa rosa de bengala, o éste último combinado con agar peptona-dextrosa o con algún antibiótico como estreptomycinina o aureomicina.
 2. Distribuir 1 mL de solución de suelo sobre la superficie de agar solidificada, 2 a 3 días después de que las placas estuvieran llenas; se obtienen más colonias que incorporando la dilución de suelo en

el momento de llenar las placas, especialmente en presencia de estreptomycin y de rosa de bengala.

Mediante el método de dilución del suelo en placas, se puede obtener el número de colonias por gramo de suelo seco, así como se pueden aislar especies para la recopilación de listas. A pesar de los comentarios en cuanto a que éste método es de poco valor para estimar la actividad de los hongos en el suelo, ha sido de gran ayuda y, si se consideran atentamente sus conocidas limitaciones, es un medio muy útil para investigar ciertos aspectos de la micología del suelo. ^(2, 3, 11, 12, 25 y 14)

- **Método de placas de suelo.**-Éste método fue ideado después de que se observó que en las placas de dilución se desechan muchos hongos con el residuo; esto también evita la preparación de pruebas en blanco para ello.
 1. Se dispersa una pequeña cantidad de suelo sobre una delgada lámina de medio de agar en una placa de aislamiento, posteriormente se analiza por microscopía y para obtener un alto número de colonias por gramo se diluye el suelo con arena estéril.

La principal ventaja de las placas de suelo es su fácil preparación, ya que incorporan toda la muestra, al combinarlos con medios selectivos, u otros procedimientos de aislamiento selectivo, pueden ser de mayor utilidad que las placas de dilución.

- **Los métodos de inoculación directa y de desecación del suelo.**- Éstos métodos tienen más significancia histórica que práctica, fueron ideados

para saber que hongos están presentes en el suelo como micelios y para llevarlo a cabo:

1. Se trasladan terrones de suelo de 1 cm. de diámetro, sobre placas estériles con solución de agar de Czapek, después de incubar a 22°C durante 24 horas, se extraían los extremos de las hifas, para distinguir entre micelios de hongos y esporas en el suelo. ^(3 y 25)

- **Las técnicas de inmersión.**- La más antigua es la técnica del portaobjetos o del enterramiento, usándose:

1. Los tubos de inmersión, los cuales son tubos de vidrio con cuatro a seis capilares envaginados, dispuestos en espiral, llenos con agar nutritivo; se extrae una columna de suelo en el campo y se inserta en su lugar un tubo de inmersión, después de siete a catorce días se extrae y se aíslan los hongos de él sacando una columna de la longitud del tubo que luego se corta en partes que se sitúan en placas.
2. Las placas de inmersión, que consisten en un portaobjetos de vidrio cubiertos por agar que se incluyen en agua destilada en una caja de "Perspex", con una tapadera que tiene 10 agujeros espaciados para permitir la entrada de los hongos, después de un período de enterramiento en el suelo, las placas se extraen, se examinan y se transfieren los hongos crecidos a agar con dextrosa de patata.

Éstas técnicas dependen mucho de la capacidad de los individuos para competir con éxito con otros miembros de la población del suelo, así como crecer en las profundidades del medio lo suficientemente lejos como para ser aislados en el corazón del medio.

- **Métodos para desmenuzar el suelo.**- Existen varios métodos para fraccionar o desmenuzar el suelo, normalmente en partículas de varios tamaños o de uno solo.

1. Al extraer las esporas de hongos, de las partículas más finas del suelo ya sea por cribado, sedimentación, centrifugación o impactación, se pueden usar series de cajas de lavado para fraccionar el suelo en partículas de diferentes tamaños o porciones pulverizadas, que se pasan a través de un disco de aluminio perforado y se apretaron sobre medio de agar, posteriormente se dispersa el suelo uniformemente en 400 unidades de igual tamaño por disco.

Se ha encontrado que éste método permite obtener conteos mas reproducibles de algunas especies que los que daban las placas de dilución de suelo. ^(3 y 29)

- **Aislamiento de raíces y restos.**- Las raíces y los restos grandes, constituyen los substratos principales para los hongos en el suelo, para estudiar su presencia y actividad hay que considerar su crecimiento sobre, y en estos substratos.

1. Para estudiar particularmente los hongos sobre la superficie de las raíces se usan técnicas de lavado con agua estéril y sembradas en agar, aunque es mejor mantenerlas en una cámara húmeda, o bien esterilizando la superficie de las raíces con cloruro de mercurio y enterrándolas durante dos a cuatro semanas en arena húmeda esterilizada, después se examinan las raíces, y buscar estructuras en reposo o reproductoras de distintos hongos, aislándose para posteriores estudios. ^(3, 9 y 25)

- **Métodos selectivos.**- Se emplean una serie de métodos selectivos para aislar hongos del suelo, éstos son útiles cuando los organismos presentes están en bajo número.

1.- Se usan para aislar ciertas especies como por ejemplo *Pythium* y otros mohos de agua de semillas de cáñamo, trozos de tallo en trigo negro maduro para aislar *Rhizoctonia solani* del suelo, ramitas de rosa como cebo para aislar *Chalaropsis thielavioides*, discos de zanahoria para aislar *Thielaviopsis basicola*, inoculando manzanas con suelo para aislar *Phytophthora cinnamomi*, hojas de piña para *P. cinnamomi* y de limones para *P. parasitica* y *P. citrophthora*, pelo para dermatofitos etc.

Algunos investigadores hacen uso de huéspedes como medio selectivo para el aislamiento de patógenos que crecen en el suelo.

- **Medios selectivos.**- Al igual que para bacterias se han hecho estudios para encontrar algún medio selectivo para hongos y así facilitar su aislamiento.

1.- Existen sustancias que inhiben o favorecen el crecimiento de los hongos. Hay especies que toleran bien los grupos polienos de antibióticos, otras a los taninos o empleando PCNB u *o*-fenil fenol. Cada especie se desarrolla dando sus características de acuerdo al medio que les favorece.

Al disponer de un método selectivo, podría ser necesario reconsiderar los procedimientos actuales de aislamiento. Pero se requeriría asegurar si alguna forma del hongo (espora estructura en descanso o micelio) se inhibe por las sustancias selectivas que se emplean. ^(3, 12 y 29)

D. Contaminación de suelos.

La contaminación del medio ambiente significa sencillamente la introducción de un cambio perjudicial en los elementos particulares de interés. ⁽¹³⁾

Hasta cierto punto, las actividades biológicas de todos los organismos producen alguna contaminación del medio ambiente por desechos, pero el hombre, con su tecnología moderna aumenta su contribución en varios órdenes de magnitud. ^(13, 23 y 33)

En la naturaleza, los organismos que integran el suelo y con ayuda del arrastre del agua y de las corrientes de aire, impiden la acumulación de contaminantes orgánicos e inorgánicos. Cuando estos ciclos resultan trastornados por una u otra razón, nos encontramos frente a un problema importante de contaminación ⁽¹³⁾ provocando que en el suelo se pueda disminuir la materia orgánica, la pérdida de estructura, erosión, etc., desarrollándose suelos ácidos, salinos y sódicos, y ser contaminados con residuos de pesticidas y metales pesados. ⁽³³⁾

1. Tipos y fuentes de contaminación de suelos.

La contaminación de suelos por la presencia de agentes tóxicos como hidrocarburos, plaguicidas y metales pesados constituye un problema ambiental de primer orden.

Los contaminantes de suelo se pueden clasificar en tres grupos:

- Biológicos.
- Físicos.
- Químicos.

Las fuentes de contaminación de suelos son:

- Resíduos urbanos.
- Resíduos rurales.
- Resíduos industriales. ^(4 y 23)

2. El uso de microorganismos.

El panorama actual no es tan desalentador, ya que se cuenta con novedosas técnicas para la recuperación de suelos degradados por contaminación. El uso de los microorganismos, constituye una estrategia potencialmente viable, actualmente no solo la investigación se limita a la identificación de aquellos microorganismos, sino que se dirigen a incrementar la tasa de degradación de compuestos tóxicos, mejoramiento genético de microorganismos para que se adapten a ambientes extremos y desarrollo de diferentes técnicas biocorrectivas alternativas para la recuperación de suelos degradados. ^(31, 39 y 43)

3. Indicadores de contaminación.

Algunos microorganismos pueden ser utilizados como indicadores en un ambiente específico que se ha contaminado, las especies deben ser confiables y fácilmente identificables, aplicable a todos los tipos del suelo y localizaciones geográficas, los indicadores microbiológicos ideales deben de reflejar no solamente la presencia o ausencia de contaminación de un tipo específico, sino interpretar también los niveles de dicha contaminación y sus fluctuaciones periódicas, los microorganismos usados como indicadores de contaminación del suelo deben de estar ausentes del medio específico (suelo) a menos que éste haya sido contaminado y generalmente son miembros de la flora nativa del suelo y responder a los cambios. ^(4, 31, 32y 33)

4. Acción de los mohos en el suelo con respecto a la contaminación.

La capacidad de los hongos para transformar una gran variedad de compuestos orgánicos y llevarlos hasta CO_2 y H_2O ofrece un potencial indiscutible para su utilización en procesos de tratamiento de contaminaciones. Ese potencial radica fundamentalmente en las características de su sistema enzimático y en su vigoroso crecimiento, que les permite a través de su micelio, colonizar diferentes sustratos y acceder a los compuestos que constituyen las contaminaciones más frecuentes de los suelos, los hongos tienen una capacidad muy notable para acumular metales pesados como: Cadmio, cobre, mercurio, plomo y zinc; tienen capacidad eficiente como secuestradores de isótopos radiactivos para descontaminar zonas afectadas con accidentes nucleares.

Los hongos al no poseer clorofila, deben obtener el carbono por medio de moléculas preformadas, como hexosas, pentosas, disacáridos, pectina, almidón, celulosa, hemicelulosa, grasas y lignina, de ahí que disponen de capacidades relevantes para degradar la lignina, un polímero polifenólico heterogéneo, así como muchos más compuestos orgánicos, ^(2, 16, 18, 21, 22, 27, 29 y 32). Además sus hifas al morir, por acción de bacterias son transformadas en sustancias mucilaginosas útiles como cementantes de suelos arcillo-húmicos. El nitrógeno lo obtienen del amoníaco y nitrato, sirviéndoles también las proteínas, ácidos nucleicos u otros compuestos orgánicos completos. ^(2, 27 y 39)

La micorriza es una simbiosis que se establece entre alrededor de 5000 especies de hongos y más del 90% de la especies de plantas vasculares, la principal estructura que actúa es el micelio externo por su función de reciclaje de nutrientes en el ecosistema. La importancia de las micorrizas es que ayudan al establecimiento y protección de aquellas plantas que se encuentran en suelos poco productivos, como los afectados por la desertificación, la contaminación por metales pesados o la salinización, y permiten frenar su erosión. Las plantas micorrizadas inmovilizan los metales en la raíz impidiendo que pasen a la parte aérea de la planta. ^(9, 15, 17, 18, 25, 31, 33, 34, 36, 37, 39 y 44)

El tratamiento biológico de suelos se ve muy favorecido con la aplicación de hongos (Tabla 1), ya que los sistemas sólidos sustentan bien el crecimiento de éstos microorganismos, al producir complejos enzimáticos capaces de oxidar compuestos complejos. ⁽¹⁴⁾

Los parámetros críticos a considerar en un tratamiento biológico son: Tipo y concentración de contaminante, número de microorganismos, cantidad de nutrientes, aireación, condiciones macroambientales, presencia de inhibidores y biodisponibilidad del contaminante. ⁽¹⁴⁾

Tabla 1. Microorganismos usados en biodegradaciones. (4, 23, 38, 43 y 46)

Hongo	Hidrocarburos	Pesticidas	Metales pesados		
			Hg	Se	As
<i>Acremonium</i>	X				
<i>Alternaria</i>		X			
<i>Aspergillus</i>	X	X	X		X
<i>Aureobasidium</i>	X				
<i>Beauveria</i>	X				
<i>Botrytis</i>	X				
<i>Candida</i>	X			X	
<i>Chrisosporium</i>	X				
<i>Cladosporium</i>	X	X			
<i>Cochlobolus</i>	X				
<i>Cylindrocarpon</i>	X				
<i>Debaryomyces</i>	X				
<i>Fusarium</i>	X	X			X
<i>Geotrichum</i>	X				
<i>Gliocladium</i>	X				
<i>Glomerella</i>		X			
<i>Graphium</i>	X				
<i>Humicola</i>	X				
<i>Monilia</i>	X				
<i>Mortierella</i>	X				
<i>Mucor</i>		X			X
<i>Paecilomyces</i>	X				X
<i>Penicillium</i>	X	X			
<i>Rhizobium</i>				X	
<i>Rhizoctonia</i>		X			
<i>Rhodotorula</i>	X				
<i>Saccharomyces</i>	X				
<i>Spicardia</i>	X				
<i>Tolypocladium</i>	X				
<i>Trichoderma</i>	X	X			
<i>Verticillium</i>	X				

E. Biorremediación de suelos.

La biorremediación es el uso de microorganismos para degradar agentes tóxicos y desechos peligrosos, que surge como un tratamiento para la restauración de suelos acuíferos y subsuelos contaminados. ^(4, 22, 37, 42 y 43)

Los procesos de biorremediación pueden ser llevados a cabo por plantas, animales y microorganismos.

Se puede llevar a cabo por organismos autóctonos o exógenos, en condiciones aeróbicas o anaeróbicas y realizarse *in situ* o *ex situ*. ^(8, 43 y 45)

1. Procesos de biorremediación.

-Biom mineralización.- Completa destrucción de los contaminantes orgánicos y reducirlos a sus constituyentes minerales básicos.

-Biotransformación.- Degradación parcial de los contaminantes orgánicos formando otras sustancias químicas menos complejas.

-Biovolatilización.- Las bacterias y hongos pueden volatilizar metales por adición del grupo metilo, que hace al metal muy volátil.

-Cometabolismo.- Habilidad de las bacterias de romper un contaminante con la adición de un sustrato primario. ^(4, 14, 18 y 22)

2. Tipos de tecnologías de biorremediación de suelos.

-Bioaugmentación.- Adición de microorganismos al sitio contaminado cuando la población autóctona carece de capacidad degradadora.

-Bioestimulación.- Adición de estimulantes en la actividad microbiana autóctona como co-sustratos o aceptores de electrones para la degradación anóxica.

-Bioventeo.- Introducción de oxígeno a través del suelo para estimular la población microbiana netamente aerobia.

-Composteo.- El material contaminado es colocado sobre la superficie del terreno en forma de pilas que se cubren para crear condiciones termófilas, periódicamente se mezcla para favorecer la aceleración

-Biocultivo.- Tratamiento en fase sólida que generalmente se realiza en sitios confinados para retener los lixiviados que se forman.

-Biosorción.- Uso de microorganismos con afinidad para absorber metales bajo ciertas condiciones, generalmente se aplica en fase líquida. ^(4,14, 22 y 45)

3. Ventajas de las tecnologías de biorremediación.

Son seguras, económicas y más rápidas que algunos tratamientos fisicoquímicos, serían más económicos si se usara la población autóctona, no se generan desechos después del tratamiento ya que son degradados los contaminantes y se eliminan costos de transportación ⁽⁴⁾.

En México las tecnologías más utilizadas por empresas autorizadas para remediar suelos contaminados por diferentes tipos de contaminantes incluyen las biológicas (biorremediación, con 48%), siendo las más utilizadas el composteo y la biolabranza, con menor uso el lavado de suelos, la oxidación química y la separación física.

II JUSTIFICACIÓN

La sociedad cada día valora más la conservación del suelo, aire, agua, etc., por lo que es de primordial importancia el conocer perfectamente la totalidad de las interrelaciones simbióticas de dichos medios, como un paso primordial para el restablecimiento de los equilibrios ecológicos. El uso indiscriminado de diferentes contaminantes productos de actividades agrícolas, industriales y ciudadanas no sustentables ha alterado estos susceptibles equilibrios, de los cuales los hongos forman parte, y si estos son afectados a pesar de ser de los individuos más adaptables, es lógico suponer por consiguiente que también lo serán los demás seres vivos, como los vegetales, animales y humanos, los cuales sufrirán un gran deterioro en su salud.

Los hongos son un grupo diverso de organismos que se localizan en todos los climas de la tierra, aunque prefieren medios húmedos y calientes, y junto con las bacterias son los causantes de la descomposición de toda la materia orgánica, ya que la mayoría no son muy exigentes para su crecimiento, por lo que podemos encontrarlos en casi cualquier sustrato suficiente en carbono, nitrógeno, etc.

Al contaminarse el suelo ya sea de manera accidental o voluntaria con diversos agentes como petróleo, plaguicidas, plásticos, materia orgánica, papel, vidrio, sustancias químicas, radioactivas, basura no biodegradable, fertilizantes, etc. se modifican perceptiblemente o no una serie de sus propiedades físicas, químicas y/o biológicas, lo que es más frecuente en las ciudades, en campos agrícolas muy tecnificados, en zonas industriales, lugares cercanos a las descargas de desechos, etc. Como consecuencia de esto se producen malos olores y gases tóxicos, por procesos como la putrefacción, fermentación, pudrición, etc. Como es lógico la

microflora y microfauna del suelo se ve afectada en su número y tipo, lo que puede ser empleado como un índice de contaminación por diversos productos, cuando esto sea convenientemente estandarizado.

Es de primordial importancia no destruir nuestro medio ambiente y el crear métodos de detección que determinen los tipos y cantidades de contaminantes, nos indiquen las modificaciones y las repercusiones a corto, mediano y largo plazo, para crear estrategias que controlen estos cambios, sin embargo aunque es una exigencia que las empresas y los gobiernos se den a la tarea de realizar análisis que puedan aplicarse, lo hacen de manera muy ocasional, o solo en casos críticos, lo que se debe a su laboriosidad y a sus elevados costos.

Las técnicas que predominan, entre otras son las de tipo químico y bioquímico, como cromatografía de gases, en columna, capa fina, espectrofotometría y biología molecular. No obstante se requiere de la adaptación de métodos indicadores fáciles de realizar y económicos, que nos proporcionen una idea del tipo y del grado de contaminación y de sus repercusiones.

Actualmente se emplea a *Escherichia coli* y a *Clostridium sp.* como indicadores de contaminación fecal, y a otras bacterias o microorganismos de importancia sanitaria para detectar el deterioro de los alimentos. Así mismo, el número de bacterias u hongos nos brinda una idea muy aproximada de la manipulación de diversos tipos de muestras. Sin embargo, la contaminación industrial y agropecuaria de los suelos y del agua por agentes químicos, solventes, metales, macromoléculas, etc.; no ha recibido la adecuada atención de las autoridades ecológicas en la mayoría de las ciudades o poblaciones rurales.

En esta investigación se pretende implementar una metodología para detectar o inferir sobre la presencia de contaminantes en suelo en función del crecimiento fúngico, ya que a los hongos no solo podemos cuantificarlos e identificarlos, sino que trataremos de emplearlos como un índice de contaminación, o para detectar diversas sustancias. Lo anterior no se ha realizado por la falta de investigación en la estandarización de la técnica, por la determinación

de diversos factores que la afectan, y a que no se han analizado convenientemente las variables implicadas.

Esperamos que el presente trabajo incremente los estudios ecológicos y nos alerte en problemas preventivos de salud, medioambientales y sociales en relación con las más obvias y frecuentes fuentes de contaminación y de sus riesgos.

III OBJETIVOS

A.- Determinar la relación entre el número de micromycetos filamentosos y el deterioro ecológico del suelo y si esto puede ser usado como un indicador de contaminación o de la calidad del suelo.

B.- Evaluar la eficacia de los medios de cultivo agar Sabouraud y agar rosa de bengala para detectar diferencias en las poblaciones de micromycetos filamentosos en suelos naturales y contaminados.

II HIPÓTESIS

A.-El número de hongos microscópicos filamentosos será significativamente diferente en las muestras de suelo contaminadas y no, por lo que el método a realizarse podrá usarse como un índice de deterioro ecológico.

B.- Los medios de cultivo empleados para micromicetos filamentosos mostraran una diferencia significativa en cuanto a su número, en las muestras de suelo contaminado o no, por lo que el agar Sabouraud o el agar rosa de bengala podrán emplearse en la estandarización del método de estudio.

V METODOLOGÍA

Muestreo:

- Tomar muestras (100 gr aprox.) de lugares estratégicos, tanto de suelo sin probable contaminación, como también de las que se sospecha de un importante deterioro ecológico, sin reciente manipulación, ni basura u otros tipos de desechos.
- Elección de 18 lugares estratégicos en el área de saltillo y zonas conurbadas, las que se marcaron con los números del 1-18. De la misma manera se eligieron 6 zonas con probable contaminación industrial, marcadas con las letras de la A-F y de cada una de ellas se tomaron 3 muestras, como se ilustra en la figura No. 4.
- Considerar de manea importante las condiciones de esterilidad o higiene, ya que las muestras pueden ser contaminadas por aire, suelos no característicos de la región, desechos industriales, basura del hombre, desechos de animales y otros.
- Reportar las condiciones locales, como tipo de vegetación, humedad, color general del suelo de colecta, etc.
- Fecha de colecta: Febrero del 2007
- Comparar color, textura, consistencia, apariencia, etc. de las muestras de suelo.

Sitios de Recolección:

- 18 muestras de suelo sin aparente contaminación, de diversas regiones del área de Saltillo y zonas conurbadas de Coahuila, de los lugares que a continuación se enuncian y como se muestra en el mapa de la figura No. 4 :
 - 1- John Deer.
 - 2- Cd. Deportiva.
 - 3- Colonia Universidad.
 - 4- Carretera a los González y Valdéz Sánchez.
 - 5- Colonia Bella Vista.
 - 6- Parque las Maravillas.
 - 7- Isidro López y Nazario Ortíz G.
 - 8- Cerro del Pueblo.
 - 9- Arroyo Fundadores (Fundadores y Morelos).
 - 10- Alameda Central.
 - 11- Carretera a Torreón.
 - 12- Vitromex.
 - 13- Pemex
 - 14- Poblado Los González.
 - 15- Arroyo La Guayulera.
 - 16- La Nogalera.
 - 17- Lomas del Pedregal.
 - 18- Bella Unión.

- Se tomaron 18 muestras de suelo A, B, C, D, E y F en tres series (1, 2 y 3), con probable contaminación, de cada zona industrial y procurando que estas reflejen las actividades propias del lugar y que sean lo más cercanas posibles:

A.- Kimberly Clark (Industria de proceso de papel).

B.- Rastro Municipal de Saltillo.

C.- Gist (Fersinsa)

D.- De Acero.

E.- Pemex.

F- Zincomex.

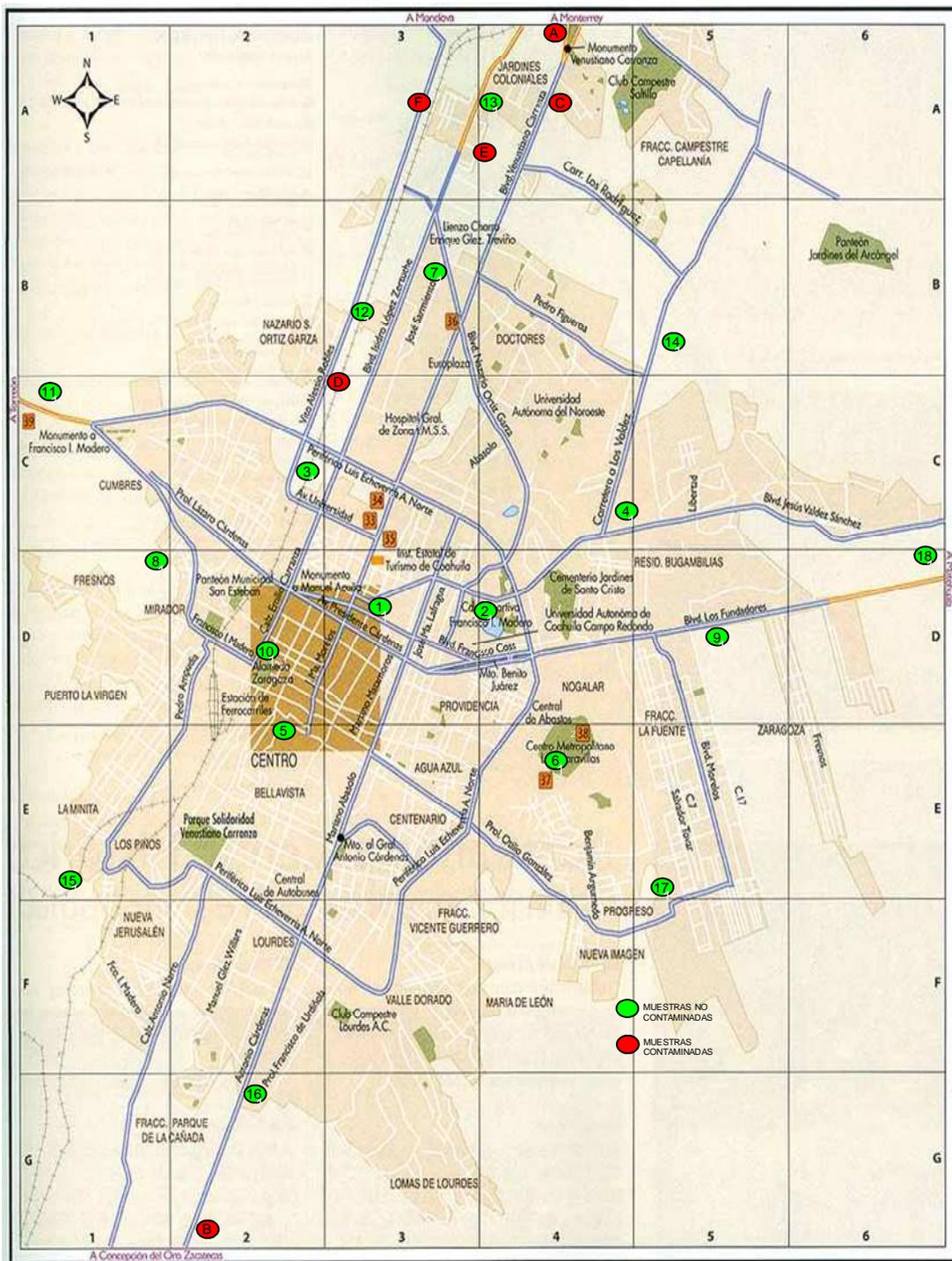


Figura No. 4: Mapa con la ubicación de los lugares de muestreo.

Características de las muestras: Las características de las muestras de suelo se detallan en el apéndice No. (1)

Aislamiento, conteo e identificación:

Los medios en placa se emplean principalmente para el conteo, aislamiento y la identificación de los hongos, aunque representan mayores riesgos en cuanto a su manipulación y son más fáciles de contaminar, pero ninguna combinación de los diversos tipos de medios de cultivo (enriquecidos, diferenciales o selectivos) nos dará la información de todos los microorganismos presentes en la muestra, ya que también se deben de considerar los diferentes factores medioambientales que afectan las poblaciones, el tiempo de incubación, la manipulación de la muestra, los criterios de conteo y las interrelaciones ecológicas, de ahí la importancia de la estandarización de los métodos de conteo e identificación, lo que nos permitirá una mejor valoración de nuestros propósitos.

Pesar 0.5 grs. de la muestra en una balanza granataria, y hacer diluciones seriadas de 10^{-1} hasta 10^{-6} en solución salina isotónica, para lo cual se usan pipetas y material estéril. Añadir 1 ml de la dilución 10^{-2} en una caja de petri y se hace lo mismo con las diluciones 10^{-4} y 10^{-6} .

Posteriormente preparar agar Sabouraud, agar Czapeck y agar rosa de bengala, esterilizar en el matraz Earlenmayer y cuando se alcanza una temperatura de cerca de 50° centígrados se vacía sobre las cajas de petri que contienen las muestras anteriores, se agita suavemente en forma de 8 y dejar solidificar.

Incubar en posición invertida a 25° centígrados y verificar el crecimiento a los 9 – 10 días. Posteriormente se realiza un conteo total de las colonias filamentosas y levaduriformes y para la captura de resultados se emplea una hoja, como la incluida en el apéndice No. (6). Capturar la morfología macroscópica.

Se realiza un aislamiento en tubos con agar Sabouraud inclinados (en pico de flauta), para posteriormente llevar a cabo de manera adecuada la caracterización de la morfología microscópica de la siguiente manera:

- Preparación de montajes semipermanentes (OMD) en azul de algodón y lactofenol (Medio de Aman).
- En caso necesario se llevan a cabo microcultivos, como se detalla en el apéndice No. (3).
- Se toman las principales características morfológicas microscópicas.
- La identificación de los hongos aislados se basa en atributos morfológicos que se obtienen mediante observaciones directas, en microcultivos o en preparaciones con cinta adhesiva. Las características más comúnmente empleadas son las siguientes:
 - Las características del crecimiento “in vivo” que se obtiene gracias a una observación microscópica directa.

- La morfología macroscópica del cultivo en cada uno de los medios de cultivo empleados: Apariencia, textura, color, tamaño, topografía, etc. Apéndices No. (6 y 9)
- La morfología microscópica: Tipo de aparato reproductor, taloconidias, células reproductoras, tipo de hifas, modificaciones somáticas, etc.

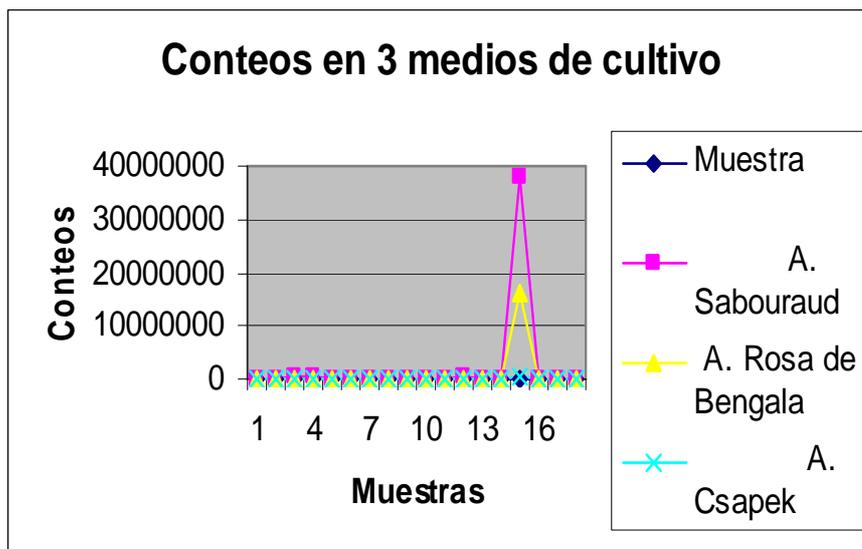
VI RESULTADOS

Se obtiene un cuadro de concentración de resultados de las 18 muestras de suelo no contaminado como se puede constatar en apéndice No. (5), de lo anterior se obtuvo que los tipos de hongos, con pocas excepciones no muestran gran diversidad en las áreas de muestreos, aunque sí de manera general al comparar las muestras naturales y las contaminadas. En la Tabla No. 2 se presentan los resultados de los 18 conteos de las muestras de suelo que se obtuvieron en cada uno de los tres medios de cultivo, y se debe de hacer notar que el crecimiento en Agar Czapek fue mucho menor que en los otros dos medios, por lo que no resultó ser adecuado para esta investigación, y se encontró además que no hay una diferencia significativa en cuanto al número de micromicetos filamentosos entre el agar Sabouraud y el agar Rosa de Bengala.

Tabla No. 2 Resultados de los conteos de las muestras de suelo no contaminadas en tres medios de cultivo.

Muestra	A. Sabouraud	A. Rosa de Bengala	A. Czapek
1	80000	3900	4700
2	40000	11200	9400
3	570000	700	100
4	470000	5400	2800
5	50000	30000	0
6	50000	30000	2700
7	2000	900	0
8	30000	200	0
9	230000	30000	200
10	2000	1300	0
11	1200	6500	0
12	270000	30000	30000
13	90000	90000	50000
14	6800	6400	4500
15	38000000	16000000	290000
16	2900	2600	4500
17	12000	23000	0
18	3100	900	0

Al revisar “a priori” estos resultados en la Tabla No. 2 y la Gráfica No. 1 se observa claramente que los conteos directos en los medios de Agar Sabouraud y Agar Rosa de Bengala no serán fácilmente analizados, por lo que se obtendrán sus Ln.



Grafica No. 1 Comparativo de conteos de las muestras de suelo no contaminadas en tres medios de cultivo.

En estas tablas 2, 4, 5 y 6 se le añade al encabezado de cada columna el medio de cultivo y lo siguiente, según el caso:

a1 = Muestras no Contaminadas

a2 = Muestras Contaminadas

b1 = Agar Sabouraud

b2 = Agar Rosa de Bengala

a1b1 ; a1b2 ; a2b1 ; a2b2

Con lo anterior se pretende facilitar la comprensión de los resultados en el análisis estadístico.

En la Tabla No. 3 y la Gráfica No.2 ya es posible realizar un análisis más objetivo de los resultados de las 18 muestras de suelo no contaminadas en los 3 medios de cultivo y se confirma lo que se obtuvo con el Agar Czapek, el cual no muestra ser adecuado para los conteos, aunque probablemente sea el mejor para el aislamiento particular de algunos mohos.

Tabla No. 3 Ln de los conteos de las muestras de suelo no contaminadas (a1) en tres medios de cultivo (b1, b2 y Agar Czapek).

	a1 b1	a1 b2	
Muestra	A. Sabouraud	Agar Rosa de Bengala.	A. Czapek
1	11.28978191	8.268731832	8.455317788
2	10.59663473	9.323669057	9.148464968
3	10.95080655	6.551080335	4.605170186
4	10.75790288	8.594154233	7.937374696
5	10.81977828	10.30895266	0
6	10.819778	10.30895266	7.901007052
7	7.60090246	6.802394763	0
8	10.30895266	5.298317367	0
9	12.34583459	10.30895266	5.298317367
10	7.6009025	7.170119543	0
11	7.090076836	8.779557456	0
12	12.50617724	10.30895266	10.30895266
13	11.40756495	11.40756495	10.81977828
14	8.824677891	8.764053269	8.411832676
15	17.45309672	16.58809928	12.5776362
16	7.972466016	7.863266724	8.411832676
17	9.392661929	10.04324949	0
18	8.03915739	6.802394763	0

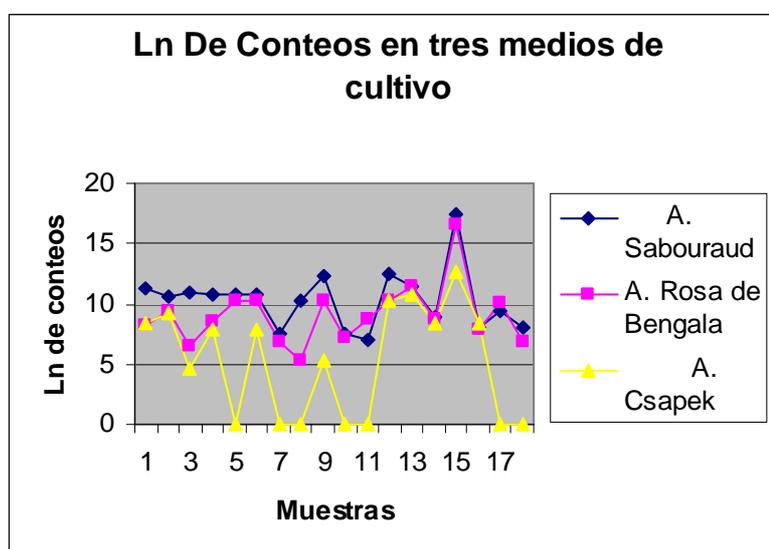
La muestra de suelo no contaminada 15 tiene el más alto número de mohos, tanto en Agar Sabouraud (Figura No. 5), como en Agar Rosa de Bengala (Figura No. 6), lo que se comprueba en todas las tablas y gráficas.



Figura No. 5: 15AS4



Figura No. 6: 15ARB6



Grafica No. 2 Comparativo del Ln de conteos de las 18 muestras no contaminadas en tres medios de cultivo.

Se obtuvo un cuadro de concentración de datos que se obtuvieron en las muestras de suelo con probable contaminación, el que se incluye como apéndice No. (4) y del que surgió lo siguiente:

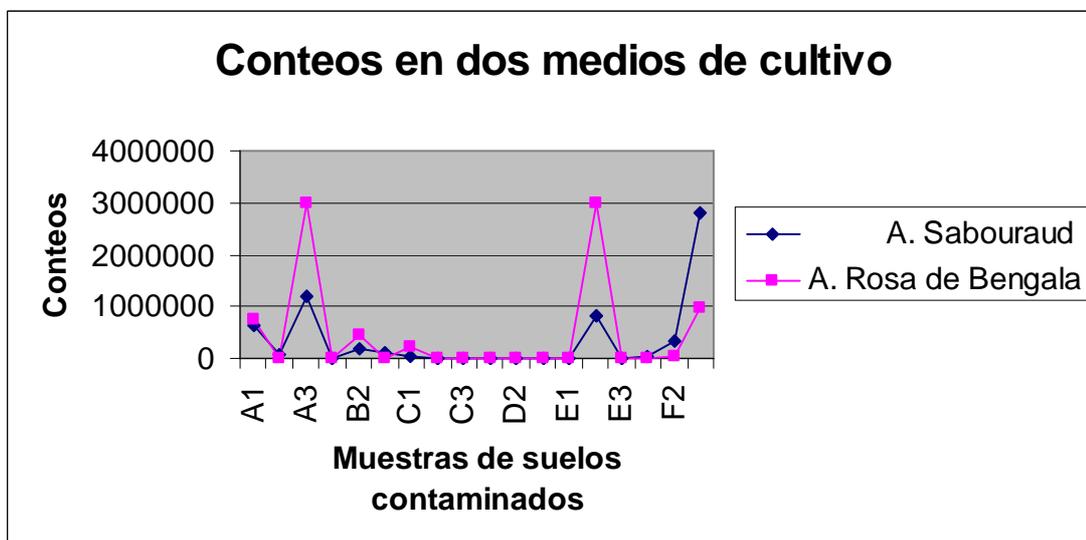
En la Tabla No. 4 y la Gráfica No. 3 se presentan los resultados de las 18 muestras de suelo contaminado en Agar Sabouraud y Agar Rosa de Bengala, cada letra con un número diferente representa la proximidad con la fuente de contaminación, y lo mismo que las anteriores es muy difícil realizar un análisis directo por lo que se transforman estos resultados a sus Ln correspondientes en la Tabla No. 5 y en la Gráfica No. 4 .

Tabla No. 4 Conteos de las 18 muestras de suelo contaminadas en dos medios de cultivo.

Muestras	Agar Sabouraud	Agar Rosa de Bengala.
A1	650000	750000
A2	85000	200
A3	1200000	3000000
B1	0	700
B2	190000	450000
B3	120000	12000
C1	23000	220000
C2	1000	1400
C3	1500	400
D1	1000	500
D2	500	4800
D3	200	500
E1	2700	2500
E2	840000	3000000
E3	9600	13000
F1	30000	300
F2	340000	30000
F3	2800000	980000

Los resultados que se obtienen de las muestras de suelo a diversas distancias de la fuente de contaminación (A1, A2 y A3; lo mismo que las demás) no presentan diferencias homogéneas entre sí, contra todo lo esperado, por lo que esto no se analizó separadamente.

Se debe de resaltar que el análisis de los resultados de las muestras de suelo contaminado no es factible de manera directa, por lo que también es este caso y en todos los subsecuentes fue necesaria la conversión en Ln, lo cual facilitó enormemente la obtención de conclusiones.



Grafica No. 3 Comparativo de conteos de muestras de suelo contaminado en dos medios de cultivo.

En la Tabla No. 5 y la Gráfica 4 no hay una diferencia marcada entre los conteos que se obtienen en el Agar Sabouraud y el Agar Rosa de Bengala, por lo que será necesario compararlos en el análisis estadístico, sin embargo es importante recalcar los resultados de las muestras B1 (Figura No. 14) en Agar Sabouraud por bajos:

Tabla No. 5 Ln de conteos de muestras de suelo contaminadas en dos medios de cultivo.

	a2 b1	a2 b2
Muestras	Agar Sabouraud	Agar Rosa de Bengala.
A1	13.38472764	13.52782849
A2	11.35040654	5.298317367
A3	13.99783211	14.91412285
B1	0	6.551080335
B2	12.15477935	13.01700286
B3	11.69524702	9.392661929
C1	10.04324949	12.30138283
C2	6.907755279	7.244227516
C3	7.313220387	5.991464547
D1	6.907755279	6.214608098
D2	6.214608098	8.476371197
D3	5.298317367	6.214608098
E1	7.901007052	7.824046011
E2	13.64115717	14.91412285
E3	9.169518377	9.472704636
F1	10.30895266	5.703782475
F2	12.7367009	10.30895266
F3	14.84512998	13.79530785

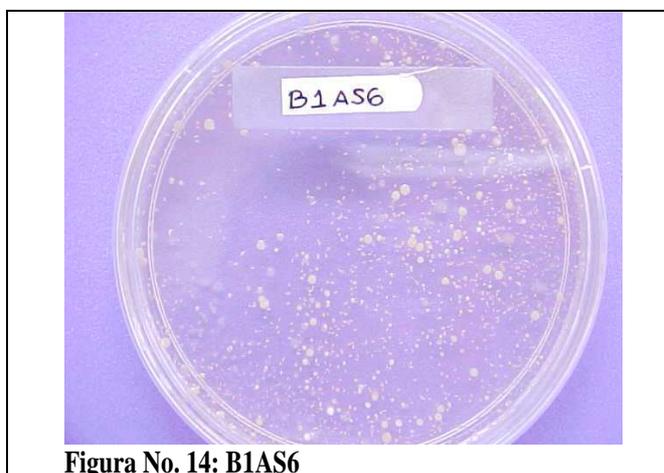
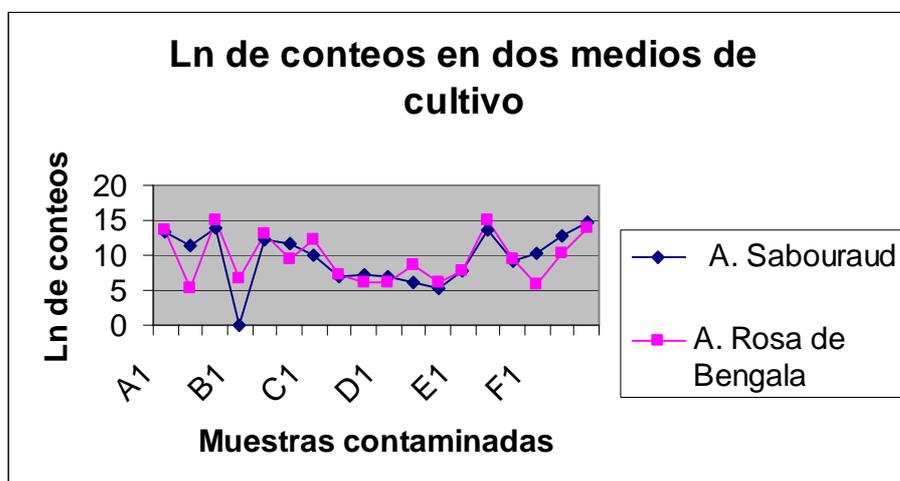


Figura No. 14: B1AS6



Grafica No. 4 Comparativo de Ln de conteos de muestras de suelo contaminadas en dos medios de cultivo.

En A3 (Fig. No. 7 y 8), E2 (Fig. No. 9 y 10) y F3 (Fig. No. 11 y 12) los conteos son muy altos, en los dos medios de cultivo.

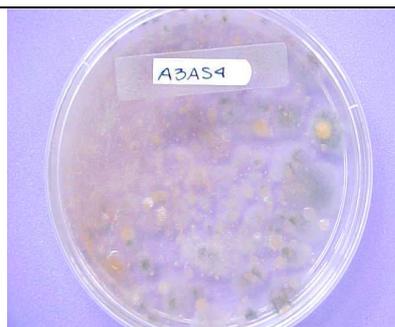


Figura No. 7: A3AS4

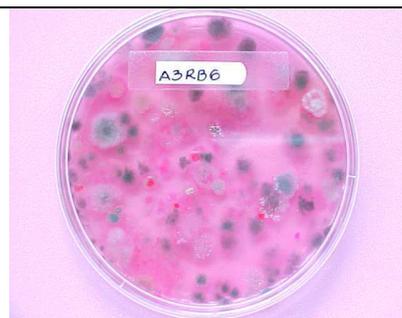


Figura No. 8 : A3ARB6



Figura No. 9: E2AS4



Figura No. 10: E2ARB2

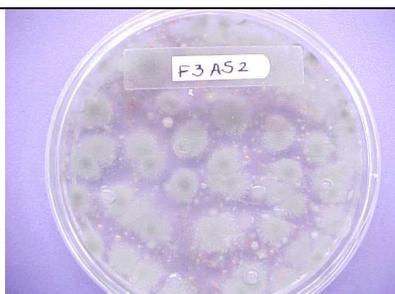


Figura No. 11: F3AS2

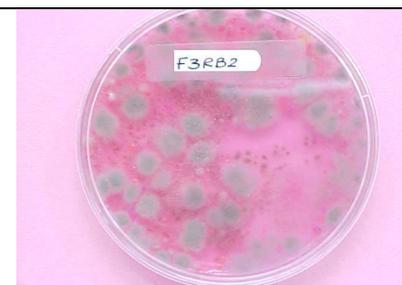
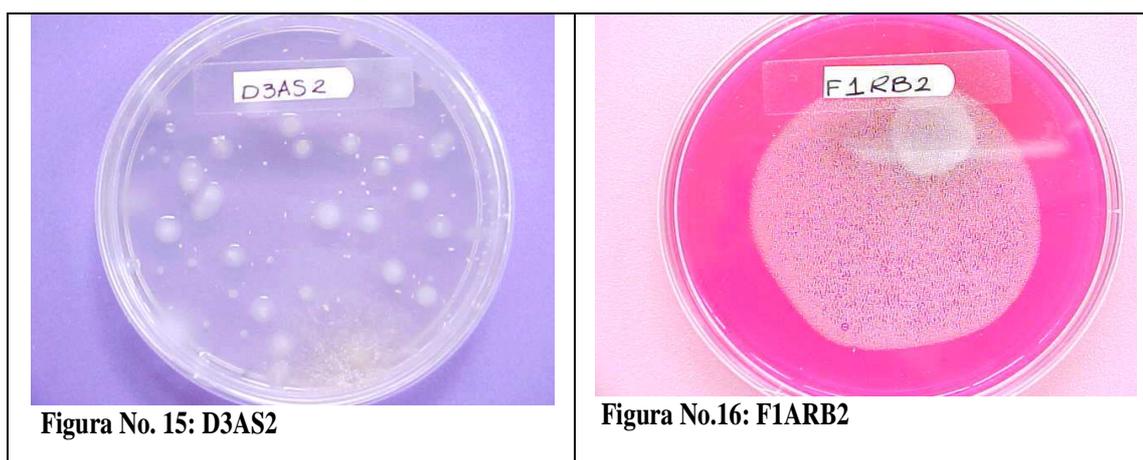


Figura No. 12: F3ARB2

En A2ARB (Fig. No. 13), D3AS (Fig. No. 15) y F1ARB (Fig. No. 16) los conteos resultaron moderadamente bajos, por lo que se deben de considerar estudios y análisis posteriores.

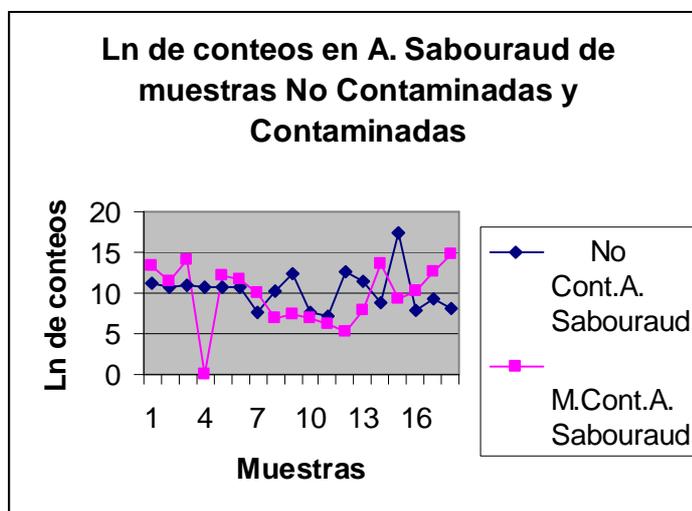


Los resultados en los dos medios de cultivo son bastante consistentes y se encuentran casi todos dentro de un rango más o menos estrecho, por lo que su análisis estadístico será determinante para emitir las consecuentes conclusiones.

Tabla No. 6 Ln de conteos de muestras de suelo contaminado y no contaminado en agar Sabouraud.

a1 b1	a2 b1
No Cont. Agar Sabouraud	M. Cont. Agar Sabouraud
11.28978191	13.38472764
10.59663473	11.35040654
10.95080655	13.99783211
10.75790288	0
10.81977828	12.15477935
10.819778	11.69524702
7.60090246	10.04324949
10.30895266	6.907755279
12.34583459	7.313220387
7.6009025	6.907755279
7.090076836	6.214608098
12.50617724	5.298317367
11.40756495	7.901007052
8.824677891	13.64115717
17.45309672	9.169518377
7.972466016	10.30895266
9.392661929	12.7367009
8.03915739	14.84512998

La Tabla No. 6 y la Grafica No. 5 confirman el resultado alto de la muestra 15, lo mismo que las A3, E2 y F3; mientras que la B1, A2, D3 y F1 resultan con conteos muy bajos, lo que es ratificando por las Tablas No. 5 y No. 7, y por las Gráficas No. 4 y No. 6.



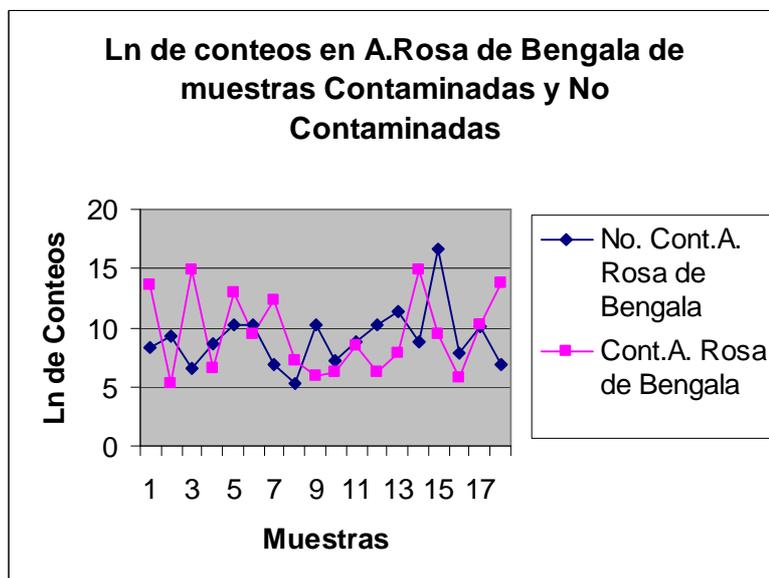
Grafica No. 5 Comparativo de Ln de muestras de suelo contaminadas y no contaminadas en Agar Sabouraud.

Las muestras no contaminadas mantienen regularmente un número elevado en sus conteos (Particularmente la 15), los que casi nunca son bajos en las muestras en estudio. Mientras que las contaminadas tienen una gran variación, con conteos muy altos y muy bajos, los que nos indican serias sospechas que justifican análisis más minuciosos.

Tabla No. 7 Ln de conteo de muestras de suelo en Agar Rosa de Bengala.

a1 b2	a2 b2
No. Cont. Agar Rosa de Bengala	Cont. Agar Rosa de Bengala
8.268731832	13.52782849
9.323669057	5.298317367
6.551080335	14.91412285
8.594154233	6.551080335
10.30895266	13.01700286
10.30895266	9.392661929
6.802394763	12.30138283
5.298317367	7.244227516
10.30895266	5.991464547
7.170119543	6.214608098
8.779557456	8.476371197
10.30895266	6.214608098
11.40756495	7.824046011
8.764053269	14.91412285
16.58809928	9.472704636
7.863266724	5.703782475
10.04324949	10.30895266
6.802394763	13.79530785

En la Tabla No. 7 y la Gráfica No. 6 con los Ln de los conteos en el agar Rosa de Bengala de las muestras de suelo contaminadas y no contaminadas se confirman los resultados de la Tabla No. 6 y la Gráfica No. 5.



Gráfica No. 6 Comparativo de Ln de conteos de muestras de suelo contaminadas y no contaminadas en agar Rosa de Bengala.

Se obtuvo una gran cantidad de hongos filamentosos microscópicos, cuya observación se facilitó con el método de microcultivo, y algunos de ellos presentan un gran potencial antagónico, lo que determina que los tipos de cepas que se cuentan o se aíslan sean muy restringidas, aunque su identificación y caracterización sea muy valiosa desde los puntos de vista ecológico, farmacéutico, industrial, etc.

Se observa que los siguientes factores limitan el tipo y el número de los hongos filamentosos microscópicos en diversas muestras de suelo: Estación del año, temperatura, profundidad de la toma de muestra, desarrollo de la metodología, tipos de medios de cultivo, tipo de incubación (Temperatura y tiempo), clima, etc.

VII CONCLUSIONES

Los conteos de micromycetos filamentosos en suelo natural y con probable contaminación no presentaron una diferencia significativa en su número, por lo que con esto se concluye que no puede emplearse como un índice de contaminación de suelo, y lo mismo ocurrió en los medios de cultivo Agar Sabouraud y Agar Rosa de Bengala, mientras que el Agar Czapek fué el menos efectivo para esta investigación.

No existe una relación entre la distancia de la fuente de contaminación y la población de micromycetos filamentosos en las tres muestras de suelo contaminado, en cada uno de 5 de los sitios de colecta, por lo que es necesario un análisis individual.

Los conteos marcadamente altos o bajos nos inducen a concluir que existe algún problema ecológico en suelo del área de estudio.

El crecimiento de levaduras y bacterias fue mayor en las muestras de suelo contaminado, al compararlas con las muestras de suelo natural.

VIII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Arambarri Angélica M. –SECyT, Universidad Nacional de La Plata Argentina Degradation of Oil Components by Fungi.
<http://www.tcnym.un/p.edu.ar/museo/institutos/spegazzini/ibsinvestigacion.html>
2. Área de Edafología y Química Agrícola. Facultad de Ciencias. Edafología. Ciencias Ambientales. Lección 6: El suelo como hábitat. Microorganismos del Suelo. Hongos.
<http://www.unex.es/edafo/ECAP/ECAL6MHongos.htm>
3. Borges A. y Raw F. 1971. Hongos en el Suelo. Biología del Suelo. ED. Omega S.A. Barcelona España. (556 Pág.) ont
4. Brock Thomas D., Madigan Michael T. 1993. Microbiología. Sexta Ed. Editorial Prentice Hall Hispanoamericana S.A. México.
5. Cabello Marta N. 2003 CYTED Red Iberoamericana sobre diversidad ecológica y uso de hongos microscópicos. Proyecto de Investigación. Biodiversidad de Hongos Biótrofos Formadores de Micorrizas Arbusculares y Saprótrofos: Conocimiento, Conservación y potencial Biotecnológico.
<http://www.tcnym.un/p.edu.ar/museo/institutos/spegazzini/ibsinvestigacion.html>
- 6.- Colinvaux Paul. 1993. The Soil. Ecology2. ED.John Wiley y Sons INC. USA. pp 688
7. Collins Harold., Robertson Philp., Klug Michael. 1995. The Significance and Regulation of Soil Biodiversity. Biodiversity and Species Reundancy among litter decomposers. Kluwer Academic Publishers. Developments in Plant and Soil Sciences. Netherland. (292 pag)

8. Collins Harold., Robertson Philp., Klug Michael. 1995. The Significance and Regulation of Soil Biodiversity. Soil Microbial Diversity and the Sustainability of Agricultural Academic Publishers. Developments in Plant and Soil Soils. Kluwer Sciences. Netherland. (292 pag)

9. Core Jim. Agricultural Research Service. Enero 2006 Aprendiendo mas sobre los hongos beneficiosos del suelo. United Status Departament of Agricultura.
www.ars.usda.gov/is/espanol/pr/2006/060119.es.htm

10. Departamento de Estadística y Cálculo. Estadística y Cálculo. Tablas Estadísticas. U.A.A.A.N

11. Dindal Daniel L. 1990. Actinomycetes. Soil Biology Guide. ED. John Wiley y Sons USA. Pág total 1349

12. Dindal Daniel L. 1990. Soil Fungi. Soil Biology Guide. ED. John Wiley y Sons USA. Pág total 1349

13. Emmel Thomas C. 1975. Contaminación. Ecología y Biología de las Poblaciones. McGraw Hill Interamericana. Universidad de Florida. Méx. (182 Pág.)

14. Ercoli E., Galvez J., DiPaola M., Cantero J., Videla S., Medaura M., Bauzá J. 2005. Laboratorio de Bioprocesos. Facultad de Ingenieria. Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza. Análisis y Evaluación de Parámetros Críticos en Biodegradación de Hidrocarburos en Suelo.
http://www.ecosur.net/Analisis/Analisis_y_evaluacion.html

15. Frankland J. C., Magan N., Gaad G. M. 1996. Potential effects on the soil micoflora of changes in the UK agricultural policy for upland grasslands. Fungy and Environmental Change. Cambridge University Press. Published for the British Mycological Society Great Britain. Cap II, pág 163-183. Pág total 351.

16. Gandullo Gutiérrez José Manuel. 1994. Los Organismos Vivos del Suelo. Climatología y Ciencia del Suelo. Escuela Técnica Superior de Ingenieros de Montes. ED. Fundación Conde del Valle de Salazar. Méx.(404 Pág.)
17. Garrido N., Osés R. Importancia y Potencial de la Biodiversidad Fúngica en la Investigación y Desarrollo en el Sector Agroforestal. Vivero Quiñenco, Dpto. Botánica, U. Concepción, Chile.
18. Ingraham John., Ingraham Catherine. Introducción a la Microbiología. Los Microorganismos y el Medio Ambiente.
<http://coli.usal.es/web/educativo/Memame/micro/micro.htm-53k>
19. Instituto Nacional de Ecología. 2004. Capítulo Primero. El suelo.
<http://www.ine.gob.mx/ueajei/publicaciones/libros/459/cap1.html>
20. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI). Enero 2000.
- 21.- Guía Normativo- Metodológica. Los Análisis Físicos y Químicos en la Cartografía Edafológica del INEGI.
<http://www.inegi.gob.mx/geografía/español/normatividad/edafología/normedaf.pdf?c=329->
22. Kent Kirk T., Lamar Richard T., Glaser John A. 1992. The Potential of White-Rot Fungi in Bioremediation. Biotechnology and Environmental Science: Molecular Approaches Edited by S. Mongkolsuk et al., Plenum Press, New York, .
23. Martín Moreno Carmen., González Becerra Aldo., Blanco Santos María José.2004. Tratamientos Biológicos de Suelos Contaminados: contaminación por hidrocarburos. Aplicaciones de Hongos en tratamientos de biorrecuperación. Revista Iberoamericana de Micología; 21: 103-120

24. Manual de Responsabilidades Medioambientales. 1998. Contaminación del Suelo. Ing. Medioambiental Aplicada a la Industria y a la Empresa. Ecología Industrial. España. (522 Pág.)
25. Manzi LV, Mayz JC. Valorando los microorganismos. Universidad Central de Venezuela
26. Mueller Gregory M., Billis Gerald F., Foster Mercedes S. 2004. Saprobic Soil Fungi. Biodiversity of fungi. Inventory and Monitoring Methods. ED. Eisevevier Academic Press. China. pp total 777.
27. Navae Roberto., Armijo T. Roberto., Gasto C. Juan. 1996. Cambios de Estado. La Unidad de la Naturaleza y el Hombre. Ecosistema. ED. Trillas. Méx. (293 Pág.)
28. Nogales B. 2005. La microbiología del suelo en la era de la biología molecular: descubriendo la punta del iceberg. Ecosistemas. 2005/2
<http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp>
29. Odum E. P. 1972. Contaminación e higiene ambiental. Ecología. MC-Graw Hill Interamericana Tercera Edición. Méx. (640 Pág.)
30. Odum E. P. 1972. Perspectivas en Ecología Microbiana. Ecología. MC-Graw Hill Interamericana. Tercera Edición. Méx. (640 Pág)
31. Olivares Saenz Emilio. 1994. Paquete de Diseños Experimentales FAUANL. Versión 2.5. Facultad de Agronomía UANL. Marín, N.L.
32. Pankhurst C.E., Doube B.M., Gupta V.V.S.R. 1997. Biodiversity of Soil Organisms as an Indicator of Soil Health. CAB International. New York. USA. (451 Pág.)

33. Pankhurst C.E., Doube B.M., Gupta V.V.S.R. 1997. Bioindicators to Detect Contamination of Soils with Special Reference to Heavy Metals. CAB International. New York. USA. (451 Pág.)
34. Pankhurst C.E., Doube B.M., Gupta V.V.S.R. 1997. Biological Indicators of Soil Health: Synthesis. CAB International. New York. USA. (451 Pág.)
35. Pérez-Moreno Jesús y Read David J. 2004. Los hongos ectomicorrízicos, lazos vivientes que conectan y nutren a los árboles en la naturaleza.
36. Prensa. Documentación Anexo III. Parámetros a Medir Útiles en el Estudio de la Revegetación. Significado Ecológico de los parámetros biológicos y bioquímicos utilizados. www.csic.es/prensa/documentacion/riahuelva4/plantas.pdf
37. Ramos Zapata J., Guadarrama P. 2004. Los Hongos Micorrizógenos Arbusculares en la Restauración de Comunidades Tropicales. Universidad y Ciencia, número especial I. Universidad Juárez de Tabasco Villahermosa, México. pp. 59-65
38. Retamales P. Utilización de microorganismos para la recuperación de suelos degradados. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Rayantué, INIA. VI región, Chile
39. Riera Cruz María del Carmen, Ferrera Cerrato Ronald, Volke Haller Víctor, Rodríguez Vázquez Refugio, Fernández Linares Luis. 2002. Adaptación y selección de microorganismos autóctonos en medios de cultivo enriquecidos con petróleo crudo. TERRA Latinoamericana, octubre-diciembre, año/vol. 20, número 004. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 423-434. (www.redalyc.org)
40. Roper M. M. y Ophel-Keller K. M. 1991. Soil Microflora as Bioindicators of Soil Health.

41. Sigler Lynne. 1994. , (Univ. Albert Microfungus Collection Herbarium, Devonian Botanic Garden, Edmonton, AB T6G 2E1, CAN.) *Journal of Industrial Microbiology* 13(3): 191-192. Maintaining Fungal Diversity: Integration of a Herbarium and Living Collection.
42. Software. MINITAB for Windows 2003. MINITAB Inc. Versiòn 14.
43. Sparling G. P. 1994. Interpretation of Microbial Indices of Soil Health. Dordredit, the Netherlands.
44. Torres, R. D. 2003. El papel de los microorganismos en la biodegradación de compuestos tóxicos. *Ecosistemas.* 2003/2 ([URL:http://www.aect.org/ecosistemas/032/informe1.htm](http://www.aect.org/ecosistemas/032/informe1.htm))
45. Valencia Cantero Eduardo y Peña Cabriales Juan José. El suelo y sus habitantes microbianos: consideraciones ecológicas. *Avance y Perspectiva* vol. 20
46. Velasco Trejo Juan Antonio y Volke Sepúlveda Tania Lorena. 2002. El composteo: alternativa tecnológica para la biorremediación de suelos en México. Instituto Nacional de Ecología.
47. Vollekova Anna y Valter Vollek. 1993. (Dep. Dermatol., Postgraduate Medical Inst., ruznovska, SK-826 06 Bratislava, SLK.) *Biologia (Bratislava)* 48(6):611-614. The Effect of Some Fungicides on Mycelial Biomass Growth of the Soil Keratinophilic Fungi.

IX APÉNDICES

Apéndice No. (1)

Características de las muestras de suelo:

- 1.-Muestra arenosa + zacate o pasto + malva; color café claro con muy poca cantidad de materia orgánica.
- 2.-Se tomó bajo los pinos; tiene una gran cantidad de materia orgánica; color café oscuro; seca y muy rica en cuanto a nutrientes.
- 3.- Debajo de pasto seco; color café claro en una zona erosionada.
- 4.-Tierra seca, con pasto y hierba seca alrededor, color café claro, sin humedad.
- 5.-Tierra amarilla, color café, con algo de materia orgánica, seca, a la sombra de árboles ornamentales.
- 6.-Tierra con materia orgánica, húmeda, a la orilla de huerto de nogales y matorrales espinosos.
- 7.- Bajo pinos, tierra roja-negro-naranja y con poca cantidad de materia orgánica.

- 8.- En el cerro del pueblo, terreno pedregoso con gobernadora + zacate+ espinosos, de color amarillo- café, poca cantidad de materia orgánica y seco.
- 9.-Tierra color rojo-naranja, bajo una planta silvestre, poca cantidad de materia orgánica, en el lecho de un arroyo seco.
- 10.- Tierra con poca humedad, color café oscura, poca materia orgánica, bajo un fresno de aproximadamente 5 metros de altura.
- 11.- Bajo un huizache, con mucha materia orgánica, con color café muy oscuro, se observa estiércol de animales en las cercanías, como de liebre, etc.
- 12.- Tierra rojiza- café, al pie de un maguey, húmeda, con deslaves, se observa labor agrícola antigua y viento constante. Existen matorrales y un poco de pasto.
- 13.- Tierra con gran cantidad de materia orgánica, cerca de cactaceas, de color oscuro, seco, etc.
- 14.- Terreno pedregoso, color café oscuro, excretas de conejo, al pie de una gobernadora, etc.
- 15.- Tierra negra, con una gran cantidad de materia orgánica, bajo un pirul, con relativa humedad.
- 16.- Tierra de pasto, con poca humedad, excremento de conejo.

17.- Tierra negra, con mucha materia orgánica, bajo un matorral, sitio pedregoso.

18.- Ladera de cerro, terreno pedregoso, muestra tomada al pie de una ña de gato, poca humedad, viento leve, sin pasto, pero con gobernadora, cactus, maguey, etc.

- A. Suelo color amarillo de zona semidesértica, contiene una gran cantidad de desechos de una industria de papel cuyo color es azul celeste o blancos.
- B. Suelo color negro con una gran cantidad de materia orgánica procedente de la descomposición de desechos animales, además expele olores fétidos y peligrosos.
- C. Tierra color amarilla-parda tomada de los límites de una industria farmacéutica.
- D. Suelo que contiene una gran cantidad de residuos de acero, por lo que en sus alrededores no existe casi vegetación.
- E. Suelo color café claro que se obtuvo en los límites de compañía de lubricantes y combustibles.
- F. Tierra amarillo-ocre, con poca materia orgánica, cerca de un zona industrial.

Apéndice No. (2)

a1 = Muestras no Contaminadas

a2 = Muestras Contaminadas

b1 = Agar Sabouraud

b2 = Agar Rosa de Bengala

a1b1 ; a1b2 ; a2b1 ; a2b2

Análisis de Varianza

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Factor a	1	0.728027	0.728027	0.0767	0.779
Factor b	1	10.881836	10.881836	1.1472	0.288
Interacción	1	7.078613	7.078613	0.7462	0.605
Error	68	645.034668	9.485804		
Total	71	663.723145			

C.V. = 31.8%

Tablas de Medias del Factor a

Factor a	Media
1	9.785269
2	9.584249

Tablas de Medias del Factor b

Factor b	Media
1	10.073543
2	9.295973

Tabla de Medias de Tratamientos ab

Factor b

Factor a	1	2	Media
1	10.4876	9.0829	9.7853
2	9.6595	9.5090	9.5842
Media	10.0735	9.2960	9.6848

		F. Tabla	F. Tabla
	F	0.05	0.01
a	0.0767	4.01	7.05
b	1.1472	4.01	7.05
1	0.7462	4.01	7.05

NS= No significativo.

Si F (Estadístico de prueba) es mayor que F de tabla (Estadístico de comparación) se rechaza la hipótesis inicial. Por lo tanto no se rechazan las hipótesis iniciales:

Tipo de muestra: El crecimiento de los hongos es igual en las muestras contaminadas y en las no contaminadas.

Tipos de medios: El crecimiento de los hongos es igual en el Agar Sabouraud y en el Agar Rosa de Bengala

Apendice No (3)

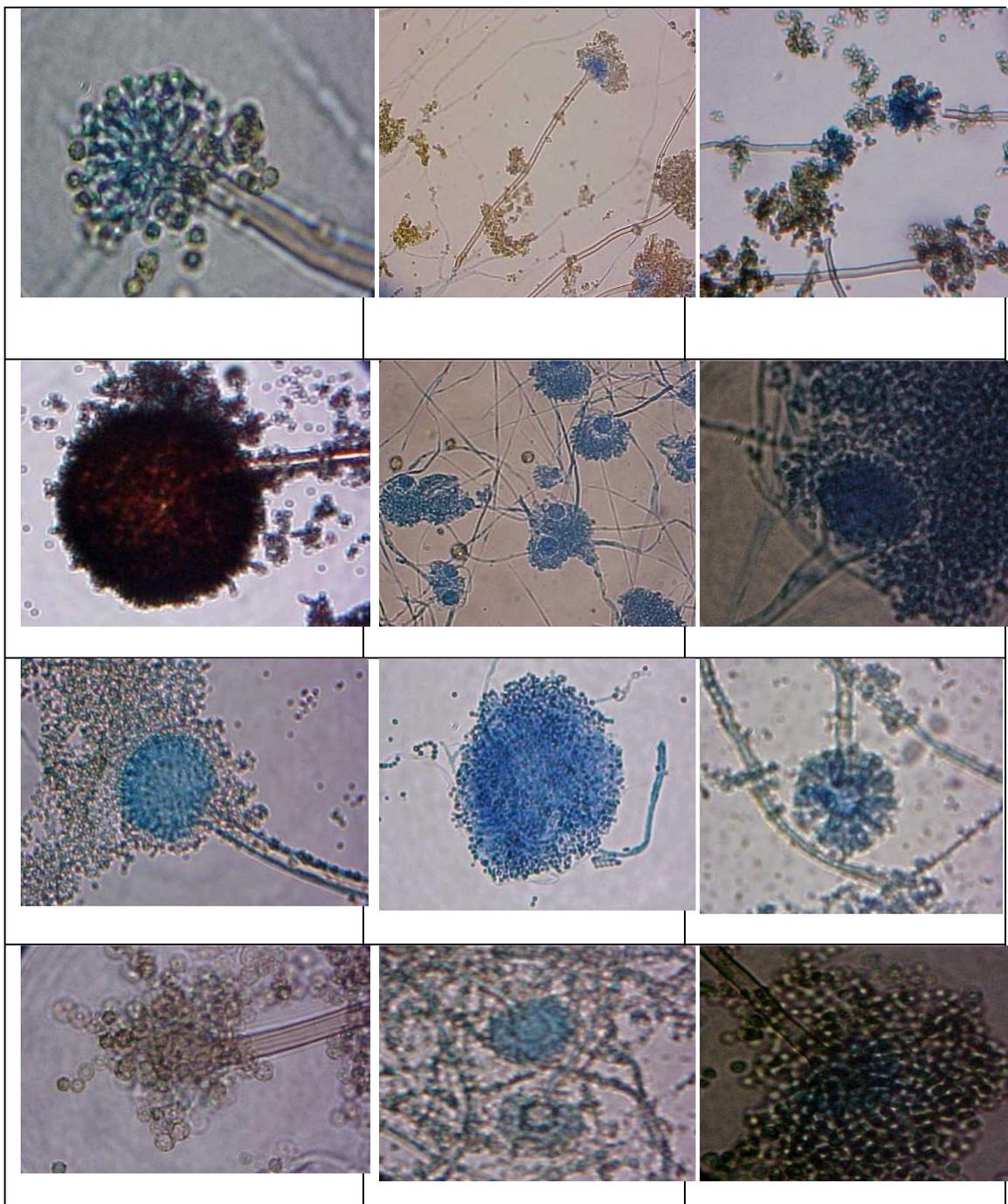
Cuadro de concentración de resultados de las 18 muestras de suelo no contaminado.

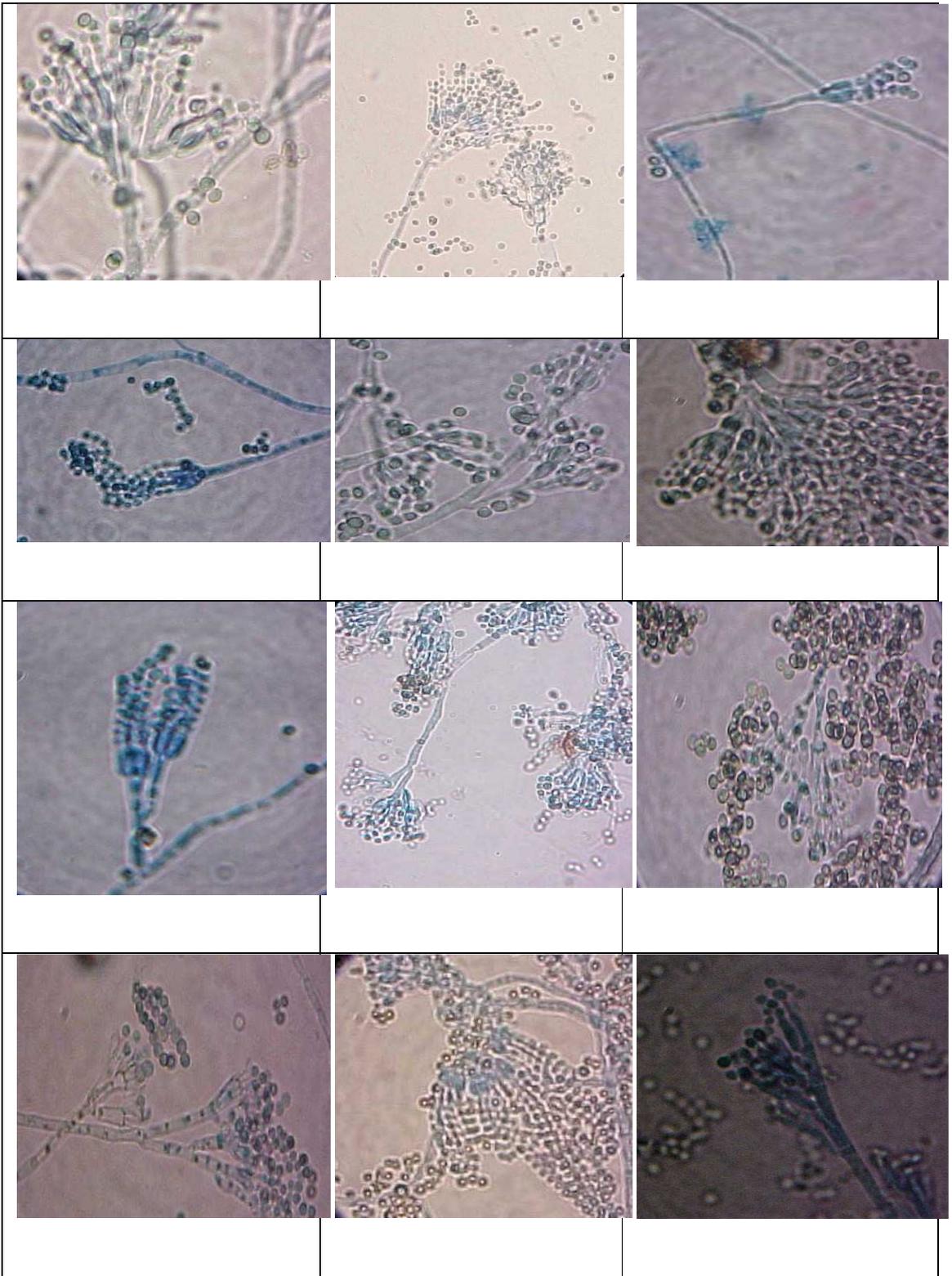
Muestra	AS2	AS4	AS6	ARB2	ARB4	ARB6	ACK2	ACK4	ACK6
1	*?	8M 1L	2M 1L	39M 38L	2M 3L	(-)	47M	(-)	(-)
2	*?	4M 3L	4M 3L	112M	2M	(-)	94M	(-)	(-)
3	57M 30L	4M 4L	(-)	7M 24L	2M	(-)	1M	(-)	(-)
4	47M 35L	5L	(-)	54M 25L	1M	(-)	28M	(-)	(-)
5	*?	5M >300L	2M	>300M	50M 17L	5M	(-)	1M	(-)
6	68M 5L	5M	4?	>300M 15L	3M	2M	27M	1M	(-)
7	20M	5M 2L	(-)	9M	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
8	*?	3M 1L	2?	2M 18L	7M	4M 8L	(-)	(-)	(-)
9	>300M	23M	4M	>300M	16M	4M	2M	(-)	(-)
10	20M 1L	1M 10L	(-)	13M 1?	2M 1?	(-)	(-)	(-)	(-)
11	12M	7M	2M	65M	(-)	(-)	(-)	4M	(-)
12	>300M	27M	6M	>300M >300L	45M	4M	>300M	27M	3M
13	*?	9M	2M	*?	9M 8L	5M	5M	(-)	(-)
14	68M 3L	7M 3L	(-)	64M 5L	3M	1M	45M	(-)	(-)
15	*?	*?	2M	*?	*?	16M 4L	>300M	29M	6M
16	*?	3M 30L	3M	26M 3L	3M	2M	45MyL	(-)	(-)
17	120M 15L	7M 3L	6M 4L	230M	5M	4M	(-)	(-)	(-)
18	31M 25L	22M 15L	7M 25L	9M	2M	1M	(-)	(-)	(-)

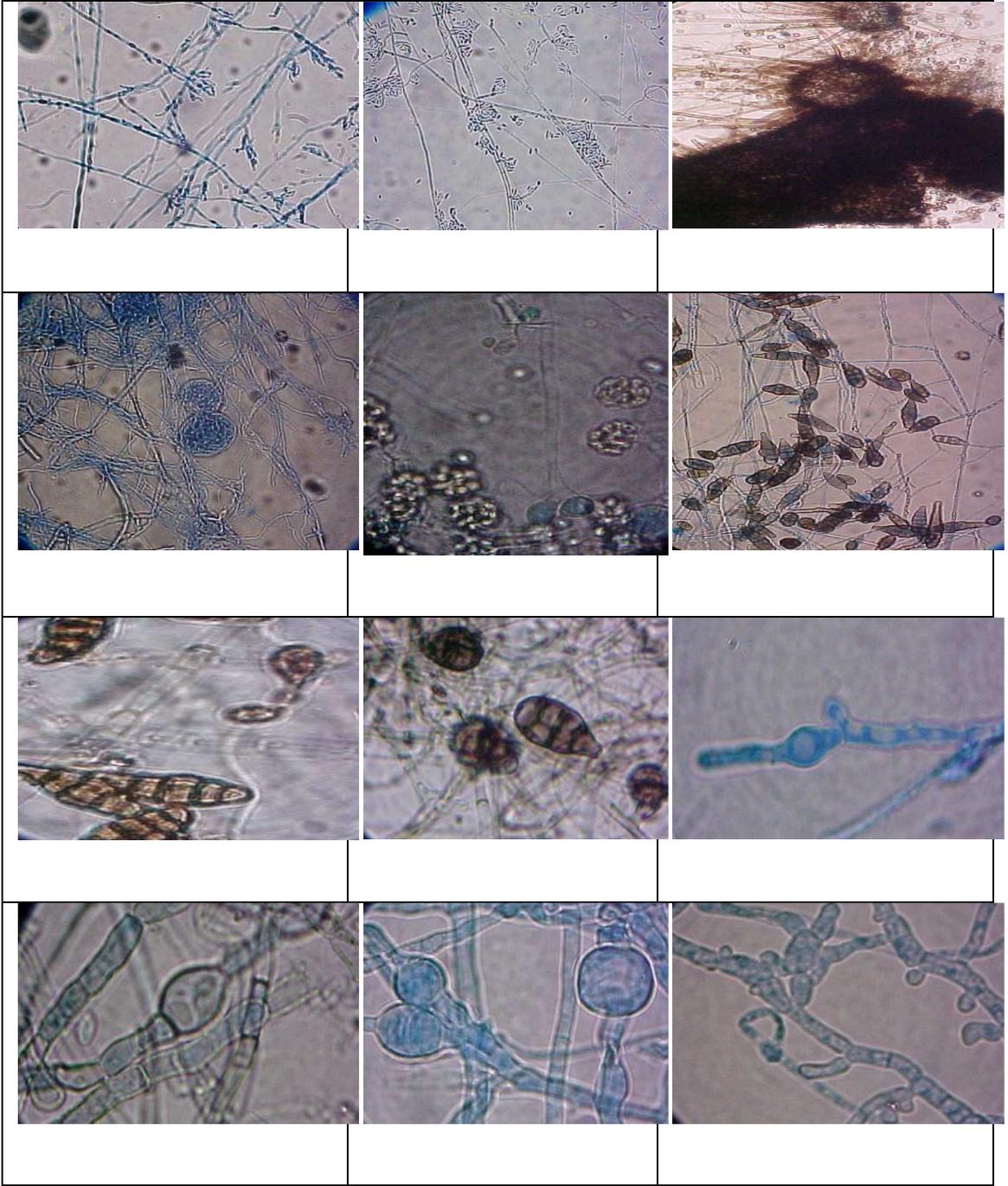
Apéndice No. (4)

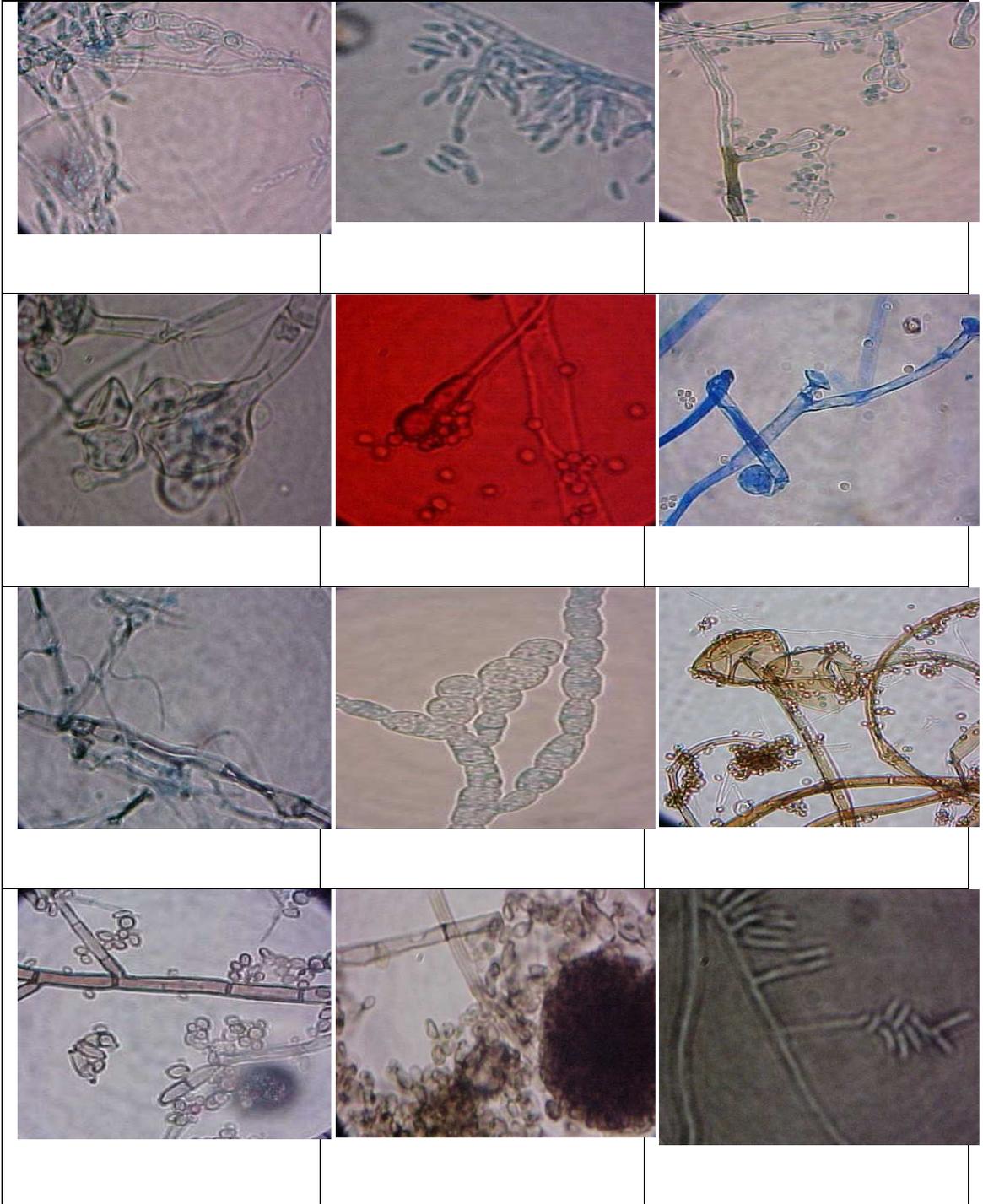
Cuadro de concentración de resultados de las 18 muestras de suelo contaminado.

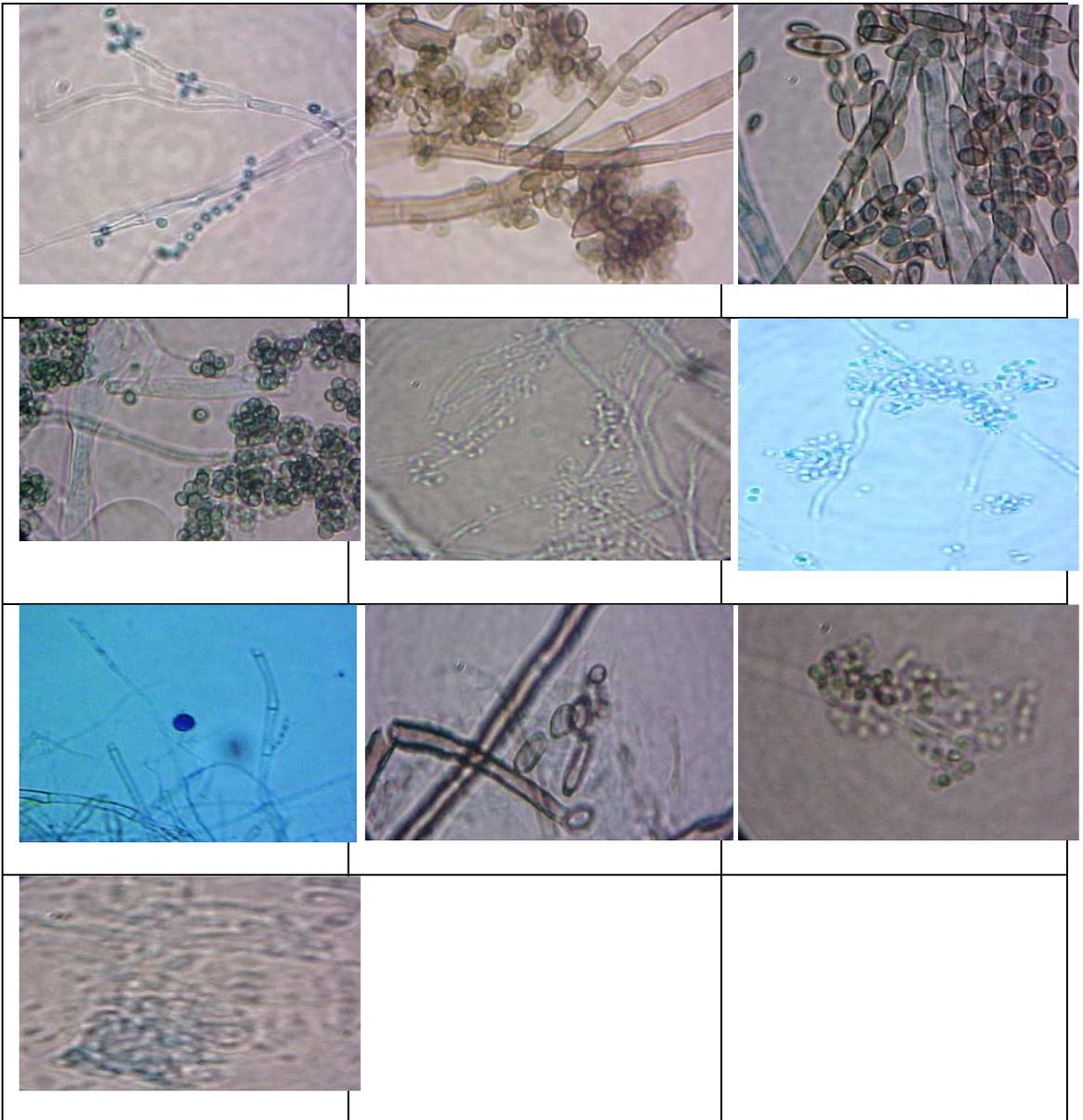
Muestra	AS2	AS4	AS6	ARB2	ARB4	ARB6
A1	>300M >300L	65M >300L	25M >300L	>300M	75M 67L	14M 10L
A2	45M >300L	85M >300L	12M 160L	20M >300L	5M 2L	1M 1L
A3	>300M >300L	120M >300L	180M 200L	>>300M >300L	>300M >300L	190M 20L
B1	M? >>300L	(-) >300L	(-) >300L	7M 2L	(-)	(-)
B2	>300M >>300L	19M >300L	15M 230L	>>300M >>300L	45M 8L	8M 6L
B3	15M >>300L	12M >300L	7M >300L	120M 180L	27M 15L	15M 4L
C1	230M L?	45M L?	24M L?	>300M 27L	22M 10L	4M 2L
C2	10M?	2M 180L	3M 48L	14M 2L	1M	1M
C3	15M 62L	(-) 11L	1M 2L	4M	2M	(-)
D1	10M 190L	(-) 8L	(-) 2L	5M	(-)	(-)
D2	M? L?	3M 97L	(-) 68L	48M 37L	2M	(-)
D3	2M 123L	1M 4L	2M 2L	5M 70L	(-) 4L	(-) (-)
E1	27M >300L	4M? 77L?	(-) 11L	25M 8L	3M	(-)
E2	M? L?	84M L?	27M L?	>>300M >300L	>300M 80L	75M 25L
E3	96M L?	13M 153L?	12M 120L?	130M 87L	12M 8L	4M 3L
F1	M? L?	2M? 10L	M? 30L	3M	(-)	(-)
F2	M? L?	34M >300L	M? L?	>300M 120L	4M 1L	1M
F3	>300M >300L	280M 85L	32M >300L	>300M >300L	98M 75L	42M 35L

Apéndice No. (5)**Imágenes de la morfología microscópica.**









- **Formato para concentrar datos de conteos de muestras de suelo contaminado.**

Muestra	AS2	AS4	AS6	ARB2	ARB4	ARB6
A1						
A2						
A3						
B1						
B2						
B3						
C1						
C2						
C3						
D1						
D2						
D3						
E1						
E2						
E3						
F1						
F2						
F3						

- **Formato para la concentración de la morfología macroscópica**

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
Muestra Medio Dilución				

- **Formato para la concentración de la morfología microscópica.**

M-M-D-C	Hifas	Célula (s) rep.	Aparato rep.	Otras Caract.	Género.

M=Muestra M=Medio D=Dilución C=Colonia

Apéndice No. (7)

Microcultivo:

Es un método que permite analizar convenientemente la morfología microscópica. En los casos en los que ni los preparados por disgregación, ni los con cinta adhesiva permiten una identificación u observación precisa o cuando se desean obtener preparaciones semipermanentes para estudios adicionales, se recomienda la técnica de microcultivo o de cultivo en portaobjetos. Aunque es algo tediosa pueden obtenerse preparaciones de alta calidad, en las cuales las estructuras y disposiciones de las esporas se encuentran conservadas de manera adecuada.

El examen microscópico nos permite descubrir las estructuras fúngicas, lo que nos sirve para la identificación o determinación del organismo. Muchas veces la observación directa no es adecuada o suficiente para la identificación del hongo, pues tenemos que han sido alteradas en el manejo, de ahí la importancia de dominar la técnica de microcultivo, que nos sirve para observar intactas y a intervalos regulares la mayor parte de las estructuras vegetativas y reproductoras de los hongos filamentosos, por lo que se considera como un requisito casi indispensable para su caracterización.

El microcultivo se puede emplear además para lo siguiente:

- Identificación taxonómica de hongos.
- Estudios de ontogenia de las conidias.
- Obtención de material para microfotografía.
- Elaboración de preparaciones semipermanentes.
- Apoyo para identificación diferencial.
- Control de cepas de colecciones de hongos.

Una de las principales características de los hongos es la pigmentación, el color de las estructuras es muy variable y va desde el blanco hasta el negro, pasando por una amplia gama de colores. Las estructuras pigmentadas son fáciles de diferenciar, no así las hialinas que a veces requieren de un método de tinción para poder observarse.

Los métodos de tinción para hongos son de gran utilidad, pero deben de emplearse con precaución, ya que pueden conducir a errores. Las moléculas de colorante forman en ocasiones precipitados o agregados que parecen estructuras celulares auténticas, pero que son formaciones completamente artificiales inducidas por el mismo colorante.

Método para el microcultivo

1. En condiciones de esterilidad, acomode convencionalmente el portaobjetos (de 76 x 22 mm) y el cubreobjetos (de 22x 22 mm) sobre una varilla de vidrio doblada en forma de “V” (caballete), en la caja de Petri de 10 cm de diámetro para el microcultivo. Se esteriliza el material durante 15 minutos a 15 libras de presión.

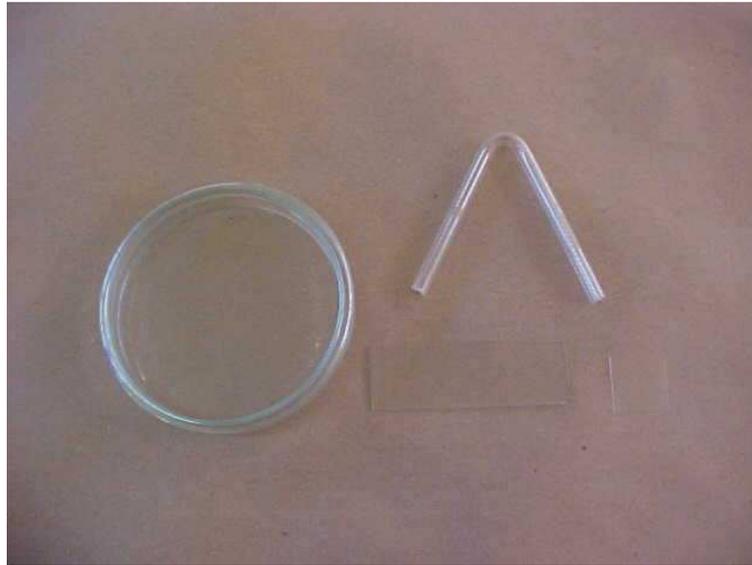


Figura No. 17 Material que se requiere para el microcultivo.

2. Se prepara una caja de petri con el medio seleccionado (Agar Sabouraud, Agar Czapek o Agar rosa de bengala), con la espátula convenientemente flameada corte cuadros de la caja de agar de aproximadamente un tercio del ancho de su cubreobjetos (aprox. 5 mm) y colóquelos sobre el portaobjetos en la caja para microcultivo.



Figura No. 18 Colocación del agar en el portaobjetos del microcultivo.

3. Inocule su espécimen con el asa recta en los cuatro lados del agar haciendo una leve punción.



Figura No. 19 Siembra de la cepa en el microcultivo.

4. Coloque el cubreobjetos estéril sobre el cuadro de agar ya sembrado.



Figura No. 20 Colocación del cubreobjetos sobre el medio sembrado.

5. Agregue glicerol al 10 % hasta que se distribuya convenientemente en el fondo de la caja, pero sin que llegue a tocar el portaobjetos que se encuentra sobre la varilla de vidrio.



Figura No. 21 Adición del glicerol estéril en el microcultivo.

6. Incube a temperatura ambiente por 9 – 10 días. (Verificar el crecimiento a los 14 días).
7. Si se requiere añada más glicerol al 10% para evitar la desecación.
8. Agregue 3-5 ml de formaldehído para inactivar al hongo.
9. Tome un portaobjetos limpio y coloque una gota pequeña de medio de Aman.
10. Con una pinzas coloque el cubreobjetos del microcultivo sobre el portaobjetos con el medio de Aman.
11. Observe en 10x y 40x.
12. Si la observación no es satisfactoria haga otra utilizando el portaobjetos del microcultivo, eliminando previamente el exceso de agar.
13. Sellar las preparaciones con esmalte para uñas transparente, procurando posteriormente no empalmarlas.

Apéndice No. (8)

Preparación y formulación de medios de cultivo y reactivos.

Agua de dilución al 1 %

1. En un matraz Erlenmeyer se colocaron 10 gr. de NaCl y se aforó con agua destilada a 1000 ml.
2. Se llenaron 140 tubos con 4.5 ml de esta agua y se colocaron en autoclave para ser esterilizados a 121 °C durante 20 minutos.

Medio de Aman o azul de algodón y lactofenol:

Tiene la ventaja de que casi nunca da lugar a retracción o turgencia de las células fúngicas, ya que no se evapora, de tal manera que si se maneja con cuidado las preparaciones son muy duraderas.

Es una de las soluciones más empleadas en micología para la tinción de diversas estructuras como micelio, conidias, aparato reproductor, etc. Se emplea para hacer preparaciones semipermanentes a partir de material vivo, que pueden permanecer en buenas condiciones por meses y años.

Está compuesto por lo siguiente:

Azul de algodón de anilina (o floxina)-----	0.05 g
Glicerol-----	40 ml
Fenol-----	20 ml
Ác. Láctico-----	20 ml
Agua destilada-----	20 ml

Hidróxido de potasio:

Se utiliza con mucha frecuencia en micología como solución aclarante para exámenes directos. La solución se prepara al 10%, aunque esto puede modificarse dependiendo de las características de la muestra.

Agar Glucosado de Sabouraud:

El agar Sabouraud dextrosa, modificado de Emmons, contiene un 2% de glucosa y es ligeramente ácido (pH = 6.9), se considera como el medio estándar para recuperar y mantener una amplia variedad de hongos, además de para observar la morfología típica de los hongos, pero no es el medio ideal de crecimiento o para estudiar la esporulación.

Es el medio más útil, y su fórmula es la siguiente:

Glucosa-----	40 g
Agar-----	35 g
Peptona-----	10 g
Agua destilada-----	1000 ml
El pH se lleva a 5.5	

Medio de Czapek:

Se utiliza para estimular las características diferenciales de algunos géneros y especies, además de auxiliar la filamentación de otros.

Agar Rosa de Bengala:

Tiene una composición similar a la del Agar Sabouraud, solo que se le añaden 0.2 grs. por litro del colorante rosa de bengala, el cual inhibe el crecimiento de las bacterias y retarda el crecimiento de los hongos, por lo que facilita el aislamiento, la cuantificación y la caracterización de la morfología macroscópica.

Apéndice No (9)

Descripción de la morfología macroscópica de las 18 muestras de suelo no contaminado.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
1AS2	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca con puntos negros. • Centro rosa periferia blanca. • Verdes de diversos tonos. • Blancas. • Blanca. • Blanca. 	Algodonosa.	Invadió toda la caja.	<p>Envés amarillo.</p> <p>Con poco desarrollo.</p> <p>Centro muy blanco y la periferia difusa.</p>
1AS4		Algodonosa.	5 – 10 cm	
1AS6		Creemosas o mucoides. Filamentosa algodonosa.	1 – 3 cm	
1ARB2	<ul style="list-style-type: none"> • Verdes de diversos tonos. • Blancas. • Gris – blanca. • Rojas. 	Compactas o polvosas.	0.3 – 1.3 cm	Algunas blancas por el poco desarrollo.
1ARB4		Compactas filamentosas Algodonosa filamentosa.	0.3 – 0.7 cm	Convexas. Convexas.
1ARB6 (-)		Levaduri-formes.	0.3 cm	Creemosas.
1ACK2	<ul style="list-style-type: none"> • Verde oscuro. 	Filamentosa compacta.	0.5 cm	Periferia gris, envés negro y con poco desarrollo.
1ACK4 (-)				
1ACK6 (-)				

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
2AS2	<ul style="list-style-type: none"> • Blanco – gris. • Blancas. • Verde. • Verde – blanca. • Blanca. • Blanca. • Verde oscuro. 	Algodonosas	2 – 3.5 cm	<p>Muy invasivas. Mucho crecimiento de otros mohos muy heterogéneos. Periferia blanca amarillenta y convexa.</p> <p>Muy convexa.</p> <p>Más o menos plana. Convexa. Todas las demás tienen muy poco desarrollo.</p>
2AS4		Polvosa.		
2AS6		Filamentosa polvosa. Polvosa – compacta. Filamentosa Polvosa filamentosa.	1 – 1.5 cm 1.5 – 2.5 cm 1.5 – 2.5 cm	
2ARB2	<ul style="list-style-type: none"> • Verde de diversos tonos. • Blancas. 	Polvosas compactas.	0.5 – 3 cm	<p>Algunas con surcos radiantes, inicialmente blancas y convexas. Muy pocas algodonosas o filamentosas. Convexas.</p>
2ARB4		Compactas y polvosas.	0.5 – 1 cm	
2ARB6 (-)				
2ACK2	<ul style="list-style-type: none"> • Verde claro. • Blancas. 	Algodonosa.		<p>Periferia blanca. Con menos desarrollo que las anteriores. Existe mucha homogeneidad colonial.</p>
2ACK4 (-)				
2ACK6 (-)				

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
3AS2	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca a beige • Blanca-gris. • Verdes diversos. • Verde claro, periferia blanca y envés amarillo. • Blanca 	Algodonosa	3 – 7 cm	Cóncava y con envés amarillo-naranja. Muy abundantes. Muy abundantes.
3AS4		Filamentosa. Polvosas.	2 – 4 cm Dif. tamaños	
3AS6 (-)		Polvosa – compacta.	Dif. tamaños	
3ARB2	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca • Gris-beige • Gris-café claro 	Filamentosa-compacta.	1 – 1.5 cm	Seca y adherente al medio. Adherida al medio.
3ARB4		Cerebriforme Rugosa.	0.5 – 1 cm	
3ARB6 (-)		Filamentosa-compacta.	< 0.5 cm	
3ACK2 3ACK4 (-) 3ACK6 (-)	• Blanca.	Filamentosa	< 1 cm	

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
4AS2 4AS4 (-) 4AS6 (-)	• Blancas	Algodonosas-filamentosas.	0.5 – 3 cm	Convexas e inicialmente cremosas.
4ARB2 4ARB4 4ARB6(-)	• Blanca. • Negra. • Verde • Blanca	Filamentosa algodonosa. Rugosa Filamentosa-Polvosa. Filamentosa-algodonosa	1.5-2 cm 1 cm 1.5 –2cm 1.5 –2 cm	Convexa, adherente, muy abundantes. Opaca, cóncava, con surcos. Probable actinomiceto. Envés negro, convexa. Convexa y adherentes.
4ACK2 4ACK4 (-) 4ACK6 (-)	• Blanca • Verde • Verde oscura	Filamentosa, polvosa. Polvosa. Polvosa compacta	1 –4 cm 2 cm 0.5 –1.5 cm	Difusas y muy poco desarrollo. Con periferia blanca, convexa. Con periferia menos blanca y convexa.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
5AS2	<ul style="list-style-type: none"> • Verde de diversos tonos. • Verde obscura. • Verde. 	Polvosas o algodonosas.	Diversos.	Invaden toda la caja.
5AS4		Algodonosa.	2 –5 cm	Periferia muy clara.
5AS6		<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. • Verde. 	Filamentosa – polvosa.	
	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca 	Filamentosa. Filamentosa-polvosa. Filamentosa		Convexa y elevada. Surcos radiantes, agua y esporas, convexa y poco elevada. Convexa y elevada.
5 ARB2	<ul style="list-style-type: none"> • Diversos tonos de verde. • Diversos tonos de verde. • Verde. • Verde. 	Filamentoso-polvoso.		Invaden todo el medio, Poca probabilidad de aislamiento.
5ARB4		Filamentosos – polvosos.		Poca probabilidad de aislamiento.
5ARB6		Algodonoso. Filamentosa-polvosa. Compacta – polvosa.	3 – 4 cm 1.5 – 2 cm 1.5 – 1.8 cm	Periferia blanca. Muy elevada. Convexa, con periferia blanca. Muy convexa. Envés negro, sin periferia blanca.
5ACK2 (-) 5ACK4 5ACK6 (-)	<ul style="list-style-type: none"> • Verde. 	Polvosa – compacta.	1 – 2 cm	Periferia y envés blancos.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
6AS2	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. • Negra. • Café claro a beige. • Verde-oscuro. 	<p>Algodonosa. Filamentosa. Seca-pastosa. Compactas.</p>	<p>2 – 4 cm 3 cm 1 – 1.5 cm</p>	<p>Convexas. Periferia amarilla- blanca. Bordes irregulares. Convexas.</p>
6AS4	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. • Verde-oscuro. • Verde – gris. • 	<p>Algodonosa. Polvosa. Algodonosa.</p>	<p>4 – 5 cm 2 – 3 cm 2 – 3 cm</p>	<p>Se torna amarilla. Surcos radiantes. Surcos radiantes y puntos más verdes. Colonias con poco desarrollo entre levaduriformes y filamentosas.</p>
6AS6				
6ARB2	<ul style="list-style-type: none"> • Verde • Gris – verdosa. 	<p>Polvosas o compactas. Muy Algodonosa.</p>	<p>1 – 3.5 cm 4 cm</p>	<p>Con o sin periferia blanca. Invade rápidamente la caja.</p>
6ARB4	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. 	Algodonosa.	4 – 5 cm	<p>Muy invasiva. Se encuentra con otras encimadas. Poco desarrollada.</p>
6ARB6	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca 	Algodonosa.	0.5 1 cm	
6ACK2	<ul style="list-style-type: none"> • Verde oscuro. • Blanco – verde. 	0.5 – 1.5 cm.	Polvosa – compacta.	Periferia blanca y convexa.
6ACK4		1 – 2 cm.	Algodonosa.	Invasiva y convexa.
6ACK6 (-)				

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
7AS2	<ul style="list-style-type: none"> • Negra. 	Algodonosa.	Extendida en media caja.	<p>Crecimiento muy heterogéneo.</p> <p>Periferia blanca.</p> <p>Convexa.</p>
7AS4	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca – beige. • Verdes en diferentes tonos. • Verde – oscura. • Blanca. • Beige. 	Algodonosa.	5 cm	
7AS6 (-)		Polvosas – algodonosas.	2.5 – 3 cm	
		Polvosa.	2 cm	
7ARB2	<ul style="list-style-type: none"> • Verde – oscuro. • Verde claro. • Blanca. 	Algodonosa.	2 cm	<p>Periferia blanca.</p> <p>Con poco desarrollo.</p>
7ARB4 (-)		Polvosa – compacta.	0.5 cm	
7ARB6 (-)		Compactas.	0.3 cm	
7ACK2 (-)				
7ACK4 (-)				
7ACK6 (-)				

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
8AS2	<ul style="list-style-type: none"> • Blanco – gris. 	Algodonosa	2.5 – 4.5 cm	Muy invasivas. Aparecen otras colonias blancas de mohos muy heterogeneas. Con poco desarrollo. Con poco desarrollo y con apariencia de levadura- moho.
8AS4	<ul style="list-style-type: none"> • Blanco – gris • Blanca • Blancas. 	Filamentosa algodonosa.	3 – 4 cm	
8AS6		Filamentosa	0.2 – 0.3 cm	
8ARB2	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. 	Filamentosa compacta.	1 cm	Con surcos radiantes y convexa. Poco desarrollada. Incluidas en el medio. Convexas. Existen otras colonias incluidas en el medio.
8ARB4	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. 	Filamentosa	< 1 cm	
8ARB6	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. 	Compactas.	< 0.4 cm 0.3 – 0.6 cm	
8ACK2 (-)				
8ACK4 (-)				
8ACK6 (-)				

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
9AS2	• Gris	Algodonosa		Su crecimiento impide aislamientos de colonias de color verde semejantes a las de <i>Penicillium</i> sp. Invaden casi toda la caja por lo que es difícil el aislamiento. Periferia blanca, surcos radiantes y agua de condensación. Muy distribuidas en el medio.
9AS4	• Verde	Polvosa - algodonosa		
9AS6	• Verde	Compacta – polvosa.	3 cm	
9ARB2	• Verde	Polvosas – filamentosas	2.5 – 3 cm	Con o sin periferia blanca, de diversos tonos y tamaños. Invade toda la caja. Con o sin periferia blanca, de diversos tonos y tamaños. Con o sin periferia blanca, de diversos tonos y tamaños.
9ARB4	• Gris – blanca. • Verde	Algodonosa	2.5 – 3 cm	
9ARB6	• Verde	Polvosa – filamentosas.	2.5 – 3 cm	
9ACK2	•		2 – 3 cm	Poco desarrollo tipo moho, difuso.
9ACK4 (-)				
9ACK6 (-)				

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
10AS2	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca • Verde 	Algodonosa. Polvosa – compacta.	2 – 4 cm	Invade casi toda la caja. Surcos radiantes y plana. Existen otras colonias de diversos colores y tamaños.
10AS4	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca • Verde 	Cremosa. Polvosa – compacta.	1.5 – 2 cm 2 – 4 cm	Brillante y convexa. Surcos radiantes, plana y con la periferia blanca.
10AS6 (-)				
10ARB2	<ul style="list-style-type: none"> • Verde 	Polvosas – compactas.	2 – 3 cm	Con surcos radiantes, agua + esporas, con o sin periferia blanca.
10ARB4	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca • Verde • Blanca a verde. 	Compacta. Polvosa. Filamentosa	1 cm 2 cm	Convexa. Periferia y envés blancos. Convexa.
10ARB6 (-)				
10ACK2 (-)				
10ACK4 (-)				
10ACK6 (-)				

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
11AS2	<ul style="list-style-type: none"> Negro – verde. Verde oscura. Verde claro. 	Algodonosa-filamentosa. Polvosa.	5 – 8 cm 3 – 5 cm	Periferia blanca. Posiblemente <u>Aspergillus</u> . Periferia blanca y convexa.
11AS4	<ul style="list-style-type: none"> Negro – verde. Verde oscura. Verde oscura. Blanca. 	Polvosa. Algodonosa-filamentosa. Polvosa.	2 – 6 cm 5 – 8 cm 3 – 5 cm	Periferia blanca, convexa y envés amarillo. Periferia blanca. Posiblemente <u>Aspergillus</u> . Periferia blanca y convexa.
11AS6		Polvosa. Filamentosa	3 – 5 cm 2 – 4 cm	Periferia blanca y convexa. Centro más blanco y la periferia difusa.
11ARB2	<ul style="list-style-type: none"> Verde. 	Polvosos	1-5 – 2 cm	Periferia blanca, envés amarillo y convexas. Se presentan otras colonias con otros tonos de verde.
11ARB4 (-) 11ARB6 (-)				
11ACK2 (-) 11ACK4	<ul style="list-style-type: none"> Verde. 	Polvosa – filamentosa.	2 – 4 cm	Periferia rosa – beige, envés de beige a naranja.
11ACK6 (-)				

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
12AS2	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. 	Algodonosas	0.5 – 3 cm	Elevadas y numerosas. Periferia blanca y elevadas. Elevadas y numerosas. Irregulares y planas.
12AS4	<ul style="list-style-type: none"> • Verde. • Blancas. • Blancas – crema. 	Polvosas. Algodonosas	1 – 3 cm 0.5 – 3 cm	
12AS6	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. 	Cremosa – seca. Algodonosas	0.5 – 3 cm	
12ARB2	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. 	Compacta – polvosa.	0.5 – 1 cm	
12ARB4	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. • Verde. • Blanca. 	Algodonosa. Polvosa. Compacta polvosa.	3 – 4 cm 2 cm 0.5 – 1 cm	Muy invasiva. Convexa y envés amarillo.
12ARB6	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. 	Compacta-polvosa.	0.5 – 1 cm	
12ACK2, 12ACK4 y 12ACK6	<ul style="list-style-type: none"> • Blancas. 	Algodonosa.	0.2 – 3 cm	Poco desarrollo, aunque muy invasivas.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
13AS2 13AS4	<ul style="list-style-type: none"> • Beige. • Verde oscura. 	Algodonosa. Polvosa – filamentosa.	2 – 5 cm	Invade toda la caja. Periferia beige, surcos radiantes, envés oscuro y planas o ligeramente elevadas. Envés rosa – naranja. Hay heterogeneidad colonial. Umbilicada. Periferia beige, surcos radiantes, envés oscuro y planas o ligeramente elevadas. Invade toda la caja.
13AS6	<ul style="list-style-type: none"> • Beige – mamey. • Blanca. • Verde – oscura. 	Algodonosa. Polvosa. Polvosa – filamentosa.	3 – 6 cm 1.5 – 2 cm 2 – 5 cm	
	<ul style="list-style-type: none"> • Café – verde 	Algodonosa.	8 – 10 cm	
13ARB2	<ul style="list-style-type: none"> • > Variación. 	Algodonosas		
13ARB4	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. • Blanca. • Verde oscuro. • Verde. 	Algodonosa. Algodonosa. Compacta – filamentosa.	2 – 4 cm. 1 – 2 cm. 1 cm.	No son posibles los aislamientos. Muy elevada. Convexa. Periferia blanca, convexa y envés negro. Centro blanco, plana e invasiva. Centro tenue o difuso y convexa. Hay mucha heterogeneidad.
13ARB6	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. 	Polvosa – algodonosa. Filamentosa o compacta.	2 – 3 cm 1 – 2 cm	
13ACK2	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca – verde. • Blanca – gris. 	Polvosa. Filamentosa a cremosa.	5 – 7 cm	
13ACK4 (-) 13ACK6 (-)				Tiende a invadir toda la caja. Muy tenue o con poco desarrollo.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
14AS2	• Blanca.	Algodonosa	1 – 3 cm	Convexas y algunas tienden al color beige. Periferia blanca. Convexas, y algunas tienden al color beige.
14AS4	• Verde. • Blanca.	Algodonosa.	1 – 3 cm	
14AS6 (-)				
14ARB2	• Blanca. • Blanca.	Algodonosa. Filamentosa algodonosa.	1.5 – 2 cm	Invade toda la caja. Convexas y adherentes.
14ARB4	• Blanca. • Blanca.	Filamentosa algodonosa. Filamentosa algodonosa.	1.5 – 2 cm 1.5 – 2 cm	Amarillenta y en menor cantidad. Convexas y adherentes.
14ARB6	• Blanca.	Filamentosa algodonosa.	1.5 – 2 cm	Amarillenta.
14ACK2	• Blanca.	Filamentosa - algodonosa	0.5 – 2 cm	Convexa y algunas con poco desarrollo.
14ACK4 (-)				
14ACK6 (-)				

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
15AS2 y 15AS4	<ul style="list-style-type: none"> • Gris – café. 	Algodonoso.		Invade toda la caja por lo que el aislamiento no es posible. Periferia blanca y de diversos tonos. Convexas e inicialmente cremosas.
15AS6	<ul style="list-style-type: none"> • Verde. • Blanca. 	Algodonosa.	2 – 3 cm	
		Algodonosa filamentosa.	0.5 – 3 cm	
15ARB2 y 15ARB4 15ARB6	<ul style="list-style-type: none"> • Gris – verde • Verdes. • Blanca. • Amarilla - ocre. 	Algodonosa.	1.5 – 3 cm	Invade estas dos cajas. No se puede aislar ni contar. Periferia blanca y envés de diversos tonos. Cóncava y muy invasiva. Periferia crema.
		Algodonosa. Polvosa.	3 cm 2 cm	
15ACK2	<ul style="list-style-type: none"> • Verde. 	Polvosa.	1 – 2.5 cm	Plana y sin periferia blanca. Invade toda la caja. Invade toda la caja. Invade toda la caja.
15ACK4	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca – gris • Blanca – gris. • Blanca – gris. 	Algodonosa.		
15ACK6		Algodonosa.		

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
16AS2	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. 	Algodonosa	2 – 3.5 cm	Tienden a tornarse amarillas. Existen verdes y de otros tipos. Muy grande e irregular.
16AS4	<ul style="list-style-type: none"> • Amarilla a beige. 	Cremosa a filamentosa.	> 6 cm	Periferia blanca.
16AS6	<ul style="list-style-type: none"> • Gris – negra • Blanca – beige. • Blanca – amarilla. 	Algodonosa. Polvosa – filamentosa. Filamentosa algodonosa.	2 – 3 cm 2 – 4 cm 1 – 1.5 cm	Plana. Plana.
16ARB2	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. 	Algodonosa.		Invade casi toda la caja. Existe una gran heterogeneidad colonial.
16ARB4	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. • Blanca. 	Algodonosa. Filamentosa.	3 cm 2.5 cm	Muy invasiva. Muy convexa. Existen colonias semejantes de diversos tamaños.
16ARB6	<ul style="list-style-type: none"> • Blanca. • Amarilla. 	Filamentosa. Algodonosa.	2.5 cm 1.5 – 2 cm	Convexa. Periferia blanca.
16ACK2 16ACK4 (-) 16ACK6 (-)	<ul style="list-style-type: none"> • Filamentosa - cremosa. 	Blanca.	2 – 3 cm	Difusa o con poco desarrollo.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
17AS2	• Blanca.	Polvosa – compacta.	1.5 – 3 cm	Elevadas.
17AS4	• Verde claro. • Blanca.	Polvosas. Polvosa – compacta.	3 – 4 cm 3 – 4 cm	Periferia blanca.
17AS6	• Verde. • Verde – gris • Verde. • Verde – gris	Polvosa. Filamentosa. Polvosa. Filamentosa.	3 – 4 cm 1 – 1.5 cm 3 – 4 cm 1 – 1.5 cm	
17ARB2, 17ARB4 y 17ARB6	• Blanca. • Verde laurel	Polvosa. Polvosa – compacta.	1 – 3 cm 0.5 – 1 cm	Convexas. Convexa y sin la periferia blanca.
17ACK2 (-) 17ACK4 (-) 17ACK6 (-)				

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
18AS2, 18AS4 y 18AS6	• Verde claro.	Polvosa a filamentosa.	1 – 3.5 cm	Periferia y envés blancos. Centro elevado. Existen colonias cremosas, pastosas, rugosas, de diversos colores.
18ARB2	• Verde.	Polvosa.	2.5 – 3.5 cm	Convexa, con la periferia y el envés blancos.
18ARB4	• Blanca.	Filamentosa compacta.	1.5 – 2 cm	
18ARB6	• Verde. • Amarilla. • Amarilla.	Polvosa. Filamentosa. Filamentosa.	2.5 – 3.5 cm 2.5 – 3 cm 2.5 – 3 cm	Convexa, con la periferia y el envés blancos. Periferia blanca. Periferia blanca.
18ACK2 (-) 18ACK4 (-) 18ACK6 (-)				

Apéndice No. (10)

Cuadro con la descripción de la morfología macroscópica de las 18 muestras de suelo contaminado

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
A1AS2	Verde claro Negra Negra Negra-gris	Polvosa Algodonosa Algodonosa Algodonosa-filamentosa	2-4 cm 2-3 cm 2-4 cm 1-2 cm	Plana Plana e irregular. Centro elevado Periferia blanca, centro elevado.
A1AS6	Negra Blanca Verde amarilla con puntos. Verde oliva Blancas o amarillas o grises	Algodonosa-filamentosa Polvosa Filamentosa Polvosa Cremosas a mucoides	1-2 cm 1.5-2.5 cm 2-4 cm 1-2.5 cm 2-3.5 cm	Son predominantes Centro elevado Irregular Crecimiento radial difuso con diferentes tonos. Aspecto levaduriforme.
A1RB2	Verde Blanco-gris	Polvosa Algodonosa	0.5-2 cm 2-8 cm	Muy abundantes. Invade la caja.
A1RB4	Verde Negra-café Verdes Blanca Verde	Polvosa Compacta Polvosas Filamentosa Algodonosa	0.5-2 cm 1-3 cm 1-3.5 cm 0.5-1 cm 4-6 cm	Centro gris elevado, muy abundantes. Diversos tonos. Muy convexa Muy invasiva
A1RB6	Negra Verde	Compacta Algodonosa	1-3 cm 4-6 cm	Centro gris elevado

AS: Existe un hongo muy algodonoso que impide un buen conteo, aislamiento y la caracterización de la morfología macroscópica. Hay un predominio de colonias verdes polvosas de diversos tonos.

ARB: Hay una gran homogeneidad en cuanto al tipo de mohos y el número decrece progresivamente en las diferentes diluciones, lo que permite predominio de algunas colonias.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
A2AS2	Blanca-Beige	Algodonosa	2-3 cm	Predominante Elevada Convexa Elevada Convexa
	Blanca-Beige	Algodonosa	2-3 cm	
	Verde oscuro	Algodonosa	2-3 cm	
	Verde	Polvosa	2-3 cm	
	Verde-Negra	Algodonosa-filamentosa	1.5-2 cm	
A2AS4	Blanco-amarillo	Cremosa	0.2 cm	Inmersas en el medio abundantes (Probables levaduras)
	Blanca	Cremosa-mucoide con centro filamentoso	0.5-3 cm	
	Amarilla	Cremosa	0.5-1 cm	
A2AS6	Blanca	Cremosa-mucoide con centro filamentoso	0.5-3 cm	Inmersas en el medio abundantes (Probables levaduras)
	Amarilla	Cremosa	0.5-1 cm	
A2ARB2	Naranja	Algodonosa	4-5 cm	Mezclada por lo que no se aisló Centro muy elevado y algodonoso Probable levadura
	Verde oscuro	Algodonosa	2-3 cm	
	Rosa mexicano	Cremosa-mucoide	0.3-2 cm	
A2ARB4	Amarilla	Polvosa-filamentosa	3-4 cm	Centro muy elevado y la periferia blanca Plana Probable levadura
	Blanca	Filamentosa	1.5-2 cm	
A2ARB6	Rosa mexicano	Cremosa-mucoide	1-2.5 cm	Muy convexa Probable levadura
	Amarilla-verde	Compacta-filamentosa	1.5-2 cm	
	Rosa mexicano	Cremosa-mucoide	1-2.5 cm	

En AS4 y AS6 predominan de manera muy característica levaduras y hongos dimórficos.

Existen grandes diferencias entre A2RB2 y A2ARB4 y 6 en cuanto al número, no así en el tipo de hongos.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
A3AS2	Gris amarilla	Algodonosa	4-6 cm	Muy invasiva
A3AS4	Verde con centro amarillo	Polvosa	1-2 cm	Periferia blanca a verde a amarillo en el centro
	Verde	Polvosa	1-2 cm	Periferia blanca, es muy abundante
	Gris amarilla	Algodonosa	4-6 cm	Muy invasiva
	Blanca-beige	Cremosa	0.5-1 cm	Abundantes levaduras
	Blanca	Mucoide	0.5-1 cm	
A3AS6	Verde	Polvosa	1-2 cm	Periferia blanca
	Gris amarilla	Algodonosa	4-6 cm	
A3ARB2				
A3ARB4	Verde claro	Polvosa-filamentosa	3-3.5 cm	Periferia y envés blancos con el centro elevado
A3ARB6	Verde oscuro	Filamentosa	2-3 cm	Periferia muy irregular
	Amarillo-beige	Polvosa-filamentosa	0.5-1 cm	
	Verde claro	Polvosa	2-3 cm	Centro elevado y difusa

La colonia de A3AS2 no se puede aislar, ni se pueden obtener fácilmente las características morfológicas macroscópicas por el crecimiento de un moho muy algodonoso.

En los A3ARB2 y A3ARB4 las colonias son muchas, pero demasiado pequeñas, de color verde claro, polvosas o filamentosas, pero tampoco es posible caracterizar claramente su morfología macroscópica.

En A3ARB6 predominan colonias de color verde, de diversos tonos, casi todas polvosas-filamentosas de 0.5-3 cms. Hay una gran heterogeneidad colonial.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
B1AS2	Blanca	Cremosa	<0.2 cm	Probable levadura.
B1AS4	Blanca	Cremosa	<0.2 cm	Probable levadura.
	Amarilla	Cremosa	<0.3 cm	Probable levadura.
	Naranja	Cremosa	<0.2 cm	Probable levadura.
B1AS6	Amarillas	Cremosa	<0.3 cm	Probable levadura.
	Naranjas	Cremosa	<0.2 cm	Probable levadura.
	Blanca	Cremosa	<0.2 cm	Probable levadura.
B1ARB2	Blanca	Filamentosa	2-3 cm	Inmersas en el medio con poco desarrollo.
B1ARB2	Blanca	Filamentosa con puntos.	1-2.5 cm	Inmersas en el medio con poco desarrollo.
B1ARB6				

En agar Sabouraud solo crecen levaduras de 2 a 3 tipos coloniales.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
B2AS2 B2AS4	(+) Blanca-gris Amarilla	Algodonosa Cremosa- filamentosa	2-4 cm 1-2.5 cm	Muy abundantes Dimórfico
B2AS6	Amarilla, blanca o rosa Amarilla Blanca, gris o amarilla	Cremosas Polvosa Cremosa, mucoide o filamentoso	0.5-3 cm 2-3.5 cm 1.5-2.5 cm	Levaduras abundantes Muy irregular con puntos Levadura-filamentoso
B2ARB2 B2ARB4	Gris Gris Amarilla-verde	Algodonosa Algodonosa Polvosa, filamentosa	2-3.5 cm 2-3.5 cm 3-4.5 cm	Muy abundantes Centro elevado y periferia clara Abundantes
B2ARB6	Blanca crema Gris Blanca crema Blanca Blanca	Algodonosa Algodonosa Algodonosa Filamentosa compacta Polvosa	2-3.5 cm 2-3.5 cm 2-3.5 cm 2-3.5 cm 1.5-2 cm	

En B2AS2 se presentan 2 o 3 colonias de mohos diferentes, pero por su muy abundante crecimiento algodonoso, no es posible el aislamiento, caracterización macroscópica, etc.
Además predominan mucho las levaduras y hongos dimórficos.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
B3AS2	Verde	Polvosa algodonosa	2-3 cm	Son predominantes y con periferia blanca elevada. Son más abundantes que las filamentosas. Son más abundantes que las filamentosas.
	Blanca	Cremosa	0.5 cm	
B3AS4	Amarillo naranja Blanca	Cremosa	0.5 cm	
	Amarillo naranja Blanca	Cremosa Cremosa	0.5 cm 0.5 cm	
B3AS6	Blanca-gris Blanca	Cremosa mucoide	0.5-1.5 cm	
	Amarillo naranja	Algodonosa	2-4 cm	
	Blanca	Cremosa mucoide	0.-1.5 cm	
	Blanca	Cremosa	0.5 cm	
		Cremosa Mucoide	0.5 cm 2-3 cm	
B3ARB2				
B3ARB4	Blanca	Algodonosa	2-4 cm	Otras colonias con poco desarrollo. Periferia blanca.
B3ARB6	Verde oliva	Polvosa	2-4 cm	
	Blanca	Polvosa	1-2 cm	

En B3AS hay una gran predominancia de levaduras.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
C1AS2	Blanca	Algodonoso	2-3.5 cm	Elevadas y muy abundantes Periferia blanca
	Verde	Polvosa	0.5-1.5 cm	
	Ocre verde	Filamentosa	1-2 cm	
	punteada			
	Blanca	Cremosa	1-2.5 cm	Levaduriforme
		mucoide		
C1AS4	Blanca	Algodonosa	2-3.5 cm	
	Verde	Polvosa	0.5-1.5 cm	
	Blanca con puntos amarillos	Filamentosa	2-3 cm	
	Negra			
		Compacta	2-4 cm	
	Blanca- gris	filamentosa		
		Cremosa	2-3.5 cm	
		filamentosa		
C1AS6	Blanca	Algodonoso	2-3.5 cm	
	Verde	Polvosa	0.5-1.5 cm	
	Blanca punteada	Filamentosa	1-2 cm	
	Verde oscura	polvosa		
		Compacta	2-4 cm	
C1ARB2				Crecimiento de mohos muy algodonosos
C1ARB4	Beige	Algodonoso	4-6 cm	Invade la caja
	Crema	Filamentosa	2-4 cm	Tiene puntos diferenciados
	Verde	Polvosa	1.5-2 cm	
	Verde	Polvosa	1.5-2 cm	Periferia blanca y centro elevado
				Cirulos concéntricos
	Blanca	Filamentosa	2-4 cm	Periferia blanca
	Verde	Compacta	1-1.5 cm	
		filamentosa		
C1ARB6	Verde	Compacta	1-1.5 cm	Periferia blanca
		filamentosa		

En Agar Sabouraud se presenta una gran heterogeneidad colonial.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
C2 AS2	Blanca Verde	Algodonoso Polvosa compacta	6-8 cm 0.5-4 cm	Muy invasiva Predominantemente invasiva Levadura
C2AS4	Cremosa Verde oscura superficie blanca- negra Blanca	Cerosa Algodonoso compacto	0.5 cm 3-5 cm	
C2AS6	Blanca gris Amarillo crema Verde oscura	Cremosa seca Cremosa Algodonoso compacto Cremosa seca	0.5 cm 0.5 cm 3-5 cm	
	Blanca Gris	Crema compacta	0.5 cm 2-3 cm	Inhibe a otras colonias.
C2ARB2	Verde Verde claro	Polvosa algodonosa Compacta algodonoso	2-4 cm 2-3 cm	Centro elevado, periferia y envés blanco Elevada
	Blanca verde Verde	Filamentosa Algodonosa	2-3 cm 4-7 cm	Círculos radiantes y es muy invasiva
	Gris beige	Compactas	1-2.5 cm	Convexas con la periferia blanca e inmersa en el medio.
C2ARB4 C2ARB6				Poco desarrollo Poco desarrollo

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
C3AS2	Café Blanca gris	Compacto Compacta filamentosa	2-4 cm 2-5 cm	Periferia blanca Centro café
C3AS4 C3AS6	Blanca Blanca	Cremosa Cremosa	1-2 cm 1-2 cm	Levadura Levadura elevada o convexa Levadura Poco desarrollo.
C3ARB2	Blanca gris	Compacta algodonosa	1.5-2.5 cm	Periferia difusa.
C3ARB4	Blanca gris	Compacta algodonosa	1.5-2.5 cm	Periferia difusa
C3ARB6	(-)			

El crecimiento es muy limitado, tanto en cantidad como en los diversos tipos de mohos

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
D1AS2	Rosa	Compacta polvosa cremosa	3-4 cm	Rugosa
	Blanca amarilla Gris	Compacta Compacta	0.5 cm 0.5 cm	Elevada Cónca con elevación y es inhibitoria.
	Blanca, naranja o amarilla	Cremosa	0.2-3 cm	Levadura
D1AS4	Blanca, naranja o amarilla	Cremosa	0.2-3 cm	Levadura
D1AS6	Blanca, naranja o amarilla	Cremosa	0.2-3 cm	Levadura
D1ARB2	Verde blanca	Algodonosa filamentosa	4-6 cm	Periferia blanca, entro elevado. Puntos diferenciados y círculos concéntricos en crecimiento radial
	Beige	Polvosa	2-3 cm	
	Blanca Café gris	Algodonosa Algodonosa compacta	2-3 cm 1.5- 2 cm	Centro muy elevado y periferia difusa

En AS2,4 y 6 predomina el crecimiento levaduriforme.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
D2AS2	Blanca con puntos negros	Filamentosa	4-5 cm	<i>Aspergillus niger</i>
D2AS4	Blanca gris	Algodonosa	6-9 cm	Muy invasiva No aislada Poco desarrollo. Muy abundantes
	Blanca	Polvosa	0.5-1.5 cm	
D2AS6	Blanca	Filamentosa	2-3.5 cm	
	Blanca	Cremosa mucoide	2-4 cm	
	Naranja	Crema	1-1.5 cm	
	Amarilla	Crema	< 1 cm	
D2AS6	Blanca	Filamentosa	2-3.5 cm	
	Blanca	Cremosa mucoide	2-4 cm	
D2ARB2	Naranja	Crema	1-1.5 cm	
	Amarilla	Crema	< 1 cm	
	Blanca	Filamentosa	2-3.5 cm	
	Blanca	Cremosa mucoide	2-4 cm	
D2ARB4	Naranja	Crema	1-1.5 cm	
	Amarilla	Crema	< 1 cm	
D2ARB2	Verde claro a oscuro	Polvoso	3-4 cm	Crecimiento irregular
	Blanca	Algodonoso	2-3.5 cm	
	Blanca	Algodonoso	4-8 cm	Invade la caja Punteada
	Verde oscuro	Filamentoso polvoso	3-4.5 cm	
D2ARB4	Verde	Algodonoso polvoso	2-4 cm	Crecimiento difuso
	Verde	Polvoso	4-7 cm	
	Beige	Polvoso filamentoso	4-6 cm	

Los hongos filamentosos en el AS2 no son aislables por su crecimiento filamentosopolvoso, ni es posible su caracterización morfológica macroscópica.

En ARB2 existe una gran heterogeneidad en cuanto al tipo de mohos, pero el aislamiento y la morfología macroscópica casi no es posible.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
D3AS2	Amarilla	Algodonoso	3-5 cm	Muy invasiva
	Blanca	Mucoide	1.5-2 cm	Levadura muy abundante
D3AS4	Blanca	Mucoide	1.5-2 cm	
D3AS6	Negra verde	Filamentosa	4-7 cm	Muy invasiva con periferia blanca.
	Blanca	Algodonoso	3 cm	Convexa
D3ARB2	Rosa roja	Cremosa mucoide	1-2 cm	Probable levadura
	Blanca	Compacta filamentosa	1-1.5 cm	Con poco desarrollo
D3ARB4	Rosa roja	Cremosa mucoide	1-2 cm	Probable levadura
D3ARB6	(-)			

Existe mucho predominio de colonias cremosas mucoides, que son probablemente levaduras, hay pocos mohos y con mínimo desarrollo.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
E1AS2	Negra punteada Blanca Verde oscura Rosa Verde Blanca amarilla Roja	Filamentoso Filamentosa algodonosa Filamentosa algodonosa Algodonosa Filamentosa Cremosa Compacta cremosa	4-6 cm 2-3 cm 3-5 cm 2-4 cm 1-1.5 cm 0.5-2 cm 1-2 cm	Probable <i>Aspergillus</i> Convexa. Elevada Periferia y envés blancos Levadura Perfil difuso y rosa
E1AS4	Blanca	Algodonoso	4-8 cm	Muy invasiva
E1AS6	Blanca amarilla Blanca amarilla	Cremosa Cremosa	0.5-2 cm 0.5-2 cm	Levadura Levadura
E1ARB2	Negra Verde oscuro Blanca amarilla Blanca verde	Filamentoso Compacto Algodonoso Algodonoso	3-5 cm 1.5-2 cm 2-4 cm 2-4 cm	Difícil de aislar, tiene puntos negros Periferia blanca Convexo Convexo Mohos con muy poco desarrollo
E1ARB4				
E1ARB6	(-)			

En AS existe una gran heterogeneidad de colonias, mientras que en el ARB la variabilidad de los mohos es considerable.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
E2AS2 E2AS4 E2AS6	Blanca parda Blanca Centro ante y periferia blanca Negra punteada Centro ante y periferia blanca	Algodonoso Algodonoso Polvosas algodonosas Filamentosas Polvosas algodonosas	12 cm 2-4 cm 2.5-4 cm 2-4 cm 2.5-4 cm	Muy invasiva. Muy abundantes <i>Aspergillus</i>
E2ARB2 E2ARB4 E2ARB6	 Blanca Beige, ante, verde Verde oscuro Beige, ante, verde Blanca Blanca	 Algodonoso. Polvoso Filamentoso algodonoso Polvoso Algodonoso Algodonoso	 3-5 cm 1.5-3 cm 2-4 cm 1.5-3 cm 3-5 cm 4-8 cm	Por su abundante crecimiento no es posible el aislamiento Muy abundante y convexa Muy abundante Periferia y envés blancos Invade toda la caja

El AS2 no permite el aislamiento por el crecimiento muy algodonoso e invasivo, mientras que en el ARB es claro el predominio de 2 o 3 mohos.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
E3AS2	Verde	Polvosa filamentosa	2-4 cm	Periferia blanca, envés amarillo, más abundantes Muy convexas
	Blanca Verde	Algodonoso Polvosa filamentosa	1.5-3 cm 2-4 cm	
E3AS4	Verde	Polvosa filamentosa	2-4 cm	Periferia blanca, envés amarillo, más abundantes Muy convexas
	Blanca Verde	Algodonoso Polvosa filamentosa	1.5-3 cm 2-4 cm	
E3AS6	Verde oscura Amarillo crema	Compacta Compacta cremosa	1-1.5 cm 1 cm	Periferia blanca, envés amarillo, más abundantes Convexa Levadura
	Blanca, amarilla o roja	Cremosa	0.5-1 cm	
	Blanca	Polvosa algodonosa	7-10 cm	Muy invasiva
	Blanca	Compacta	0.5 cm	Rugosa con surcos radiantes
E3ARB2	Verde claro	Polvosa algodonosa	1.5-2.5 cm	Periferia y envés blancos y elevada en el centro
	Blanca Blanca con puntos negros	Algodonosa Filamentosa	1-2 cm 2-3.5 cm	
E3ARB4	Verde	Polvosa	1 cm	Periferia blanca
	Verde Blanca Negra	Polvosa Algodonosa Compacta	2-3 cm 1-2 cm 1-2 cm	
E3ARB6				Colonias con poco desarrollo.

Tanto en AS como en ARB predominan los mohos.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
F1AS2 F1AS4 F1AS6	Naranja Blanca Blanca Blanca gris	Polvosa Compacta Cremosa mucoide Cremosa	12 cm 1-2 cm 2-2.5 cm 0.5-2 cm	Muy invasiva Convexa Levadura levadura
F1ARB2 F1ARB4 F1ARB6	Blanca Rosa roja Blanca (-) (-)	Compacta Cremosa Algodonosa compacta	3.5-5 cm 2-3 cm 1-2 cm	Periferia blanca, muy elevada y cóncava. Convexa, levadura o moho, pero con poco desarrollo. Irregular

El crecimiento es muy limitado tanto en el AS como en el ARB

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
F2AS2	Blanca, gris, negra	Algodonoso	12 cm	Muy invasiva por lo que no se aisló
F2AS4	Blanca	Algodonoso	3-5 cm	Muy elevada e invasiva
	Verde oscura a café	Compacta	2-4 cm	
	Verde oliva	polvosa		
	Verde amarilla	Polvosa	2-3 cm	Periferia y envés blancos y es muy difusa
	Blanca	Cremosa compacta	2-3 cm	Produce pigmento que difunde al medio
	Blanca, gris, negra	Filamentosa compacta	4-5 cm	Plana y dimórfica
F2AS6		Algodonoso	12 cm	Muy invasiva.
F2ARB2	Verde oscuro	Compacta filamentosa	2-4 cm	Convexa
	Blanca	Polvosa filamentosa	1-2.5 cm	Crecimiento radial y difuso. Convexa
	Verde amarillo	Filamentosa compacta	1-2 cm	Difusa
	Blanca	Algodonosa	2-3 cm	Convexa
F2ARB4	Blanca	Algodonosa	2-3 cm	Convexa
F2ARB6	Blanca	Algodonosa	2-3 cm	

En F2AS2 el crecimiento algodonoso es muy invasivo, lo que impide el aislamiento o la caracterización de la morfología macroscópica; mientras que en el ARB predominan 2 o 3 colonias de mohos.

M-M-D	Colonia-Color	Aspecto	Tamaño	Otras características.
F3AS2	Verde claro	Polvoso	2-3.5 cm	Planas y muy abundantes. Planas y muy abundantes.
	Verde oscuro	Polvoso	0.3-0.5 cm	
F3AS4	Naranja rosa	Cremosa	0.3-0.5 cm	Levadura, plana y muy abundante.
	Blanca	Mucoide	1.5-2 cm	Levadura muy convexa y abundante
	Verde oscuro	Polvoso	1.5-2 cm	Planas y muy abundantes
	Verde olivo	Polvoso	3-4 cm	Difusas y con surcos radiantes
F3AS6	Naranja rosa	Cremosa	0.3-0.5 cm	Levadura, plana y muy abundante.
	Blanca	Mucoide	1.5-2 cm	Levadura muy convexa y abundante
	Verde oscuro	Polvoso	1.5-2 cm	Planas y muy abundantes
	Verde olivo	Polvoso	3-4 cm	Difusas y con surcos radiantes
	Blanca beige	Compacta filamentosa	2-3.5 cm	Periferia blanca
	Rosa naranja	Cremosa	0.3-0.5 cm	Levadura plana y abundante
F3ARB2	Amarilla	Cremosa	0.3-0.7 cm	Levadura
	Verde oliva	Polvosa	2-3.5 cm	Planas y muy predominantes
F3ARB4	Verde oscuro	Polvosa	0.2-0.7 cm	Planas y también muy abundantes
	Naranjas	Cremosas	0.2-0.5 cm	Planas
	Rosa roja	Cremosas	0.2-0.5 cm	
	Verde oliva	Polvosa	2-3.5 cm	
	Naranjas	Cremosas	0.2-0.5 cm	
	Rosa roja	Cremosas	0.2-0.5 cm	
Verde oscuro	Polvosa	0.2-0.7 cm		

En AS 2 y 4 predominan 2 o 3 tipos de mohos e diferente tamaño.

Apéndice No. (11)



1AS2



1AS4



1AS4



1ARB2



1ARB2



1ARB4



1ACK2



1ACK2



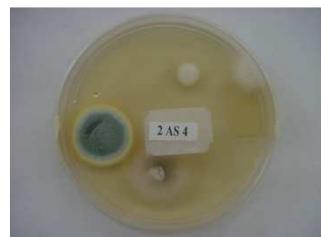
1ACK4



2AS2



2AS2



2AS4



2AS4



2AS6



2ARB2



2ARB2



2ACK2



2ACK2



2ACK4



2ACK6



2ACK6



3AS2



3AS2



3AS4



3ARB2



3ARB2



4AS2



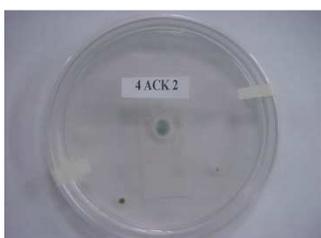
4AS2



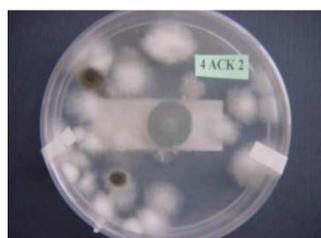
4ARB2



4ARB2



4ACK2



4ACK2



5AS2



5AS4



5AS6



5ARB2



5ARB2



5ARB4



5ARB6



5ARB6



6AS2



6AS6



6AS2



6AS2 Y 6AS4



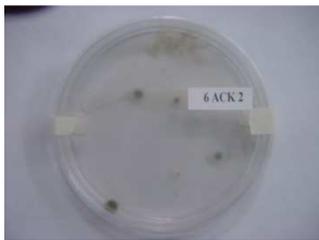
6AS4



6AS6



6ARB4



6ACK2



6ACK2



7AS2



7AS2



7AS4



7AS4



7AS6



7ARB2



7ARB2



7ARB4



8AS2



8AS2



8AS4



8ARB2



8ARB2



8ARB4



9AS2



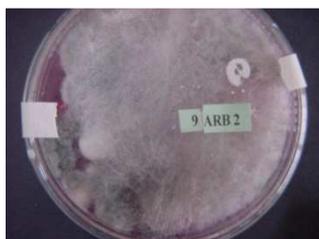
9AS4



9AS4



9AS6



9ARB2



9ARB2



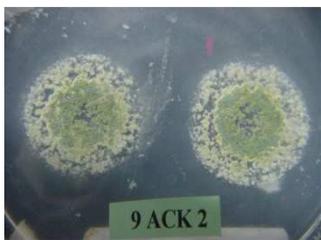
9ARB4



9ARB4



9ARB6



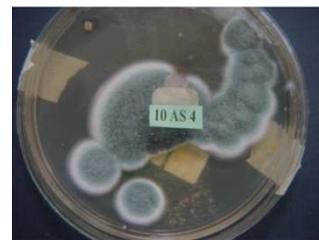
9ACK2



10AS2



10AS2



10AS4



10ARB2



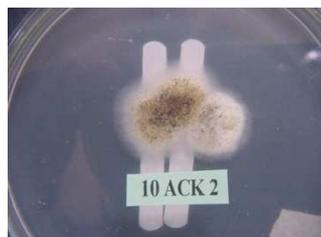
10ARB2



10ARB2



10ARB4



10ACK2



11AS2



11AS2



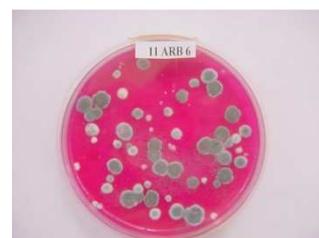
11AS4



11AS4



11ARB2



11ARB6



12AS2



12AS2 Y 12AS4



12AS4



12AS6



12ARB2



12ARB2



12ARB4



12ARB6



12ACK2



12ACK4



13AS2



13AS2



13AS4



13AS4



13AS6



13AS6



13ARB2



13ARB2



13ARB4



13ARB4



13ARB4



13ARB6



13ACK2



14AS2



14AS2



14AS4



14ARB2



14ARB2



14ARB4



14ACK2



15AS2



15AS2 Y 15AS6



15AS4



15AS6



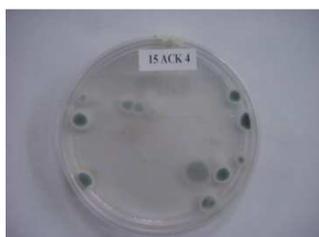
15ARB2 Y 15ARB4



15ARB6



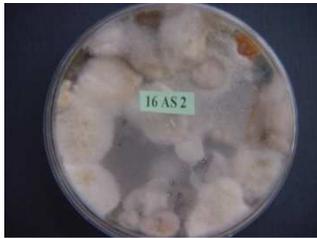
15ACK2



15ACK4



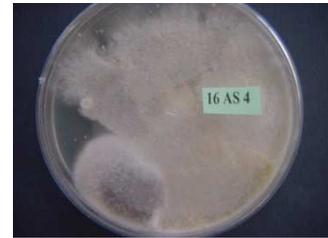
15ACK6



16AS2



16AS2 Y 16AS4



16AS4



16AS6



16ARB2



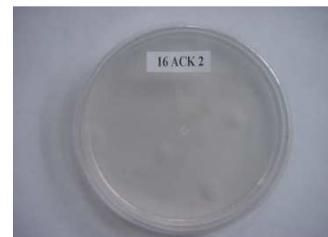
16ARB2



16ARB4



16ARB6



16ACK2



16ACK2



17AS2



17AS2



17AS4



17ARB2



17ARB2



17ARB4



17ARB4



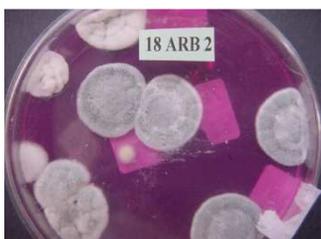
18AS2



18AS4



18AS6



18ARB2



18ARB2



18ARB2

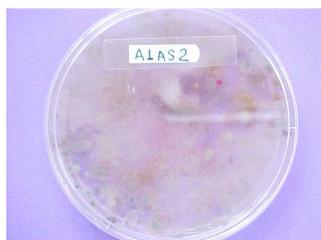


18ARB2



18ARB4

Apéndice No. (12)



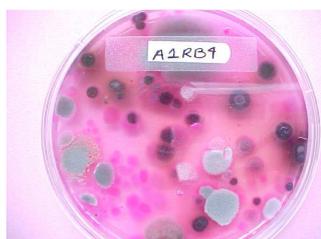
A1AS2



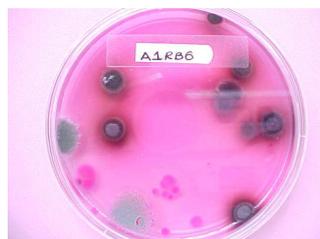
A1AS4



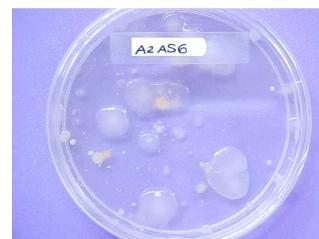
A1AS6



A1RB4



A1RB6



A2AS6



A2AS2



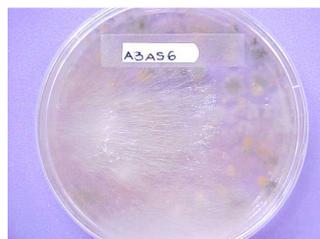
A2AS4



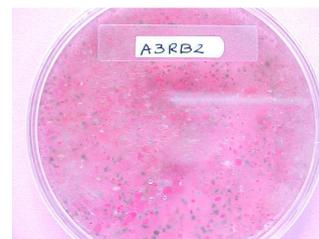
A2RB2



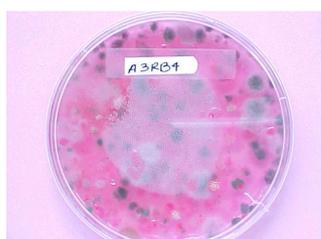
A3AS4



A3AS6



A3RB2



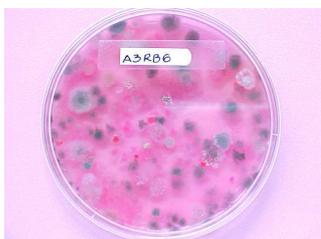
A3RB4



A123AS246



A123RB246



A3RB6



B1AS6



B2AS4



B2AS6



B2RB2



B2RB4



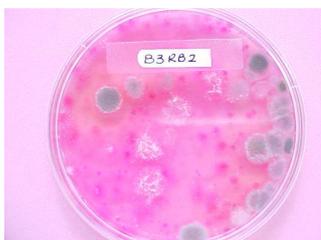
B2RB6



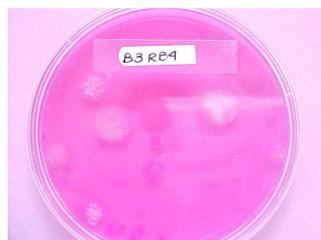
B3AS2



B3AS4



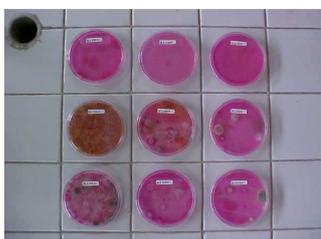
B3RB2



B3RB4



B3RB6



B123RB246



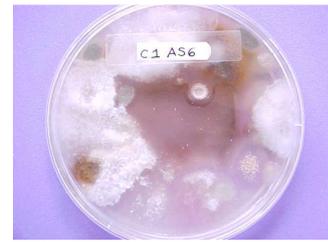
B123AS246



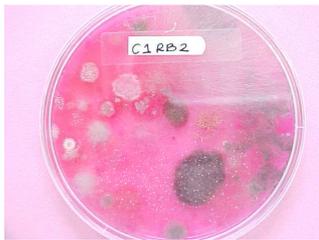
C1AS2



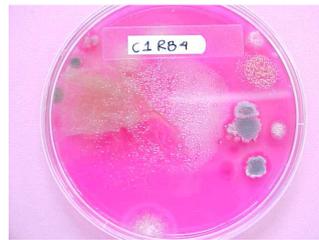
C1AS4



C1AS6



C1RB2



C1RB4



C2AS4



C2AS6



C2RB2



C3RB2



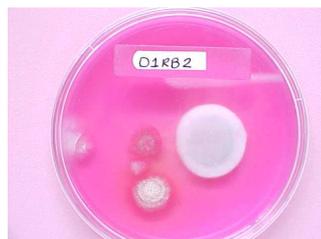
C123AS246



C123RB246



D1AS2



D1RB2



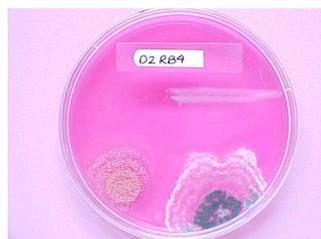
D2AS2



D2AS4



D2RB2



D2RB4



D3AS2



D3RB2



D123AS246



D123RB246



E1AS2



E1AS4



E123AS246



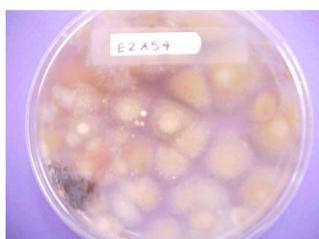
E1RB2



E123RB246



E2AS2



E2AS4



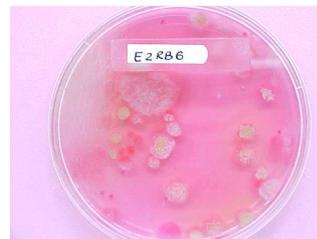
E2AS6



E2RB2



E2RB4



E2RB6



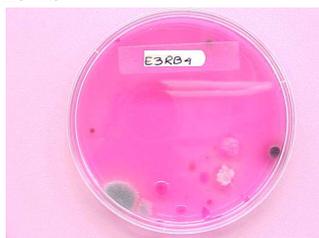
E3AS2



E3AS4



E3AS6



E3RB4



F1AS2



F1AS4



F1RB2



F2AS2



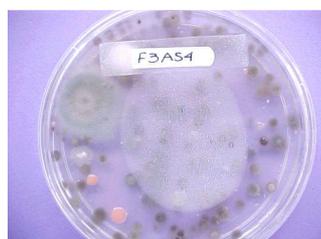
F2AS4



F2RB2



F3AS2



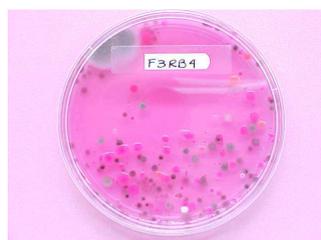
F3AS4



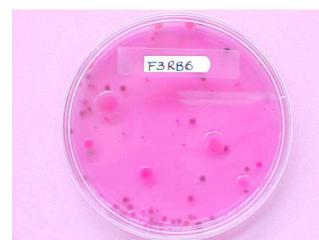
F3AS6



F3RB2



F3RB4



F3RB6



F123AS246



F123RB246