



**Universidad Nacional Autónoma de México**

---

**POSGRADO EN CIENCIAS  
BIOLÓGICAS**

**Instituto de Biología**

**Diversidad de hongos acuáticos y detección  
de su ADN mediante una sonda molecular**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**P R E S E N T A**

**Allan Canek Chavarria Sánchez**

**DIRECTORA DE TESIS: DRA. MARÍA DEL CARMEN AUXILIO  
GONZÁLEZ VILLASEÑOR**

**COMITÉ TUTORAL: DR. JOAQUÍN CIFUENTES BLANCO  
DRA. CONCEPCIÓN TORIELLO NÁJERA**

**MÉXICO, D. F.**

**ABRIL, 2010**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Dr. Isidro Ávila Martínez**  
**Director General de Administración Escolar, UNAM**

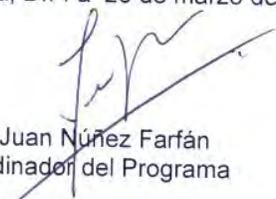
**P r e s e n t e**

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 18 de enero de 2010, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTOR EN CIENCIAS** del alumno **CHAVARRÍA SÁNCHEZ ALLAN CANEK** con número de cuenta **93130417** con la tesis titulada: "**Diversidad de hongos acuáticos y detección de su ADN mediante una sonda molecular**", realizada bajo la dirección de la **DRA. MARÍA DEL CARMEN AUXILIO GONZÁLEZ VILLASEÑOR**:

Presidente:	DR. TEÓFILO HERRERA SUÁREZ
Vocal:	DR. MIGUEL ARMANDO ULLOA SOSA
Vocal:	DRA. ANA LUISA ANAYA LANG
Vocal:	DRA. MARÍA DEL ROCÍO ALICIA REYES MONTES
Secretario:	DRA. MARÍA DEL CARMEN AUXILIO GONZÁLEZ VILLASEÑOR
Suplente:	DR. JOAQUÍN CIFUENTES BLANCO
Suplente	DRA. CONCEPCIÓN TORIELLO NÁJERA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

**Atentamente**  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"  
Cd. Universitaria, D.F. a 23 de marzo de 2010.

  
Dr. Juan Núñez Farfán  
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

## AGRADECIMIENTOS

- Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.
- Al CONACYT por la beca otorgada para cursar los estudios de doctorado y por financiar esta investigación mediante el proyecto del CONACYT 60502 titulado “*Biodiversidad de los ascomicetes dulceacuícolas de cuerpos de agua naturales y urbanos*” otorgado al Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México.
- A los miembros del comité tutorial, Dra. María del Carmen Auxilio González Villaseñor, Dr. Joaquín Cifuentes Blanco y Dra. Concepción Toriello Nájera.

## AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

Expreso mi más profunda gratitud a las siguientes personas e instituciones que participaron en mi formación académica y en el desarrollo de este proyecto de investigación.

- Dra. María del Carmen Auxilio González Villaseñor del Instituto de Biología de la UNAM, por su guía, confianza y todas sus enseñanzas durante todos los años en que trabajamos juntos, por apoyarme en mi formación académica, e introducirme en el maravilloso mundo de los hongos microscópicos.
- Dr. Joaquín Cifuentes Blanco de la Facultad de Ciencias de la UNAM, por seguir el desarrollo de este trabajo y enriquecerlo con sus observaciones y experiencia.
- Dra. Concepción Toriello Nájera de la Facultad de Medicina de la UNAM, por todas las recomendaciones que realizó a este proyecto.
- Dr. Edgar Dantán González del Centro de Investigación en Biotecnología de la UAEM, por el tiempo, el soporte y la guía que dedicó en el desarrollo de la parte molecular de esta investigación.
- Dr. Agustín Quiroz Flores del Laboratorio de Plantas Acuáticas del Instituto de Biología de la UNAM, por su apoyo y asesoría en la medición de la materia orgánica y del fósforo de ortofosfatos del agua de Xochimilco.
- Mtra. Josefina Barajas del Instituto de Biología, por proporcionar el pucté necesario para el muestreo y ayudar a la identificación de las maderas.
- Dr. Richard Hanlin que tuvo la visión de estudiar la micobiota dulceacuícola de Xochimilco.

- Autoridades de la Delegación de Xochimilco, por facilitar el transporte en los canales y por su apoyo a este proyecto.
- Miembros del jurado, Dr. Teófilo Herrera, Dr. Miguel Ulloa, Dra. Ana Luisa Anaya y Dra. María del Rocío Reyes por sus valiosas observaciones a este trabajo.
- Dr. Edmundo Rosique-Gil y Dr. Jaime Zúñiga por su asesoría en los análisis estadísticos.
- Profesores del Colegio de Ciencias y Humanidades Plantel Sur, Carmen Christlieb y José Ruiz por enseñarme la importancia y belleza de la Biología.
- Maestros de la Facultad de Ciencias y del Posgrado en Ciencias Biológicas de la UNAM.
- Biólogos, Alberto Gómez, Samuel Aguilar, a los Maestros (as), Cristina Medina, Elvira Aguirre, Julio César Flores, Octavio Caballero, Patricia Vélez, Silvia Bautista, y a los Doctores Martín Zurita y Leonardo Alvarado.
- Compañeros de la Sala de Estudiantes del Instituto de Biología, Aida, Cinthya, Daniel, Geminis, Emmanuel, Norberto y Sandra.
- Carlos Nava, Gabriel Ochoa, Jorge Gonzáles, José Luís Arreguin, Isaac Castillo, Oscar Camacho y Rafael Fuentes.

## **DEDICATORIA**

**A MIS ABUELOS, PADRES Y HERMANOS POR SER MI FAMILIA**

**PARA ENRIQUE, RUFINO Y MARIO**

## RESUMEN

Se investigó la diversidad de los ascomicetes del Canal Santa Cruz, considerado el de mayor importancia turística en Xochimilco, Distrito Federal. En 2007 se realizaron dos muestreos en las épocas de menor y mayor precipitación. En el margen del canal se establecieron cuatro estaciones de muestreo con diferente grado de urbanización y en cada una se sumergieron bloques de madera de *Virola* sp., *Tabebuia donnell-smithii*, *Bucida buceras*, *Pinus* sp., *Cupressus lindleyi* y *Abies religiosa* durante ocho semanas. Se midió la temperatura, el pH, el oxígeno disuelto, la materia orgánica, el fósforo y se determinó el número más probable de bacterias coliformes del agua. Para evaluar los datos, se aplicó el índice de diversidad de Shannon y el índice de similitud de Sørensen. La mayor diversidad de ascomicetes ( $H' = 1.152$ ) se registró en la tercera estación, ubicada en la zona de viveros con flores y la menor diversidad ( $H' = 0.976$ ) se obtuvo en la primera estación, localizada frente al embarcadero Santa Cruz, ambos valores de diversidad coincidieron con el grado de urbanización y con los datos fisicoquímicos y bacteriológicos. La temporada de lluvias presentó la diversidad más baja debido probablemente al efecto de la precipitación en este ambiente acuático. A partir de *Penicillium* sp., un hongo que sólo fue identificado por el método molecular, se elaboró una sonda de oligonucleótidos específica para este taxón.

## ABSTRACT

The diversity of freshwater Ascomycetes was determined in the touristic channel “Santa Cruz”, Xochimilco, Mexico. Two surveys were conducted in 2007 during the dry and wet season. Four sampling sites were selected in the channel margin, based on the level of urbanization. At each sampling site, wood panels of *Virola* sp., *Tabebuia donnell-smithii*, *Bucida buceras*, *Pinus* sp., *Cupressus lindleyi* and *Abies religiosa* were submerged during eight weeks. Water temperature, dissolved oxygen, organic matter, phosphorus and most probable number of coliform bacteria were determined. Results were evaluated using the diversity index of Shannon and the index of similarity of Sørensen. The highest Ascomycete diversity recorded ( $H' = 1.152$ ) was found at the third sampling site, located near commercial florist greenhouses. The lowest diversity ( $H' = 0.976$ ) was obtained at the first sampling site, in front of Santa Cruz pier. Both values of diversity were in agreement with the urbanization level and physicochemical and bacteriological data. The wet season had the lowest diversity of freshwater Ascomycetes, perhaps due to the effect of the rainfall in this aquatic environment. From *Penicillium* sp., a fungi identified only by the molecular method, an oligonucleotide specific probe was designed for this taxon.

# CONTENIDO

	<b>Agradecimientos</b>	<b>iii</b>
	<b>Agradecimientos a título personal</b>	<b>iv</b>
	<b>Dedicatoria</b>	<b>vi</b>
	<b>Resumen</b>	<b>vii</b>
	<b>Abstract</b>	<b>viii</b>
<b>1</b>	<b>Introducción</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Antecedentes</b>	<b>4</b>
<b>3</b>	<b>Importancia del problema y objetivos de la investigación</b>	<b>10</b>
<b>4</b>	<b>Materiales y métodos</b>	<b>12</b>
4.1	Descripción del área de estudio	12
4.2	Diversidad de los hongos dulceacuícolas	12
4.2.1	Muestreo	12
4.2.2	Sumersión de las carnadas de madera	14
4.2.3	Procesamiento e incubación de la muestra	14
4.2.4	Identificación de los hongos dulceacuícolas	14
4.2.5	Aislamiento y cultivo de los hongos dulceacuícolas	16
4.2.6	Conservación y registro de los micromicetes dulceacuícolas	16
4.3	Diseño de una sonda de oligonucleótidos para identificar micromicetes dulceacuícolas utilizando el gen 18S ADNr	17
4.4	Determinación de bacterias coliformes totales y fecales	18
4.5	Determinación de los parámetros fisicoquímicos	18
4.6	Análisis de los datos	19
<b>5</b>	<b>Resultados</b>	<b>21</b>
5.1	Diversidad de los micromicetes dulceacuícolas del Canal Santa Cruz	21
5.2	Evaluación de la diversidad	27
5.2.1	Evaluación temporal durante la temporada seca y de lluvias	27
5.2.2	Evaluación espacial en el Canal Santa Cruz	29
5.3	Preferencia por el tipo de madera	30
5.4	Diseño de la sonda de oligonucleótidos	35
<b>6</b>	<b>Discusión</b>	<b>39</b>
<b>7</b>	<b>Conclusiones</b>	<b>55</b>
<b>8</b>	<b>Recomendaciones</b>	<b>56</b>
<b>9</b>	<b>Literatura citada</b>	<b>57</b>

# 1 INTRODUCCIÓN

Los ascomicetes dulceacuícolas se definen como aquellas especies que se desarrollan en los sustratos parcial o totalmente sumergidos en el agua dulce durante todo o una parte de su ciclo de vida (Shearer *et al.*, 2007). Estos organismos forman un grupo ecológico con representantes en diferentes órdenes, familias y géneros.

Los ascomicetes dulceacuícolas y sus anamorfos son un grupo cuya función en el ambiente es la degradación de los restos vegetales (madera y hojas) y animales (piel, pelo, escamas, exoesqueletos) que ingresan en el agua de los ambientes lénticos y lóticos de las zonas tropicales y templadas del mundo, contribuyendo a mantener activo el ciclo de los nutrientes (Goh y Hyde, 1996; Wong *et al.*, 1998; Tsui *et al.*, 2000). La madera es un polímero heterogéneo compuesto por polisacáridos, celulosa, hemicelulosa y lignina (Pointing *et al.*, 2000). En un año pueden ingresar hasta 425g por m<sup>2</sup> de restos de madera en un río, principalmente pequeñas ramas, los cuales son una fuente importante de carbono y energía, y constituye un hábitat para diferentes comunidades de microorganismos; su degradación es un proceso lento que involucra fragmentación, mineralización, descomposición por hongos y bacterias, y consumo por invertebrados (Tsui *et al.*, 2003a). Durante este proceso los hongos producen enzimas lignocelulolíticas que transforman el sustrato convirtiéndolo en un recurso más accesible para diversos invertebrados y liberando la energía almacenada en éste, la cual puede ser usada en niveles tróficos superiores (Bärlocher, 1982; Shearer, 1993; Wong *et al.*, 1998; Tsui *et al.*, 2003a, 2003b; Suberkropp, 2005, Vijaykrishna *et al.*, 2006).

La diversidad de hongos se conoce poco en el mundo, se estima que hay 1.5 millones de especies en el planeta, de las cuales 97,330, el 6.5% del total de especies estimadas, se encuentran registradas (Hawksworth, 2001; Hyde, 2001; Kirk *et al.*, 2008), de éstas 3,047 especies, que corresponden al 0.2%, pertenecen a diferentes grupos taxonómicos que han sido reportadas en ambientes acuáticos. A nivel mundial se encuentran descritas 64,056 especies de ascomicetes, de éstas alrededor de 500 especies son acuáticas estrictas y están distribuidas en los Discomycetes, Loculoascomycetes y Pyrenomycetes, con una proporción de 111:143:246 (Shearer *et al.*, 2007).

La mayor parte de los estudios de los ascomicetes dulceacuícolas se han realizado en las zonas templadas de Norteamérica y Europa y en varias regiones tropicales de Asia, mientras que en la zona Ártica, Antártica, el medio oriente, Madagascar, gran parte de África, centro y Sudamérica, y otras regiones templadas del mundo, se desconoce su diversidad. Dentro de las zonas estudiadas muchas han sido muestreadas una vez lo que ha originado que alrededor del 70% de los ascomicetes se hayan descrito con una distribución muy limitada. Por lo anterior, se conoce muy poco sobre la distribución

geográfica de un gran número de especies y sobre el grado de endemismo de ellas (Shearer *et al.*, 2007). Nuevos registros geográficos y estudios fisiológicos han mostrado que la temperatura ideal para el crecimiento de varias especies de hongos dulceacuícolas que se han registrado en zonas templadas y tropicales es de 25° C, aunque algunas especies pueden desarrollarse a temperaturas de hasta 10° C. Lo anterior permite suponer que no hay taxa tropicales y templados (Vijaykrishna *et al.*, 2006). Uno de los principales problemas relacionados con el conocimiento de la distribución de los hongos dulceacuícolas, es si los patrones de distribución de las especies que se conocen son artificiales y si son el resultado de los lugares donde se han realizado los estudios (Shearer *et al.*, 2007).

En México la micodiversidad se encuentra poco estudiada. Se estima que en el país hay aproximadamente 200,000 especies con 6,710 hongos registrados, que corresponden al 3.3%, y solamente 1,910 (0.1%) son micromicetes (Guzmán, 1998). Con relación a los ascomicetes, se conocen 1,355 especies (González y Hanlin, 2008). De los hongos dulceacuícolas solamente se tiene registrados siete especies *sensu stricto*, de las cuales cuatro fueron reportadas en los canales de Xochimilco, Distrito Federal (González y Chavarria, 2005) y tres en la Laguna de las Ilusiones, Tabasco (Rosique-Gil *et al.*, 2008). También se han reportado tres especies creciendo en hojas sumergidas en un río en Los Tuxlas, Veracruz (Castañeda *et al.*, 2004, 2005).

A través de los métodos tradicionales que involucran muestreo, incubación, cultivo y revisión al microscopio, se han descrito las aproximadamente 500 especies de ascomicetes acuáticos reportados en el mundo (Hyde y Jeewon, 2003; Shearer *et al.*, 2007); sin embargo, no todos los hongos pueden ser aislados o cultivados, y no siempre los que se obtienen en medio de cultivo forman las estructuras reproductivas que permitan su identificación. Lo anterior puede deberse a la falta de medios de cultivo específicos, a la dificultad de establecer en el laboratorio todas las características del ambiente, o a las técnicas de muestreo empleadas (Hyde y Jeewon, 2003; Nikolcheva *et al.*, 2003). Por esta razón los micólogos han empezado a emplear nuevas metodologías y herramientas para el estudio de los hongos.

La biología molecular ha ayudado a solucionar varios de los problemas asociados al estudio de los micromicetes, ya que al secuenciar regiones de los genes que están presentes durante todo el ciclo de vida se han podido identificar más fácilmente especies que anteriormente eran difíciles de reconocer mediante los métodos tradicionales. Además, ha aportado mayor información a los estudios filogenéticos, permitiendo conocer el curso más probable de la evolución de los hongos (Guarro *et al.*, 1999). Asimismo, la secuenciación del ADN fúngico ha permitido el estudio de la estructura de las comunidades de estos organismos en prácticamente todos los ambientes, lo que ha generado un aumento en el conocimiento de los hongos (Liew *et al.*, 1998; Hyde y Jeewon, 2003). Las técnicas moleculares han generado herramientas (primers y sondas) que aceleran y facilitan la identificación de

estos organismos, han ayudado al conocimiento de la filogenia de varias especies y han permitido resolver problemas taxonómicos.

Las sondas de oligonucleótidos son fragmentos cortos de ADN o ARN que se unen a secuencias complementarias de ácidos nucleicos. El uso de estas sondas permite detectar la secuencia genética específica de una especie o de un grupo taxonómico en particular. Esta herramienta ha sido empleada en el estudio de una gran variedad de hongos de importancia médica y de hongos fitopatógenos, sin embargo su aplicación en el estudio de los micromicetes dulceacuícolas ha sido poca (Hyde y Jeewon, 2003). Uno de los genes comúnmente empleados en estudios moleculares es el gen 18S de la subunidad corta del ADN ribosomal, debido a que se encuentra altamente conservado y en gran número, lo que lo hace un candidato ideal para el estudio de una gran variedad de organismos (Piercey-Normore y Egger, 2001).

## 2 ANTECEDENTES

Se desconoce el origen de los ascomicetes dulceacuícolas pero se piensa que pudieron evolucionar de ancestros terrestres por tres vías: 1) de los hongos asociados a las plantas que colonizaron los ambientes de agua dulce, 2) de los hongos presentes en los restos de la vegetación ripariana, y 3) de los hongos del suelo que ingresaron a los cuerpos de agua durante las lluvias (Shearer, 2002; Vijaykrishna *et al.*, 2006).

Para sobrevivir en el ambiente dulceacuícola estos organismos desarrollaron diversas adaptaciones morfológicas, por ejemplo diversas especies poseen apéndices de longitud y complejidad variable, así como ornamentaciones en la pared de sus esporas las cuales sirven durante su dispersión y para adherirse a un sustrato determinado; sin embargo, la presencia de estas estructuras no es exclusiva de los hongos dulceacuícolas ya que varios géneros poseen representantes terrestres, por lo que las especies dulceacuícolas podrían estar en vías de adaptación a la dispersión en ambientes de agua dulce (Shearer, 1993; Jones, 2006). En *Aniptodera megalospora*, *A. mauritaniensis*, *Naïs aquatica*, y en algunas especies de *Halosarpheia*, las ascosporas poseen apéndices polares mucilaginosos los cuales les ayudan a adherirse a un sustrato y colonizarlo mientras el agua se encuentra en movimiento (Hyde, 1992a; Shearer, 1993; Goh y Hyde, 1996; Wong *et al.*, 1998; Vijaykrishna, 2006). En algunas especies de *Aniptodera*, en *Annulatascus bipolaris* y en *Halosarpheia heteroguttulata*, estas estructuras forman filamentos muy largos que facilitan aun más la adhesión de la espóra al sustrato (Shearer, 1993; Wong *et al.*, 1998). Shearer (1993) menciona que la presencia de fundas mucilaginosas es otra adaptación de los ascomicetes dulceacuícolas al ambiente acuático. Estas fundas presentan diferentes formas, algunas son delgadas o irregulares, otras incluso se extienden mas allá del cuerpo de la ascospora y forman apéndices polares como se observa en *Lophiostoma bipolare* y *L. fronsisubmersum* (Hyde y Goh, 2003; Vijaykrishna, 2006). En *Annulatascus velatispora*, y en varias especies de *Fluviatispora*, *Lophiostoma*, *Massarina*, *Phaeosphaeria* y *Vaginatisspora*, se observan ascosporas totalmente rodeadas por mucílago (Hyde, 1992b; Shearer, 1993; Hyde y Goh, 2003; Vijaykrishna, 2006). La capacidad de flotar de las esporas es otra adaptación presente en los hongos dulceacuícolas, algunas especies presentan lípidos que pueden favorecer su flotabilidad y su dispersión en el agua, además de servirles como sustancias de reserva (Hyde y Goh, 2003). Algunos ascomicetes dulceacuícolas presentan ascas delicuescentes las cuales liberan fácilmente y de manera pasiva las esporas en el medio acuático (Wong *et al.*, 1998); este tipo de ascas son comunes en los *Halosarpheriales* marinos y en algunas especies acuáticas del género *Aniptodera*, *Halosarpheia* y *Naïs*; una vez liberadas las esporas dentro del ascoma éstas se acumulan en el cuello y son expulsadas al ambiente debido a los movimientos del

agua (Shearer, 1993; Wong *et al.*, 1998a). Las adaptaciones que presentan los ascomas que crecen sobre la madera sumergida en los cuerpos de agua son variadas, algunos son superficiales y presentan paredes gruesas y carbonáceas, como se observa en *Mamillisphaeria dimorphaspora*, otros además están rodeados por un peridio grueso, como es el caso de varias especies de *Jahnula* (Hyde y Goh, 2003). En *Megalohypha aqua-dulces* (Jahnulales) se ha observado que el ascoma posee hifas engrosadas en su base las cuales se extienden a lo largo del sustrato proporcionándole, posiblemente, mayor soporte para resistir la fuerza de la corriente, facilitando además la liberación de las esporas al medio ambiente por los movimientos del agua (Shearer, 2002; Hyde y Goh, 2003; Ferrer *et al.*, 2007). En otros casos, cómo se observa en algunas especies de *Aniptodera*, los ascomas están inmersos en el sustrato, son hialinos o pardo claro, tienen paredes blandas y cuellos cortos probablemente para protegerse de la turbulencia del agua (Hyde y Goh, 2003); además, la formación de los ascomas seminmersos y/o inmersos los protege de la deshidratación y radiación ultravioleta en caso de quedar expuestos al aire.

Debido al grado de adaptación al ambiente dulceacuícola los ascomicetes se clasifican en tres grupos: a) obligados, son los que se encuentran totalmente adaptados al ambiente y pueden crecer y dispersarse en el medio acuático; b) facultativos o llamados inmigrantes, presentan diversos grados de adaptación; son aquellas especies originarias de diversos ambientes pero que constantemente tienen que regresar al agua para mantener su población, y c) anfibios, son las especies que se desarrollan en la interfase entre el ambiente terrestre y dulceacuícola y están adaptados a las fluctuaciones de los niveles del agua (Tsui *et al.*, 2003a).

De Wildeman (1893-1894) reportó por primera vez la existencia de hongos de ambientes de agua dulce y describió los géneros *Lemonniera* y *Tetracladium* creciendo en hojas de estanques y pequeños lagos; mientras que Weston (1929) fue el primero que registró un ascomicete dulceacuícola, *Loramycetes juncicola*, de un estanque en Norte América. Sin embargo, fue Ingold quien a partir de 1942 y después de sus trabajos pioneros, reconoció los hongos dulceacuícolas como un grupo distintivo (Wong *et al.*, 1998; Shearer, 2002). A partir de entonces, se han realizado numerosos estudios en diversas partes del mundo pero muchas regiones pertenecen aún inexploradas. Gran parte de los trabajos realizados a nivel mundial tratan sobre ascomicetes de ambientes lóticos, en particular los ríos, sin embargo, son pocos los estudios efectuados en ambientes lénticos (Cai *et al.*, 2002).

En Europa, diversos autores han realizado trabajos taxonómicos, p.e. Ingold (1951, 1954, 1955) reportó 17 ascomicetes, e Ingold y Chapman (1952) encontraron dos ascomicetes en diversas lagunas de Inglaterra. Otros estudios han desarrollado aspectos fisiológicos, ecológicos, de diversidad genética, sobre el impacto de diversos contaminantes en las comunidades de hongos dulceacuícolas y

como potenciales bioindicadores (Bärlocher, 1982; Kreisel y Manoharachary, 1983; Chamier *et al.*, 1984; Chamier, 1987; Suberkropp *et al.*, 1988; Gönczöl, 1989; Révay y Gönczöl, 1990; Roldán, 1990; Révay, 1993; Fabre, 1998a, 1998b, 1998c; Sridhar *et al.*, 2000; Krauss *et al.*, 2001; Miersch, 2001; Kane *et al.*, 2002; Suberkropp, 2003a, 2003b; Laitung *et al.*, 2004; Pascoal *et al.*, 2005; Solé *et al.*, 2008). Los estudios para detectar los hongos dulceacuícolas mediante el uso de sondas moleculares son escasos en Europa y en todo el mundo, solamente se cuenta con el trabajo de Baschien y colaboradores (2001 y 2008), quienes detectaron hongos dulceacuícolas mediante sondas fluorescentes de oligonucleótidos en ríos de Europa. Con respecto a los hongos de origen terrestre que se han registrado en ambientes de agua dulce, está el trabajo de Vukojevic' y colaboradores (1997), quienes reportan 55 especies de hongos en el Lago Vlasinsko y sus tributarios en Yugoslavia.

En la región de Australia y Asia, diversos estudios han reportado hongos dulceacuícolas de ambientes lénticos; uno de los primeros trabajos fue el de Tubaki (1966), quien describió un discomicete creciendo sobre madera de un estanque en Kyoto, seguido de Minoura y Muroi (1978), que reportaron seis ascomicetes de estanques y lagunas en Japón. Posteriormente, Hyde y Goh (1998) reportaron 15 ascomicetes creciendo sobre restos de madera colectados en el Lago Barrine en Australia. Goh y Hyde (1999a) registraron 17 ascomicetes y 40 hongos mitospóricos en madera y bambú sumergidos en la Reserva Plover Cove en Hong Kong. Cai y colaboradores (2002) encontraron 35 ascomicetes creciendo sobre madera colectada en el Lago Fuxian en China. Luo y colaboradores (2004) obtuvieron 56 ascomicetes creciendo en madera y bambú recolectados en el Lago Dianchi, un cuerpo de agua altamente contaminado con descargas domésticas e industriales, en la provincia de Yunnan en China. También se han realizado estudios de biodiversidad, biogeografía, ecológicos, filogenéticos con datos morfológicos y/o moleculares, fisiológicos, taxonómicos, y sobre la presencia de hongos dulceacuícolas en ambientes contaminados (Grupta y Dubey 1987, 1991; Hyde, 1992a, 1992b, 1992c, 1993a, 1993b; Hyde y Seifert, 1992; Ho *et al.* 1997, 2002; Chang *et al.*, 1998; Wong *et al.*, 1998; Ranghoo y Hyde, 1998; Goh y Hyde, 1999a; Tsui *et al.*, 2000, 2001a, 2001b, 2003c; Ho y Hyde, 2000; Fryar *et al.*, 2001; Ho *et al.*, 2001; Liew *et al.*, 2002; Bucher *et al.*, 2004; Luo *et al.*, 2004; Cai *et al.*, 2006; Vijaykrishna *et al.*, 2006). No hay estudios en Asia donde hayan desarrollado sondas o primers para la detección de hongos dulceacuícolas de muestras ambientales.

En Norteamérica, Shearer y Crane (1986) reportaron 34 ascomicetes y 83 hongos mitospóricos en varios cuerpos de agua en Illinois, Estados Unidos. Fallah y Shearer (1998a, 1998b, 1998c, 2001) registraron 35 ascomicetes en diferentes lagos, y Fallah y colaboradores (1997, 1999a, 1999b) reportaron dos géneros, y tres ascomicetes en diversos lagos de Wisconsin en Estados Unidos. También Shearer realizó diversos estudios donde describió nuevas especies y géneros de hongos,

abordando también aspectos sobre su distribución biogeográfica, sistemática, ecológica, evolutiva y técnicas de estudio (Shearer, 1972, 1973, 1974, 1978, 1989, 1993). Shearer y diversos autores realizaron estudios taxonómicos, biogeográficos, biotecnológicos y filogenéticos incluyendo datos morfológicos y/o moleculares de los ascomicetes dulceacuícolas y algunos hongos mitospóricos presentes en muestras de restos vegetales que recolectaron en diversos cuerpos de agua de Norteamérica, (Shearer y Crane, 1971, 1986; Zare-Maivan y Shearer, 1988; Chen *et al.*, 1999; Shearer *et al.*, 1999; Anderson *et al.*, 2001, 2006; Anderson y Shearer, 2002; Campbell *et al.*, 2003, 2006; Campbell y Shearer, 2004; Raja *et al.* 2005, 2009a, 2009b; Raja y Shearer, 2006, 2007). Otros autores han descrito los patrones de colonización de los hongos dulceacuícolas (Garnett *et al.*, 2000). Los estudios moleculares de hongos dulceacuícolas son escasos en Norteamérica, debido en parte al limitado número de micólogos dedicados a esta área de investigación y al poco interés que han recibido estos organismos. Uno de los primeros estudios fue el de Ma y colaboradores (1997, 1999, 2000) quienes emplearon técnicas moleculares para detectar ADN fúngico de núcleos de hielo de Groenlandia; Nikolcheva y colaboradores (2003) determinaron mediante métodos tradicionales y moleculares la diversidad de hongos dulceacuícolas en hojas y Nikolcheva y Bärlocher (2004) elaboraron primers específicos para amplificar el ADN fúngico presente en hojas y madera presentes en un río de Canadá.

En Centro y Sudamérica son pocos los estudios sobre los ascomicetes y los hongos mitospóricos dulceacuícolas. Schoenlen-Crusius y Grandi (2003) revisaron el estado del conocimiento de los hongos mitospóricos y reportaron 90 especies para Argentina, Brasil, Ecuador, Perú y Venezuela. Betancourt y Justiniano (1989) y Santos-Flores y colaboradores (1995, 1996), registraron 23 especies de hongos mitospóricos dulceacuícolas en ríos de Puerto Rico. Los reportes de ascomicetes dulceacuícolas en la región son escasos. Shearer y colaboradores (1999) reportaron tres especies de *Ophioceras*, *O. commune* y *O. tenuisporum* en la isla de Barro Colorado en Panamá, y *O. venezuelense* en un río de las montañas de Venezuela. Castañeda y colaboradores (2005b) encontraron un nuevo género *Zelotriadelphia* y dos especies nuevas, *Z. amoena* en hojas sumergidas en ríos de Cuba y uno de Venezuela, y a *Vanakripa fasciata* en madera sumergida en un río de Cuba. Ferrer y Shearer (2007) describieron dos especies de *Luttrellia*, *L. guttulata* y *L. halonata*, de madera sumergida en Costa Rica, Ecuador y Panamá. Ferrer y colaboradores (2007, 2008) reportaron a *Megalohypha aqua-dulces* y a *Lucidascocarpa pulchella*, nuevos géneros y especies de madera sumergida en Costa Rica, Ecuador y Panamá. Raja y colaboradores (2005, 2009b) describieron a *Aliquandostipite crystallinus* y a *Ayria nubispora*, dos especies nuevas de ascomicetes creciendo en madera sumergida en Costa Rica, Panamá y Venezuela. Los estudios de hongos dulceacuícolas con técnicas moleculares son escasos, uno de los

trabajos realizados fue el de Libkind y colaboradores (2003), quienes identificaron 15 especies de levaduras en diferentes cuerpos de agua en la Patagonia, Argentina mediante, el uso de mini y microsátélites.

En México, el estudio de los hongos dulceacuícolas es un área de investigación completamente nueva por lo que se conocen muy poco; los primeros trabajos están encaminados a la generación de nuevos registros de especies y de inventarios biológicos mediante el uso de técnicas tradicionales. El primer trabajo es el de Céspedes y Castillo (1982), en el que reportaron 18 especies de hongos, de los cuales, únicamente *Rhizophidium keratinophilum* (Chytridiales, Chytridiomycota) y *Allomyces neomoniliformis* (Blastocladales, Chytridiomycota) son hongos acuáticos estrictos; las especies restantes son oomicetes (Oomycota, Chromista) las cuales, en la actualidad, no se consideran verdaderos hongos. Castañeda y colaboradores (2004 y 2005a) reportaron tres hongos mitospóricos, *Corynespora aquatica*, *Idiella cagnizarii* y *Neta mexicana* en hojas sumergidas en los Tuxlas, Veracruz. Rosique-Gil (2008) registró 23 ascomicetes y 29 hongos mitospóricos en la Laguna de las Ilusiones en la ciudad de Villahermosa, Tabasco, y Rosique-Gil y colaboradores (2008) registraron tres ascomicetes, *Aniptodera inflatiascigera*, *Ascosacculus aquaticus* y *A. heteroguttulatus* en el mismo cuerpo de agua. Martínez (2009) encontró 13 ascomicetes y ocho hongos mitospóricos en un estanque con manatíes en la Reserva Ecológica Yumká, Tabasco. Algunos estudios han reportado hongos de origen terrestre en diferentes cuerpos de agua en México. Carranco y colaboradores (1984) registraron *Pythium* sp. (actualmente no considerado como un hongo) y 19 hongos terrestres de un sistema de estanques de estabilización de aguas residuales de Santo Tomás Atzingo, México. Martínez y colaboradores (1973), durante un estudio sobre los hongos filamentosos mitospóricos de origen terrestre del río Coatzacoalcos, realizado para conocer su posible uso como purificadores de las aguas contaminadas, aislaron 15 cepas que identificaron solamente hasta género y que pertenecen principalmente a *Penicillium* y *Aspergillus*. El empleo de técnicas moleculares es una herramienta que se ha usado poco en este campo, solamente se cuenta con el trabajo de Rodríguez (2007) quien analizó secuencias de ADN ribosomal para describir las poblaciones de hongos dulceacuícolas presentes en la laguna de Zempoala y en el lago de Chapala. Por lo anterior en el país se carece de oligos específicos que sirvan para detectar a los ascomicetes dulceacuicolas en muestras ambientales de agua.

En Xochimilco, se han llevado a cabo diversos estudios microbiológicos, p.e. Ortega y Villalpando (1984) investigaron la frecuencia de bacterias y de parásitos contaminantes en el agua de los canales; García y colaboradores (2002) determinaron los microorganismos presentes en vegetales que fueron regados con agua de los canales; y Juárez-Figueroa y colaboradores (2003) investigaron los microorganismos que podrían servir como indicadores microbiológicos de la calidad del agua. Otros

trabajos se han centrado sobre la calidad del agua, p.e. Balanzario-Zamorate (1976) y Pineda y colaboradores (1999) realizaron estudios sobre la contaminación de los canales y Pedraza-García (1995) evaluaron la calidad del agua a través de los parámetros fisicoquímicos.

En general, en Xochimilco se desconoce casi por completo la diversidad fúngica, solamente se han realizado cuatro trabajos. Heredia y colaboradores (1988) llevaron a cabo un estudio comparativo entre las comunidades fúngicas del suelo de las chinampas. Posteriormente, Chavarria (2003, 2005) inició el estudio de los hongos dulceacuícolas en Xochimilco y realizó dos estudios; en el primero, registró la micobiota del Canal Santa Cruz, del Canal Xaltocán y de la Laguna Xaltocán ubicados en la zona turística de Nuevo Nativitas, y en el segundo, describió la micobiota de dos canales y una laguna en Nativitas y tres cuerpos de agua del Parque Ecológico de Xochimilco. Posteriormente, González y Chavarria (2005) reportaron cuatro nuevos registros de ascomicetes de agua dulce para el Distrito Federal y Xochimilco: *Ascotaiwania lignicola*, *Jahnula poonythii*, *O. commune* y *Savoriella lignicola*.

### **3 IMPORTANCIA DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN**

El Canal Santa Cruz en Xochimilco, tiene gran importancia a nivel local, nacional e internacional debido a la intensidad de las diversas actividades turísticas que ofrece durante todo el año e incluso durante los recorridos nocturnos. El Canal Santa Cruz, también llamado Canal Nacional, es una imagen internacional de México por lo que es necesario conocer la biota que habita en ese ambiente, así como su ecología para lograr un manejo sostenible.

La diversidad fúngica que habita en el Canal Santa Cruz se conoce muy poco, a pesar de que su función ecológica es irremplazable al iniciar la degradación de los restos orgánicos junto con otros microorganismos. Debido a los escasos estudios sobre estos ascomicetes, también se desconoce su biogeografía, por lo que es necesario aportar información que amplíe el rango de distribución de varias especies a nivel nacional e internacional, muchas de las cuales se han reportado en diversos países del mundo de ambientes con poco o ningún grado de perturbación. Otro aspecto importante y de vanguardia que se encuentra en su inicio, es la generación de sondas específicas elaboradas a partir de ascomicetes que habitan en ambientes de agua dulce. Dichas sondas permitirán detectar los ascomicetes de muestras ambientales de agua de ambientes acuáticos de manera más rápida, y además, facilitará la construcción de genotecas.

Con base en todo lo anterior, se realizó este estudio en el que se analiza la diversidad de los ascomicetes que degradan la madera en varias regiones del canal turístico Santa Cruz con diferente tipo de actividad antropogénica, y durante la época de menor y mayor precipitación pluvial. Además, con este estudio se inició en México el proceso para obtener en el futuro una sonda molecular que permita un avance eficiente para lograr la conservación y un manejo adecuado de los ambientes de agua dulce lénticos, sobretodo en áreas muy perturbadas ubicadas en ambientes urbanos.

#### *Hipótesis:*

- Se obtendrá una diversidad alta de ascomicetes con base en las diferentes actividades antropogénicas que se desarrollan en el canal turístico Santa Cruz; el grupo de los ascomicetes de agua dulce considerados facultativos o de origen terrestre serán los más frecuentes debido al alto grado de perturbación del medio, mientras que los ascomicetes estrictos cuya presencia es característica en los cuerpos de agua no perturbados y que podrían indicar un buen funcionamiento ecológico de ese sistema, serán los menos frecuentes, considerados raros y en peligro de extinción.

- Se observará una diferencia significativa entre la diversidad de los ascomicetes que se registren en cada uno de los puntos de muestreo.
- Se registrará una mayor diversidad de los ascomicetes durante la época de mayor precipitación pluvial, debido a un incremento en la entrada de restos vegetales al canal, y en general, de material de origen diverso.
- Se obtendrá una sonda específica para detectar al menos un ascomicete en una muestra ambiental de agua del Canal Santa Cruz.

Para investigar los puntos anteriores se establecieron los siguientes objetivos:

- Evaluar la diversidad espacial y temporal de los hongos acuáticos, con énfasis en los ascomicetes que crecen sobre la madera en cuatro puntos del Canal Santa Cruz, Delegación de Xochimilco, Distrito Federal, con diferente actividad antropogénica durante las temporadas de menor y mayor precipitación anual.
- Elaborar una sonda de oligonucleótidos específicos a partir de una o más especies para poder recuperar estos organismos de muestras ambientales de agua.

## **4 MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1 DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO**

La Delegación de Xochimilco (Figura 1) se encuentra al sur de la Ciudad de México a una altura de 2,240 msnm y representa el 7.9% de la superficie de la ciudad. Sus coordenadas geográficas son al norte 19° 19', al sur 19° 09', al este 99° 00', al oeste 99° 09' de longitud oeste. Colinda al norte con las delegaciones Tlalpan, Coyoacán, Iztapalapa y Tláhuac; al este con las delegaciones Tláhuac y Milpa Alta; al sur con las delegaciones Milpa Alta y Tlalpan; y al oeste con la delegación Tlalpan. De acuerdo a la clasificación de García (1973) Xochimilco posee un clima templado subhúmedo con lluvias en verano (Cw1). La temperatura promedio es de 15° C, alcanzando los 21° C en el mes más caluroso (INEGI, 2008). La precipitación en la cuenca de Xochimilco es de unos 970 mm anuales en la zona lacustre y la concentración de lluvias ocurre entre los meses de junio a octubre principalmente (INEGI, 2008). La Delegación cuenta con una amplia red de canales primarios y secundarios que abarca 189 km de extensión, posee algunas lagunas, zonas chinamperas y nueve embarcaderos turísticos.

El Canal Santa Cruz (Figura 1) está ubicado en el sur de la zona metropolitana de la Ciudad de México, se encuentra dentro de la zona turística y es uno de los más frecuentados por visitantes locales, nacionales y extranjeros, convirtiéndolo en un lugar de gran importancia económica y cultural. La vegetación cercana al canal es variada y se pueden encontrar ahuejotes, casuarinas, eucaliptos y diferentes plantas ornamentales presentes en los diferentes jardines domésticos; además se observan invernaderos y algunas zonas de cultivo. Cuenta con tres embarcaderos el Santa Cruz, el San Nicolás y Nuevo Nativitas; posee una longitud de 2 km, una anchura de 8 a 10 m, y una profundidad de 40 cm a 1.70 m.

### **4.2 DIVERSIDAD DE LOS HONGOS DULCEACUÍCOLAS**

#### **4.2.1 MUESTREO**

En el Canal Santa Cruz se realizaron dos muestreos, en febrero y agosto del año 2007, que corresponden a los meses que han registrado la mínima y máxima precipitación de la temporada seca y de lluvias, respectivamente. En ambos muestreos se empleó y modificó el método de Jones (1971) que consiste en la sumersión e incubación de carnadas de madera. Se elaboraron 12 carnadas, cada una con seis bloques de madera de 10 cm de ancho × 20 cm de largo × 2 cm de espesor. A cada bloque se le realizaron dos perforaciones, la primera a 5 cm del borde superior y la segunda a 5 cm del borde inferior. Los seis bloques se alinearon a la altura de las perforaciones, se separaron con segmentos de

manguera de hule de 2 cm de largo, con el objeto de aumentar el área de colonización, y se unieron pasando por los orificios una cuerda de nylon. En el extremo inferior de la carnada se amarró un lastre

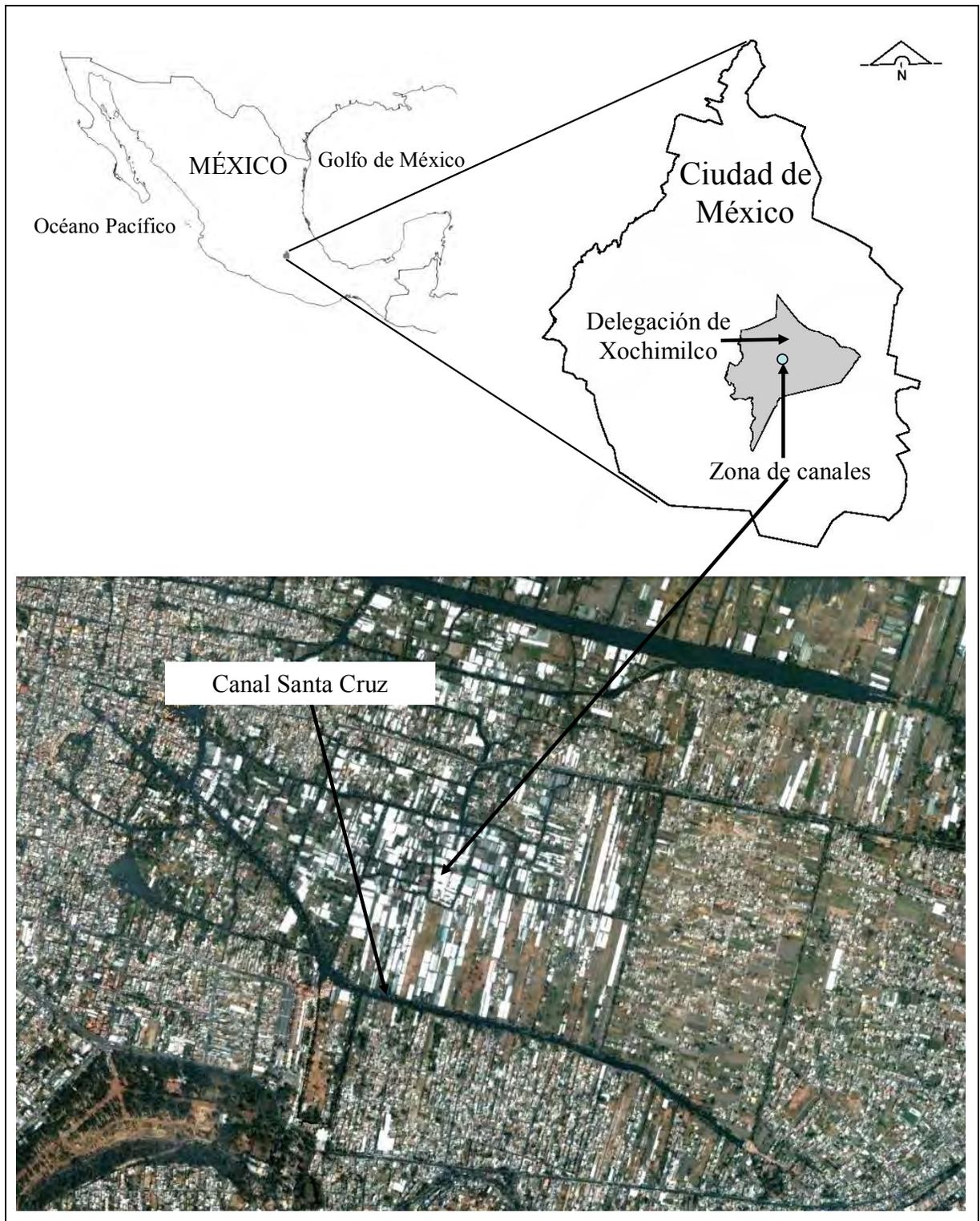


Fig. 1. Mapa que muestra la localización de la Ciudad de México, la Delegación de Xochimilco y el Canal Santa Cruz. Google Earth, 2009.

para mantenerla sumergida, mientras que la cuerda del extremo superior sirvió para sujetar la carnada a la orilla del canal (Figura 2). La modificación al método de Jones (1971) consistió en usar seis bloques de madera de tipos diferentes, tres de origen tropical: *Virola* sp., *Tabebuia donnell-smithii*, *Bucida buceras*, y tres de origen templado: *Pinus* sp., *Cupressus lindleyi* y *Abies religiosa* en lugar de dos bloques de un solo tipo de madera (*Pinus* sp.) con el objeto de tratar de obtener una mayor diversidad mediante este método.

Se utilizaron 12 carnadas para cada muestreo y se sumergieron un total de 144 bloques de madera.

#### **4.2.2 SUMERSIÓN DE LAS CARNADAS DE MADERA**

En ambos muestreos se establecieron cuatro estaciones a lo largo del Canal Santa Cruz (Figura 3) en lugares con diferente actividad antropogénica en sus márgenes (Figuras 4-7). En cada estación se sumergieron tres carnadas de madera y estas permanecieron sumergidas durante ocho semanas.

#### **4.2.3 PROCESAMIENTO E INCUBACIÓN DE LA MUESTRA**

Al término del periodo de sumersión, las carnadas se sacaron del agua, se desarmaron y cada bloque se colocó en una bolsa Zip-log® estéril para transportarlos al laboratorio donde se procesaron antes de 24 horas. Cada bloque de madera se lavó con agua de la llave y posteriormente se colocó en una caja estéril de plástico con tapa hermética y una toalla de papel estéril en el fondo la cual se humedeció con agua destilada estéril. Los bloques de madera colocados en estas cámaras húmedas se incubaron durante cuatro semanas bajo condiciones ambientales de laboratorio y condiciones normales de luz para permitir el desarrollo de los hongos. Al concluir el período de incubación la superficie de cada bloque se examinó con un estereomicroscopio Olympus B202, para localizar y fotografiar a diferentes magnificaciones las estructuras reproductoras meiospóricas y mitospóricas de los ascomicetes.

#### **4.2.4 IDENTIFICACIÓN DE LOS HONGOS DULCEACUÍCOLAS**

Los bloques incubados se examinaron cuidadosamente mediante microscopía de campo brillante, contraste diferencial de fases, campo oscuro y electrónica de barrido para poder localizar e identificar los hongos. De los hongos obtenidos se realizaron preparaciones las cuales se observaron y fotografiaron con un microscopio Olympus SZ-PT a diferentes magnificaciones. Se llevaron a cabo mediciones de las estructuras morfológicas para identificar los organismos mediante las claves de ascomicetes dulceacuícolas (Ho *et al.*, 1997; Cai *et al.*, 2003) y de hongos mitospóricos (Goh y Tsui, 2003), además de literatura especializada como artículos, monografías y otros tratados taxonómicos.

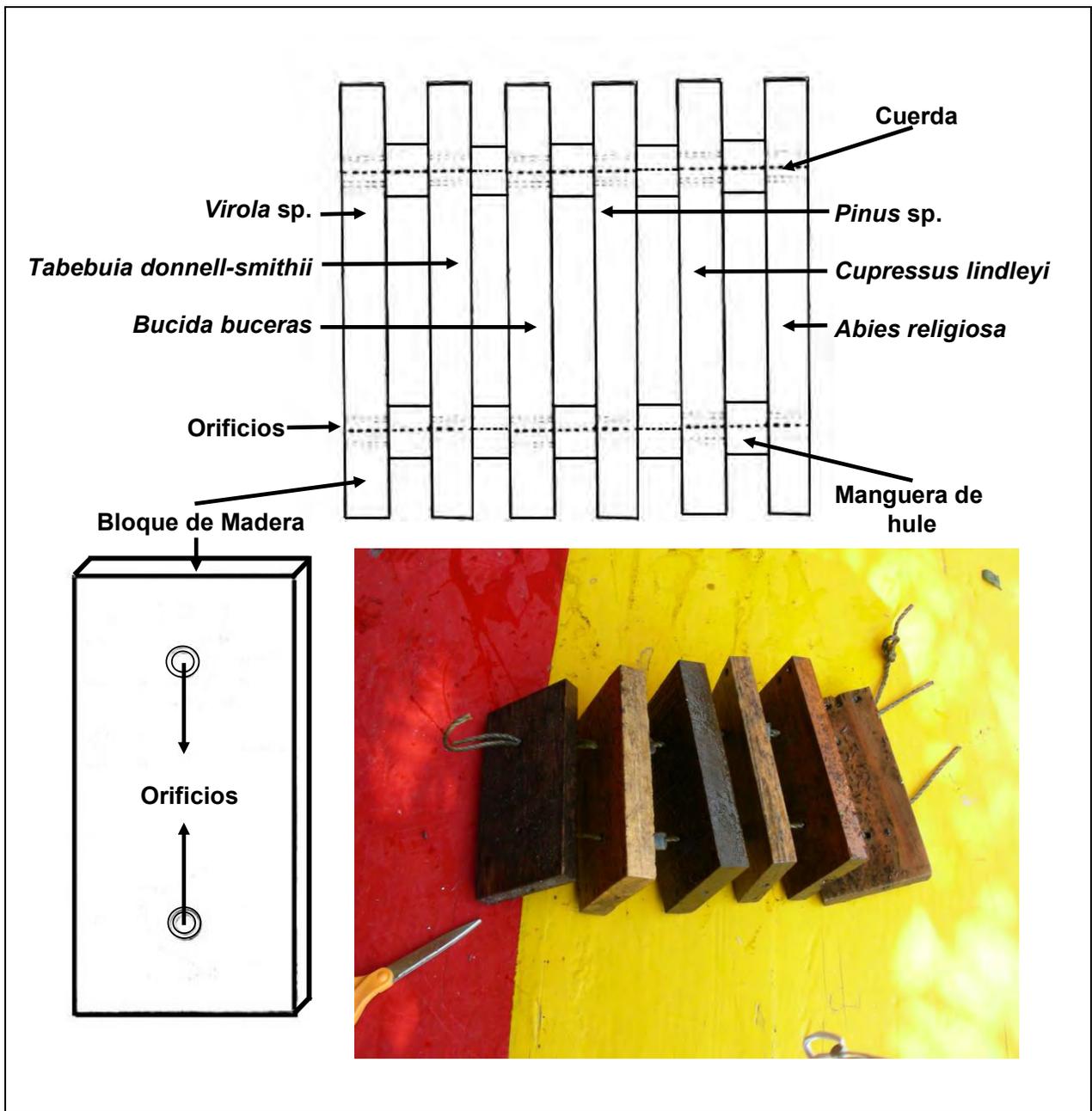


Fig. 2. Esquema de la carnada de madera empleada para obtener los hongos dulceacúcolas en el Canal Santa Cruz, Xochimilco.



Fig. 3. Foto aérea del Canal Santa Cruz que muestra los cuatro puntos de muestreo. INEGI, 2003.

#### **4.2.5 AISLAMIENTO Y CULTIVO DE LOS HONGOS DULCEACUÍCOLAS**

Cada especie fúngica diferente se aisló siguiendo la metodología propuesta por Choi y colaboradores (1999), se cultivó en cajas de Petri con medio Agar-V8 y se cuantificó su frecuencia de aparición sobre la madera.

#### **4.2.6 CONSERVACIÓN Y REGISTRO DE LOS MICROMICETES DULCEACUÍCOLAS**

Para conservar los hongos se realizaron preparaciones en lactofenol, alcohol polivinílico y de doble cubreobjetos (Volkman-Kohlmeier y Kohlmeier, 1996), asimismo se seleccionaron aquellos bloques de madera que sirvieran como ejemplares de herbario. Los bloques se deshidrataron y se colocaron en cajas de herbario las cuales se etiquetaron y se depositaron en el Herbario Nacional (MEXU).



Figs. 4-7. Estaciones de muestreo en el Canal Santa Cruz, Xochimilco. Fig. 4. Primera estación de muestreo cerca del embarcadero Santa Cruz. Fig. 5. Segunda estación de muestreo frente a la zona de invernaderos. Fig. 6. Tercera estación de muestreo junto a un invernadero. Fig. 7. Cuarta estación de muestro en el embarcadero San Cristóbal.

**4.3 DISEÑO DE UNA SONDA DE OLIGONUCLEÓTIDOS PARA IDENTIFICAR MICROMICETES DULCEACUÍCOLAS UTILIZANDO EL GEN 18S ADN**

*Selección de los hongos para la elaboración de la sonda.* Se seleccionaron dos de los hongos cuya identificación no fue posible a través de los métodos tradicionales. Estos organismos se cultivaron en medio líquido glucosa-extracto de levadura extracto de malta (GMY) con agitación constante durante cuatro días a 25° C.

*Extracción del ADN genómico de hongos.* El ADN genómico fue extraído utilizando un UltraClean Soil DNA Isolation Kit de la marca MO-BIO, y se siguieron las instrucciones suministradas por el fabricante.

*Amplificación y purificación del gen 18S ADNr.* Los genes 18S ADNr de cada hongo se amplificaron utilizando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se emplearon los oligonucleótidos

universales reportados por Borneman y Hartin (2000) bajo las siguientes condiciones: 95° C, 45 seg, 58° C, 45 seg y 72° C, 1 min durante 35 ciclos. Posteriormente se realizó un ciclo más a 72° C durante 10 min. Se prepararon dos soluciones stock con las siguientes concentraciones: 1µl de ADN genómico (100ng), buffer 1.5 µl (10X), dNTPS 1µl (10µm), oligonucleótidos 2µl (15pm) y enzima 2µl (5 U).

*Purificación de los Fragmentos Amplificados.* El producto del PCR se purificó a partir de un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio. Se empleó el QIAquick PCR purification kit de la marca QIAGEN, y se siguieron las instrucciones proporcionadas por el fabricante.

*Secuenciación.* El producto purificado se mandó a secuenciar a la Unidad de Síntesis del Instituto de Biotecnología de la UNAM (IBT-UNAM).

*Análisis de secuencias.* Se realizó un alineamiento de las secuencias obtenidas del gen 18S ADNr con el programa *Blast-N* (Zhang *et al.*, 2000) con secuencias de diferentes hongos y otros organismos publicadas en el GenBank.

*Diseño de los oligos específicos.* De los alineamientos obtenidos se determinaron las secuencias específicas para el gen 18S ARNr del hongo A8, y utilizando el programa *Oligos 6.2* (Kalendar *et al.*, 2009) para diseñar los oligonucleótidos específicos. Los oligonucleótidos se mandaron sintetizar a la Unidad de Síntesis del IBT-UNAM.

*Amplificación del gen 18S ARNr utilizando los oligonucleótidos específicos.* La amplificación se llevó a cabo por medio de PCR utilizando los oligonucleótidos 18SHg5 5' GGTTCTATTTTGGTTGTTTCTAGG 3' y el RvSpE 5' TAAGAAGCCAGCGGCCCGCAG 3', bajo las siguientes condiciones: 95° C, 45 seg, 62° C, 45 seg y 72° C, 1 min durante 35 ciclos. Posteriormente se realizó un ciclo más a 72° C durante 10 min.

#### **4.4 DETERMINACIÓN DE BACTERIAS COLIFORMES TOTALES Y FECALES**

Para determinar la cantidad de bacterias en cada estación de muestreo se tomaron muestras subsuperficiales de 500 ml del agua del Canal Santa Cruz, y se siguió la Técnica de Fermentación de Tubos Múltiples (APHA, 1992), y los resultados obtenidos se reportaron por el número más probable (NMP).

#### **4.5 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS**

Para poder evaluar de una forma más completa la diversidad y abundancia de los hongos con relación a su distribución espacial y temporal en los dos muestreos, se determinaron *in situ* y a la misma hora del día el pH, oxígeno disuelto y temperatura del agua, en cada estación con un oxímetro portátil YSI Model 51B.

En ambos muestreos se tomaron muestras de 500 ml de agua subsuperficial en cada estación para medir en el laboratorio la materia orgánica disuelta mediante la Demanda Química de Oxígeno por la Técnica de Reflujo. De la misma forma se tomaron muestras de agua para evaluar el fósforo soluble por la Técnica del Ácido Ascórbico (APHA, 1992).

#### **4.6 ANÁLISIS DE LOS DATOS**

Para evaluar la diversidad de los ascomicetes del Canal Santa Cruz, los valores se ordenaron por estaciones de muestreo en las matrices de datos para el análisis espacial, y por temporadas de secas y lluvias, para la evaluación temporal. Los datos se analizaron aplicando los mismos análisis estadísticos, pero los resultados se interpretaron en forma diferente, respectivamente. La abundancia de las especies (n) se expresó como el número de frecuencias individuales de una especie. La abundancia relativa (AR), la cual se expresó como porcentaje, permitió identificar a las especies dominantes comunes y raras.

Para comparar la abundancia relativa de las especies y la abundancia de las especies principales que incidieron en más de una muestra, las especies se acomodaron en orden descendente según su abundancia. Para enfatizar los hongos dominantes y los raros, la abundancia total de cada especie se presentó en orden descendente (Bills y Polishook, 1994).

Para analizar la similitud entre las cuatro estaciones de muestreo se aplicó el índice de similitud de Sørensen (1948). Este índice se expresa como valores que van de 0 a 100, para cuantificar desde la disimilitud total hasta la semejanza completa, respectivamente (Halffter y Ezcurra 1992).

$$S = 2C / a + b \times 100$$

donde:

S= Índice de similitud de Sørensen.

C= Número de géneros comunes para ambos puntos de recolección.

a= Número de géneros de un punto de recolección.

b= Número de géneros de otro punto de recolección.

Para conocer la diversidad en cada una de las estaciones de muestreo y en las dos temporadas se aplicó el índice de diversidad de Shannon y Weaver (1949).

$$H = -\sum_{i=1}^s (p_i) (\log_2 p_i)$$

donde:

H= Índice de diversidad de Shannon.

s= Número de especies.

$p_i$ = Proporción del número de individuos de la especie  $i$  con respecto al total

Para conocer si hubo diferencias significativas entre la diversidad en las temporadas de secas y lluvias y además entre cada una de las estaciones de muestro se aplicó un análisis de varianza (ANOVA), efectuado con el programa *Statistica* versión 8.0 (StatSoft, Inc., 2007).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 DIVERSIDAD DE LOS MICROMICETES DULCEACUÍCOLAS LIGNÍCOLAS DEL CANAL SANTA CRUZ

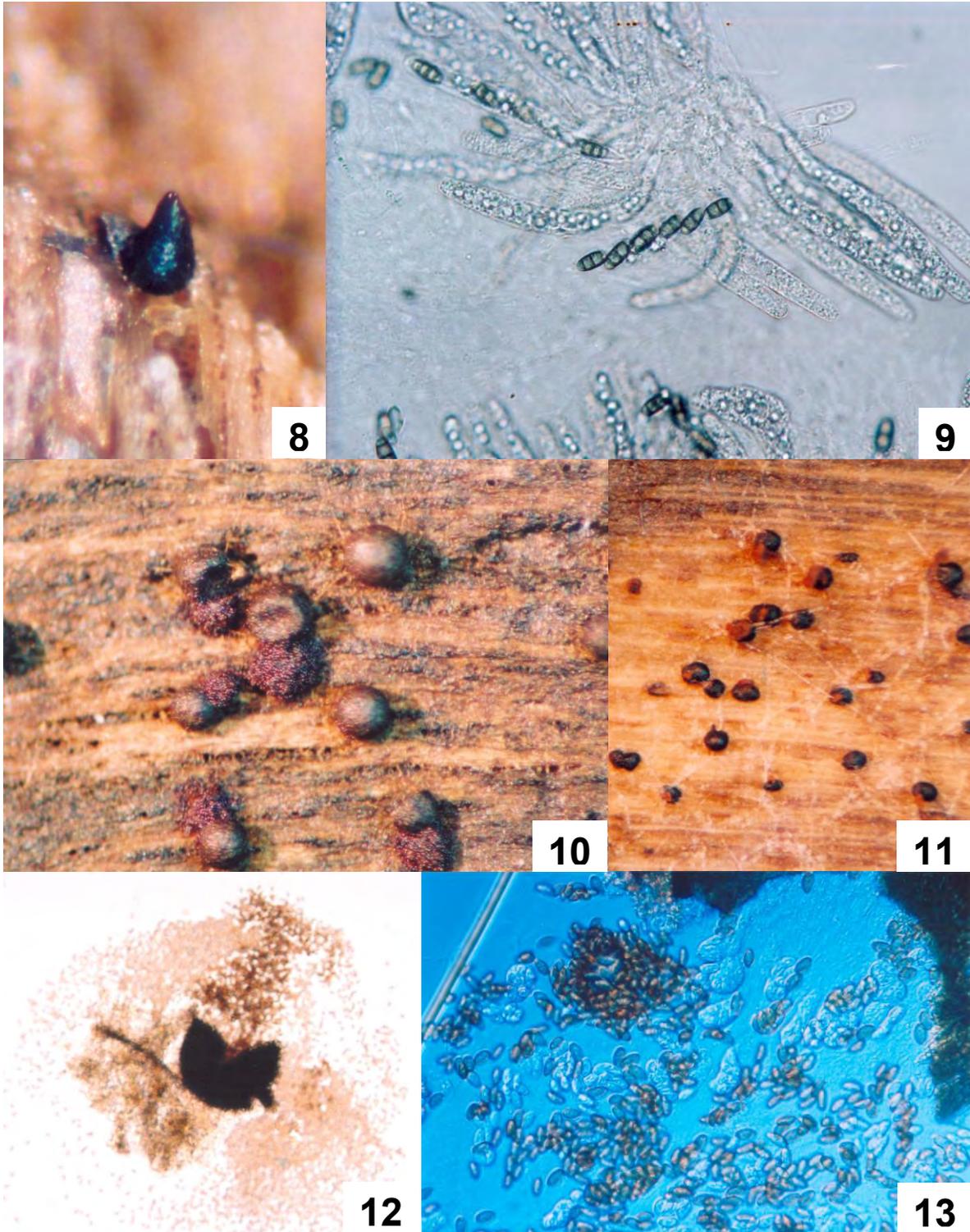
Como resultado general de los dos muestreos realizados en el Canal Santa Cruz se sumergieron 144 bloques de madera (24 carnadas totales), se recuperaron 126 bloques (21 carnadas) y de estos solamente 116 bloques presentaron crecimiento fúngico. Se registraron un total de 28 ascomicetes (13 meiospóricos y 15 mitospóricos) (Tabla 1) (Figuras 8-32).

Tabla 1. Ascomicetes dulceacuícolas lignícolas registrados en la temporada seca y de lluvias en el Canal Santa Cruz, Xochimilco, Distrito Federal, México.

Reino Fungi	Orden	Familia	Genero y Especie
<b>Phylum Ascomycota</b>			
<b>Clase Ascomycete</b>			
	Incertae sedis	Incertae sedis	<i>Trichocladium</i> sp. <sup>MI</sup>
<b>Clase Dothideomycetes</b>			
<b>Subclase Pleosporomycetidae</b>			
	Capnodiales	Mycosphaerellaceae	<i>Passalora clematidis</i> (R.K. Verma & Kamal) U. Braun & Crous, 2003 <sup>MI</sup>
	Pleosporales	Tubeufiaceae	<i>Helicosporium</i> sp. <sup>MI</sup>
		Incertae sedis	<i>Phoma</i> sp. <sup>MI</sup> <i>Dictyosporium</i> sp. <sup>MI</sup>
		Massarinaceae	<i>Massarina</i> sp. <sup>ME</sup>
		Mytiliniaceae	<i>Taeniolella rudis</i> (Sacc.) S. Hughes, 1958 <sup>MI</sup>
	Incertae sedis	Incertae sedis	<i>Bactrodesmium</i> sp. <sup>MI</sup> <i>Monotosporella</i> sp. <sup>MI</sup>
<b>Clase Eurotiomycetes</b>			
<b>Subclase Eurotiomycetidae</b>			
	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Penicillium</i> sp. <sup>MI</sup>
<b>Clase Sordariomycetes</b>			
<b>Subclase Sordariomycetidae</b>			
	Diaporthales		

		Diaporthaceae	<i>Phomopsis</i> sp. <sup>MI</sup>
	Sordariales	Incertae sedis	<i>Ascolacicola aquatica</i> Ranghoo & K.D. Hyde, 1998 <sup>ME</sup> <i>Conioscyphascus</i> <i>varius</i> Réblová & Seifert, 2004 <sup>ME</sup>
		Lasiochaeraceae	<i>Bombardia</i> sp. <sup>ME</sup> <i>Podospora</i> sp. <sup>ME</sup> <i>Lasiochaeria</i> sp. <sup>ME</sup>
		Chaetomiaceae	<i>Chaetomium globosum</i> Kunze, 1817 <sup>ME</sup>
	Incertae sedis	Magnaporthaceae	<i>Ophioceras commune</i> Shearer, J.L. Crane & W. Chen, 1999 <sup>ME</sup>
<b>Subclase Hypocreomycetidae</b>	Hypocreales	Nectriaceae	<i>Nectria rishbethii</i> C. Booth, 1959 <sup>ME</sup> <i>Fusarium</i> sp. <sup>MI</sup>
	Microascales	Ceratosystidaceae	<i>Ceratosystis</i> sp. <sup>ME</sup>
		Microascaceae	<i>Graphium</i> sp. <sup>MI</sup> <i>Petriella guttulata</i> G.L. Barron & Cain, 1961 <sup>ME</sup>
		Halosarphariaceae	<i>Naïs inornata</i> Kohlm., 1962 <sup>ME</sup>
<b>Incertae sedis</b>	Incertae sedis	Incertae sedis	<i>Triadelphia uniseptata</i> (Berk. & Broome) P.M. Kirk, 1983 <sup>MI</sup>
<b>Clase Orbiliomycetes</b>			
<b>Subclase Orbiliomycetidae</b>	Orbiliales	Orbiliaceae	<i>Arthrobotrys</i> <i>oligospora</i> Fresen, 1850 <sup>MI</sup>
<b>Ascomycetes no identificados</b>			<b>AME</b> <b>AMI</b>

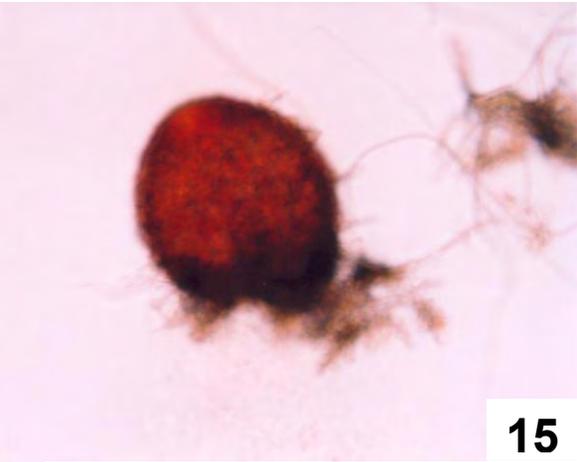
AME = ascomicete meispórico, AMI = ascomicete mitospórico, <sup>ME</sup> = ascomicete meispórico, <sup>MI</sup> = ascomicete mitospórico.



Figs. 8-9. *Ascolacicola aquatica*. Fig. 8. Ascoma sobre la madera,  $\times 64$ . Fig. 9. Ascas con ascosporas,  $\times 121$ . Fig. 10. *Podospora* sp. Peritecios con cirro creciendo sobre la madera,  $\times 10$ . Figs. 11-13. *Petriella guttulata*. Fig. 11. Ascomas creciendo sobre la madera,  $\times 5$ . Fig. 12. Ascoma y ascosporas,  $\times 15$ . Fig. 13. Ascosporas  $\times 83$ .



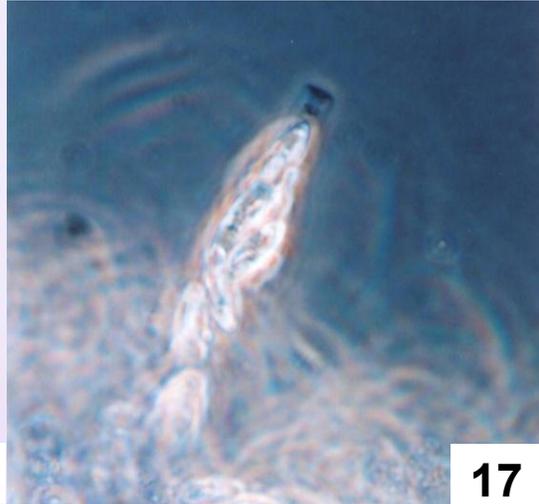
14



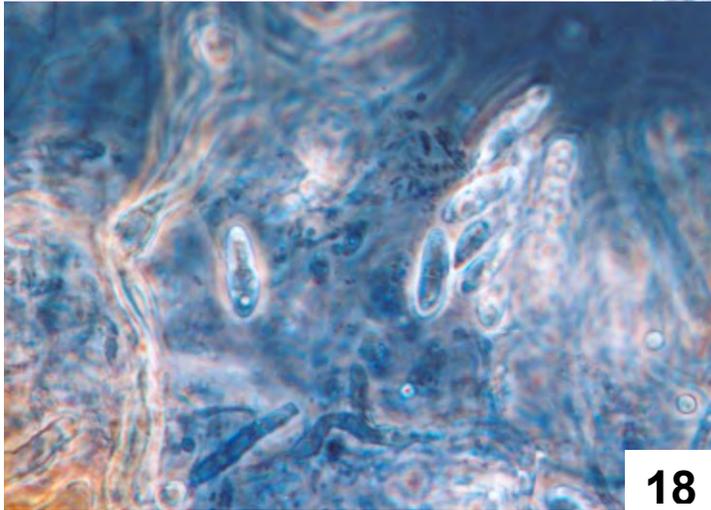
15



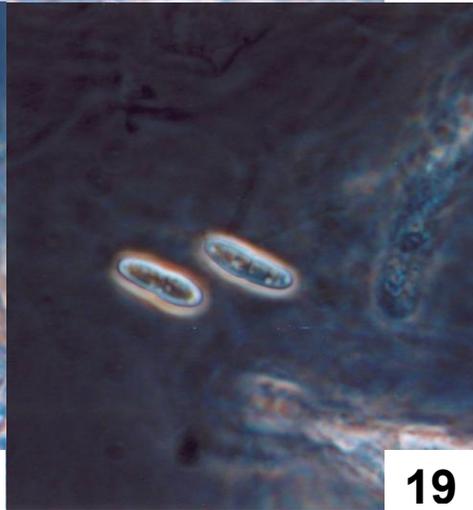
16



17

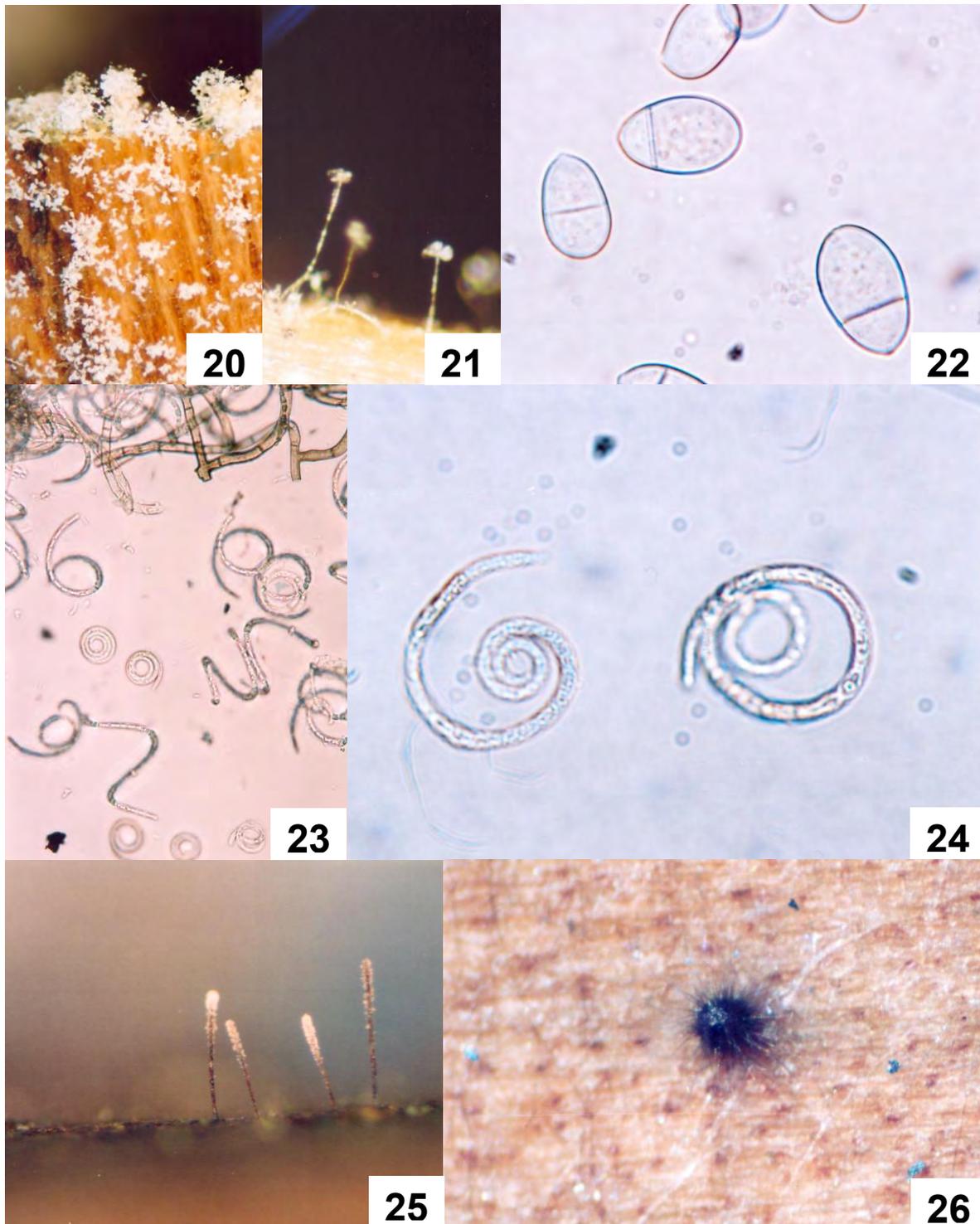


18

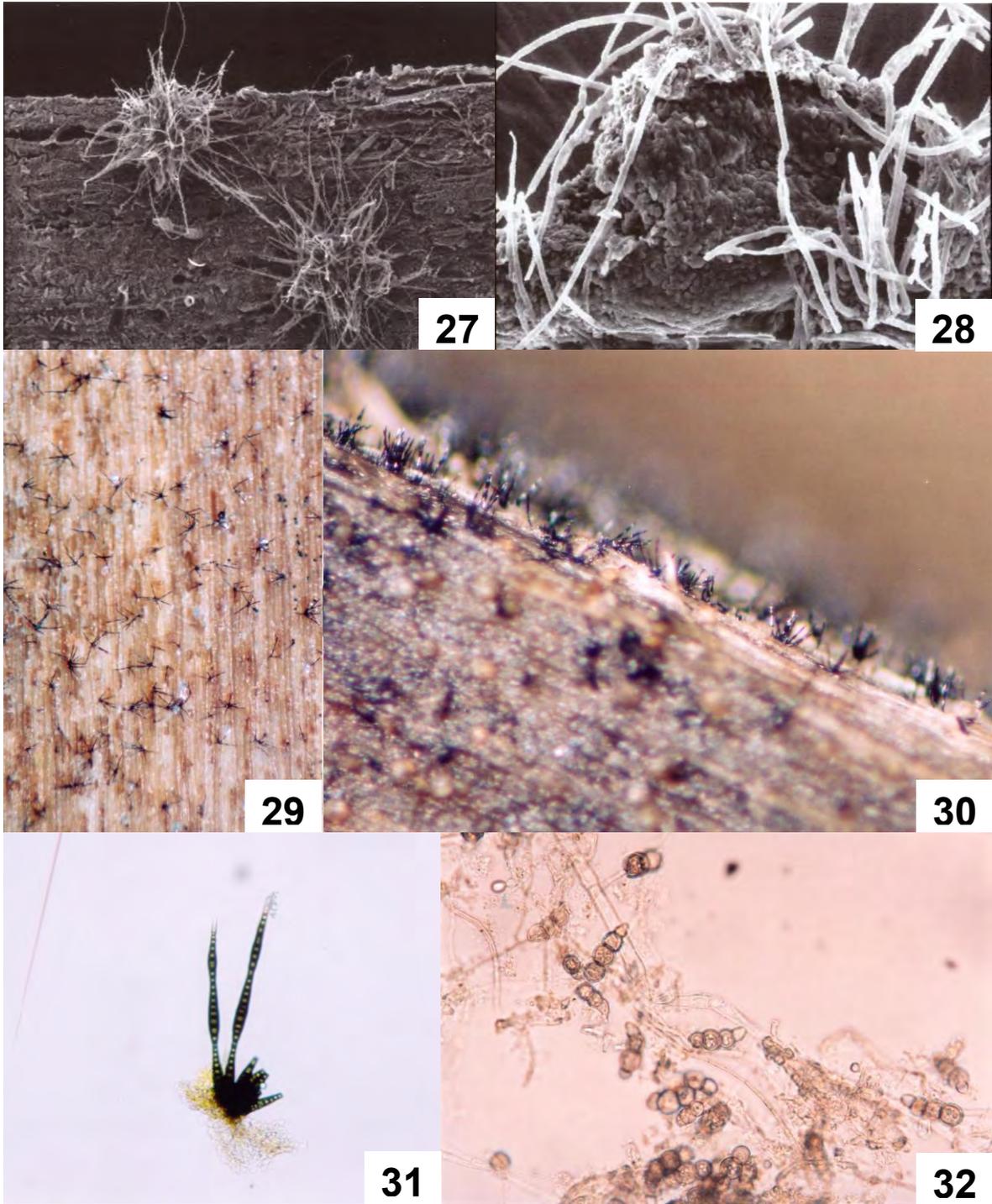


19

Figs. 14-19. *Nectria rishbethii*. Fig. 14. Ascomas creciendo sobre la madera,  $\times 85$ . Fig. 15. Ascoma maduro,  $\times 110$ . Fig. 16. Ascoma abierto,  $\times 140$ . Fig. 17. Asca con ascosporas,  $\times 1100$ . Figs. 18-19. Ascosporas,  $\times 1000$ ,  $\times 1200$ .



Figs. 20-22. *Arthrotrrys oligospora*. Fig. 20. Colonia creciendo sobre la madera,  $\times 5$ . Fig. 21. Conidióforos maduros,  $\times 57$ . Fig. 22. Conidiosporas,  $\times 716$ . Figs. 23-24. *Helicosporium* sp. Conidiosporas maduras de  $\times 500$ ,  $\times 1250$ . Fig. 25. *Passalora clematidis*. Sinemas creciendo sobre la madera,  $\times 12$ . Fig. 26. *Phoma* sp. Picnidio creciendo sobre la madera,  $\times 50$ .



Figs. 27-28. *Phoma* sp. Fig. 27. Fotomicrografía electrónica de barrido de los picnidios,  $\times 68$ . Fig. 28. Fotomicrografía electrónica de barrido del picnidio y las conidiosporas,  $\times 130$ . Figs. 29-31. *Taeniolella rudis*. Figs. 29-30. Racimos de conidióforos creciendo sobre la madera,  $\times 81$ ,  $\times 135$ . Fig. 31. Cadenas de macroconidios,  $\times 250$ . Fig. 32. *Trichocladium* sp. conidiosporas,  $\times 360$ .

## 5.2 EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD

Las especies que presentaron la mayor abundancia fueron *Passalora clematidis* (18%), *Arthrotrrys oligospora* (14.4%), *Phoma* sp. (13.3%) y *Graphium* sp. (11.7%), mientras que *Ceratocystis* sp. (0.3%), *Lasiosphaeria* sp. (0.3%), *Nectria rishbethii* (0.3%), *Dictyosporium* sp. (0.3%) y *Ophioceras commune* (0.3%) registraron la menor abundancia (Tabla 2).

La curva de acumulación de especies que se obtuvo a partir de los datos registrados en ambos muestreos indica que el número de unidades de muestra empleadas proporcionan una estimación confiable de la comunidad de hongos del Canal Santa Cruz (Figura 33).

Se obtuvieron nueve ascomicetes dulceacuícolas estrictos, 10 ascomicetes dulceacuícolas facultativos, siete especies terrestres y dos hongos sin identificar.

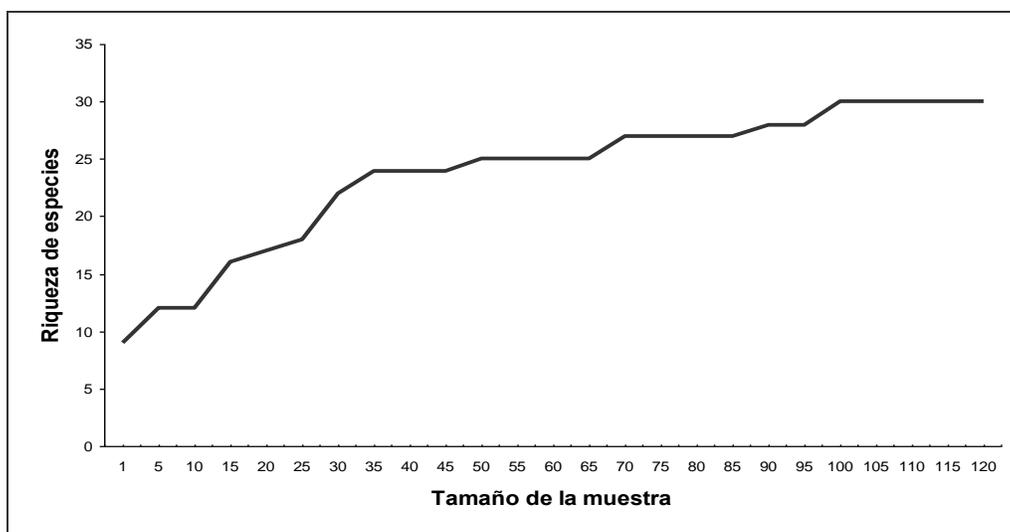


Fig. 33. Curva de acumulación de los hongos registrados en las dos temporadas en el Canal Santa Cruz, Xochimilco, México.

### 5.2.1 EVALUACIÓN TEMPORAL DURANTE LA TEMPORADA SECA Y DE LLUVIAS

En la temporada seca se sumergieron 72 bloques de madera (12 carnadas) los cuales se recuperaron en su totalidad. Se registró la mayor diversidad con 24 ascomicetes y la mayor abundancia. Se encontraron siete especies dulceacuícolas estrictas y ocho facultativas (Tabla 3). *Passalora clematidis*, *Phoma* sp. y *Graphium* sp. fueron los más abundantes. *Ceratocystis* sp., *N. rishbethii* y *Dictyosporium* sp. registraron la menor abundancia. *Monotosporella* sp., *Bombardia* sp., *Massarina* sp., *C. globosum*, *Fusarium* sp., *Helicosporium* sp., *Penicillium* sp. *Ceratocystis* sp., *N. rishbethii* y *Dictyosporium* sp. solamente se registraron en esta temporada (Tabla 4). Únicamente tres especies estrictas *Monotosporella* sp., *Bombardia* sp. y *Massarina* sp., y dos facultativas *N. rishbethii* y *Dictyosporium* sp. se encontraron en la temporada seca (Tabla 4).

En la temporada de lluvias se sumergieron 72 bloques de madera y solamente se recuperaron 54. Se registró la menor diversidad con 18 ascomicetes y la menor abundancia. Se encontraron seis especies dulceacuícolas estrictas y seis facultativas (Tabla 3). *Arthrotrrys oligospora* y *P. clematidis* fueron los hongos más abundantes. *Petriella guttulata*, *Taeniolella rudis*, *Lasiochaeria* sp. y *O. commune* registraron la menor abundancia (Tabla 4). *Bactrodesmium* sp., *Conioscyphaeus varius*, *Lasiochaeria* sp. y *O. commune* solamente se registraron en esta temporada. Solamente dos especies estrictas, *Bactrodesmium* sp. y *O. commune*, y dos facultativas, *C. varius*, *Lasiochaeria* sp. se reportaron en esta temporada.

Tabla 2. Abundancia y diversidad de los ascomicetes registrados en el Canal Santa Cruz, Xochimilco, Distrito Federal, México.

<b>Ascomicetes</b>	<b>Abundancia (n)</b>	<b>Frecuencia (%)</b>
<i>Passalora clematidis</i>	54	18.0
<i>Arthrotrrys oligospora</i>	43	14.4
<i>Phoma</i> sp.	40	13.3
<i>Graphium</i> sp.	35	11.7
<i>Phomopsis</i> sp.	21	7.0
<i>Petriella guttulata</i>	16	5.3
<i>Ascolacicola aquatica</i>	12	3.6
<i>Podospora</i> sp.	11	3.6
AMI no identificado	10	3.3
<i>Bactrodesmium</i> sp.	8	2.6
<i>Monotosporella</i> sp.	6	2.0
<i>Naïs inornata</i>	5	1.6
<i>Taeniolella rudis</i>	5	1.6
<i>Trichocladium</i> sp.	5	1.6
<i>Triadelphia uniseptata</i>	4	1.3
<i>Bombardia</i> sp.	3	1.0
<i>Massarina</i> sp.	3	1.0
AME no identificado	3	1.0
<i>Chaetomium globosum</i>	2	0.6
<i>Fusarium</i> sp.	2	0.6
<i>Helicosporium</i> sp.	2	0.6
<i>Penicillium</i> sp.	2	0.6
<i>Conioscyphaeus varius</i>	2	0.6
<i>Ceratocystis</i> sp.	1	0.3
<i>Lasiochaeria</i> sp.	1	0.3
<i>Nectria rishbethii</i>	1	0.3
<i>Dictyosporium</i> sp.	1	0.3
<i>Ophioceras commune</i>	1	0.3
<b>Frecuencias totales</b>	<b>299</b>	
<b>% de frecuencias</b>		<b>100</b>
<b>Número total de ascomicetes</b>	<b>28</b>	

AME = ascomicete meispórico, AMI = ascomicete mitospórico.

Se registraron 14 hongos comunes para ambos muestreos: *P. clematidis*, *A. oligospora*, *Phoma* sp., *Graphium* sp., *Phomopsis* sp., *P. guttulata*, *A. aquatica*, *Podospora* sp., *N. inornata*, *T. rudis*,

*Trichocladium* sp., *T. uniseptata*, AMI no identificado y AME no identificado. Se registraron cuatro ascomicetes dulceacuícolas estrictos y cuatro facultativos en común en ambos muestreos (Tabla 4).

El Índice de Diversidad de Shannon calculado para las dos temporadas indicó que la mayor diversidad se obtuvo en la temporada seca ( $H' = 1.144$ ) y la menor en la época de lluvias ( $H' = 0.804$ ) (Tabla 4). El Índice de Similitud de Sørensen mostró una ligera similitud entre ambas temporadas ( $S' = 66.6$ ).

Tabla 3. Diferentes grupos ecológicos de hongos registrados durante la temporada seca y de lluvias en el Canal Santa Cruz, Xochimilco, Distrito Federal, México.

Ascomicetes	Temporada Seca	Temporada Lluvias
<i>Ascolacicola aquatica</i> *	X	X
<i>Bactrodesmium</i> sp.*		X
<i>Bombardia</i> sp.*	X	
<i>Massarina</i> sp.*	X	
<i>Monotosporella</i> sp.*	X	
<i>Nais inornata</i> *	X	X
<i>Ophioceras commune</i> *		X
<i>Trichocladium</i> sp.*	X	X
<i>Triadelphia uniseptata</i> *	X	X
<i>Chaetomium globosum</i> **	X	
<i>Conioscyphascus varius</i> **		X
<i>Dictyosporium</i> sp.**	X	
<i>Helicosporium</i> sp.**	X	
<i>Lasiosphaeria</i> sp.**		X
<i>Nectria rishbethii</i> **	X	
<i>Passalora clematidis</i> **	X	X
<i>Phoma</i> sp.**	X	X
<i>Phomopsis</i> sp.**	X	X
<i>Taeniolella rudis</i> **	X	X
<i>Arthrobotrys oligospora</i> ***	X	X
<i>Ceratocystis</i> sp.***	X	
<i>Fusarium</i> sp.***	X	
<i>Graphium</i> sp.***	X	X
<i>Petriella guttulata</i> ***	X	X
<i>Penicillium</i> sp.***	X	
<i>Podospora</i> sp.***	X	X
AMI no Identificado	X	X
AME no Identificado	X	X

AME = ascomicete meisporico, AMI = ascomicete mitosporico, \* = ascomicete dulceacuícola estricto, \*\* = ascomicete dulceacuícola facultativo, \*\*\* = ascomicete terrestre.

## 5.2.2 EVALUACIÓN ESPACIAL EN EL CANAL SANTA CRUZ

Se registraron diversas especies dulceacuícolas estrictas, facultativas y terrestres en las cuatro estaciones de muestreo (Tabla 5). Como resultado del análisis de los dos muestreos la segunda estación presentó la mayor abundancia (28.7%), mientras que la menor se registró en la cuarta estación (22.4%). La mayor diversidad de ascomicetes se obtuvo en la tercera estación con 22 especies y la menor en la primera estación con 13 especies (Tabla 6).

Las especies más abundantes en todas las estaciones fueron: *P. clematidis*, *A. oligospora* y *Phoma* sp. (Tabla 6). Las especies que sólo se registraron una vez fueron: *Lasiosphaeria* sp., *N. rishbethii*, *Dictyosporium* sp. y *O. commune*. Se registraron nueve especies comunes para las cuatro estaciones de muestreo: *P. clematidis*, *A. oligospora*, *Phoma* sp., *Graphium* sp., *Phomopsis* sp., *P. guttulata*, *A. aquatica*, *Podospora* sp., y *Trichocladium* sp. (Tabla 6).

Las estaciones que presentaron la mayor diversidad de ascomicetes dulceacuícolas estrictos fueron la tercera con ocho especies y la segunda con siete. La menor diversidad se presentó en la primera estación con cuatro especies (Tabla 6). La mayor abundancia se registró en la segunda estación y la menor en la primera. Solamente *A. aquatica* y *Trichocladium* sp. se presentaron en las cuatro estaciones (Tabla 6).

La estación que presentó la mayor diversidad de ascomicetes dulceacuícolas facultativos fue la tercera con ocho especies; la menor diversidad se obtuvo en la primera estación. La mayor abundancia se registró en las primeras tres estaciones y la menor en la cuarta estación. Solamente *P. clematidis*, *Phoma* sp. y *Phomopsis* sp. se presentaron en las cuatro estaciones (Tabla 6).

El Índice de Diversidad de Shannon calculado para los cuatro puntos de muestreo indicó que la mayor diversidad se obtuvo en la tercera estación ( $H' = 1.152$ ) y la menor diversidad en la primera estación ( $H' = 0.976$ ) (Tabla 6). El Índice de Similitud de Sørensen mostró que la segunda y tercera estación presentaron la mayor similitud, mientras que la primera y segunda estación, y la primera y tercera estación presentaron la menor similitud (Tabla 7).

Se registraron los valores de diversos parámetros abióticos y bióticos en cada estación de muestreo así como los datos de precipitación para las dos temporadas del año (Tabla 8).

El Análisis de Varianza mostró que no hubo diferencias significativas entre la diversidad registrada en cada una de las estaciones de muestreo ( $P = 0.20029$ ), ni entre los dos muestreos ( $P = 0.4450$ ).

### **5.3 PREFERENCIA POR EL TIPO DE MADERA**

La madera que presentó la mayor abundancia y diversidad de especies fue *Virola* sp., seguida por *B. buceras* y *Pinus* sp. La menor diversidad se registró en *C. lindleyi*, mientras que en *A. religiosa* se obtuvo la menor abundancia (Tabla 9).

Tabla 4. Abundancia y diversidad de los ascomicetes registrados durante la temporada seca y de lluvias en el Canal Santa Cruz, Xochimilco, Distrito Federal, México.

Ascomicetes	Temporada	Temporada	Abundancia (n)	Frecuencia (%)
	Seca	Lluvias		
<i>Passalora clematidis</i>	31	23	54	18.0
<i>Arthrobotrys oligospora</i>	16	27	43	14.4
<i>Phoma</i> sp.	26	14	40	13.3
<i>Graphium</i> sp.	23	12	35	11.7
<i>Phomopsis</i> sp.	11	10	21	7.0
<i>Petriella guttulata</i>	15	1	16	5.3
<i>Ascolacicola aquatica</i>	1	11	12	3.6
<i>Podospora</i> sp.	9	2	11	3.6
AMI no identificado	9	1	10	3.3
<i>Bactrodesmium</i> sp.	0	8	8	2.6
<i>Monotosporella</i> sp.	6	0	6	2.0
<i>Naís inornata</i>	2	3	5	1.6
<i>Taeniolella rudis</i>	4	1	5	1.6
<i>Trichocladium</i> sp.	3	2	5	1.6
<i>Triadelphia uniseptata</i>	2	2	4	1.3
<i>Bombardia</i> sp.	3	0	3	1.0
<i>Massarina</i> sp.	3	0	3	1.0
AME no identificado	2	1	3	1.0
<i>Chaetomium globosum</i>	2	0	2	0.6
<i>Fusarium</i> sp.	2	0	2	0.6
<i>Helicosporium</i> sp.	2	0	2	0.6
<i>Penicillium</i> sp.	2	0	2	0.6
<i>Conioscyphascus varius</i>	0	2	2	0.6
<i>Ceratocystis</i> sp.	1	0	1	0.3
<i>Lasiochaeria</i> sp.	0	1	1	0.3
<i>Nectria rishbethii</i>	1	0	1	0.3
<i>Dictyosporium</i> sp.	1	0	1	0.3
<i>Ophioceras commune</i>	0	1	1	0.3
<b>Frecuencias totales</b>	<b>177</b>	<b>122</b>	<b>299</b>	
<b>% de frecuencias</b>	<b>59.2</b>	<b>40.8</b>		<b>100</b>
<b>Número total de ascomicetes</b>	<b>28</b>			
<b>Número total de ascomicetes por muestreo</b>	<b>24</b>	<b>18</b>		
<b>Índice de Diversidad (<math>H'</math>)</b>	<b>1.144</b>	<b>1.009</b>		
<b>Equitatividad (<math>J'</math>)</b>	<b>0.829</b>	<b>0.804</b>		

AME = ascomicete meispórico, AMI = ascomicete mitospórico.

Los hongos que presentaron la mayor abundancia sobre las diferentes maderas fueron: *P. clematidis* en *Virola* sp., *B. buceras* y *Pinus* sp.; *A. oligospora* en *T. donnell-smithii*; *Phoma* sp. y *P. guttulata* en *B. buceras*; y *Phomopsis* sp. en *C. lindleyi*. Las únicas especies que crecieron en los seis tipos de madera fueron: *P. clematidis*, *A. oligospora*, *Phoma* sp., *Graphium* sp. y *Graphium* sp. y *Phomopisi* sp. Los hongos que registraron la menor abundancia y crecieron una sola vez sobre un solo tipo de madera fueron: *Ceratocystis* sp., *Lasiochaeria* sp., *N. rishbethii*, *Dictyosporium* sp. y *O. commune* (Tabla 9).

La madera *Virola* sp. registró la mayor diversidad (7 taxa) y abundancia de especies dulceacuícolas estrictas, mientras que *T. donnell-smithii* presentó la menor diversidad (2 taxa) y *C. lindleyi* la menor abundancia. Ninguna especie dulceacuícola estricta se obtuvo en todos los tipos de madera. La mayor diversidad de especies dulceacuícolas facultativas también se obtuvo en *Virola* sp., (7 taxa) y la menor en *C. lindleyi* (3 taxa). La mayor abundancia se presentó en *Virola* sp., y *B. buceras* y la menor en *T. donnell-smithii*. Solamente tres especies facultativas se registraron en todos los tipos de madera (Tabla 9).

Tabla 5. Diferentes grupos ecológicos de hongos registrados en las cuatro estaciones durante los dos muestreos en el Canal Santa Cruz, Xochimilco, Distrito Federal, México.

Ascomicetes	Estaciones de muestro			
	1	2	3	4
<i>Ascolacicola aquatica</i> *	x	x	x	x
<i>Bactrodesmium</i> sp.*		x	x	x
<i>Bombardia</i> sp.*		x		
<i>Massarina</i> sp.*	x		x	x
<i>Monotosporella</i> sp.*		x	x	x
<i>Naïs inornata</i> *		x	x	x
<i>Ophioceras commune</i> *			x	
<i>Trichocladium</i> sp.*	x	x	x	x
<i>Triadelphia uniseptata</i> *		x	x	
<i>Chaetomium globosum</i> **		x	x	
<i>Conioscyphascus varius</i> **	x			
<i>Dictyosporium</i> sp.**				x
<i>Helicosporium</i> sp.**			x	
<i>Lasiosphaeria</i> sp.**			x	
<i>Nectria rishbethii</i> **			x	
<i>Passalora clematidis</i> **	x	x	x	x
<i>Phoma</i> sp.**	x	x	x	x
<i>Phomopsis</i> sp.**	x	x	x	x
<i>Taeniolella rudis</i> **	x	x	x	
<i>Arthrobotrys oligospora</i> ***	x	x	x	x
<i>Ceratocystis</i> sp.***				x
<i>Fusarium</i> sp.***		x	x	x
<i>Graphium</i> sp.***	x	x	x	x
<i>Petriella guttulata</i> ***	x	x	x	x
<i>Penicillium</i> sp.***	x			
<i>Podospora</i> sp.***	x	x	x	x
AMI no Identificado		x	x	x
AME no Identificado		x		

AME = ascomicete meispórico, AMI = ascomicete mitospórico, \* = ascomicete dulceacuícola estricto, \*\* = ascomicete dulceacuícola facultativo, \*\*\* = ascomicete terrestre.

El Índice de Diversidad de Shannon calculado para los seis tipos de madera empleados en el Canal Santa Cruz mostró que *Virola* sp. presentó la mayor diversidad de especies ( $H' = 1.131$ ), mientras que *C. lindleyi* registró la menor ( $H' = 0.794$ ) (Tabla 9).

El Índice de Similitud de Sørensen calculado para comparar cada tipo de madera empleado en el Canal Santa Cruz, indicó que las maderas que presentaron la mayor similitud de especies fueron

*Pinus* sp. - *C. lindleyi* ( $S' = 70.0$ ) y *Pinus* sp. - *A. religiosa* ( $S' = 70.0$ ), y la que presentó la menor similitud fue *Virola* sp. - *T. donnell-smithii* ( $S' = 41.4$ ) (Tabla 10).

Tabla 6. Abundancia y diversidad de los ascomicetes registrados en las cuatro estaciones durante los dos muestreos en el Canal Santa Cruz, Xochimilco, Distrito Federal, México.

Ascomicetes	Estaciones de muestro				Abundancia (n)	Frecuencia (%)
	1	2	3	4		
<i>Passalora clematidis</i>	14	10	15	15	54	18.0
<i>Arthrotrrys oligospora</i>	13	11	10	9	43	14.4
<i>Phoma</i> sp.	12	15	9	4	40	13.3
<i>Graphium</i> sp.	9	10	4	12	35	11.7
<i>Phomopsis</i> sp.	8	8	2	3	21	7.0
<i>Petriella guttulata</i>	6	5	2	3	16	5.3
<i>Ascolacicola aquatica</i>	2	4	4	2	12	3.6
<i>Podospora</i> sp.	4	1	2	4	11	3.6
AMI no identificado	0	1	3	6	10	3.3
<i>Bactrodesmium</i> sp.	0	3	4	1	8	2.6
<i>Monotosporella</i> sp.	0	2	2	2	6	2.0
<i>Naïs inornata</i>	0	2	1	2	5	1.6
<i>Taeniolella rudis</i>	1	2	2	0	5	1.6
<i>Trichocladium</i> sp.	2	1	1	1	5	1.6
<i>Triadelphia uniseptata</i>	0	3	1	0	4	1.3
<i>Bombardia</i> sp.	0	3	0	0	3	1.0
<i>Massarina</i> sp.	1	0	1	1	3	1.0
AME no identificado	0	3	0	0	3	1.0
<i>Chaetomium globosum</i>	0	1	1	0	2	0.6
<i>Fusarium</i> sp.	0	1	1	0	2	0.6
<i>Helicosporium</i> sp.	0	0	2	0	2	0.6
<i>Penicillium</i> sp.	2	0	0	0	2	0.6
<i>Conioscyphascus varius</i>	2	0	0	0	2	0.6
<i>Ceratocystis</i> sp.	0	0	0	1	1	0.3
<i>Lasiosphaeria</i> sp.	0	0	1	0	1	0.3
<i>Nectria rishbethii</i>	0	0	1	0	1	0.3
<i>Dictyosporium</i> sp.	0	0	0	1	1	0.3
<i>Ophioceras commune</i>	0	0	1	0	1	0.3
Frecuencias totales	76	86	70	67	299	
% de frecuencias	25.5	28.7	23.4	22.4		100
Número total de ascomicetes	28					
Número total de ascomicetes por estación	13	19	22	16		
Índice de Diversidad ( $H'$ )	0.976	1.123	1.152	1.030		
Equitatividad ( $J'$ )	0.876	0.878	0.858	0.855		

AME = ascomicete meispórico, AMI = ascomicete mitospórico.

Tabla 7. Índice de similitud ( $S'$ ) para cada una de las estaciones de muestreo en las dos temporadas en el Canal Santa Cruz, Xochimilco, Distrito Federal, México.

Estaciones comparadas	Índice de Similitud
Estaciones 1-2	62.5
Estaciones 1-3	62.8
Estaciones 1-4	68.9
Estaciones 2-3	82.9
Estaciones 2-4	74.2
Estaciones 3-4	73.6

Tabla 8. Valores de algunos factores abióticos y bióticos del Canal Santa Cruz, Xochimilco, que se tomaron durante la realización de los muestreos.

	Temporada seca				Temporada de lluvias			
	Estaciones de muestreo							
	1	2	3	4	1	2	3	4
Mat. org mg/LO <sub>2</sub>	154	251	88	151	555	295	25	75
Fósforo mg/L	5.8	5.6	7.6	6.7	23	17.1	16	14.2
pH	6.2	7.2	6.7	7.6	8.0	7.0	7.0	7.0
O <sub>2</sub> ml/L	3.8	3.8	4.8	3.8	6.9	6.2	7.0	2.6
Temp °C	21.0	20.0	22.0	23.0	21.5	19.8	21.0	19.8
Coliformes Totales NMP/ml	1600	2400	1600	52	83	2400	2400	54
Coliformes Fecales NMP/ml	900	42	12	16	58	920	83	29
Precipitación mm	4.4				145.8			

NMP = Número mas probable.

Tabla 9. Abundancia y diversidad de los ascomicetes registrados en los seis tipos de madera durante la temporada seca y de lluvias en el Canal Santa Cruz, Xochimilco, Distrito Federal, México.

Ascomicetes	<i>Virola</i> sp.	<i>Tabebuia</i> <i>donnell-</i> <i>smithii</i>	<i>Bucida</i> <i>buceras</i>	<i>Pinus</i> sp.	<i>Cupressus</i> <i>lindleyi</i>	<i>Abies</i> <i>religiosa</i>	(n)	(%)
<i>Passalora clematidis</i>	11	7	12	15	3	6	54	18.0
<i>Arthrotrys oligospora</i>	6	11	7	8	9	2	43	14.4
<i>Phoma</i> sp.	9	2	10	5	7	7	40	13.3
<i>Graphium</i> sp.	9	6	9	2	8	1	35	11.7
<i>Phomopsis</i> sp.	2	2	2	1	12	2	21	7.0
<i>Petriella guttulata</i>	2	0	10	4	0	0	16	5.3
<i>Ascolacicola aquatica</i>	1	0	0	4	1	6	12	3.6
<i>Podospora</i> sp.	7	0	4	0	0	0	11	3.6
AMI no identificado	6	3	1	0	0	0	10	3.3
<i>Bactrodesmium</i> sp.	0	3	2	2	0	1	8	2.6
<i>Monotosporella</i> sp.	0	2	1	2	1	0	6	2.0
<i>Nais inornata</i>	3	0	1	1	0	0	5	1.6
<i>Taeniolella rudis</i>	0	0	0	3	0	2	5	1.6
<i>Trichocladium</i> sp.	2	0	0	2	1	0	5	1.6
<i>Triadelphia uniseptata</i>	1	0	0	0	0	3	4	1.3
<i>Bombardia</i> sp.	1	0	2	0	0	0	3	1.0
<i>Massarina</i> sp.	2	0	1	0	0	0	3	1.0
AME no identificado	0	0	3	0	0	0	3	1.0
<i>Chaetomium globosum</i>	0	2	0	0	0	0	2	0.6
<i>Fusarium</i> sp.	1	0	0	1	0	0	2	0.6
<i>Helicosporium</i> sp.	0	0	2	0	0	0	2	0.6
<i>Penicillium</i> sp.	0	0	1	1	0	0	2	0.6
<i>Conioscyphascus varius</i>	1	0	1	0	0	0	2	0.6
<i>Ceratocystis</i> sp.	0	0	0	0	1	0	1	0.3
<i>Lasiosphaeria</i> sp.	1	0	0	0	0	0	1	0.3
<i>Nectria rishbethii</i>	1	0	0	0	0	0	1	0.3
<i>Dictyosporium</i> sp.	1	0	0	0	0	0	1	0.3
<i>Ophioceras commune</i>	1	0	0	0	0	0	1	0.3
Frecuencias totales	68	38	69	51	43	30	299	
% de frecuencias	22.7	12.7	23.0	17.0	14.3	10		100
Número total de ascomicetes	28							
Número total de ascomicetes por madera	20	9	17	14	9	9		
Índice de Diversidad ( $H'$ )	1.131	0.861	0.982	1.061	0.794	0.861		
Equitatividad ( $J'$ )	0.869	0.902	0.862	0.857	0.832	0.902		

AME = ascomicete meispórico, AMI = ascomicete mitospórico.

Tabla 10. Índice de similitud ( $S'$ ) para cada una de las maderas empleadas en los dos muestreos en el Canal Santa Cruz, Xochimilco, Distrito Federal, México.

Maderas comparadas	Índice de similitud
<i>Virola</i> sp. - <i>Tabebuia donnell-smithii</i>	41.4
<i>Virola</i> sp. - <i>Bucida buceras</i>	65.0
<i>Virola</i> sp. - <i>Pinus</i> sp.	59.0
<i>Virola</i> sp. - <i>Cupressus lindleyi</i>	59.0
<i>Virola</i> sp. - <i>Abies religiosa</i>	59.0
<i>Tabebuia donnell-smithii</i> - <i>Bucida buceras</i>	61.5
<i>Tabebuia donnell-smithii</i> - <i>Pinus</i> sp.	60.8
<i>Tabebuia donnell-smithii</i> - <i>Cupressus lindleyi</i>	66.6
<i>Tabebuia donnell-smithii</i> - <i>Abies religiosa</i>	66.6
<i>Bucida buceras</i> - <i>Pinus</i> sp.	64.5
<i>Bucida buceras</i> - <i>Cupressus lindleyi</i>	46.0
<i>Bucida buceras</i> - <i>Abies religiosa</i>	46.0
<i>Pinus</i> sp. - <i>Cupressus lindleyi</i>	70.0
<i>Pinus</i> sp. - <i>Abies religiosa</i>	70.0
<i>Cupressus lindleyi</i> - <i>Abies religiosa</i>	66.0

#### 5.4 DISEÑO DE LA SONDA DE OLIGONUCLEÓTIDOS

Usando como sustrato el ADN de dos hongos sin identificar (A1 y A8) y empleando los oligonucleótidos universales diseñados por Borneman y Hartin (2000), se amplificó un fragmento de ADN correspondiente a la región de la subunidad pequeña del gen 18S ARNr. En cada amplificación se obtuvo una banda de diferente tamaño, 997 pares de bases para el hongo A1 y 680 pares de bases para el hongo A8 (Figura 34). Las bandas se cortaron del gel, se purificaron y ambas se mandaron a secuenciar a la Unidad de Síntesis del IBT-UNAM. Se obtuvo la secuencia en su totalidad de ambos fragmentos (Figuras 35 y 36).

Para ambas secuencias se realizaron análisis de alineamientos con el programa *Blast-N* del National Center for Biotechnology Information, buscando las secuencias más relacionadas para poder establecer una clasificación molecular del organismo (Tablas 11 y 12).

El análisis que realiza el *Blast* permite tener una relación de secuencias con cierto grado de identidad, donde los valores de *Evalue* nos indican las diferencias existentes entre las secuencias, por lo que valores cercanos a cero permiten establecer mayor grado de identidad. El porcentaje de *MaxIdent* permite establecer el porcentaje de identidad entre las secuencias, por lo que secuencias con mayor porcentaje de identidad se contemplan como mayormente relacionadas. Sin embargo, estos análisis no permiten establecer relaciones filogenéticas, es decir, no se pueden establecer relaciones de parentesco ni proponer un origen común. Para esto es necesario un análisis filogenético, esto es realizar un árbol de distancias filogenéticas. Dicho análisis se realizó con el método “*neighbor joining*”, donde se pudo establecer la identidad de cada uno de los hongos trabajados: A1 se identificó

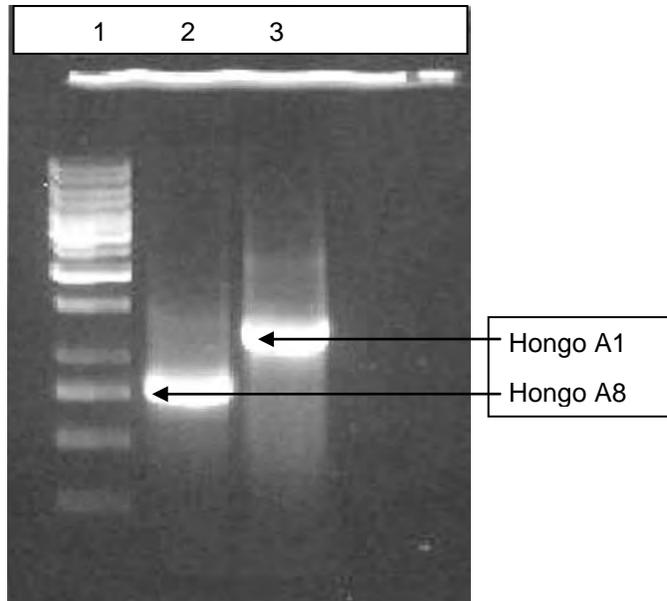


Fig. 34. Gel de agarosa al 1%, teñido con bromuro de etidio. Carril 1 marcador de peso molecular 1Kb Lader Fermentas; carril 2 producto amplificado del hongo A8, carril 3 producto amplificado del hongo A1.

```

AATAGGGACGGTCGGGGGCATCAGTATTCAGCCGTCAGAGGTGAAATTCCTGGACCGGCTGAA
GACTAACTACTGCGAAAGCATTGCGCAAGGACGTTTTGCTGATCAGGAACGAAAGTTAGGGG
ATCGAAGACGATCAGATACCGTCGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATCGGGCG
GCGTTCTTTCTAGACCCGCTCGGCACCTTCGAGAAATCAAAGTGCTTGGGCTCCAGGGGGAG
TATGGCGGCAACGCTGAAACTTAAAGAAATTGACGGAAGGGCACCACCAGGGGTGGAACCTG
CGGCTTAATTTGACTCAACACGGGGAAACTCACCAGGTCCAGACACAATGAGGATTGACAGAT
TGAGAGCTCTTTCTTGATTTGTGGGTGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTG
TCTGCTTAATTGCGATAACGAACGAGACCTTGACCTCTAAATAGCGCACCGCCTCGGCGGTGT
GCGGCTTCTTAGTGGGACTATCGGCTCAACCGATGGAAGTTCGAGGCAATAACAGGTAAACAT
TACAGGCCTGTAACAGTGGGCCTCGCTAAAGATAACTGCTAGTCCAGCGTCTTCATCTCCTTGG
GGAAGCTCCCGCTATCGGGAGGAGACGCAGCGTTCTCGGACGCTGTGTGACGCGGGCAACA
CTACCTGGTACAGGGAACGCCGGAGGCCCGGTGGGAAGTTGCACTTCTCGCTGGGAAACTT
GGCCGATCCTGTGGCGAGCTCGAGTAGCTTCGAGCCGTTGCAACGCGCGCAAAGGAGTGGGC
TGCGGGTTCTCCCGCGGCTTAAGGTACGTGCTAAACCCTTGGGTAACCAAGCTTCTGTGTCC
AGACCCGATAAGTCGAAACACGGAAGGGGCCAGCGAAAGCTGGGCCTGGATAGTTCCAGTTC
CAGCGGTCTTAGTGATCGAAAGACTACTAAGACTGCTATGGAGGCTGCAACTT

```

Fig. 35. Secuencia de la clona A1 de 997 pares de bases.

```

GGTCTATTTGTTGGTTCTAGGACCGCGTAATGATTAATAGGGATAGTCGGGGGCGTCAG
TATTCAGCTGTCAGAGGTGAAATTCCTGGATTTGCTGAAGACTAACTACTGCGAAAGCATTG
CCAAGGATGTTTTCATTAAATCAGGGAACGAAAGTTAGGGGATCGAAGACGATCAGATACCGT
CGTAGTCTTAACCATAAACTATGCCGACTAGGGATCGGACGGGATTCTATGATGACCCGTTT
GGCACCTTACGAGAAATCAAAGTTTTTGGGTTCTGGGGGGAGTATGGTTCGCAAGGCTGAAAC
TAAAGAAATTGACGGAAGGGCACCACAAGGCGTGGAGCCTGCGGCTTAATTTGACTCAACA
CGGGGAAACTCACCAGGTCCAGACAAAATAAGGATTGACAGATTGAGAGCTCTTTCTTGATC
TTTTGGATGGTGGTGCATGGCCGTTCTTAGTTGGTGGAGTGATTTGTCTGCTTAATTGCGATA
ACGAACGAGACCTCGGCCCTTAAATAGCCCGGTCCGCATCTGCGGGCCGCTGGCTTCTTAGG
GGGACTATCGGCTCAAGCCGATGGAAGTGCAGCGGCAATAACAGGTCTGTGATGCCCTTAGAT
GTTCTGGGCCCGCACGCGCTACACTGACAGGGCCAGCGAGTACATCACCTTGGCCG

```

Figura 36. Secuencia de la clona A8 de 680 pares de bases. La secuencia subrayada indica el sitio donde se diseñaron los oligonucleótidos 18Shg5 5' GGTCTATTTGTTGGTTCTAGG 3' y el RvSpE 5' TAAGAAGCCAGCGGCCCGCAG 3'.

Tabla 11. Análisis de la búsqueda de secuencias relacionadas a A1. La secuencia sombreada en amarillo corresponde al hongo con la mejor puntuación para la identificación.

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
<a href="#">AB007682.1</a>	<i>Graphium penicillioides</i> gene for 18S rRNA, partial sequence, strain: JCM9331 (CBS781.85)	<a href="#">985</a>	985	90%	0.0	86%
<a href="#">AY271804.1</a>	<i>Gondwanamyces proteae</i> small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	<a href="#">968</a>	968	87%	0.0	87%
<a href="#">AY484511.1</a>	<i>Conioscyphascus varius</i> small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence	<a href="#">959</a>	959	56%	0.0	97%

Tabla 12. Análisis de la búsqueda de secuencias relacionadas A8. La secuencia sombreada en amarillo corresponde al hongo con mejor puntuación para la identificación.

Accession	Description	Max score	Total score	Query coverage	E value	Max ident
<a href="#">EU835655.1</a>	<i>Penicillium</i> sp. CPCC 480032 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	<a href="#">1256</a>	1256	100%	0.0	100%
<a href="#">AY965080.1</a>	<i>Penicillium</i> sp. AyD-001 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	<a href="#">1256</a>	1256	100%	0.0	100%
<a href="#">EU273880.1</a>	<i>Penicillium decumbens</i> strain L-06 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	<a href="#">1251</a>	1251	100%	0.0	99%
<a href="#">EU136028.1</a>	<i>Penicillium decumbens</i> strain JU-A10 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	<a href="#">1251</a>	1251	100%	0.0	99%
<a href="#">EF413620.1</a>	<i>Eupenicillium javanicum</i> isolate AFTOL-ID 429 18S ribosomal RNA gene, partial sequence	<a href="#">1251</a>	1251	100%	0.0	99%

como *Conioscyphascus varius*, con *Evalue* de 0.0 y con el 97% de identidad, y se agrupó muy cercano a un *C. varius* reportado en las bases de datos (Tabla 9); este organismo es el teleomorfo de *Conioscypha varia*, un hongo dematiáceo que se ha registrado creciendo en madera de balsa sumergida en el río Patuxent en el estado de Maryland, Estados Unidos (Shearer, 1973; Réblová y Seifert, 2004). A8 se identificó como *Penicillium* sp., con *Evalue* de 0.0 y con el 100% de identidad, y se agrupó muy cercano a un *Penicillium* sp. reportado en las bases de datos (Tabla 10).

Ambas secuencias fueron alineadas en la base de datos *European ribosomal RNA database*, para diseñar los oligonucleótidos específicos para cada hongo. Para el caso de A1 no fue posible diseñar oligonucleótidos específicos, esto debido a que a lo largo de toda la secuencia no existen

regiones “únicas”, es decir, la secuencia obtenida tiene un alto grado de identidad con las secuencias reportadas, por lo que hacer oligonucleótidos de cualquier región de la secuencia podría generar oligonucleótidos que identificaran hongos de otra especie. Para A8, se identificó una región con gran posibilidad para diseñar oligonucleótidos específicos (Figura 35).

Los oligonucleótidos diseñados se probaron utilizando ADN de diversas fuentes, únicamente en el ADN del hongo A8 se obtuvo una amplificación, lo que demuestra que los oligonucleótidos diseñados para *Penicillium* sp. son altamente específicos.

## 6 DISCUSIÓN

*EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD.* La diversidad de los ascomicetes de agua dulce que se desarrollaron en la madera del Canal Santa Cruz es similar a la que se registró en otros cuerpos de agua lénticos ubicados en áreas urbanas de otros países. Al comparar la diversidad de los ascomicetes que se encontró en este estudio, con los resultados registrados en otros cuerpos de agua tropicales y subtropicales ubicados en zonas urbanas en México, como la Laguna de las Ilusiones, Tabasco, México, y el Lago Dianchi, Yunnan, China, la diversidad que se registró en el Canal Santa Cruz es mayor, por lo que probablemente se trata de una zona con alta diversidad (Chavarria, 2003, 2005; Luo *et al.*, 2004; Rosique-Gil, 2008). También se observó que comparten una o más especies de ascomicetes lo que indica la amplia distribución geográfica de los taxa y su distribución cosmopolita, como el ascomicete meiospórico de agua dulce estricto *O. commune* y el mitospórico facultativo *P. clematidis* (Tabla 13).

La biodiversidad de los hongos es difícil de estudiar debido a su complejo ciclo de vida, sin embargo, Feets y colaboradores (2009), después de discutir la problemática asociada al estudio de dicha biodiversidad, proponen una metodología que permite solucionar este problema y que considera el registro de presencia/ausencia como una herramienta que permite obtener información que puede emplearse con diversos índices. Por lo anterior en esta investigación los hongos se registraron con base en su presencia/ausencia.

En el canal turístico Santa Cruz los ascomicetes con los mayores valores de abundancia fueron los facultativos y los terrestres, resultado que podría estar indicando una pérdida de la diversidad propia del ecosistema acuático que está representada por los ascomicetes considerados estrictos, que son los que solamente se han registrado como habitantes de cuerpos de agua naturales, sin perturbación, y que presentan adaptaciones para poder crecer, reproducirse y dispersarse en dicho ambiente. Es probable que la diversidad de los ascomicetes estrictos esté siendo reemplazada por ascomicetes de origen terrestre, como los facultativos, que también pueden habitar en el medio acuático y completar su ciclo de vida en él, y los terrestres propiamente, que sólo habitan en dicho ambiente por corto tiempo y no pueden completar su ciclo de vida.

La diversidad de los ascomicetes reportada en otros cuerpos de agua naturales y sin perturbación como en Yumká, Tabasco, México (Martínez, 2009) y en el Lago Barrine, en Queensland, Australia, (Hyde y Goh, 1998), está representada por una alta abundancia y diversidad de los ascomicetes estrictos, por lo que su biodiversidad se encuentra bien conservada. La diversidad registrada en el Lago Dianchi y en la Laguna de las Ilusiones a lo largo de un ciclo anual fue mayor

que la encontrada en Xochimilco y puede deberse a la frecuencia de los muestreos realizados, a las características limnológicas propias de cada ambiente dulceacuícola, a su vegetación ripariana y a su localización geográfica. La alta diversidad registrada en el Lago Dianchi puede estar relacionada a su localización en una región subtropical. Ho y colaboradores (2001) reportan que en la región subtropical hay una mayor diversidad de especies dulceacuícolas debido a la sustitución de especies templadas por especies tropicales, lo que origina una región geográfica donde ambos grupos pueden coexistir al mismo tiempo. Otro factor que puede ayudar a explicar la alta diversidad registrada en el Lago Dianchi, es el número de muestreos realizados y el número de muestras analizadas. La Laguna de las Ilusiones, a diferencia del Lago Dianchi, se localiza en una región tropical, sin embargo también se registró una alta diversidad de hongos, esto porque se realizaron cuatro muestreos a lo largo de un año y se analizaron numerosas muestras.

En la Reserva Ecológica Yumká, localizada en una región tropical, se describió la diversidad fúngica presente en un estanque con manatíes. En este lugar se registró una menor riqueza de especies, sin embargo, se encontraron hongos que se han reportado en Xochimilco, en las Ilusiones y otros países del mundo (Martínez, 2009). El tamaño del estanque, el mantenimiento que recibe y la frecuencia de los muestreos pueden ser la causa de que se haya registrado una menor diversidad. La diversidad del Lago Barrine es inferior a la obtenida en el Lago Dianchi y en la Laguna de las Ilusiones, una razón puede ser que este cuerpo de agua está ubicado en una zona tropical donde la diversidad es menor que en las zonas subtropicales. Se desconoce el número de muestreos realizados, aunque se observa que el número de muestras analizadas está dentro del parámetro de las 100 muestras, que Luo y colaboradores (2004) recomiendan para obtener un estimado razonable de la comunidad de hongos. Otra causa puede ser el tiempo que las muestras fueron incubadas en el laboratorio. Hyde y Goh (1998) reportan que la diversidad de ascomicetes disminuye conforme aumenta el tiempo de incubación de las muestras.

En el estudio del Lago Barrine las muestras fueron examinadas inicialmente dentro de los primeros 21 días, posteriormente reincubadas durante cinco meses y reexaminadas. Durante este periodo de tiempo diversos taxa posiblemente no fueron registrados lo que puede explicar la ausencia de especies del género *Phoma*, *Podospora* y *Naïs*. Las diferencias entre la diversidad del Lago Barrine y Xochimilco pueden ser consecuencia del tipo de ambiente que rodea ambos cuerpos de agua. En el Lago Barrine el ambiente circundante es natural mientras que Xochimilco se encuentra dentro de una zona urbana. Las curvas de acumulación para Dianchi, las Ilusiones, el Yumká y el presente estudio de Xochimilco indican que en cada cuerpo de agua el número de muestras obtenidas proporcionó un estimado razonable de la comunidad de hongos (Luo *et al.*, 2004; Rosique-Gil, 2008; Martínez, 2009).

En el Lago Barrine no se elaboró una curva de acumulación, no obstante, el número de muestras obtenidas proporciona un estimado razonable de la comunidad de hongos.

Los resultados del análisis de varianza indican que no hubo diferencias significativas en la diversidad presente en las estaciones de muestreo ni entre las dos temporadas. Lo anterior puede estar relacionado a la alta heterogeneidad espacial registrada en Xochimilco, la cual puede favorecer el desarrollo de las especies con pocas limitantes nutricionales, de fácil dispersión, con altas tasas de crecimiento y de reproducción. En ambientes naturales esta heterogeneidad genera diferentes hábitats para un gran número de especies (Brown, 2003; Zambrano *et al.*, 2009). No obstante, en ambientes con un alto grado de perturbación, una alta heterogeneidad puede originar modificaciones en la distribución de las especies, limitar el desarrollo de algunas y favorecer a otras (Krauss *et al.*, 2001). Zambrano y colaboradores (2009) reportan elevadas concentraciones de nutrientes en varios canales de Xochimilco, las cuales exceden los valores registrados en los ríos naturales y ríos cercanos a zonas agrícolas en Estados Unidos, y generan condiciones que favorecen el desarrollo de especies como el lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) que es considerado una maleza; también las altas concentraciones de materia orgánica de origen fecal favorecen la abundancia de las bacterias coliformes fecales y totales (Zambrano *et al.*, 2004; Sandoval, 2008). Es posible que esta discrepancia entre lo observado y el resultado del ANOVA sea consecuencia del número de muestreos realizados, lo que sugiere que es necesario un estudio más profundo a lo largo del año y en diferentes canales para determinar estadísticamente si hay una diferencia entre los puntos de muestreo y la temporada seca y de lluvias.

En la tabla 13 se comparan los resultados de la diversidad que se obtuvo en Xochimilco durante la temporada de lluvias en tres años diferentes. Al comparar la diversidad de los ascomicetes dulceacuícolas que se obtuvo en este trabajo ( $H' = 1.009$ ) con los valores de diversidad que se registraron en dos estudios realizados en los años 2003 ( $H' = 1.258$ ) y 2005 ( $H' = 1.158$ ) en la misma área de estudio, época del año (temporada de lluvias) y con la misma metodología, se observó que la diversidad de los ascomicetes ha ido bajando gradualmente debido probablemente al efecto de las actividades antropogénicas y/o al cambio climático, resultado del desarrollo urbano de la Ciudad de México (Chavarria 2003, 2005). La diversidad de ascomicetes de Xochimilco ha variado conforme pasan los años; se observa que la mayor diversidad se encontró en el 2003 y la menor en 2005 y en el presente trabajo. Se puede observar que a pesar del aumento en el número de muestras empleadas en los diferentes años, la abundancia de los hongos ha ido disminuyendo. La alta heterogeneidad espacial registrada en Xochimilco por Zambrano y colaboradores (2009) puede ser una de las principales causas de estas variaciones, sin embargo debido a la falta de estudios sobre la biología y ecología de estos hongos es difícil precisar si estas variaciones presentadas en los diferentes años de muestreo son

naturales u originadas por las actividades antropogénicas. También se carece de estudios que analicen a las comunidades de hongos dulceacuícolas a lo largo de varios ciclos anuales y en una zona específica de estudio.

Tabla 13. Comparación de la diversidad de la comunidad de hongos de Xochimilco realizada en años anteriores durante la temporada de lluvias y en otros cuerpos de agua de México y de otros países.

	Nativitas Xochimilco México	Nativitas Xochimilco México	Nativitas Xochimilco México	Las Ilusiones Tabasco México	Yumká Tabasco México	Lago Dianchi China	Lago Barrine Australia
Número total ascomicetes registrados	18	35	19	52	21	97	38
Número de ascomicetes meiospóricos	8	14	7	23	13	56	15
Número de ascomicetes mitospóricos	10	21	12	29	8	41	23
Número de submuestras	54	26	50	268	52	602	100
Frecuencias	122	200	168	NP	195	374	NP
Ascomicetes estrictos	<i>Ophioceras commune</i> , <i>Naïs inornata</i>	<i>Ophioceras commune</i> , <i>Naïs aquatica</i>	<i>Ophioceras commune</i> , <i>Aniptodera</i> sp.	<i>Aniptodera inflatiscigera</i> , <i>Ophioceras</i> sp., <i>Naïs aquática</i> , <i>Naïs inornata</i>	<i>Aniptodera chaesapea kensis</i> , <i>Naïs inornata</i>	<i>Ophioceras commune</i> , <i>Naïs inornata</i> <i>Aniptodera chaesapea kensis</i>	<i>Ophioceras</i> sp.
Ascomicetes facultativos	<i>Passalora clematidis</i> , <i>Phoma</i> sp., <i>Taeniolella rudis</i>	<i>Phoma</i> sp.	<i>Phoma</i> sp., <i>Taeniolella rudis</i>	<i>Passalora clematidis</i> , <i>Phoma</i> sp.	<i>Passalora clematidis</i> , <i>Phoma</i> sp.	<i>Passalora clematidis</i> , <i>Phoma</i> sp., <i>Taeniolella rudis</i>	<i>Passalora clematidis</i>
Ascomicetes terrestres	<i>Podospora</i> sp.	<i>Podospora</i> sp.	<i>Podospora fimeseda</i>	<i>Podospora</i> sp.	<i>Podospora</i> sp.	<i>Podospora</i> sp.	
Estación del año	lluvias	lluvias	lluvias	anual	seca, lluvias	anual	NP
Tipo	urbano	urbano	urbano	urbano	natural	urbano	natural
Ambiente dulceacuícola	templado	templado	templado	tropical	tropical	subtropical	tropical
Referencia bibliográfica	Este estudio	Chavarria, 2003	Chavarria, 2005	Rosique-Gil, 2008	Martínez, 2009	Luo <i>et al.</i> , 2004	Hyde y Goh, 1998

NP = dato no proporcionado.

Ciertas líneas evolutivas de los ascomicetes han tenido más éxito que otras para adaptarse al ambiente acuático de agua dulce, siendo el orden de los Sordariales el que incluye más especies (114 spp.) (Shearer *et al.*, 2007), lo que está de acuerdo con los resultados de este trabajo ya que dicho orden fue el que presentó el mayor número de especies (6 spp.).

El número de anamorfos presentes en la madera fue ligeramente mayor al de los teleomorfos. Lo anterior está de acuerdo con lo observado por Hyde y Goh (1998), quienes mencionan que las fases sexuales de los hongos son más comunes en ríos durante el proceso de degradación de la madera, mientras que las fases asexuales son más importantes en los lagos. Ho y colaboradores (2001) también

reportaron un mayor número de anamorfos que de teleomorfos en madera sumergida en diferentes cuerpos de agua y opinan que los parámetros ambientales influyen en el modo de reproducción de las especies. Shearer y Webster (1991) consideran que la madera puede ser un lugar importante para la recombinación genética de los hongos acuáticos mitospóricos con estadios sexuales, además mencionan que la presencia de teleomorfos en este sustrato puede estar relacionada a factores nutricionales.

Se obtuvieron diversas especies de hongos dulceacuícolas estrictas, facultativas y de origen terrestre. La presencia de hongos terrestres en el agua ha sido reportada en diversos trabajos (Shearer y Crane, 1986; Révay y Gönczöl, 1990; Au *et al.*, 1992; Vukojevic *et al.*, 1997; Hyde y Goh, 1998; Fryar *et al.*, 2004; Cai *et al.*, 2006). De manera natural estos hongos presentes en los restos vegetales que ingresan al agua son desplazados por especies dulceacuícolas con el paso del tiempo. Sin embargo, en ambientes contaminados con metales pesados, DDT, fungicidas, herbicidas o contaminación orgánica muchas de las especies dulceacuícolas estrictas pueden ser inhibidas o verse afectadas en su desarrollo alterando la diversidad de estos organismos; no obstante este cambio en la diversidad no significa una pérdida de la función ecológica de estos organismos (Krauss *et al.*, 2003). A continuación se discute la presencia de algunos ascomicetes ordenados según sus valores de abundancia.

*Passalora clematidis* es la especie que presentó la mayor abundancia en el Canal Santa Cruz. Posee una distribución cosmopolita y se ha reportado como saprobio de restos vegetales en ambientes dulceacuícolas lénticos y lóticos de zonas templadas y tropicales (Shearer y Crane, 1986; Hyde y Goh, 1998; Sivichai *et al.*, 2000; Cai *et al.*, 2002; Ho *et al.*, 2002; Luo *et al.*, 2004). Se ha encontrado en ambientes dulceacuícolas contaminados con fertilizantes químicos y con desechos domésticos e industriales (Luo *et al.*, 2004). En México se ha registrado en el estado de Veracruz creciendo sobre restos vegetales presentes en el suelo y en carnadas de madera sumergidas en la Laguna de las Ilusiones y en la Reserva Ecológica del Yumká Centro de Interpretación y Convivencia con la Naturaleza en el estado de Tabasco (Heredia *et al.*, 1997; Rosique-Gil, 2008; Martínez, 2009). Presenta conidióforos erectos sobre la madera los cuales posiblemente le permiten una mejor dispersión de las esporas cuando el sustrato está parcialmente expuesto al aire (Hyde y Goh, 2003). En Xochimilco la alta abundancia de este hongo puede deberse a la facilidad con la que el viento dispersa las esporas a todo lo largo de los canales y a su capacidad para tolerar los ambientes adversos.

*Arthrobotrys oligospora* fue la segunda especie más abundante en el canal. Es un hongo del suelo que se ha registrado como saprobio de materia vegetal y en carnadas de madera enterradas en el suelo (Domsch *et al.*, 1980). Ocasionalmente se ha reportado en ambientes dulceacuícolas tropicales y templados, y en sedimentos de cuerpos de agua con y sin contaminación en China (Kane *et al.*, 2002;

Fryar *et al.*, 2004; Hao *et al.*, 2005). Hao y colaboradores (2005) reportan que *A. oligospora* fue la especie dominante en muestras de sedimentos tomadas en el Lago Dianchi, asimismo los autores reportan que se desconoce cuales son los factores que afectan la distribución y diversidad de las especies cazadoras de nemátodos en los ambientes dulceacuícolas. Su teleomorfo es *Orbilina auricolor*, un hongo saprobio de la madera (Pfister y Liptik, 1995), el cual posiblemente obtiene nutrientes extra al capturar nemátodos por medio de su estado anamorfo (Swe *et al.*, 2008). En este trabajo no se registró a *O. auricolor*, pero Chavarria (2003 y 2005) reporta esta especie en el Canal Santa Cruz.

*Phoma* sp. fue el tercer taxón más abundante. Las especies de este género poseen una amplia distribución geográfica y pueden ser encontradas en numerosos nichos ecológicos como saprobios o parásitos de plantas, animales, hongos, oomycetes y seres humanos (Aveskamp *et al.*, 2008). En el ambiente dulceacuícola se ha reportado creciendo sobre madera en China y Estados Unidos (Shearer y Crane, 1986; Cai *et al.*, 2002; Ho *et al.*, 2002). En México se registró una especie de *Phoma* en estanques de estabilización que tratan aguas residuales de origen doméstico (Carranco *et al.*, 1984). Uno de los teleomorfos se encuentra en el género *Massarina*, el cual posee representantes terrestres y dulceacuícolas, y que también se registró en este estudio. *Phoma* se caracteriza por la abundante producción de conidios y su rápido crecimiento lo cual le permite colonizar diversos sustratos (Aveskamp *et al.*, 2008). Esta puede ser la razón de que este organismo sea muy abundante en Xochimilco.

*Graphium* sp. es un hongo filamentoso que se ha aislado del suelo, madera y restos vegetales (Ellis, 1971). Se ha reportado ocasionalmente en el ambiente dulceacuícola. En este trabajo se le encontró como el cuarto hongo más abundante y esto puede deberse a la baja diversidad de hongos dulceacuícolas estrictos presentes en la zona de estudio originada por la contaminación del agua, la cual puede estar inhibiendo o limitando el desplazamiento de las especies terrestres por parte de las especies dulceacuícolas cuando los restos vegetales ingresan al agua. Lo anterior está de acuerdo con un estudio realizado por Tsui y colaboradores (2001a) quienes encontraron que muchas especies comunes de hongos dulceacuícolas registraron una baja abundancia en un río de la reserva Tai Po Kau debido a la contaminación. Este taxón posee teleomorfos dentro del género *Petriella* (Bell, 2005), los cuales han sido registrados con anterioridad en Xochimilco (Chavarria 2003 y 2005). En este estudio se registró la especie *P. guttulata*, cuyo anamorfo se desconoce, pero su presencia en el Canal Santa Cruz es importante porque dicha especie se ha reportado creciendo en estiércol de caballo (Piontelli *et al.*, 1981).

*Ascolacicola aquatica* se ha registrado en ambientes tropicales de cuerpos de agua lénticos y lóticos de China. Rosique-Gil (2008) encontró una especie de *Ascolacicola* en la Laguna de las

Ilusiones, Tabasco, creciendo sobre cuatro tipos de madera y reportó que la mayor abundancia se dio en condiciones de precipitación media. En este trabajo fue la especie dulceacuícola que presentó la mayor abundancia y se obtuvo en la temporada de lluvias. Posiblemente su abundancia en el Canal Santa Cruz y en las Ilusiones se debió al aumento de restos vegetales que ingresaron al agua del canal, favoreciendo el desarrollo de este organismo. El anamorfo de esta especie es *Triadelphia uniseptata*, un taxón que también ha sido registrado en madera sumergida en un río en las montañas de Hungría, y en un estudio previo en Xochimilco y el Parque Ecológico de Xochimilco (Révay y Gönczöl, 1990; Chavarria, 2005).

El género *Massarina* posee especies saprobias de la madera, se ha registrado en varios países del mundo y posee representantes dulceacuícolas y marinos (Aptroot, 1998). En este trabajo este taxón presentó una baja abundancia en la temporada seca y no se registró durante la temporada de lluvias. Lo anterior concuerda con lo observado por Ho y colaboradores (2002) quienes encontraron que la abundancia de una especie de *Massarina* disminuyó de la temporada seca a la de lluvias. Estos autores también reportaron dos especies de *Massarina* como colonizadores tardíos durante la sucesión de los hongos en carnadas de madera sumergida en un río de la reserva Tai Po Kau en Hong Kong. Por otro lado, Tsui y colaboradores (2001b) encontraron diversas especies de *Massarina* en el río Lam Tsuen creciendo sobre madera recolectada en un área con niveles altos de nitratos y fosfatos. Luo y colaboradores (2004) registraron tres especies de este género en el Lago Dianchi el cual presenta altos niveles de contaminación. La presencia de este género en ambientes con y sin contaminación puede estar relacionada tanto con factores ambientales como biológicos, sin embargo se carece de estudios detallados de las especies de *Massarina*.

*Trichocladium* es un género heterogéneo con una amplia distribución geográfica, presenta especies terrestres, dulceacuícolas, de manglar y marinas (Shearer, 1972; Roldán y Honrubia, 1989; Hyde y Goh, 1998; Alias y Jones, 2000; Sarma y Vittal, 2000; Marfenina *et al.*, 2001; Jones *et al.*, 2001). Algunas especies poseen su fase sexual en los géneros *Ascolacicola* y *Ascosacculus*, los cuales presentan especies dulceacuícolas. Después de una revisión bibliográfica de este grupo Goh y Hyde (1999b) reconocen solamente 18 especies de *Trichocladium*, de las cuales cinco se han registrado en ambientes dulceacuícolas; desafortunadamente se desconoce mucho sobre la biología, taxonomía y distribución geográfica de este género. En México, sólo hay cinco registros de este taxón en ambientes dulceacuícolas (Chavarria, 2003 y 2005; Rosique-Gil, 2008; Martínez, 2009).

*Fusarium* sp. fue uno de los taxa menos abundantes en el Canal Santa Cruz, sin embargo, en México se ha registrado en muestras de agua tomadas a diferentes profundidades en el Río Coatzacoalcos, el cual presenta contaminación con desechos industriales (Martínez *et al.*, 1973).

Debido a que las especies de este género han sido clasificadas como limafilas en los cuerpos de agua (Au *et al.*, 1992), su presencia en Xochimilco es un posible indicador del aumento en la contaminación del agua de los canales. Posee teleomorfos dentro del género *Nectria*, también registrado en este trabajo, los cuales se han reportado en China y Hungría creciendo sobre madera sumergida, y en un estudio previo en Xochimilco (Revay y Gönczöl, 1990; Luo *et al.*, 2004; Chavarria, 2005).

*Taeniolella rudis* es otra especie que presentó una baja abundancia. Se ha reportado en Europa, América del Norte y Asia, tanto en ambientes terrestres como dulceacuícolas. Dentro de este género solamente seis especies han sido aisladas de ambientes de agua dulce no contaminados. Luo y colaboradores (2004) registraron una baja abundancia de esta especie en el Lago Dianchi, el cual presenta altos niveles de contaminación. Chavarria (2005) reporta que esta especie presentó una abundancia media en Xochimilco y el Parque Ecológico de Xochimilco. La baja abundancia de *T. rudis* en Dianchi y en el presente estudio en Xochimilco puede ser otro indicador del aumento de grado de deterioro de estos cuerpos de agua, por lo anterior son necesarios estudios que indiquen si esta especie puede servir como indicador de la calidad del agua.

Diversas especies de *Monotosporella* han sido colectadas en ambientes dulceacuícolas de Asia, Europa y Australia. Su teleomorfo se encuentra en el género *Ascotaiwania*, el cual presenta especies dulceacuícolas estrictas. Este es el primer registro de este hongo en Xochimilco.

*Podospora* sp. es un ascomicete coprófilo encontrado frecuentemente en estiércol de herbívoros y usualmente se asocia con la presencia de contaminación de origen orgánico en el agua (Bell, 2005; Luo *et al.*, 2004). En Xochimilco las altas concentraciones de materia orgánica originadas por el ingreso de estiércol al agua del canal y la presencia de drenajes clandestinos pueden favorecer la presencia de este hongo, el cual presentó una diversidad media. En el Lago Dianchi, el cual se encuentra severamente contaminado con materia orgánica, también se ha registrado este organismo (Luo *et al.*, 2004). En la Laguna de las Ilusiones, Rosique-Gil (2008) encontró una alta abundancia de este taxón creciendo en carnadas de madera, lo que indica que este cuerpo de agua presenta contaminación con materia orgánica.

*Ophioceras commune* es una especie dulceacuícola de amplia distribución que se ha reportado creciendo sobre madera y hojas sumergidas en Panamá, Hong Kong, China, Japón, Estados Unidos y México (Shearer *et al.*, 1999; Tsui *et al.*, 2001; Cai *et al.*, 2002; González y Chavarria, 2005). Chavarria (2003) registró una especie de *Ophioceras* para Xochimilco, posteriormente Chavarria (2005) encontró a *O. commune* con una abundancia media en el Canal Santa Cruz y con una abundancia baja en el Parque Ecológico de Xochimilco. En este trabajo, *O. commune* sólo se obtuvo una sola vez durante la temporada de lluvia. Las variaciones en la abundancia de este taxón pueden

estar relacionadas a la heterogeneidad del ambiente dulceacuícola producto de las actividades antropogénicas.

*DISTRIBUCIÓN TEMPORAL DURANTE LA TEMPORADA SECA Y DE LLUVIAS.* En las regiones templadas se ha registrado que las comunidades de hongos dulceacuícolas son afectadas principalmente por las variaciones en la temperatura (Luo *et al.*, 2004), mientras que en regiones tropicales y subtropicales la precipitación es el principal factor que afecta la composición de la comunidad (Tsui, 1999).

Durante la temporada seca se registró la mayor riqueza de especies y abundancia (Tabla 4). La abundancia de algunos hongos estrictos fue menor en la temporada seca, lo cual está de acuerdo con lo registrado por Ho y colaboradores (2002), quienes observaron que ciertos taxa presentaron una mayor abundancia en el período de sequía, la cual disminuyó en la temporada de lluvias debido a la sucesión de los hongos en el proceso de colonización y degradación de la madera. En el caso de las especies facultativas se observa que su abundancia y diversidad disminuyó en la temporada de lluvias, lo que puede estar relacionado a las variaciones producidas por el agua que ingresa al canal durante la precipitación.

En este trabajo se observó que 18 de las 28 especies presentaron una menor abundancia durante la temporada de lluvias; una posible causa de esta disminución puede deberse al efecto de dilución producido por el volumen de agua que ingresa al canal durante la temporada de lluvias. En el caso de los ascomicetes dulceacuícolas del Canal Santa Cruz este efecto de dilución pudo haber disminuido la probabilidad de que las esporas pudieran colonizar un sustrato, asimismo los cambios fisicoquímicos producidos por la lluvia que ingresa al canal y el arrastre de materia orgánica al agua pueden haber afectado la distribución y diversidad de los hongos. En el Lago de Pátzcuaro, Bernal-Brooks y colaboradores (2003) reportaron que este efecto de dilución afectó el potencial de crecimiento de las algas debido a los cambios producidos en las propiedades físicas y químicas del agua. Sipaubá-Tavares y colaboradores (2007) observaron que en estanques la precipitación afecta el transporte de nutrientes y altera varios parámetros fisicoquímicos, además puede producir un efecto de dilución que modifica la concentración de los nutrientes y de otros materiales en el agua, y provoca un aumento en la turbidez al remover los sedimentos del fondo. Adicionalmente esta lluvia puede originar un transporte de diversos materiales del suelo o de cuerpos de agua cercanos hacia los estanques. En la Laguna de las Ilusiones en Tabasco, Rosique-Gil (2008) reporta que el efecto de dilución producido por la lluvia probablemente fue la causa de la disminución de la diversidad de los hongos a lo largo de un ciclo anual. Sin embargo, sobre esto último se carece de estudios que analicen los cambios producidos por la precipitación en los cuerpos de agua y su efecto en las comunidades de hongos dulceacuícolas.

Solamente *A. aquatica* (especie dulceacuícola estricta) y *A. oligospora* (especie terrestre) presentaron un aumento en su abundancia durante la temporada de lluvias. *Ascolacicola aquatica* puede haberse visto favorecida por el incremento de los restos vegetales en el canal. Ho y colaboradores (2002) reportan, después de un período de intensas lluvias, una mayor diversidad de especies de hongos en un río de la reserva Tai Po Kau en Hong Kong debido, al aumento de materia de origen vegetal. Un estudio realizado por Hao y colaboradores (2005) reporta la presencia de *A. oligospora* en muestras de sedimentos tomadas en el Lago Dianchi; es posible que el aumento en la abundancia de este hongo en Xochimilco pueda deberse a la resuspensión de los sedimentos del fondo del canal por la acción de la lluvia y al ingreso de tierra con esporas lo que posiblemente aumentó las probabilidades de colonización de esta especie en las carnadas de madera. Sin embargo, se desconoce mucho de la biología de este hongo y de cómo los factores ambientales y la contaminación afectan a esta especie en los ambientes de agua dulce (Hao *et al.*, 2005).

Los valores de fósforo registrados en el Canal Santa Cruz para la temporada seca y la de lluvias, indican que en la segunda temporada la concentración de fósforo aumentó considerablemente (Tabla 8), sin embargo, solamente dos taxa (*A. oligospora* y *A. aquatica*) presentaron un aumento significativo en su abundancia. Es posible que este aumento en la concentración del fósforo solamente favoreciera a estas dos especies, por lo anterior son necesarios más estudios para conocer el efecto de este elemento en los hongos dulceacuícolas.

Comparando los datos sobre la diversidad de los ascomicetes en la temporada de lluvias en dos trabajos anteriores (Chavarria, 2003 y 2005) y el presente estudio, se observa que dicha diversidad varía según el año de estudio. La mayor diversidad se encontró en el 2003 y la menor en el presente trabajo. Se puede observar que a pesar del aumento en el número de muestras empleadas en los diferentes años la abundancia de los hongos ha ido disminuyendo. La alta heterogeneidad espacial registrada en Xochimilco por Zambrano y colaboradores (2009) puede ser una de las principales causas de estas variaciones, sin embargo debido a la falta de estudios sobre la biología y ecología de estos hongos es difícil precisar si estas variaciones presentadas en los diferentes años de muestreo son naturales u originadas por las actividades antropogénicas. También se carece de estudios que analicen a las comunidades de hongos dulceacuícolas a lo largo de varios ciclos anuales y en una zona específica de estudio. Se observa que todos los cuerpos de agua de la tabla 13 comparten uno o más hongos, lo que indica la amplia distribución geográfica de los taxa.

**DISTRIBUCIÓN ESPACIAL EN EL CANAL SANTA CRUZ.** Se observaron diferencias en el número de especies y en la abundancia de cada hongo entre las cuatro estaciones de muestreo. El análisis físicoquímico y bacteriológico del agua del canal indica que los valores de materia orgánica, fósforo y

bacterias coliformes totales y fecales presentaron variaciones entre los puntos de muestreo, lo cual se debe a las actividades agrícolas y urbanas que se realizan cerca de la orilla del canal. Esto origina que Xochimilco posea una alta heterogeneidad local lo cual genera diferentes hábitats en los cuerpos de agua dulce del lugar (Zambrano *et al.*, 2009).

El primer punto de muestreo se localiza frente al embarcadero Santa Cruz, en un área poco urbanizada con algunas granjas y poca vegetación. En este lugar se registró la diversidad más baja de hongos y de especies dulceacuícolas estrictas, sin embargo tres especies facultativas y tres terrestres presentaron la mayor abundancia, debido probablemente a los altos valores de materia orgánica presente en el agua, lo que puede favorecer a estos organismos. Tsui (1999), Tsui y colaboradores (2001) y Luo y colaboradores (2004) mencionan que la contaminación con materia orgánica en el agua produce un cambio en las comunidades de hongos originando que muchas especies anteriormente registradas como comunes se vuelvan raras. Además, Tsui (1999) indica que diversas especies facultativas y terrestres son más comunes en ambientes contaminados con materia orgánica. Otro factor que puede estar afectando la presencia y abundancia de las especies dulceacuícolas estrictas es la baja concentración de oxígeno registrada en esta estación.

El segundo punto de muestreo registró una alta diversidad de hongos y de especies dulceacuícolas estrictas debido probablemente a la mayor abundancia de vegetación en la orilla del canal y la presencia de invernaderos que ocasionalmente arrojan restos de plantas al agua, lo que genera una mayor acumulación de sustrato para estos organismos. Esta diferencia en la abundancia y diversidad de la vegetación entre la primera y segunda estación pudo favorecer la presencia de un mayor número de especies dulceacuícolas estrictas. Laitung y Chauvet (2005) encontraron que una mayor diversidad de especies vegetales está asociada a una mayor diversidad de hongos mitospóricos dulceacuícolas degradadores de hojas. Tsui y colaboradores (2003a) mencionan que en los ríos y lagos la acumulación de materia vegetal, en especial la madera, originó un hábitat para diversas especies de organismos y hongos. Shearer y Webster (1985) encontraron variaciones en las comunidades de hongos dulceacuícolas presentes en el río Teign en Inglaterra debido posiblemente a las diferencias entre la vegetación ripariana y algunos parámetros fisicoquímicos del agua.

El tercer punto de muestreo presentó la mayor diversidad de hongos (22) y de especies dulceacuícolas estrictas (8) debido posiblemente a la concentración relativamente alta de oxígeno, a la menor concentración de materia orgánica (Tabla 8), al aporte de restos vegetales provenientes de la vegetación cercana a la orilla del canal y de los invernaderos presentes en la zona. En este punto de muestreo se observó un escaso número de viviendas con drenajes que desembocan en el canal, lo que originó un microambiente favorable para estos organismos. Mientras que en el primer punto se registró

la menor diversidad fúngica probablemente por la alta concentración de materia orgánica y la baja concentración de oxígeno.

La cuarta estación está ubicada en el embarcadero San Cristóbal, el cual se encuentra dentro de una zona urbana (Figura 3). En este punto de muestreo se registraron valores bajos de materia orgánica y de bacterias coliformes totales y fecales (Tabla 8) debido al grado de urbanización de la zona y a la ausencia de drenajes clandestinos. En este lugar se registró la segunda diversidad más baja de hongos, lo cual puede atribuirse a la baja concentración de oxígeno (Tabla 8) y a los pocos restos vegetales presentes en el agua debido a la limpieza relativamente constante que se hace del agua del embarcadero.

En este trabajo se registraron diferencias en la abundancia y la diversidad de los hongos presentes en las cuatro estaciones de muestreo a lo largo del Canal Santa Cruz. Estas diferencias pueden ser el resultado de los altos niveles de eutrofización producidos por las actividades antropogénicas originando una heterogeneidad espacial muy marcada la cual afecta la capacidad de supervivencia de los organismos (Contreras, 2006; Zambrano *et al.*, 2009). Tsui (1999), reportó que la eutrofización de dos ríos en China producto de las actividades humanas está correlacionada con los patrones de distribución de los hongos dulceacuícolas.

A todo lo largo de la orilla del Canal Santa Cruz se observaron variaciones en el tipo de vegetación debido principalmente al grado de urbanización presente en la zona, lo cual puede estar influenciando la presencia de algunas especies de hongos dulceacuícolas. En ríos se ha observado que los patrones de distribución de los hongos mitospóricos están relacionados a las variaciones naturales de pH, vegetación ripariana y dureza del agua (Tsui *et al.*, 2001).

Otro factor que puede estar relacionado con la distribución espacial de los hongos es la presencia de los fosfatos. Tsui y colaboradores (2001) encontraron que la composición de las especies está correlacionada con la concentración de fosfatos producto de las actividades domésticas y agrícolas en el río Lam Tsuen, además registraron que elevadas concentraciones de fósforo causan cambios en la composición de las especies de hongos. Gulis y Suberkropp (2004) reportaron que la presencia de fósforo en el agua favoreció la colonización de nuevos sustratos y aumentó la producción de esporas de los hongos mitospóricos en los ambientes lóticos.

*PREFERENCIA POR EL TIPO DE MADERA.* En este trabajo se encontraron algunas diferencias en la abundancia y diversidad de los hongos en los seis tipos de madera empleados, las cuales pueden ser el resultado de la composición química de cada sustrato. Diversos estudios indican que los hongos dulceacuícolas poseen poca o ninguna especificidad hacia algún tipo de madera (Ho *et al.*, 2002; Luo *et al.*, 2004). Además, Shearer y Webster (1991) consideran que es necesario conocer la composición

química de la madera para determinar si hay una preferencia por el sustrato, o si la presencia de los hongos es simplemente una cuestión de probabilidad. Debido a que se desconoce este factor para todas las maderas empleadas es muy difícil sugerir que la estructura química sea determinante en la abundancia y diversidad de los hongos de Xochimilco. Lodge (1997) menciona que, aparentemente, hay poca especificidad de los hongos saprobios hacia la madera en los ambientes terrestres, además indica que el estado de degradación del sustrato y el hábitat son más importantes en el proceso de colonización por parte de estas especies; lo anterior también se ha observado con algunas especies dulceacuícolas (Ho *et al.*, 2002). En las Ilusiones, Rosique-Gil (2008) no registró una preferencia del sustrato por parte de los hongos hacia alguna de las cuatro maderas empleadas después de un ciclo anual y considera que la colonización del sustrato puede estar relacionada a algún factor diferente al de la composición. En el Canal Santa Cruz, aparentemente, los hongos no presentan una preferencia hacia alguna de las maderas empleadas, sin embargo debido al número de muestreos realizados los resultados obtenidos deben ser considerados como preliminares.

*DISEÑO DE LA SONDA DE OLIGONUCLEÓTIDOS.* Como se mencionó antes en este trabajo, la mayor parte de la diversidad fúngica permanece sin describir (93.5%) (Hawksworth, 2001; Kirk *et al.*, 2008), debido principalmente a la dificultad que existe para que muchos de ellos crezcan en medios de cultivo, y también para que desarrollen sus estructuras reproductivas que permiten su identificación (Borneman y Hartin, 2000; Hyde y Jeewon, 2003; Nikolcheva *et al.*, 2003). Los métodos moleculares son una herramienta que ha permitido un rápido avance del estudio de los hongos puesto que permite obtener y/o identificar aquellas especies que no pueden ser detectadas y descritas a través de los métodos tradicionales. En el estudio de los hongos dulceacuícolas, su aplicación ha modificado e incluso redefinido el conocimiento de su biodiversidad y papel ecológico (Hyde y Jeewon, 2003; Nikolcheva *et al.*, 2003; Bärlocher, 2007).

En esta investigación se utilizaron oligonucleótidos universales para la amplificación de un fragmento del gen 18S ADNr a partir del ADN de *Conioscyphascus varius* y *Penicillium* sp., dos hongos que lograron aislarse del ambiente dulceacuícola de Xochimilco. Lo anterior con el objetivo de poder diseñar oligonucleótidos específicos para poder detectar estas taxa en el futuro de forma más rápida y específica, a partir de muestras ambientales de agua. Una característica de los marcadores moleculares es que son secuencias muy conservadas, lo que asegura que puedan utilizarse en todos los organismos. Para el diseño de sondas u oligonucleótidos específicos esto puede ser un inconveniente, porque en algunos casos es muy difícil encontrar secuencias exclusivas para el organismo. En este trabajo sólo se pudieron diseñar oligonucleótidos específicos para el hongo *Penicillium* sp., porque dentro de su secuencia se encontró una región que no se alinea con secuencias del gen 18S ADNr de

otros hongos reportados. En el caso de *C. varius*, no se logró detectar una región específica, por lo que el diseño de los oligos resultó imposible. Schüßler y colaboradores (2001) analizaron las secuencias empleadas para la elaboración de oligos específicos para el orden *Glomales* y encontraron que dichos oligos no eran específicos, por lo que recomendaron un estudio más profundo de la filogenia del orden y un análisis más cuidadoso de las secuencias empleadas para el diseño de esta herramienta. Asimismo Nikolcheva y Bärlocher (2004), después de diseñar oligos específicos para la región ITS de los ascomicetes, basidiomicetes, quitridiomycetes, zigomicetes y oomicetes, para estudiar las variaciones estacionales de estos organismos en el río Boss Brook en Canadá, encontraron que el mayor problema para desarrollar dichos oligos fue la falta de secuencias disponibles, lo cual puede originar una subestimación en la diversidad en algunos grupos y una sobre-estimación en otros; por lo anterior los autores consideran que los resultados basados en oligos específicos deben considerarse como preliminares, especialmente con aquellos desarrollados a partir de pocas secuencias; además Baschien y colaboradores (2008) recomiendan que las sondas de oligonucleótidos ya diseñadas y que son específicas para detectar una especie en particular, se prueben continuamente para corroborar que no coincidan con alguna secuencia similar perteneciente a algún hongo descrito recientemente, esto debido a la constante adición de nuevas secuencias a las bases de datos por la descripción de nuevas especies.

Para la elaboración de la sonda de oligonucleótidos se utilizó la subunidad del gen 18S ADNr, la cual se ha empleado de manera satisfactoria en el diseño de estas herramientas moleculares. Baschien y colaboradores (2008) consideran que el conocimiento que se ha generado del gen de esta subunidad es suficiente para poder diseñar sondas específicas.

*DESCRIPCIÓN DE DOS ASCOMICETES MEDIANTE EL MÉTODO MOLECULAR.* Derivado de la elaboración de la sonda, se identificaron dos de los cuatro hongos que se registraron en esta investigación con micelio estéril y que se lograron cultivar. La identificación de *Conioscyphascus varius* y *Penicillium* sp. sólo fue posible a través del método molecular debido a que no formaron estructuras reproductivas, por lo que este método sirvió como complemento al método tradicional.

Nikolcheva y colaboradores (2003) y Nikolcheva y Bärlocher (2005) después de determinar la diversidad de los hongos dulceacuícolas presentes en hojas y madera sumergida en el río Boss Brook en Canadá, mediante el método tradicional y el método molecular concluyeron que para distinguir las comunidades fúngicas es práctico combinar ambas metodologías. En el estudio de la biodiversidad de los hongos dulceacuícolas la aplicación de diferentes metodologías puede ayudar a generar inventarios biológicos más completos, los cuales servirán de base para posteriores investigaciones, taxonómicas ecológicas, de biorremediación, etc.

Ambas metodologías presentan ventajas y desventajas en el estudio de los hongos dulceacuícolas. Los métodos tradicionales están condicionados en tiempo a la aparición y medición de los caracteres morfológicos que sirven de base para la identificación de los hongos microscópicos dulceacuícolas (Kline *et al.*, 1997; Hyde y Jeewon, 2003; Nikolcheva *et al.*, 2003). Existen diferentes técnicas de aislamiento dependiendo del grupo de hongos con el que se trabaje (Shearer, 1993; Tsui *et al.*, 2002), p.e. los ascomicetes dulceacuícolas se han aislado de ramas, fragmentos de corteza y en menor grado de hojas presentes en el agua (Shearer, 1993; Cai *et al.*, 2003), o mediante el uso de carnadas (Jones, 1971; Sivichai *et al.*, 2000). Los hongos mitospóricos se han aislado principalmente de la filtración de muestras de agua, de la recolección e incubación de hojas y ocasionalmente sobre la madera (Goh, 1997; Tsui *et al.*, 2003). Con los métodos tradicionales se han descrito las 3,040 especies de hongos dulceacuícolas del mundo, se ha estudiado la sucesión de los hongos y la preferencia del sustrato, su participación en los procesos de degradación de la madera y las hojas, la interacción entre especies y el efecto de la contaminación sobre estos organismos (Shearer, 1993; Fryar *et al.*, 2001; Krauss *et al.*, 2003; Tsui *et al.*, 2003; Shearer *et al.*, 2007). Una de las grandes limitantes de los métodos tradicionales en el conocimiento de la biodiversidad fúngica es su incapacidad para identificar los hongos cuando estos no desarrollan las estructuras reproductivas en condiciones de laboratorio, lo cual evita poder caracterizar la comunidad de hongos que se desarrollan en la madera u hojas presentes en el agua (Nikolcheva *et al.*, 2003).

Los métodos moleculares detectan el ADN que está presente a lo largo de todo el ciclo de vida de los organismos, por lo que no dependen del desarrollo de estructuras morfológicas para la identificación de los hongos (Nikolcheva *et al.*, 2003), y se caracterizan por la detección de una secuencia de nucleótidos que es específica para una especie o un grupo de organismos (Kline, *et al.*, 1997; Liew *et al.*, 1998). Las técnicas moleculares han ayudado a los micólogos dulceacuícolas a resolver problemas taxonómicos y filogenéticos, a establecer relaciones anamorfo/teleomorfo, a fechar la evolución de los hongos mediante relojes moleculares, para caracterizar hongos atrapados en los hielos glaciares, han facilitado y agilizado la identificación de especies, pueden ser empleadas cuando el tamaño de la muestra es reducido, entre otros (Kline, 1997; Chen *et al.*, 1999; Ma *et al.*, 1999; Hawksworth, 2006; Vijaykrishna *et al.*, 2006; Bärlocher, 2007). La aplicación de los métodos moleculares en la micología acuática se ha centrado en la solución de problemas taxonómicos y filogenéticos (Chen *et al.*, 1999), sin embargo todavía no es una herramienta común en la identificación de especies. Lo anterior se debe a que no todos los hongos descritos pueden ser cultivados ni secuenciados en el laboratorio lo que ha limitado el número de secuencias disponibles (Liew *et al.*, 1998; Campbell *et al.*, 2003), a esto se suma el descubrimiento de nuevas especies,

muchas de las cuales no han sido todavía secuenciadas. Los métodos moleculares están limitados en su aplicación a la obtención e identificación de los organismos a través de los métodos tradicionales.

## 7 CONCLUSIONES

- La diversidad de los hongos del Canal Santa Cruz se puede considerar alta predominando las especies consideradas dulceacuícolas facultativas debido probablemente a las diversas actividades antropogénicas que se llevan a cabo en ese ambiente.
- *Passalora clematidis*, *A. oligospora*, *Phoma* sp., y *Graphium* sp., especies facultativas de origen terrestre fueron las más abundantes en las dos temporadas del año y en las cuatro estaciones.
- Se registró una baja diversidad de ascomicetes dulceacuícolas estrictos posiblemente por la alta perturbación que presenta el canal.
- La presencia y abundancia de *Podospora* sp. indica una contaminación del agua con materia orgánica.
- Se registraron taxa característicos de cuerpos de agua contaminados en el Canal Santa Cruz como *Trichocladium* sp., *Podospora* sp. y *Fusarium* sp.
- Se reportan por primera vez para Xochimilco a *A. aquatica* y *N. inornata*.
- La diversidad de la microbiota del ambiente dulceacuícola de Xochimilco es menor en la temporada de lluvias que en la temporada seca, posiblemente, por un efecto de la precipitación.
- Se obtuvieron valores de diversidad diferentes en cada una de las cuatro estaciones de muestreo, y este resultado puede estar relacionado con el diferente grado de urbanización y actividades que se realizan en los márgenes de este cuerpo de agua por lo que el canal tiene una alta heterogeneidad que genera diversos hábitats.
- Se diseñaron oligonucleótidos a partir de los hongos dulceacuícolas aislados de Xochimilco que son específicos para detectar la presencia de *Penicillium* sp.

## 8 RECOMENDACIONES

Xochimilco posee una amplia red de canales y lagunas con diferente grado de impacto en las condiciones de la calidad del agua, por lo que se recomienda:

- Realizar estudios en las diferentes zonas para determinar el estado de las comunidades de hongos dulceacuícolas y determinar si hay especies nuevas.
- Llevar a cabo muestreos mensuales a lo largo de un ciclo anual, para conocer si hay diferencias reales entre la temporada seca y la temporada de lluvias, y cuantificar diversas variables fisicoquímicas y bacteriológicas, para poder realizar análisis estadísticos más completos.
- Efectuar estudios para conocer el uso de los hongos dulceacuícolas como bioindicadores de la calidad del agua o como biorremediadores.
- Evaluar el proceso de sucesión de los hongos lignícolas, para conocer que organismos están presentes durante dicho proceso.
- Investigar si se pueden obtener metabolitos secundarios de estos hongos, los cuales pueden ser de interés para la medicina y la industria.
- Elaborar primers y sondas moleculares a partir de los hongos encontrados en los cuerpos de agua, para facilitar y acelerar el estudio de estos organismos en Xochimilco y el país.
- Emplear los métodos moleculares para determinar si hay especies crípticas en Xochimilco.

Finalmente, México es un país megadiverso que posee un gran número de cuerpos de agua lénticos y lóticos, en los cuales es necesario realizar inventarios biológicos de los hongos dulceacuícolas presentes a través de los métodos tradicionales y moleculares, lo que permitirá conocer el número de nuevas especies y determinar cuales son endémicas. De esta forma se aportará mayor información sobre la diversidad del reino de los hongos.

## 9 LITERATURA CITADA

- Alias, S.A. y Jones, E.B.G. 2000. Vertical distribution of marine fungi on *Rhizophora apiculata* at Morib mangrove, Selangor, Malaysia. *Mycoscience* 41: 431-436.
- APHA (American Public Health Association). 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18a. Ed. Washington.
- Anderson, J.L., Chen, W., Shearer, C.A. 2001. Phylogeny of *Halosarpheia* based on 18sRNA. *Mycologia* 93: 897-906.
- Anderson, J.L., Beever, J. y Shearer, C.A. 2006. Eight polymorphic microsatellite loci for the aquatic fungus *Tetracladium marchalianum*. *Molecular Ecology Notes* 6: 703-705.
- Anderson, J.L. y Shearer, C.A. 2002. *Halosarpheia heteroguttulata* anamorph and report from the Northern Hemisphere. *Mycotaxon* 82: 115-120.
- Aptroot, A. 1998. A world revision of *Massarina* (Ascomycota). *Nov. Hed.* 66: 89-162.
- Au, D.W.T., Hodgkiss, I.J. y Vrijmoed, L.L.P. 1992a. Fungi and cellulolytic activity associated with decomposition of *Bauhinia purpurea* leaf litter in a polluted and unpolluted Hong Kong waterway. *Can. J. Bot.* 70: 1071-1078.
- Aveskamp, M.M., De Gruyter, J. y Crous, P.W. 2008. Biology and recent developments in the systematics of *Phoma*, a complex genus of major quarantine significance. *Fungal Div.* 31: 1-18.
- Balanzario-Zamorate, J.R. 1976. Contaminación de las aguas en los canales de Xochimilco. Tesis de Licenciatura. Facultad de Filosofía y Letras, UNAM.
- Baschien, C., Manz, W., Neu, R.T., Marvanová, L. y Szewzyk, U. 2008. In situ detection on freshwater in an alpine stream by new taxon-specific fluorescence in situ hybridization probes. *Appl. Environ. Microbiol.* 74: 6427-6436.
- Baschien, C., Manz, W., Neu, R.T. y Szewzyk, U. 2001. Fluorescence in situ hybridization of freshwater fungi. *Internat. Rev. Hydrobiol.* 86: 371-381.
- Bärlocher, F. 1982. On the ecology of Ingoldian fungi. *BioScience* 32: 581-586.
- Bärlocher, F. 2007. Molecular approaches applied to aquatic hyphomycetes. *Fungal Biology Reviews* 21: 19-24.
- Bernal-Brooks, F. W., Dávalos-Lind, L. y Lind, T. D. 2003. Seasonal and spatial variations in algal growth potential and growth-limiting nutrients in a shallow endoreic lake: Lake Pátzcuaro (Mexico). *Lake & Reservoirs: Research and Management* 8: 83-93.
- Bell, A. 2005. An illustrated guide to the coprophilous ascomycetes of Australia. CBS Biodiversity Series No. 3.
- Betancourt, C. y Justiniano, J. 1989. Hongos Ingoldianos presentes en el arroyo de Oro Mayagüez, Puerto Rico. *Int. J. Mycol. Lichenol.* 4: 1-8.
- Bills, G.F. y Polishook, J.D. 1994. Abundance and diversity of microfungi in leaf litter of a lowland rain forest in Costa Rica. *Mycologia* 86: 187-198.
- Borneman, J. y Hartin, R.J. 2000. PCR primers that amplify fungal rRNA genes from environmental samples. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 4356-4360.
- Brown, B. L. 2003. Spatial heterogeneity reduces temporal variability in stream insect communities. *Ecology Letters* 6: 316-325.

- Bucher, V.V.C., Pointing, S.B., Hyde, K.D. y Reddy, C.A. 2004. Production of wood decay enzymes, loss of mass, and lignin solubilization in wood by diverse tropical freshwater fungi. *Microb. Ecol.* 48: 331-335.
- Cai, L., Kai-Fang, J. y Hyde, K.D. 2006. Variation between freshwater and terrestrial fungal communities on decaying bamboo culms. *Antonie van Leeuwenhoek* 89: 293-301.
- Cai, L., Tsui, C.K.M., Zhang, K., y Hyde, K.D. 2002. Aquatic fungi from lake Fuxian, Yunnan, China. *Fungal Div.* 9: 57-70.
- Cai, L., Zhang, K.Q. y Hyde, K.D. 2003. Freshwater ascomycetes. In: *Freshwater Mycology* (eds. C.K.M. Tsui y K.D. Hyde) *Fungal Div. Research Series* 10: 275-324.
- Campbell, J., Anderson, J.L. y Shearer, C.A. 2003. Systematics of *Halosarpheia* based on morphological and molecular data. *Mycologia* 95: 530-552.
- Campbell, J. y Shearer, C.A. 2004. *Annulusmagnus* and *Ascitendus*, two new genera in the Annulatasceae. *Mycologia* 96: 822-233.
- Campbell, J., Shearer, C.A. y Marvanova, L. 2006. Evolution relationships among aquatic anamorphs and teleomorphs: *Lemmoniera*, *Margaritispora* and *Goniopila*. *Mycol. Res.* 110: 1052-1033.
- Carranco, P.D., Hernández, A.O., Rivera, F. y Rosas, I. 1984. Soil and aquatic fungi in a waste-stabilization pond system of the state of Mexico, Mexico. *Water Air Soil Pollut.* 23: 249-256.
- Castañeda, R.F., Heredia, G., Arias, R.M., Saikawa, M., Minter, D.W., Stadler, M. Guarro, J y Decock C. 2004. Two new hyphomycetes from rainforest of Mexico, and *Briansuttonia*, a new genus to accommodate *Corynespora alternarioides*. *Mycotaxon* 89: 297-305.
- Castañeda, R.F., Heredia, G., Arias, R.M., Stadler, M. y Winter, D.W. 2005a. Two hyphomycetes from submerged plant material of Mexico. *Mycotaxon* 91: 333-337.
- Castañeda, R.F., Stadler, M., Saikawa, M., Iturrigía, T., Decock, C. y Heredia, G. 2005b. Microfungi from submerged plant material: *Zelotridelphia amoena* gen. et sp. nov. and *Vanakripta fasciata* sp. nov. *Mycotaxon* 91: 339-345.
- Céspedes, A.E. y Castillo, J. 1982. Algunos Chytridiomycetes y Oomycetes aislados de 10 localidades en cuatro estados de la República Mexicana. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 17: 207-210.
- Chang, H.S., Hsieh, S.Y., Jones, E.B.G., Read, S.J. y Moss, S.T. 1998. New freshwater species of *Ascotaiwania* and *Savoriella* from Taiwan. *Mycol. Res.* 102: 709-718.
- Chavarria, A.C. 2003. Estudio preliminar de los hongos del Canal Santa Cruz, Laguna Xaltocán y Canal Xaltocán, Delegación de Xochimilco Distrito Federal. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Chavarria, A.C. 2005. Diversidad de los ascomicetes y sus anamorfos del ambiente acuático de la Delegación de Xochimilco, Ciudad de México. Tesis de Maestría. Instituto de Biología, UNAM.
- Chamier, C. 1987. Effect of pH on microbial degradation of leaf litter in seven streams of the English lake district. *Oecologia* 71: 491-500.
- Chamier, C., Dixon, P.A. y Archer, S.A. 1984. The spatial distribution of fungi on decomposing alder leaves in a freshwater stream. *Oecologia* 64: 92-103.
- Chen, W., Shearer, C.A. y Crane, L.J. 1999. Phylogeny of *Ophioceras* spp. based on morphological and molecular data. *Mycologia* 91: 84-94.

- Choi, Y.W., Hyde, K.D. y Ho, W.H. 1999. Single spore isolation of fungi. *Fungal Div.* 3: 29-38.
- Contreras, R.E.A.V. 2006. Distribución potencial del *Ambystoma mexicanum* en los canales de la zona chinampera de Xochimilco. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM.
- De Wildeman, E. 1893. Notes mycologiques. *Annales de la Société belge de Microscopie* 17: 35-68.
- De Wildeman, E. 1894. Notes mycologiques. *Annales de la Société belge de Microscopie* 18: 135-161.
- Domsch, K.H., Gams, W. y Anderson, T. 1980. Compendium of soil fungi, Vol. I. Academic, London. 859 p.
- Ellis, M.B. 1971. Dematiaceous hyphomycetes. Ed. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 608 pp.
- Fabre, E. 1998a. Aquatic hyphomycetes in three rivers of southwestern France I. Spatial and temporal changes in conidial concentration, species richness, and community diversity. *Can. J. Bot.* 76: 99-106.
- Fabre, E. 1998b. Aquatic hyphomycetes in three rivers of southwestern France II. Spatial and temporal differences between species. *Can. J. Bot.* 76: 107-114.
- Fabre, E. 1998c. Aquatic hyphomycetes in three rivers of southwestern France III. Relationships between spatial and temporal dynamics. *Can. J. Bot.* 76: 115-121.
- Fallah, P.M., Crane, J.L. y Shearer, C.A. 1999a. Freshwater ascomycetes: two new species of *Ascotaiwania* from North America. *Can. J. Bot.* 77: 87-92.
- Fallah, P.M. y Shearer, C.A. 1998a. Freshwater ascomycetes: *Phomatospora* spp. from lakes in Wisconsin. *Mycologia* 90: 323-329.
- Fallah, P.M. y Shearer, C.A. 1998b. *Phaeosphaeria barriae* sp. nov. from lakes in Wisconsin. *Mycologia* 90: 1075-1078.
- Fallah, P.M. y Shearer, C.A. 1998c. Freshwater ascomycetes: *Macrospora typhicola* (Pleosporales) revised. *Mycotaxon* 67: 85-94.
- Fallah, P.M. y Shearer, C.A. 2001. Freshwater ascomycetes: new or noteworthy species from north temperate lakes in Wisconsin. *Mycologia* 93: 566-602.
- Fallah, P.M., Shearer, C.A. y Chen, W. 1997. *Ascovaginospora stellipala* gen. et sp. nov. from sphagnum bogs. *Mycologia* 89: 812-818.
- Fallah, P.M., Shearer, C.A. y Leuchtman, A. 1999b. Freshwater ascomycetes: *Phaeosphaeria vilasensis* (Pleosporales), a new species from a lake in Wisconsin. *Nov. Hed.* 68: 399-404.
- Feets, A., Aldred, T. y Jedamzik, K. 2009. Biodiversity quality: a paradigm for biodiversity. *Nature Precedings*. Publicación en línea. (<http://precedings.nature.com/documents/3205/version/1>)
- Ferrer, A. y Shearer, C.A. 2007. Three new species of *Luttrellia* from temperate and tropical freshwater habitats. *Mycologia* 99: 144-151.
- Ferrer, A., Raja, H.A. y Shearer, C.A. 2008. *Lucidasocarpa pulchella*, a new ascomycete genus and species from freshwater habitats in the American tropics. *Mycologia* 100: 642-646.
- Ferrer, A., Sivichai, S. y Shearer C.A. 2007. *Megalohypha*, a new genus in the Jahnuales from aquatic habitats in the tropics. *Mycologia* 99: 456-460.
- Fryar, R.T., Davies, J., Booth, W., Hodgkiss, I.J. y Hyde, K.D. 2004. Succession of fungi on dead and live wood in brackish water in Brunei. *Mycologia* 96: 219-225.

- Fryar, R.T., Yuen, T.K., Hyde, K.D. y Hodgkiss, I.J. 2001. The influence of competition between tropical fungi on wood colonization in streams. *Microb. Ecol.* 41: 245-251.
- García, E. 1973. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen, para adaptarlo a las condiciones de la Republica Mexicana. Instituto de Geografía, UNAM, México. 144 pp.
- García G.R., Chavez E.J., Mejia Ch.A. y Durande B.C. 2002. Microbiological determinations of some vegetables from the Xochimilco zone in Mexico City, Mexico. *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 44: 24-30.
- Garnett, H., Bärlocher, F. y Giberson, D. 2000. Aquatic hyphomycetes in Catamaran brook: colonization dynamics, seasonal patterns, and logging effects. *Mycologia* 92: 29-41.
- Goh, T.K. y Hyde, K.D. 1996. Biodiversity of freshwater fungi. *Indust. Microbiol.* 17: 328-345.
- Goh, T.K. y Hyde, K.D. 1999a. Fungi on submerged wood on bamboo in the Plover Cove Reservoir, Hong Kong. *Fungal Div.* 3: 57-85.
- Goh, T.K. y Hyde, K.D. 1999b. A synopsis of *Trichocladium* species, based on the literature. *Fungal Div.* 2: 101-118.
- Goh, T.K. y Tsui, C.K.M. 2003. Key to common dematiaceous hyphomycetes from freshwater. In: *Freshwater Mycology* (eds. C.K.M. Tsui y K.D. Hyde) *Fungal Div. Research Series* 10: 325-343.
- Gönczöl, J. 1989. Longitudinal distribution patterns of aquatic hyphomycetes in a mountain stream in Hungary experiments with leaf packs. *Nov. Hed.* 48: 391-404.
- González, M.C. y Chavarria, A. 2005. Some freshwater ascomycetes from Mexico. *Mycotaxon* 91: 315-322.
- González, M.C. y Hanlin, R.T. 2008. Distribution and occurrence of ascomycetes in Mexico. *North American Fungi* 3: 139-145.
- Grupta, S. y Dubey, T. 1987. Effect of chemical contents of water on seasonal occurrence of aquatic fungi. *Perspectives in Mycological Research*, Vol. I. 63-68.
- Grupta, S. y Dubey, T. 1991. Effect of water pollutants on the rate of oxygen uptake of three aquatic fungi from India. *Proc. W. Va. Acad. Sci.* 63: 82-88.
- Guarro, J., Gené, J. y Stchigel, A.M. 1999. Developments in fungal taxonomy. *Clin. Microbiol. Rev.* 12: 454-500.
- Gulis, V. y Suberkropp, A. 2004. Effects of whole-stream nutrient enrichment on the concentration and abundance of aquatic hyphomycete conidia in transport. *Mycologia* 96: 57-65.
- Guzmán, G. 1998. Inventorying the fungi of Mexico. *Biod. Cons.* 7: 369-384.
- Halffter, G. y Ezcurra, E. 1992. ¿Qué es la biodiversidad? La diversidad biológica de Iberoamérica. Xalapa: Instituto de Ecología, A.C. México. 3-24 pp.
- Hao, Y., Mo, M., Su, H. y Zhang, K. 2005. Ecology of aquatic nematode-trapping hyphomycetes in southwestern China. *Aquat. Microb. Ecol.* 40: 175-181.
- Hawksworth, D.L. 2001. The magnitude of fungal diversity: 1.5 million species estimated revised. *Mycol. Res.* 105: 1422-1432.
- Hawksworth, D.L. 2006. Pandora's Mycological Box: Molecular sequences vs. morphology in understanding fungal relationships and biodiversity. *Rev. Iberoam. Micol.* 23: 127-133.
- Heredía, G., Ulloa, M. y Sosa, V.J. 1988. Estudio comparativo entre las comunidades fúngicas del suelo y de la rizosfera de plantas de espinaca cultivadas bajo el sistema de chinampas. *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 30: 155-161.

- Heredia, G., Portales, J.M., Sierra, A.M. y Estebanez, M.R. 1997. Tropical hyphomycetes II. Some species from the tropical biology station "Los Tuxlas", Veracruz, Mexico. *Mycotaxon* 64: 203-223.
- Ho, W.H. y Hyde, K.D. 2000. A new family of freshwater ascomycetes. *Fungal Div.* 4: 21-36.
- Ho, W.H., Hyde, K.D. y Hodgkiss, I.J. 1997. Ascomycetes from tropical freshwater habitats: the genus *Savoriella*, with two new species. *Mycol. Res.* 101: 803-809.
- Ho, W.H., Hyde, K.D., Hodgkiss, I.J. y Yanna. 2001. Fungal communities on submerged wood from streams in Brunei, Hong Kong, and Malaysia. *Mycol. Res.* 105: 1492-1501.
- Ho, W.H., Yanna, Hyde, K.D. y Hodgkiss, I.J. 2002. Seasonality and sequential occurrence of fungi on wood submerged in Tao Po Kau forest stream, Hong Kong. *Fungal Div.* 10: 21-43.
- Hyde, K.D. 1992a. Tropical Australian freshwater fungi. I. Some ascomycetes. *Aust. Syst. Bot.* 5: 109-116.
- Hyde, K.D. 1992b. Tropical Australian freshwater fungi. II. *Annulatascus velatispora* gen. et sp. nov., *A. bipolaris* sp. nov. and *Naïs aquatica* sp. nov. (Ascomycetes). *Aust. Syst. Bot.* 5: 117-124.
- Hyde, K.D. 1992c. Tropical Australian freshwater fungi. IV. *Halosarpheia aquatica* sp. nov., *Garethjonesia lacunosispora* gen. and sp. nov. and *Ophioceras dolichostomum* (Ascomycetes). *Aust. Syst. Bot.* 5: 407-414.
- Hyde, K.D. 1993a. Tropical Australian freshwater fungi. V. *Bombardia* sp., *Jahnula australiensis* sp. nov., *Savoriella aquatica* sp. nov. and *S. lignicola* sp. nov. *Aust. Syst. Bot.* 6: 161-167.
- Hyde, K.D. 1993b. Tropical Australian freshwater fungi. VI. *Tiarosporella paludosa* and *Clohesyomyces aquaticus* gen. et sp. nov. (Coelomycetes). *Aust. Syst. Bot.* 6: 169-173.
- Hyde, K.D. 2001. Where are the missing fungi? Does Hong Kong have any answers? *Mycol. Res.* 105: 1514-1518.
- Hyde, K.D. y Goh, T.K. 1998. Fungal on submerged wood in Lake Barrine, North Queensland. *Mycol. Res.* 102: 739-749.
- Hyde, K.D. y Goh, T.K. 2003. Adaptations for dispersal in filamentous freshwater fungi. In: *Freshwater Mycology* (eds. C.K.M. Tsui y K.D. Hyde) *Fungal Div. Research Series* 10: 231-258.
- Hyde, K.D. y Jeewon, R. 2003. Physiological studies and molecular diversity of freshwater lignicolous fungi. *Freshwater Mycology* (eds. C.K.M. Tsui y K.D. Hyde) *Fungal Div. Research Series* 10: 173-193.
- Hyde, K.D. y Seifert, K.A. 1992. Tropical Australian freshwater fungi. III. *Candelosynnema ranunculosporum*, a new genus and species of synnematos hyphomycetes. *Aust. Syst. Bot.* 5: 401-405.
- Hyde, K.D., Wong, S.W. y Jones, E.B.G. 1999. *Cataractispora* gen. nov., with three new freshwater lignicolous species. *Mycol. Res.* 103: 1019-1031.
- INEGI. 2008. Distrito Federal. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. <http://www.inegi.gob.mx>
- Ingold, C.T. 1942. Aquatic hyphomycetes of decaying alder leaves. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 25: 339-417.
- Ingold, C.T. 1951. Aquatic ascomycetes: *Ceriospora caudae suis* n. sp. and *Ophiobolus typhae*. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 34: 210-215.
- Ingold, C.T. 1954. Aquatic ascomycetes: Discomycetes from Lakes. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 37: 1-18.
- Ingold, C.T. 1955. Aquatic ascomycetes: Further species from the English Lake District. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 38: 157-168.
- Ingold, C.T. y Chapman, B. 1952. Aquatic ascomycetes: *Loramyces juncicola* Weston and *L. macrospora* n. sp. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 35: 268-272.

- Jones, E.B.G. 1971. Aquatic fungi. In: Methods in Microbiology. Booth, C. Ed., Vol. 4. Academic Press, London. 795 pp.
- Jones, E.B.G. 2006. Form and function of fungal spore appendages. *Mycoscience* 47: 167-183.
- Jones, E.B.G., Abdel-Wahab, M.A. y Vrijmoed, L.L.P. 2001. *Trichocladium melhae* sp. nov., a new tropical marine fungus. *Fungal Div.* 7: 49-52.
- Juárez-Figueroa, L.A., Silvia-Sánchez, J., Uribe-Salas, F.J. y Cifuentes-García, E. 2003. Microbiological indicators of water quality in the Xochimilco canals, Mexico City. *Salud Publica Mex.* 45: 389-395.
- Kalendar, R., Lee, D. y Schulman, A.H. 2009. Fast PCR software for PCR primer and probe design and repeat search. *Genes, Genomes and Genomics* 3. [www.biocenter.helsinki.fi/bi/Programs/fastpcr.htm](http://www.biocenter.helsinki.fi/bi/Programs/fastpcr.htm)
- Kane, D.F., Tam, W.Y. y Jones, E.B.G. 2002. Fungi colonising and sporulating wood in the River Severn, UK. *Fungal Div.* 10: 45-55.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W. y Stalpers J.A. 2008. Dictionary of the Fungi, 10th ed., CAB International, Wallingford. 616 pp.
- Kline, B.C., Sandhu, G.S. y Roberts, G.D. 1997. Mycology with molecular probes. *Rev. Iberoam. Micol.* 14: 4-5.
- Krauss, G., Barlocher, F. y Krauss, G.J. 2003. Effects of pollution on aquatic hyphomycetes. In: *Freshwater Mycology* (eds. C.K.M. Tsui y K.D. Hyde). *Fungal Div. Research Series* 10: 211-230.
- Krauss, G., Barlocher, F., Shreck, P., Wennrich, R., Gläser, W. y Krauss G.J. 2001. Aquatic hyphomycetes occur in hyperpolluted waters in Central Germany. *Nov. Hed.* 72: 419-428.
- Kreisel, H. y Manoharachary, C. 1983. Hyphomycetes associated with foam and submerged leaves of a stream system from Northern DDR. *Feddes Repertorium* 94: 279-286.
- Laitung, B. y Chauvet, E. 2005. Vegetation diversity increases species richness of leaf-decaying fungal communities in woodland streams. *Arch. Hydrobiol* 164: 217-236.
- Laitung, B., Chauvet, E., Feau, N., Fève, K., Chikhi, L. y Gardes, M. 2004. Genetic diversity in *Tetrachaetum elegans*, a mitosporic aquatic fungus. *Molecular Ecology* 13: 1679-1692.
- Libkind, D., Brizzo, S., Ruffini, A., Gadanho, M., Van Broock, M. y Sampaio, J.P. 2003. Molecular characterization of carotenogenic yeast from aquatic environments in Patagonia, Argentina. *Antonie van Leeuwenhoek* 84: 313-322.
- Liew, E.C.Y., Aptroot, A. y Hyde, K.D. 2002. An evaluation of the monophyly of *Massarina* based on ribosomal DNA sequences. *Mycologia* 94: 803-813.
- Liew, E.C.Y., Guo, L.D., Ranghoo, M., Goh, T.K. y Hyde K.D. 1998. Molecular approaches to assessing fungal diversity in the natural environment. *Fungal Div.* 1: 1-17.
- Lodge, D.J. 1997. Factors related to diversity of decomposer fungi in tropical forests. *Biod. Cons.* 6: 681-688.
- Luo, J., Yin, J., Cai, L., Zhang K. y Hyde, K.D. 2004. Freshwater fungi in Lake Dianchi, a heavily polluted lake in Yunnan, China. *Fungal Div.* 16: 93-112.
- Ma, J.L., Catramis, C.M., Rogers, S.O. y Starmer, W.T. 1997. Isolation and characterization of fungi entrapped in glacial ice. *Inoculum* 48: 23-24.
- Ma, J.L., Catramis, C.M., Starmer, W.T. y Rogers, S.O. 1999. Revival and characterization of fungi from ancient polar ice. *Mycologist* 13: 70-73.

- Ma, J.L., Rogers, S.O., Catramis, C.M. y Starmer, W.T. 2000. Detecction and characterization of ancient fungi entrapped in glacial ice. *Mycologia* 92: 286-295.
- Marfenina O.E., Gorbatoovskaya, E.V. y Gorlenko, M.V. 2001. Mycological characterization of the occupation deposits in excavated medieval Russian settlements. *Microbiology* 70: 738-742.
- Martínez, J., Garza-Garza, D. y Trujillo, A. 1973. Estudio de los hongos filamentosos aislados de las aguas del río Coatzacoalcos. *Bol. Soc. Mex. Mic.* 7: 39-50.
- Martínez, M. 2009. Diversidad de los ascomicetes microscópicos lignícolas del estanque de los manatíes de la Reserva Ecológica Yumká Centro de Interpretación y Convivencia con la Naturaleza, Villahermosa Tabasco. Tesis de Licenciatura. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
- Miersch, J., Tschimedbalshir, M., Bärlocher, F., Grams, Y., Pierau, B., Schierhorn, A. y Krauss, G.J. 2001. Heavy metals and thiol compounds in *Mucor racemosus* and *Articulospora tetracladia*. *Mycol. Res.* 105: 883-889.
- Minoura, K. y Muroi, T. 1978. Some freshwater ascomycetes from Japan. *Trans. mycol. Soc. Japan* 19: 129-134.
- Nikolcheva, L.G. y Bärlocher, F. 2004. Taxon-specific fungal primers reveal unexpectedly high diversity during leaf decomposition in a stream. *Mycological Progress* 3: 41-49.
- Nikolcheva, L.G. y Bärlocher, F. 2005. Seasonal and substrate preference of fungi colonizing leaves in streams: traditional versus molecular evidence. *Environ. Microbiol.* 7: 270-280.
- Nikolcheva, L.G., Cockshutt, A.M. y Bärlocher, F. 2003. Determining diversity of freshwater fungi on decaying leaves: Comparison of traditional and molecular approaches. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 2548-2554.
- Ortega, Y. y Villalpando, Y. 1984. Estudio de la frecuencia de bacterias y parásitos contaminantes de aguas negras tratadas y de las aguas de las aguas de riego de los canales de la Delegación Xochimilco. Tesis de Licenciatura de QFB. Facultad de Química, UNAM.
- Pascoal, C., Marvanová, L. y Casio, F. 2005. Aquatic hyphomycete diversity in streams of Northwest Portugal. *Fungal Div.* 19: 109-128.
- Pedraza-García, M.T. 1995. Comparación hidrológica de los canales de dos zonas chinamperas de la región Xochimilco-Tláhuac, a través de sus parámetros fisicoquímicos. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM.
- Pfister, D.H. y Liftik, M.E. 1995. Two *Arthrotrrys* anamorphs from *Orbilina auricolor*. *Mycologia* 87: 684-688.
- Piercey-Normore, M.D. y Egger, K.K. 2001. Identification and genotypic characterization of filamentous fungi. In: Talbot, N. Ed., *Molecular and cellular biology of filamentous fungi*. Oxford University Press. 267 pp.
- Pineda, F.G., Hernández, T., Del Carmen Cruz, M. y Gutiérrez, C.T. 1999. Application of two microbioassays for the evaluation of present contamination of the basins of Xochimilco and Lerma-Santiago. *Rev. Lat-amer. Microbiol.* 41: 251-258.
- Piontelli, E., Santa-Maria, M.A.T. y Carreta, G. 1981. Coprophilous fungi of the horse. *Mycophatologia* 74: 89-105.
- Pointing, S.B., Fryar, S.C., Hyde, K.D. y Mouzouras, R. 2000. Assessment of wood decay, fungal interactions and colonization. In: *Marine Mycology - A practical Approach* (eds. K.D. Hyde y S.B. Pointing). Fungal Diversity Research Series 1, Fungal Diversity press, Hong Kong: 113-136.
- Raja, H.A., Ferrer, A. y Shearer, C.A. 2005. *Aliquandostipite crystallinus*, a new ascomycete species from wood submerged in freshwater habitats. *Mycotaxon* 91: 207-215.

- Raja, H.A. y Shearer, C.A. 2006. *Jahnula* species from North and Central America, including three new species. *Mycologia* 98: 319-332.
- Raja, H.A. y Shearer, C.A. 2007. Freshwater ascomycetes: *Aliquandostipite minuta* (Jahnulales, Dothideomycetes), a new species from Florida. *Mycoscience* 48: 395-398.
- Raja, H.A., Ferrer, A. y Shearer, C.A. 2009b. Freshwater ascomycetes: a new genus, *Ocala scalariformis* gen. et sp. nov. and two new species, *Ayria nubispora* sp. nov. and *Rivulicola cygnea* sp. nov. *Fungal Div.* 34: 79-86.
- Raja, H.A., Violi, H.A. y Shearer, C.A. 2009a. Freshwater ascomycetes: *Alascospora evergladensis*, a new genus and species from the Florida Everglades. *Mycologia* In PRESS
- Ranghoo, V.M. y Hyde, K.D. 1998. Ascomycetes from freshwater habitats: *Ascolalicola aquatica* get. et sp. nov. and a new species of *Ascotaiwania* from wood submerged in a reservoir in Hong Kong. *Mycologia* 90: 1055-1062.
- Réblová, M. y Seifert, K.A. 2004. *Conioscyphascus*, a new ascomycetous genus for holomorphs with *Conioscypha* anamorphs. *Studies in Mycology* 50: 95-108.
- Révay, A. 1993. Some new or interesting hyphomycetes from Hungary. *Nov. Hed.* 56: 473-482.
- Révay, A. y Gönczöl, J. 1990. Longitudinal distribution and colonization patterns of wood-inhabiting fungi in a mountain stream in Hungary. *Nov. Hed.* 51: 505-520.
- Rodríguez, R.M. 2007. Diversidad de hongos acuáticos en la laguna de Zempoala y el lago de Chapala. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias Biológicas. UAEM.
- Roldán, A. 1990. Algunos hifomicetos acuáticos sobre acículas de *Pinus sylvestris*. *Rev. Iberam. Micol.* 7: 31-32.
- Roldán, A. y Honrubia, M. 1989. Hongos marinos saprófitos en la provincia de Alicante. *Anales del Jardín Botánico de Madrid* 46: 207-214.
- Rosique-Gil, E. 2008. Evaluación de la diversidad de los hongos microscópicos dulceacuícolas del Estado de Tabasco. Tesis de Doctorado. Instituto de Biología, UNAM.
- Rosique-Gil, E., González, M.C. y Cifuentes, J. 2008. New records of three freshwater ascomycetes from an urban lagoon of Tabasco, Mexico. *Mycotaxon* 105: 249-256.
- Sandoval, J. 2008. Evaluación de la calidad del agua en los canales de Xochimilco para su recuperación ecológica. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, UNAM.
- Santos-Flores, C.J., Nieves-Rivera, A.M. y Betancourt, C. 1995. Hyphomycetes with multiradiate conidia in stream foam from Puerto Rico. *Caribbean Journal of Science* 31: 49-56.
- Santos-Flores, C.J., Betancourt, C. y Nieves-Rivera, A.M. 1996. New records of water-borne hyphomycetes for Puerto Rico. *Caribbean Journal of Science* 32: 105-110.
- Sarma, V.V. y Vittal, B.P.R. 2000. Biodiversity of mangrove fungi on different substrata of *Rhizophora apiculata* and *Avicenia* spp. from Godavari and Krishna deltas, east coast of India. *Fungal Div.* 5: 23-41.
- Schoenlen-Crusius, I.R. y Grandi, R.A.P. 2003. The diversity of aquatic hyphomycetes in South America. *Brazilian Journal of Microbiology* 34: 183-193.
- Schüßler, A., Gehrig, H., Schwarzott, D. y Walker, C. 2001. Analysis of partial *Glomales* SSU rRNA gene sequences: implications for primer design and phylogeny. *Mycol. Res.* 105:05-15
- Shannon, C.E. y Weaver, W. 1949. The mathematical theory of communication. University of Illinois Press, Urbana.

- Shearer, C.A. 1972. Fungi of the Chesapeake Bay and its tributaries. III. The distribution of wood-inhabiting ascomycetes and fungi imperfecti in the Patuxent River. *Amer. J. Bot.* 59: 961-969.
- Shearer, C.A. 1973. Fungi of the Chesapeake Bay and its tributaries II. The genus *Conioscypha*. *Mycologia* 65: 128-136.
- Shearer, C.A. 1974. Fungi of the Chesapeake Bay and its tributaries IV. Three new species from the Patuxent River. *Mycologia* 66: 16-24.
- Shearer, C.A. 1978. Fungi of the Chesapeake Bay and its tributaries VII. *Luttrellia estuarina* gen. et sp. nov. (Ascomycetes). *Mycologia* 70: 692-697.
- Shearer, C.A. 1989. *Aniptodera* (Halosarpheriaceae) from wood in freshwater habitats. *Mycologia* 81: 139-146.
- Shearer, C.A. 1993. Freshwater ascomycetes. *Nov. Hed.* 56: 1-33.
- Shearer, C.A. 2002. Freshwater ascomycetes database. <http://fungi.life.illinois.edu/about/intro> (Consultada 1 octubre 2009).
- Shearer, C.A. y Crane, J.L. 1971. Fungi of the Chesapeake Bay and its tributaries I. Patuxent River. *Mycologia* 63: 237-260.
- Shearer, C.A. y Crane, J.L. 1986. Illinois fungi XII. Fungi and Myxomycetes from wood and leaves submerged in southern Illinois swamps. *Mycotaxon* 25: 527-538.
- Shearer, C.A., Crane, J.L. y Chen, W. 1999. Freshwater ascomycetes: *Ophioceras* species. *Mycologia* 91: 145-156.
- Shearer, C.A., Descal, E., Kohlmeyer, B., Kohlmeyer, J., Marmanová, L., Padgett, D., Porter, D., Raja, H.A., Schmit, J.P., Trotón, H.A. y Volgymayr, H. 2007. Fungal biodiversity in aquatic habitats. *Biodivers. Conserv.* 16: 49-67.
- Shearer, C.A. y Webster, J.L. 1985. Aquatic hyphomycete communities in the River Teign I. Longitudinal distribution patterns. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 84: 489-501.
- Shearer, C.A. y Webster, J.L. 1991. Aquatic hyphomycete communities in the river Teign. IV. Twig colonization. *Mycol. Res.* 95: 413-420.
- Sipaúba-Tavares, L.H., Guarigilgia, C.S.T. y Braga, F.M.S. 2007. Effects of rainfall on water quality in six sequentially disposed fishponds with continuous water flow. *Braz. J. Biol.* 67: 543-649.
- Sivichai, S., Jones, E.B.G. y Huwel-Jones, N.L. 2000. Fungal colonisation of wood in a freshwater stream at Khao Yai National Park, Thailand. *Fungal Div.* 5: 71-88.
- Solé, M., Fetzer, I., Wennrich, R., Sridhar, K.R., Harms, H. y Krauss, G. 2008. Aquatic hyphomycetes communities as potential bioindicators for assessing anthropogenic stress. *Science of the total environment* 389: 557-565.
- Sridhar, Krauss, G., Barlocher, F., Wennrich, R. y Krauss, G.J. 2000. Fungal diversity in heavy metal polluted waters in central Germany. *Fungal Div.* 5: 119-129.
- StatSoft. Inc. (2007). STATISTICA (data analysis software system) Version 8.0. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com).
- Suberkropp, K. 2003. Methods for examining freshwater fungi and macroinvertebrates. *Fungal Div. Research Series* 10: 159-171.
- Suberkropp, K. 2003. Effect of inorganic nutrients on relative contributions of fungi and bacteria to carbon flow from submerged decomposing leaf litter. *Microb. Ecol.* 45: 11-19.

- Suberkropp, K. 2005. The influence of nutrients on fungal growth, productivity, and sporulation during leaf breakdown in streams. *Can J. Bot.* 73(Suppl.1): 1361-1369.
- Suberkropp, K., Michelis, A., Lorch, H.J. y Ottow, J.C.G. 1988. Effect of sewage treatment plant effluent on the distribution of aquatic hyphomycetes in the Rivers Erms, Schwäbische ALB, F.R.G. *Aquatic Botany* 32: 141-153.
- Swe, A., Jeewon, R., Pointing, S.B. y Hyde, K.D. 2008. Diversity and abundance of nematode-trapping fungi from decaying litter in terrestrial, freshwater and mangrove habitats. *Biod. Cons.* 18: 1695-1714.
- Tsui, C.K.M. 1999. Biodiversity and longitudinal distribution of fungi on submerged wood, with reference to human disturbance. PhD Tesis de Doctorado. Universidad de Hong Kong.
- Tsui, C.K.M., Hyde, K.D. y Hodgkiss, I.J. 2000. Biodiversity of fungi on submerged wood in Hong Kong streams. *Aquat. Microb. Ecol.* 21: 289-298.
- Tsui, C.K.M., Hyde, K.D. y Hodgkiss, I.J. 2001a. Colonization patterns of wood-inhabiting fungi on baits in Hong Kong rivers, with reference to the effects of organic pollution. *Antonie van Leeuwenhoek* 79: 33-38.
- Tsui, C.K.M., Hyde, K.D. y Hodgkiss, I.J. 2001b. Longitudinal and temporal distribution of freshwater ascomycetes and dematiaceous hyphomycetes on submerged wood in the Lam Tsuem River, Hong Kong. *J. N. Am. Benthol. Soc.* 20: 533-549.
- Tsui, C.K.M., Hyde, K.D. y Hodgkiss, I.J. 2003a. Methods for investigating the biodiversity and distribution of freshwater ascomycetes and anamorphic fungi on submerged wood. *Freshwater Mycology* (eds. C.K.M. Tsui y K.D. Hyde) *Fungal Div. Research Series* 10: 195-209.
- Tsui, C.K.M., Hyde, K.D. y Hodgkiss, I.J. 2003b. Biodiversity of fungi on submerged wood in Hong Kong streams. *Aquat. Microb. Ecol.* 21: 289-298.
- Tsui, C.K.M., Hyde, K.D. y Fukushima K. 2003c. Fungi on submerged wood in the Kyoto river, Japan. *Mycoscience* 44: 55-59.
- Tubaki, K. 1966. An undescribed species of *Hymenoscyphus*, a perfect stage of *Varicosporium*. *Trans. Brit. mycol. Soc.* 49: 345-349.
- Vijaykrishna, D., Jeewon, R. y Hyde, K.D. 2006. Molecular taxonomy, origins and evolution of freshwater ascomycetes. *Fungal Div.* 23: 351-390.
- Volkman-Kohlmeier, B. y Kohlmeier, J. 1996. How to prepare truly permanent microscope slides. *Mycologia* 10: 107-108.
- Vukojevic', J., Franic'-Mihajlovic', D. y Duletic'-Lausevic, S. 1997. Soil micromycetes in the aquatic ecosystem of Vlasinsko lake and its tributaries. *Mycol. Helv.* 9: 121-136.
- Weston, W.H. 1929. Observations on *Loramyces*, an undescribed aquatic ascomycete. *Mycologia* 21: 55-76.
- Wong, M.K.M., Goh, T.K., Hodgkiss, I.J., Hyde, K.D., Ranghoo, V.M., Tsui, C.K.M., Ho, W.H., Wong, W.S.W. y Yuen, T.K. 1998. Role of the fungi in freshwater ecosystems. *Biod. Cons.* 7: 1187-1206.
- Zambrano, L., Reynoso, V.H. y Herrera, G. 2004. Abundancia y estructura poblacional del Axlotl (*Ambystoma mexicanum*) en los sistemas dulceacuícolas de Xochimilco y Chalco. Informe final del Proyecto AS004.
- Zambrano, L., Contreras, V., Mazari-Hiriati, M. y Zarco-Arista, A.E. 2009. Spatial heterogeneity of water quality in a highly degraded tropical freshwater ecosystem. *Environmental Management* 43: 249-263.

- Zare-Maivan, H. y Shearer, C.A 1988. Extracellular enzyme production and cell wall degradation by freshwater lignicolous fungi. *Mycologia* 80: 365-375.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L. y Miller, W. 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J. Comput. Biol.* 7: 203-214.