

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Hongos Fitopatógenos como Control Biológico de *Phoradendron* spp.

Por:

ANA LILIA MELCHOR LÓPEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Febrero 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Hongos Fitopatógenos como Control Biológico de *Phoradendron* spp.

Por:

ANA LILIA MELCHOR LÓPEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Febrero 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Hongos Fitopatógenos como Control Biológico de *Phoradendron* spp.

Por:

ANA LILIA MELCHOR LÓPEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para recibir el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Sergio R. Sánchez Peña
Asesor Principal Interno



Dra. Yolanda Rodríguez Pagaza
Asesor Principal Externo



M.C. María Paz Ponce
Coasesor



M.C. Arturo Coronado Leza
Coasesor



Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México
Febrero 2019



AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma Agraria “Antonio Narro”** Agradezco por haberme brindado la oportunidad de formar parte de ella, por permitirme estudiar la carrera de Ingeniero Agrónomo Parasitólogo y ser orgullosamente buitre de la Narro.

A la **Dra. Yolanda Rodríguez Pagaza**: Por su valioso apoyo, por el tiempo y esfuerzo que dedicó en la realización de esta investigación. También por sus buenos consejos, su gran amor, y sus sonrisas que solo decían: “Adelante, tu puedes”, te agradezco infinitamente por todos esos abrazos que me ha regalado cuando me siento triste, por apoyarme en todo momento, por quererme como me quieres, por todas tus sonrisas, por motivarme a cumplir mis metas, y por mucho más te amo Doctora, Gracias por permitirme conocerte.

A la **M.C. María Paz Ponce**: Por su gran apoyo, por el tiempo que me dedicó, y por contribuir en la realización de esta investigación de la mejor manera y disposición. Porque ante todo supiste ser madre, amiga, hermana, confidente, mi motivo a la vez, por siempre apoyarme en las buenas y en las malas, por estar siempre ahí cuando te he necesitado muchas Gracias, Te amo, por el cariño y el respeto que te has sabido ganar y más que nada por escucharme e incluirme en tus oraciones, Dios te premiara en su momento. Nuevamente Gracias.

Al **Dr. Sergio R. Sánchez Peña**: Por su disponibilidad, por el apoyo e interés demostrado en este trabajo de investigación, y agradezco por ser la persona que me ha demostrado ser, por colaborar en mi aprendizaje, por permitirme entrar en su mundo de enseñanza, y por todo su apoyo incondicional. Gracias.

Al M.C. Arturo Coronado Leza: Por su colaboración en este trabajo, por el apoyo brindado y por sus enseñanzas en clases, por ser la persona que es, por regañarme en el momento, por tenerme como ejemplo para sus alumnos, por darme esa confianza, un gusto conocerlo gracias.

Agradezco a mis amigos Laura, Antonia, Leonor, Juanita, Silvia, Martin, Vitalino Alelí, Patricia, patricio, Timoteo, Juan Carlos, Julián, por haber estado siempre conmigo compartiendo risas, emociones, regaños y por apoyarme en las buenas y en las malas. Les agradezco infinitamente por brindarme todo su apoyo incondicional para el logro de esta tesis.

DEDICATORIAS

Agradezco primeramente a **Dios** por bendecir y guiar mi camino y permitirme lograr esta meta, dándome las fuerzas para superar los obstáculos y dificultades a lo largo de mi carrera. Gracias por darme la fortaleza para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban, enseñándome a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento y ayudarme discernir en mis momentos críticos de mi vida.

Aurora

Mi abuela porque fue el mejor regalo que me dieron mis padres, es el tesoro máspreciado de mi infancia y ahora de mi corazón, porque una madre no es solo la que engendra, sino también la que cria, te amo como todo mi corazón. Me dueles en el alma por no tenerte en este logro tan importante que era para ti, mi lolita, por tanto, sacrificio, amor, y tiempo, por preferirme a mi antes que, a tus hijos, eres la más bonita estrella del cielo que alumbra mis noches, te amo mami.

A MIS PADRES

Roberto y Faustina, porque ellos siempre estuvieron brindándome su apoyo y sus consejos para hacer de mí, una mejor persona, por haberme dado educación, un hogar donde crecer y por inculcarme valores que hoy definen mi vida. También por los ejemplos de perseverancia y constancia que los caracteriza, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor, por sus desvelos, sus sacrificios y esfuerzos en su momento. Que, Aunque Dios los tenga en el cielo, los dos siempre estarán en mi corazón, los Amo.

A MIS HERMANOS:

Artemio y Cynthia, Por el amor y apoyo que siempre he recibido de ustedes con el cual logre terminar mi carrera profesional. La mejor de las herencias ¡¡mis hermanos!! Porque son más que eso, mi inspiración, mi motor, mi fortaleza y mi vida; para seguir, para luchar día con día, como mamá siempre dijo: sin familia no somos nada, gracias por escucharme, acompañarme, apoyarme e incluso por llorar conmigo, porque son importantes en mi vida ¡¡nunca me falten!!.Gracias.

A MI AMIGA

Laura, mi amiga y compañera de toda la vida, gracias por ir conmigo en el camino. Te quiero mucho, no tengo palabras para agradecer todo lo que has hecho por mí, fue muy lindo compartir tantos años de altas y bajas y espero que nuestra amistad dure para siempre.

A MIS TÍOS

Agradezco especialmente a Margarita y Juan, quienes con su ayuda, cariño y comprensión han sido una parte fundamental de mi vida, que me han dado consejos y amor de padres.

A MIS PRIMOS:

¡Marcos, Melitón, Petra, Lucia, Gloria, Luisa, Renata, Are, Cristóbal, etc. por ser mis amigos, por estar cuando los necesito y cuando no, por escuchar todas mis locuras, calmar mis corajes, aconsejarme, y aguantarme tantos momentos de lágrimas, por reír juntos y mil cosas más los quiero!!!!

A MIS ABUELITOS

Modesta, Felipe, Beatriz: Porque siempre están al pendiente preguntando cómo nos va y porque sé que con sus oraciones constantes nos abren camino para que todo esté bien. Los adoro.

A mi familia en general Y a mis madrinas, porque me ha brindado su apoyo incondicional y por compartir los buenos y malos momentos.

ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	IV
DEDICATORIAS	VI
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS	X
ÍNDICE DE CUADROS	XI
RESUMEN.....	XII
INTRODUCCIÓN.....	1
Justificación	2
Objetivo.....	2
Hipótesis.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA	3
El Muérdago en el Mundo	3
El Muérdago en la República Mexicana	4
El muérdago en Coahuila.....	4
Clasificación Taxonómica.....	5
Descripción del Género <i>Phoradendron</i>	5
Características de los géneros de <i>Phoradendron</i> bajo estudio	7
<i>Phoradendron lanceolatum</i> Engelm.....	7
<i>Phoradendron tomentosum</i>	7
<i>Phoradendron densum</i>	7
Fisiología de la Infección de <i>Phoradendron</i>	7
Polinización	8
Dispersión	8
Ciclo de Vida de <i>Phoradendron</i>	8
Condiciones favorables para el establecimiento del muérdago	10
Hospederos forestales de los muérdagos bajo estudio	10
<i>Juniperus angosturana</i>	10
Descripción general.....	11
<i>Quercus microphylla</i> Née.....	11
Descripción general.....	11
Fenología.....	12

<i>Quercus pringlei</i> Seemen ex Loes	12
Fenología.....	12
<i>Prosopis glandulosa</i> Torr.	12
Fenología.....	13
Daños causados por Muérdagos	13
Los muérdagos y su Control biológico.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
Identificación de las especies de muérdago en las áreas de.....	17
estudio.	17
Identificación Morfológica	18
Identificación de hongos asociados al muérdago <i>Phoradendron sp.</i>	18
Colecta de material vegetal	18
Crecimiento de hongos asociados y purificación.....	18
Identificación Morfológica de Hongos.....	19
Identificación Molecular de Hongos.....	19
Material vegetal.....	19
Incremento del inoculo en arroz:	19
Preparación de la Suspensión de esporas.....	20
Primera suspensión para inocular el arroz	20
Segunda suspensión para inocular las hojas de muérdagos y hospederos.-.....	20
Bioensayo (Bañuelos and Mayek, 2008)	20
Diseño experimental.....	21
Análisis estadísticos	21
RESULTADOS	22
Identificación morfológica y molecular del material vegetal y fúngico.....	22
Bioensayo de patogenicidad y selectividad con hongos asociados	24
DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIONES.....	32
PERSPECTIVAS	33
LITERATURA CITADA	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	Página
Figura 1. Infección de muérdago (Olsen, 2003).	8
Figura 2. Ciclo de vida del muérdago (Olsen, 2003)	10
Figura 3. Especies forestales parasitadas por <i>Phoradendron</i> spp.	23
Figura 4. Hongos asociados a muérdagos del género <i>Phoradendron</i>	24
Figura 5. Hojas de las especies forestales a los 4 días después de la inoculación con <i>Fusarium acuminatum</i> sin daño asociado a la inoculación.....	25
Figura 6. Hojas de <i>Phoradendron</i> a los 4 días después de la inoculación con el hongo <i>Fusarium acuminatum</i> necrosadas totalmente.	26
Figura 7. Curso de la infección en hojas de muérdago causada por los hongos probados en este estudio.	27

ÍNDICE DE CUADROS

Contenido	Página
Cuadro 1. Pasos fundamentales de la investigación de este trabajo.	17
Cuadro 2. Nombre científico de cada una de las especies de hongos asociados a los muérdagos y sus hospederos forestales.	22

RESUMEN

En Coahuila, la planta parásita *Phoradendron* spp afecta a un 82% de los árboles forestales. Con el objetivo de evaluar cinco hongos como potenciales biocontroles de *Phoradendron*, se realizaron bioensayos de selectividad y patogenicidad de los hongos *Curvularia hawaiiensis*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Alternaria alternata*, *Nigrospora sphaerica* y *Fusarium acuminatum* en hojas de *Phoradendron densum*, *P. lanceolatum* y *P. tomentosum*, y hojas de los respectivos hospederos forestales de los muérdagos bajo estudio (*Prosopis glandulosa*, *Quercus pringlei*, *Q. microphylla* y *Juniperus angosturana*) inoculando a las hojas una suspensión de 1×10^7 esporas. La unidad experimental consistió en una caja Petri con una hoja de la especie vegetal a probar, y 15 repeticiones. También se evaluó un testigo inoculando solo agua destilada estéril. El progreso de la necrosis se midió diariamente en milímetros hasta el completo necrosado de la hoja. A los datos se les realizó un análisis de varianza y una prueba de permutación. Las cinco cepas de hongos usadas provocaron necrosis a las tres especies de muérdago bajo estudio sin diferencia significativa. No se observó ningún tipo de lesión provocada por los hongos en las hojas de las especies de árboles forestales evaluadas 4 días después de la inoculación, mismo tiempo que le llevó a la mayor parte de los hongos evaluados necrosar totalmente las hojas del muérdago. La prueba de permutación permitió distinguir un patrón de agresividad de las diferentes especies del hongo hacia los muérdagos inoculados, siendo *Fusarium acuminatum* y *Alternaria alternata* los que presentaron mayor agresividad., *A. alternata* y *F. acuminatum* pueden ser candidatos potenciales como biocontroles de muérdago. Se recomienda realizar pruebas de patogenicidad y selectividad a flora asociada y a cultivos en los sitios de muestreo así como realizar pruebas *in situ*.

Palabras clave. - *Alternaria alternata*, *Fusarium acuminatum*, Control biológico, plantas parásita.

INTRODUCCIÓN

Los muérdagos son parásitos obligados que dependen de su huésped para obtener agua, nutrientes y la mayoría de sus carbohidratos. Los efectos que causan al hospedero son: deformación del tallo infectado, pérdida de crecimiento, aumento de la susceptibilidad para otras enfermedades e insectos. La presencia de los muérdagos y la mortalidad causada por éstos tienen efecto ecológico y económico significativo en bosques y áreas de recreación severamente infestados, los muérdagos son un grupo diverso dentro del orden Santalales. Vázquez y Geils, (2002).

Las plagas y enfermedades forestales son consideradas como una de las principales causas de disturbio en los bosques templados. Actualmente se tiene registro de alrededor de 250 especies de insectos y patógenos que afectan al arbolado del país. De acuerdo con el monitoreo periódico que realiza la SEMARNAT de las zonas forestales de México, para el año 2012 la superficie afectada fue de 43,551 hectáreas. De esta superficie afectada, la mayor parte correspondió a los descortezadores (39.8%), seguidos por los muérdagos (32.3%), defoliadores (17.7%) y barrenadores (6.6%) (SEMARNAT, 2011; CONAFOR, 2012).

Las plantas parásitas son aquellas que obtienen sus nutrientes de otras plantas. Dentro del género *Phoradendron* se encuentran plantas parásitas de pinos llegando a ser muy destructivas y arrasando grandes extensiones de pinares en algunas zonas localizadas convirtiéndose en una plaga difícil de erradicar. Los muérdagos de la familia Loranthaceae y Viscaceae son las plantas vasculares parásitas más importantes de coníferas en Canadá, Estados Unidos y México. Las especies de los géneros, *Phoradendron*, *Psittacanthus* y *Arceuthobium* causan los más grandes impactos económicos y ecológicos (Geils *et al.*, 2002).

El género *Phoradendron* incluye cerca de 250 especies que se encuentran en zonas tropicales y templadas de América. Dentro de los hospederos se incluyen varios géneros de coníferas, muchas gimnospermas, arbóreas, arbustos y otros muérdagos (Geils *et al.*, 2002).

Hasta el momento, la única forma de controlar el muérdago es mediante la poda de los árboles infectado. Dentro de los controles biológicos existe un producto formulado a base de algas diatomeas llamado “Muérdago Killer® (Injecthor),” y recomendado por la CONAFOR para que fuera probado por algún tiempo, resultando muy efectivo para dar muerte al muérdago (Coria Ávalos *et al.*, 2010) pero inaccesible económicamente al usuario, por lo que se están buscando otras alternativas de control biológico efectivas y de bajo costo.

Justificación

Uno de los pasos fundamentales para proponer a un agente fitopatógeno como potencial control biológico de una maleza es verificar su patogenicidad, así como su especificidad a la maleza que se desea controlar. El presente trabajo de investigación verifica la patogenicidad de 5 cepas de hongos encontradas en 3 especies de muérdago del género *Phoradendron*, así como su especificidad en comparación con las especies forestales parasitadas por el muérdago. Cabe mencionar que el presente trabajo de investigación se encuentra inmerso en un proyecto más grande cuyo propósito es proponer algunos hongos fitopatógenos como potenciales controles biológicos de muérdago, ya que se está presentando un gran problema en los árboles forestales de la Sierra de Zapalinamé del municipio de Arteaga, Coahuila, como en los árboles de la presa “El Tulillo” del municipio de General Cepeda, Coahuila.

Objetivo

Determinar la patogenicidad y especificidad de *Curvularia hawaiiensis*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Alternaria alternata*, *Nigrospora sphaerica* y *Fusarium acuminatum* a tres especies de *Phoradendron* spp. que parasitan árboles forestales de la Sierra de Zapalinamé, Arteaga, Coahuila y de la presa “El Tulillo”, General Cepeda, Coahuila.

Hipótesis

Al menos una de las cepas de hongos asociados a *Phoradendron* será patogénica y específica a *Phoradendron* spp.

REVISIÓN DE LITERATURA

El Muérdago en el Mundo

Los muérdagos son un grupo diverso dentro del orden Santalales de las plantas parásitas arbustivas, usualmente aéreas con frutos que poseen una capa de viscina. Estos están ampliamente distribuidos geográficamente y como grupos tiene amplio rango de hospedero en coníferas y otras plantas leñosas como el roble, el nogal, la pacana, el almez y los fresnos. Muchos muérdagos están especialmente adaptados para la polinización y dispersión por aves y varias de estas especies hacen un uso extensivo de este recurso. Los muérdagos son patógenos dañinos de árboles y en muchas partes del mundo son un serio problema forestal (Geils y Vázquez, 2002).

Estas plantas parásitas se fijan a los troncos y ramas de los árboles hospederos por medio de unas estructuras llamadas “haustorios”, formaciones que hacen las veces de raíz. Este sistema radicular interior se denomina endofítico y le sirve al muérdago para obtener agua y nutrientes de su hospedero, provocando así el debilitamiento de este (Geils *et. al.*, 2002).

Existen cientos de especies de muérdago en todo el mundo, constituyendo un serio problema en bosques naturales, plantaciones, huertos frutícolas y árboles urbanos. Algunos países europeos, por ejemplo, en donde predominan las coníferas, tienen una importante presencia de *Viscum album*. En el sureste de los Estados Unidos, todos los muérdagos (excepto uno) pertenecen al género *Phoradendron*. (Valencia, 2009).

En Chile, entre otros, encontramos *Tristerix aphyllus*, pero en la mayoría de los países sudamericanos prevalece *Tripodanthus acutifolius*. Caso particular es la Ciudad de Curitiba, Brasil, en donde aproximadamente la tercera parte de los árboles urbanos se encuentran infestados por esta especie, que durante su floración exhala un aroma tan agradable, que todos los habitantes de dicha ciudad la encuentran encantadora, y no permiten que se les quite a sus árboles. (Valencia, 2009).

El Muérdago en la República Mexicana

En México existen los géneros *Arceuthobium* conocidos como muérdagos enanos y *Cladocolea*, *Phoradendron*, *Psittacanthus*, *Struthanthus*, *Phthirusa*, *Dendrophthora*, *Oryctanthus*, *Antidaphne* e *Ixocatus* denominados muérdagos verdaderos. Los géneros *Phoradendron*, *Struthanthus* y *Psittacanthus* parasitan una gran cantidad de especies de angiospermas (Vázquez *et al.*, 2006).

La Comisión Nacional Forestal reporta presencia de muérdago en la mayoría de los estados, y los estudios que han emprendido diversos especialistas nos hablan de problemas en Michoacán, Veracruz, Tlaxcala, Morelos, Oaxaca, Guerrero, Querétaro, etc., algunos de los cuales datan de hace más de veinte años. Es un hecho que la mayoría de estos estudios se refieren al desarrollo de muérdagos en áreas naturales. (SEMARNAT, 2011; CONAFOR, 2012).

Y sin embargo, en 1993, Cházaro Basáñez M., y otros especialistas afirman que en México existe un gran desconocimiento respecto de la biología, fisiología y otros aspectos de los muérdagos, así como de las medidas silvícolas para su control. Agregan que a pesar de estar presentes en muchos estados de la República Mexicana y de ser considerados el problema patológico más importante en los bosques de nuestro país (SARH, 1991-1992), todavía no se cuenta con una evaluación detallada de la distribución, área total dañada y pérdidas ocasionadas por las principales familias y sus géneros.

Cabe mencionar que la publicación en 2007 del libro “Enfermedades Forestales en México”, editado por David Cibrián Tovar, Dionicio Alvarado Rosales y Silvia Edith García Díaz, ha significado un avance fundamental en la identificación de los muérdagos más devastadores de la República Mexicana.

El muérdago en Coahuila

De las nueve especies reportadas para el estado de Coahuila, solamente dos están presentes en el municipio de Arteaga: *Phoradendron densum* Torr (sinónimo *P. pauciflorum* Torr., y *P. saltillense* Trel.) y *Phoradendron villosum* (Nutt.) Nutt

(sinónimo *P. tomentosum*) (Villarreal, 2001). Zavaleta (2008) menciona además de las especies anteriores, a *P. lanceolatum* en Arteaga.

Clasificación Taxonómica

Dominio:.....Eucariota

Reino:.....Plantae Haeckel, 1866

Filum:.....Tracheophyta

Subfilum:.....Spermatophytina (auct), Smith-caballero

Intraphylum:.....Angiospermas auct.

Clase:.....Magnoliopsida Brongniart, 1843

Subclase:.....Rosidae Takhtajan, 1967

Superorden:.....Santalanae Thome 1992

Orden:.....Santalales Dumortier, 1829

Familia:.....Viscaceae Batsch, 1802

Subfamilia:.....Charadrinae

Tribu:.....Phoradendreae

Género:.....*Phoradendron* Nuttall, 1848.

Descripción del Género *Phoradendron*

Los muérdagos verdaderos del género *Phoradendron* son plantas parásitas con flores que se caracterizan por sus ramas aéreas que son fácilmente visibles sobre la planta hospedera. Mayormente tienen hojas, aunque a veces éstas pueden estar

grandemente reducidas en algunas especies. Los muérdagos son dioicos y las plantas femeninas tienen flores y producen bayas con semillas que varían desde blanco, verde, verde amarillento, anaranjado o rojo, mientras que las plantas masculinas tienen pequeñas flores inconspicuas que sólo producen polen (Young y Olsen, 2003). Por ser las flores masculinas y femeninas tan similares en apariencia, es difícil saber el sexo de la planta a menos de que los frutos estén presentes (Hawksworth y Scharpf, 1974). Nombres comunes: Injerto, muérdago y mistletoe, en inglés.

Phoradendron tiene alrededor de 300 especies exclusivas, ubicándose principalmente en el área intertropical, siendo el más grande y difícil desde el punto de vista taxonómico de la familia Loranthaceae; se localiza desde el suroeste de los Estados Unidos hasta América del Sur. En México se encuentra presente en casi todos los estados de la República, con 57 especies y una distribución altitudinal que va desde el nivel del mar hasta los 3000 m. Presenta especificidad sobre las angiospermas, encontrándose pocas especies parasitando las gimnospermas (coníferas). Este género tiene importancia ecológica, ya que afecta un alto porcentaje de los encinos; sin embargo, no es tan relevante económicamente ya que el encino es de interés secundario en la explotación maderable (Vázquez Collazo, et al., 2006).

El Muérdago verdadero o injerto son plantas parásitas que se caracterizan por sus ramas aéreas que son fácilmente visibles sobre la planta hospedera.

Zamora (2006) describió a los muérdagos del género *Phoradendron* como: arbustos hemiparásitos, unidos al hospedero por raíces especializadas hasta formar una estructura llamada haustorio, tallos y hojas con clorofila.

Agrios (2005) menciona que los muérdagos del género *Phoradendron* son parásitos siempre verdes, que tienen hojas y tallos bien desarrollados. La altura de estas plantas va desde unos cuantos centímetros hasta un metro o más.

Características de los géneros de *Phoradendron* bajo estudio

Phoradendron lanceolatum Engelm. (= *P. schumannii* Trel.)

Hospederos principales: varias especies de *Quercus*; intervalo altitudinal 1150-2550 msnm; habitante de encinares y de bosque mesófilo de montaña.

Phoradendron tomentosum (DC.) Kuijt (= *P. flavum* I. M. Johnst.); hospederos diversos; intervalo altitudinal 2000-2500 msnm; habitante de encinares y matorrales xerófilos; abundante en el noreste, y poco frecuente en el centro de México.

Phoradendron densum (Seem.) Eichl (sinónimo de *P. bolleanum*= *P. saltillensis* en Norte América, (Hawksworth y Scharpf, 1980).

Hospederos conocidos *Cupressus lusitanica* y *Juniperus flaccida*; intervalo altitudinal 1650-2300 msnm; habitante de bosques de coníferas y de encinares.

Fisiología de la Infección de *Phoradendron*

La infección se inicia cuando una semilla se adhiere a la corteza o a las hojas del hospedero (Figura 1), cuando comienza a germinar forma un hipocotilo que se elonga hasta formar un abultamiento, en este punto, la radícula produce una cantidad irregular de tejido (apresorio) el cual funciona como un soporte por la parte inferior de este tejido, que hace presión directamente sobre las ramas del hospedero donde se desarrolla la clavija y la raíz principal formando el haustorio (Hawksworth y Scharpf, 1980).

La planta de muérdago parasita a su hospedero y comienza a desarrollarse, durante aproximadamente dos años antes de producir brotes aéreos en el exterior de la planta. Los brotes de muérdago contienen clorofila y llevan a cabo la fotosíntesis y dependen de su planta hospedera para obtener los carbohidratos, así como nutrientes minerales y agua. Suelen causar un ligero retraso en el desarrollo en la planta huésped durante muchos años. El muérdago verdadero difiere del muérdago enano en que generalmente son menos perjudiciales para su hospedero, además son más grandes y más visibles y otra gran diferencia es que los muérdagos enanos son muy específicos para sus hospedantes al infectar coníferas solamente (Olsen, 2003).



Figura 1. Infección de muérdago (Olsen, 2003).

Polinización

Los muérdagos son polinizados por agentes bióticos, principalmente pájaros e insectos, como abióticos por el viento (Hawksworth y Scharpf, 1974 y Nickrent y Musselman, 2004).

Dispersión

El muérdago denso presenta un fruto del tipo baya color rosada o blanca, su semilla es cubierta por una sustancia mucilaginosa natural llamada viscina.

Las semillas del muérdago son diseminadas por aves de varias maneras, dependiendo de la especie de ave: unas lo hacen mientras se acicalan, algunas otras se llevan semillas pegadas entre las patas y donde se paran dejan pegada la semilla gracias a la viscina, pero la manera de dispersar semilla más importante es mediante excretas y por regurgitar, porque resulta una dispersión en un área más grande y las semillas son depositadas en las partes superiores de los hospederos (Olsen, 2003).

Además de las aves como principal vector de la semilla de *P. densum*, el viento constituye otro factor para dispersar la semilla del muérdago, también se sabe que cuando el fruto está muy maduro cae y debido a la viscina de este, se adhiere a alguna otra rama de la misma planta ya infectada (Geils *et al.*, 2002).

Ciclo de Vida de *Phoradendron*

Phoradendron tiene un ciclo de vida típico de los demás muérdagos pertenecientes a este género (Figura 2), caracterizado por la diseminación de aves, un parasitismo

interno en su hospedante leñoso y un crecimiento aéreo para la producción de flores y frutos (Geils *et al.*, 2002).

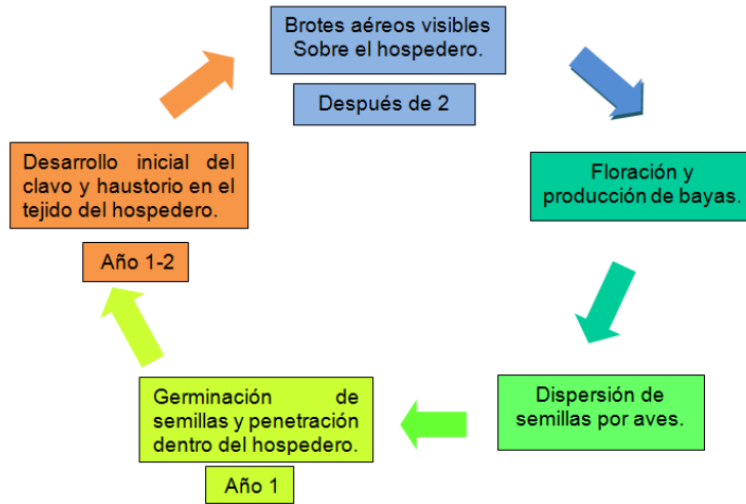
Para iniciar la germinación el muérdago debe tener una planta hospedera viva en el cual se desarrollará. La infección reduce el vigor del hospedero porque los muérdagos compiten con sus hospederos por los nutrientes y el agua (Olsen, 2003).

Las flores forman unas bolas verdes que posteriormente van adquiriendo su aspecto característico de bayas blanquecinas y traslúcidas. En el interior se alberga sólo una semilla rodeada de un tejido mucilaginoso y pegajoso (Bernal E., 2010).

La maduración del fruto se produce en las primeras semanas del invierno, dependiendo del biotipo en el que esté establecido. Sirven de alimento para gran cantidad de animales, especialmente pájaros que son los que intervienen de una forma más directa en la diseminación (Bernal E., 2010).

Se requieren varios años después de la infección para que una nueva semilla genere una planta desarrollada. El parásito no aparece rápidamente, pero una vez que una planta se establece, el sistema epicortical se extiende gradualmente hacia arriba y abajo de la rama. La defoliación o destrucción de la parte aérea no mata al muérdago. Nuevos brotes pueden ser producidos del sistema interno, o la parásita puede sobrevivir y crecer completamente a partir del tejido infectado del hospedero. El muérdago muere cuando el árbol, o si la porción infectada muere o es removida (Hawksworth y Scharpf, 1974).

Hawksworth (1980) menciona que el muérdago tiene un ciclo de vida largo. El tiempo transcurrido entre la infección y la producción de semillas es típicamente de cuatro a seis años, y a veces mayor. El tiempo de la maduración de la semilla para las especies mexicanas varía de 12 a 18 meses teniendo lugar en la última parte del verano, dependiendo de la especie que se trate. También menciona que la mayoría de los muérdagos mexicanos florecen en invierno y a principios de la primavera, con algunas excepciones lo hacen más tarde, en los últimos días de julio, agosto o septiembre.



Fuente: Olsen, 2003

Figura 2. *Ciclo de vida del muérdago (Olsen, 2003)*

Condiciones favorables para el establecimiento del muérdago

El muérdago es del tipo de plantas parásitas oportunistas que se presentan en áreas debilitadas, esto se refiere a las áreas perturbadas sobre explotadas con mal manejo y sobre todo a aquellas áreas que se desarrollan bajo estrés hídrico no acostumbradas a ello. Estas circunstancias hacen que el arbolado pierda cualquier resistencia natural de repeler y tolerar el ataque de los parásitos, entonces se tornan susceptibles y el ataque de estos se hace más notorio y cobra mayor importancia. Se considera que al abrir la masa arbórea donde existe infestación se propicia su diseminación o esta se hace más rápida (Hawksworth, 1980). Las semillas de la especie de *Phoradendron* requieren de humedad para la germinación, por lo que la infección ocurre durante periodos de lluvia.

Hospederos forestales de los muérdagos bajo estudio

Juniperus angosturana

Este género forma parte de los nueve géneros de las coníferas mexicanas. Juega un papel importante desde el punto de vista económico, social y ecológico, se utiliza

para la industria cosmética, farmacéutica, mueblera y artesanal; también se usa en el medio rural para postes o leña; además de ser un nicho ecológico y de alimentación para la fauna silvestre. El género *Juniperus* presenta características distintivas que lo separan del resto de las coníferas mexicanas y tiene un gran número de especies, variedades y formas (Adams, 1994).

Descripción general

Los *Juniperus* son árboles o arbustos siempre verdes, con hojas opuestas o alternas, aciculares en las plantas jóvenes y escamiformes en las adultas (en Europa y los Estados Unidos hay algunas especies con hojas aciculares en ambos casos). Las especies mexicanas, son dioicas, es decir, las flores masculinas se producen en una planta y las femeninas en otra. Las masculinas están en pequeños amentos ovales, de unos 5 mm, formados por escamas que abrigan cada una cuatro saquitos de polen. Las flores femeninas constan de 3 a 8 escamas carnosas dispuestas en roseta, que protegen a cada uno de los óvulos; estas escamas, después de la fecundación, se ensanchan y unen formando un falso ovario que, al madurar, constituye un fruto indehiscente, más o menos globoso, llamado gámbula, semejante en unos casos a una drupa y en otros a una baya. Madura a los dos años (Adams, 1994).

Nombre común y notas taxonómicas.

Sinónimo de *Juniperus monosperma*, *vargracilis* (Martínez, 1946; Farjon, 2005).

***Quercus microphylla* Née**

Descripción general

Género de la familia Fagaceae, el cual presenta una distribución en todo el mundo. Se encuentra en casi todos los bosques templados del Hemisferio Norte, así como en algunas regiones tropicales y subtropicales del mismo. En México alcanza su mayor representatividad con alrededor de 160 especies (Valencia, 2004) de las 500 que Manos *et al.*, (1999) han estimado que existen a nivel mundial.

Es una especie mexicana de encino enano (0.4-1 m altura) ramificado incluso en la base del tronco. Estos árboles participan en la formación y estabilización del suelo,

ya que la mineralización de su hojarasca es excelente y forma agregados de suelo estable y de buen tamaño, estas características le confieren un papel muy importante en la recuperación y conservación de los suelos.

Fenología. Hojas 1-3 x 0.7-1.8 cm; caduco; coriáceo; elíptica más o menos estrecha u ovalada; flores pistiladas en un pedúnculo tomentoso; La fruta es una bellota de 1-1.5 cm, globosa a ovoide.

Romero Rangel *et al.*, 2014 y Vázquez, 2000 no documentan sinonimias para *Quercus microphylla*, a diferencia de Valencia, 2004 que considera como tales a *Q. frutex* var. *Uhdeana* (Trel). y *Q. microphylla* var. *Uhdeana* (Trel.), así como González, 1986 y McVaugh, 1974 a *Q. striatula* (Trel).

***Quercus pringlei* Seemen ex Loes**

Es un árbol que tiene menos de 2 m de altura, pero llega a alcanzar los 3 metros. En árboles maduros la copa es redondeada con ramas largas irregularmente dispuestas. Forma parte del matorral submontano ubicado en las laderas de Sierras y serranías, en transición con ecosistemas xéricos.

Fenología. - Hojas de 1.6-3 cm de largo, 0.5-1.3 de ancho, perennes, elíptica u oblonga, rara vez lanceolada. Las flores se dan entre marzo y abril, la fruta es una bellota ovoide o globosa de 1-1.2 cm

***Prosopis glandulosa* Torr.**

Es un árbol mediano a pequeño, con corona redondeada y en cayado, ramas pendientes con follaje ligero, y pares de espinas rectas en ramitas. Normalmente alcanza de 5 a 9 m de altura, pero puede llegar a medir 14 m.

El árbol es apto para forraje de ganado y para leña. Es también una excelente fuente de néctar para abejas. Los agricultores de Estados Unidos de Norteamérica lo consideran por lo general una maleza, puesto que esta especie ha invadido los pastizales, habiéndose organizado intensos programas de erradicación. Es

interesante el hecho de que el ganado es el mayor factor de propagación de la planta en estos pastizales (Anónimo).

Fenología.- Las hojas son caducas, de colores verdes brillantes y plumosos. Pequeñas flores fragantes de color amarillo verdoso aparecen en racimos densos con forma de espiga que aparecen en abril y hasta agosto, durante los veranos húmedos. Fruto una vaina larga, de color marrón amarillento, algo aplanada y con ligeras constricciones entre las semillas, comestibles por muchas especies animales salvajes.

Daños causados por Muérdagos

Los daños causados por *Phoradendron* no son tan severos como los causados por *Arceuthobium*, pero ciertas especies pueden llegar a provocar la muerte de su hospedero.

El primer signo visible de la infección es la aparición de pequeños brotes aéreos que salen de la planta huésped. La infección causa la reducción del vigor por la competencia por nutrientes y agua (Young y Olsen, 2003; y Mathiasen *et al.*, 2008).

Entre los daños que causa son:

- ❖ Reducción del vigor por la competencia por nutrientes y agua (Young y Olsen, 2003 y Mathiasen *et al.*, 2008).
- ❖ Reducción de crecimiento en altura y grosor
- ❖ Reduce la cantidad de frutos y semillas
- ❖ Predispone el ataque de otros agentes, como insectos y hongos causantes de pudrición.
- ❖ Reduce la capacidad fotosintética
- ❖ Afecta la estética del árbol
- ❖ Muerte descendente de ramas es un síntoma muy común después de algún tiempo, las ramas distales a la conexión del muérdago mueren; mientras que el segmento de la rama proximal al punto de conexión permanece vivo y continua suministrando agua y nutrientes al parásito. En muchos casos la parte distal cae, quedando solo la rama soportando la planta de muérdago en

la punta. La muerte de toda la parte alta del árbol es síntoma de una severa infección.

- ❖ Predispone a los arboles afectados a un ataque intenso de insectos y hongos que pueden afectar cualquier otra parte vegetativa de la planta, así como debilitamiento en el tronco y ramas que llegan a sufrir quiebras y caídas por el viento. Además de afectar gravemente la longevidad del árbol (Hawksworth y Scharpf, 1974).

Los muérdagos y su Control biológico

Existen hongos que destruyen los tallos del muérdago, por lo que la plaga persiste en el interior de las ramas o tallo; entre estos se encuentran: *Wallrothiella arceuthobii*, que ataca los órganos florales femeninos evitando la dispersión de la semilla; *Colletotrichum gloesporoides* que causa marchitez en los tallos; *Cylindrocarpon gillii* produce antracnosis (Baranyay y Khutson, 1978); *Aureobasidium pullulans* y *Alternaria alternata* que se consideran agentes de marchitez y muerte de los tallos del muérdago (Mark *et al*, 1976).

En México no existen trabajos específicos sobre podas de árboles infestados por muérdagos verdaderos; sin embargo, Vázquez (1991) realizó dos tipos de podas en varios individuos de mezquite severamente infestados con *Psittacanthus sp*: una consistió en la eliminación de la rama por arriba del tumor y la otra es la eliminación de la rama por debajo del tumor. Pasados dos años y medio del tratamiento se pudo observar que en los individuos en los que había podado por arriba del tumor se habían presentado brotes del muérdago después de 12 meses del tratamiento, por otra parte se detectó una recuperación general del árbol aunque con el tiempo se volvió a parasitar y cuando se realizó la poda por debajo del tumor hubo un excelente control del muérdago verdadero y una buena y permanente recuperación del hospedero.

El control biológico alcanza en la actualidad un gran auge dentro de la agricultura ecológica como medida complementaria de una amplia ventaja, por no generar efectos secundarios, como resistencia y contaminación (Kolmans y Vázquez, 2002). Las tendencias actuales en Cuba se enfocan hacia la lucha por alcanzar una

agricultura sostenible, que presupone la óptima utilización de diversos métodos técnicamente efectivos, económicamente viables y compatibles con el ambiente (Fernández Larrea, 1997), dentro de los que la lucha biológica tiene una participación preponderante.

El control biológico ha adquirido gran interés para incluirse dentro del manejo integrado de plagas y como una alternativa para reducir el uso excesivo de plaguicidas. Dentro de esta estrategia de control los insecticidas biológicos como aquellos basados en virus, bacterias, hongos y nemátodos entomopatógenos, son considerados como una alternativa prometedora ya que proporcionan mayor seguridad a la salud del hombre y mayor especificidad hacia la plaga, por lo que su impacto es menor sobre el medio ambiente. Las características más notables de estos bioinsecticidas y que los hacen muy atractivos son su baja residualidad y la baja probabilidad de que las 2 plagas desarrollen resistencia debido a la complejidad de la interacción entre los patógenos con el insecto hospedero (Elósegui, 2006).

Las poblaciones de todos los organismos vivos son, en alguna medida, reducidas por la acción natural de sus depredadores, parásitos, antagonistas y patógenos. Este proceso es llamado “control natural”; sin embargo, cuando la densidad de la población de una plaga es manipulada por el hombre se denomina control biológico, y los agentes que llevan a cabo el control se denominan enemigos naturales (Robinson *et al.*, 1999, Eilenberg *et al.*, 2001). Así, los humanos pueden explotar el control biológico de varias maneras para suprimir las poblaciones de las plagas (Dent, 2000).

Eilenberg *et al.* (2001) definen control biológico como el uso de organismos vivos para suprimir la población de una plaga específica, haciéndola menos abundante o menos perjudicial de lo que de otra manera podría ser.

Entre otras, las principales ventajas, y por lo tanto razones para usar métodos de control biológico son: 1) es ambientalmente respetuoso, bastante específico, sin efectos nocivos para los organismos no-diana; 2) es un método económico, la relación costo-beneficio es muy favorable; 3) ausencia de residualidad; 4) una vez establecidos, los agentes naturales de control biológico pueden reproducirse por sí

solos, y en pocos casos se requiere de aplicaciones constantes (Dent, 2000; Thacker, 2002; Hajek, 2004).

Las características de un buen organismo para biocontrol de acuerdo a Coppel y Mertins (1977) tienen que tener especificidad de hospederos y compatibilidad con la fisiología del hospedero y de acuerdo a Mcevoy (1996), es recomendable que las pruebas de patogenicidad y selectividad se hagan en todas las plantas o cultivos de la región donde se pretende usar el potencial organismo biocontrolador.

MATERIALES Y MÉTODOS

El procedimiento consto de tres fases fundamentales resumidas en el siguiente Diagrama.



Tabla 1. Pasos fundamentales de la investigación de este trabajo.

Identificación de las especies de muérdago en las áreas de estudio.

Las Áreas de estudio fueron dos, La presa “El Tulillo” y la sierra de Zapalinamé. La Presa “El Tulillo”, del Municipio de General Cepeda, se localiza en las coordenadas geográficas 101° 26’ 08.1” de Longitud oeste y 25° 40’ 14.8” de latitud Norte a una altitud de 1123 msnm. Esta área de mezquital se encuentra infestada de muérdago *Phoradendron tomentosum*. Y la Sierra de Zapalinamé del Municipio de Arteaga, región delimitada por los paralelos 25’ 09’ y 25’ 16’ de latitud norte y los meridianos 100’ 20’ y 100’ 35’ de longitud oeste. Esta área tiene encinos infestados por *P. tomentosum* y *P. lanceolatum*. Las especies forestales ya mencionadas se identificaron con la ayuda del especialista en Taxonomía vegetal, el Dr. José Ángel

Villarreal Quintanilla, del Herbario ANSM de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Identificación Morfológica

La identificación morfológica de los muérdagos se hizo por medio de las claves de Kuij, (2003), Marroquín (1976), Rzedowski (2006) y Cibrián, *et al.*, (2007).

Identificación de hongos asociados al muérdago *Phoradendron sp.*

Colecta de material vegetal

Se realizaron colectas de muérdago en los dos sitios de muestreo en donde se detectaron los árboles que tenían plantas parásitas y que presentaban síntomas y signos de hongos. Se colectaron hojas y se transportaron al laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN) en bolsas de polietileno dentro de hieleras para conservarlas frescas y después sembrar las hojas con signos y síntomas de hongos en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA).

Crecimiento de hongos asociados y purificación

Se preparó Papa Dextrosa Agar (PDA) en cajas Petri siguiendo las indicaciones del fabricante. Primeramente se lavaron las hojas de muérdago y se cortaron en pedacitos pequeños para luego ponerse a desinfectar en una solución de hipoclorito al 3% en una caja petri durante 3 minutos, después de transcurrido ese tiempo se pasaron con una pinza estéril a otra caja Petri con agua destilada estéril otros 3 minutos para enjuagarlos. Enseguida nuevamente bajo condiciones estériles se pusieron a secar los pedacitos de hoja en sanitas. Ya seco el material, con una pinza estéril se sembró en cajas Petri con PDA. Estas cajas se sellaron con parafilm y se pusieron en la incubadora a 25°C durante varios días hasta que creció el hongo. Después los hongos se aislaron por medio de la técnica de punta de hifa en PDA y se procedió a su identificación morfológica. Las cepas aisladas se guardaron en tubos Eppendorf con glicerol de acuerdo a Ladino Rey *et al.*, (2016).

Identificación Morfológica de Hongos

Los hongos se identificaron por medio de las claves de Abad, (2002); Neergaard, (1977) y Barnett y Hunter (1998).

Identificación Molecular de Hongos

También se realizó una identificación molecular de los hongos, la cual fue hecha por medio de la extracción de ADN por el método de CTAB (Posso et al., 2009) y se amplificó mediante PCR (Murray y Thompson 1980) usando los primers ITS4 e ITS5, La mezcla de reacción fue la siguiente: 1 µl de agua destilada estéril, 10 µl de mastermix 2X (Genscript), 4 µl de cada primer (10 µM), y 1 µl de ADN. Las condiciones de reacción fueron: una desnaturalización inicial a 95° C 5 min, seguido de 43 ciclos de desnaturalización a 95°C 30 seg, alineamiento a 56.1°C 30 seg. y extensión a 72°C 1 min, terminando con una extensión final a 72 °C 10 min. La PCR se realizó en un termociclador Px2 (Thermo electron corporation). Los productos de PCR obtenidos se mandaron a secuenciar y las secuencias obtenidas se compararon con la información del GenBank usando la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) que se encuentra en la dirección www.ncbi.nlm.nih.gov.

Material vegetal

Se colectaron muérdagos (*Phoradendron tomentosum*, *P. lanceolatum* y *P. densum*) sanos sin ningún signo y síntoma de enfermedad, frescos y verdes, así como también los árboles forestales hospederos del muérdago (*Prosopis glandulosa*, *Quercus pringlei*, *Q. microphylla* y *Juniperus angosturana*) en las dos áreas de estudio.

Incremento del inoculo en arroz: Para aumentar el inoculo (esporas) de cada uno de los hongos aislados e identificados de los muérdagos bajo estudio, se preparó una suspensión de esporas ya que la preparación se realizó de tal manera: poniendo cinco explantes de muérdago que se encontraban en el medio de PDA con micelio esporulado en 10 ml de agua destilada estéril agitando manualmente para desprender las esporas e inocular el arroz, de acuerdo a la técnica reportada por Gutiérrez *et al.*, 1995.

Preparación de la Suspensión de esporas

Primera suspensión para inocular el arroz. Esta suspensión se hizo para cada hongo ya identificado y aislado, los cuales fueron 5 diferentes: (*Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Fusarium acuminatum*, *Curvularia hawaiiensis* y *Nigrospora sphaerica*). Para cada uno se hizo lo siguiente: se obtuvo el micelio y las esporas raspando el PDA con una cucharita de plástico de 10 cajas Petri, se transfirió todo a 100 ml de agua destilada y se mezcló muy bien. Esta suspensión se filtró en una malla de organza para separar el micelio y todo lo que quedó en la organza se tiró, quedándonos solo con una suspensión de esporas, de la cual se transportó a una cámara de Neubauer para contar las esporas en el microscopio compuesto. Para que quedara la concentración 1×10^7 esporas/ mL se usó la fórmula $C_1 V_1 = C_2 V_2$. Ya realizado lo anterior, con 10 ml de la suspensión, se inocularon las bolsas de arroz de 400 gr lavado y esterilizado. Este arroz se incubó a 25°C por aproximadamente tres semanas para que crecieran los hongos ya mencionados.

Segunda suspensión para inocular las hojas de muérdagos y hospederos.-

La suspensión de esporas se realizó con los hongos que ya habían crecido y esporulado en el arroz, lo que se hizo fue solamente lavar el arroz con agua destilada estéril y filtrar el arroz en organza, para quedarnos con la suspensión de esporas, a la cual nuevamente se le contaron las esporas en una cámara de Neubauer al microscopio compuesto, y a partir de la fórmula $C_1 V_1 = C_2 V_2$ se hizo la suspensión de 1×10^7 esp/mL para cada hongo, cabe mencionar que a esta suspensión de esporas, se le adicionó 0.05% de surfactante Bionex para que actuará como agente de dispersión de las esporas. Hecho lo anterior con esta suspensión, se inocularon las hojas tanto de muérdagos como de árboles hospederos, de acuerdo a la siguiente técnica.

Bioensayo (Bañuelos and Mayek, 2008)

En condiciones de asepsia con lámparas de alcohol, las hojas del material vegetal se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3% durante 3 minutos, y se enjuagaron en agua destilada estéril colocándose en papel secante esterilizado. Se acomodaron individualmente con el envés hacia arriba en cajas Petri que contenían papel filtro estéril humedecido con agua destilada estéril. A cada hoja se le colocó

1 ml de la suspensión de esporas correspondiente o un ml de agua, usando una micropipeta. Se midió diariamente la longitud de la necrosis provocada en la hoja (en cm) por medio de un vernier electrónico hasta que la lesión cubrió completamente la hoja.

Diseño experimental

El diseño experimental fue completamente al azar con arreglo factorial de 5x7 siendo el primer factor el número de hongos a probar (*Fusarium acuminatum*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloesporoides*, *Curvularia hawaiiensis* y *Nigrospora sphaerica*) y el segundo las especies de plantas a infestar (Especies de muérdago: *Phoradendron tomentosum*, *P. lanceolatum* y *P. densum* y hospederos forestales del muérdago: *Quercus microphylla*, *Juniperus angosturana*, *Quercus pringlei* y *Prosopis glandulosa*) más un testigo al que solo se le aplicó agua destilada. Cada tratamiento consistió de 15 repeticiones.

Análisis estadísticos

A los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza con nivel de significancia de 0.05 mediante el sistema estadístico R. Se desarrolló una prueba de permutación estadística para comparar pares de cepas de hongos a lo largo de la infección. El estadístico de prueba (media t) es el estadístico t de dos muestras para comparar el avance de la necrosis entre los dos grupos en cada día, promediados a lo largo del curso de la infección (Zerbe and Murphy, 1986). Dicha prueba de permutación se realizó mediante el programa estadístico R.

RESULTADOS

Identificación morfológica y molecular del material vegetal y fúngico.

En la Presa “El Tulillo” se encontró una especie de *Phoradendron* parasitando a *Prosopis glandulosa*, mientras que en la Sierra de Zapalinamé se encontraron tres especies de muérdago parasitando tres especies forestales, como se puede apreciar en el Cuadro 1 y figura 3.

Cuadro 1. Nombre científico de cada una de las especies de hongos asociados a los muérdagos y sus hospederos forestales.

Sitio de colecta	Especie forestal hospedera	Especie de <i>Phoradendron</i> parásita	Género(s) de hongo(s) asociado(s)
Sierra de Zapalinamé	<i>Quercus microphylla</i> Née	<i>P. lanceolatum</i> Engelm. Ex A. Gray	<i>Fusarium acuminatum</i> Ellis&Everh
	<i>Juniperus angosturana</i> R.P. Adams	<i>P. densum</i> Torr. Ex Trel.	<i>Alternaria alternata</i> (Fries) Keissler <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> (Penz.) Penz. y Sacc.
	<i>Quercus pringlei</i> Seemen	<i>P. tomentosum</i> (DC.) ex Engelm	<i>Curvularia hawaiiensis</i> Manamgoda, L. Cai, K. D. Hyde.
Presa “El Tulillo”	<i>Prosopis glandulosa</i> Torr.	<i>P. tomentosum</i> (DC.) Engelm.	<i>Nigrospora sphaerica</i> (Sacc.) Mason

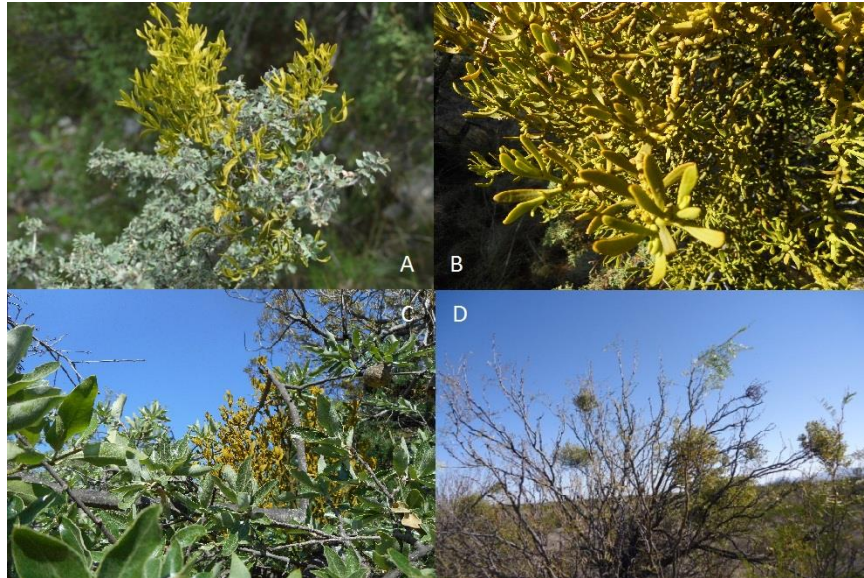


Figura 3. Especies forestales parasitadas por *Phoradendron* spp. A.- *Phoradendron lanceolatum* en *Quercus microphylla* B.- *Phoradendron densum* en *Juniperus angosturana* C.- *Phoradendron tomentosum* en *Quercus pringlei*. D.- *Phoradendron tomentosum* en *Prosopis glandulosa*. Fotos A, B y C tomadas en la Sierra de Zapalinamé. Foto D tomada en la presa “El Tulillo”.

Los hongos asociados a las especies de muérdago bajo estudio fueron en total cinco, los cuales se muestran también en el Cuadro 1 y la Figura 4.

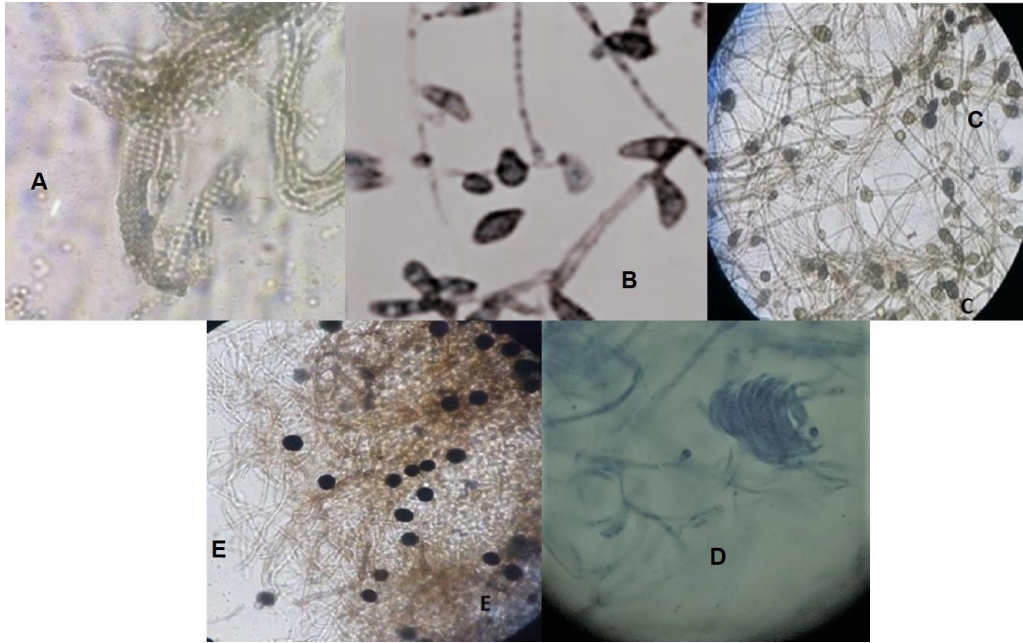


Figura 3. Hongos asociados a muérdagos del género Phoradendron. A: *Colletotrichum gloeosporioides* aislado de *P. densum*; **B:** *Curvularia hawaiiensis* aislado de *P. tomentosum*; **C:** *Alternaria alternata* aislada de *P. densum*; **D:** *Fusarium acuminatum* de *P. lanceolatum*; **E:** *Nigrospora sphaerica* de *P. tomentosum*.

La identificación molecular de los hongos corroboró la identificación morfológica hecha mediante las claves taxonómicas.

Bioensayo de patogenicidad y selectividad con hongos asociados

Los 5 hongos inoculados a las diferentes especies de muérdago causaron necrosis, llegando este síntoma a llenar toda la hoja. Sin embargo, en el análisis de varianza no hubo diferencias significativas. En las hojas de los árboles no hubo presencia de necrosis ni otro síntoma asociado con la inoculación de los hongos usados. A continuación se presentan las imágenes con ausencia y presencia de síntomas (Figuras 5 y 6) en especies forestales y muérdagos respectivamente, por la inoculación del hongo *Fusarium acuminatum*.

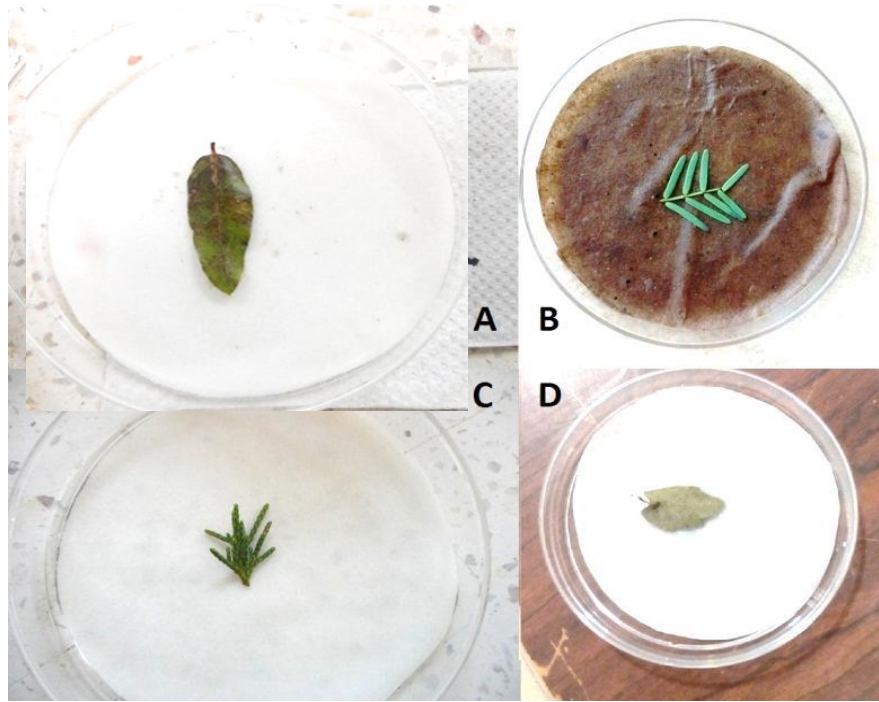


Figura 5. Hojas de las especies forestales a los 4 días después de la inoculación con *Fusarium acuminatum* sin daño asociado a la inoculación. A: *Quercus pringlei*; B: *Prosopis glandulosa*; C: *Juniperus angosturana* y D: *Quercus microphylla*.

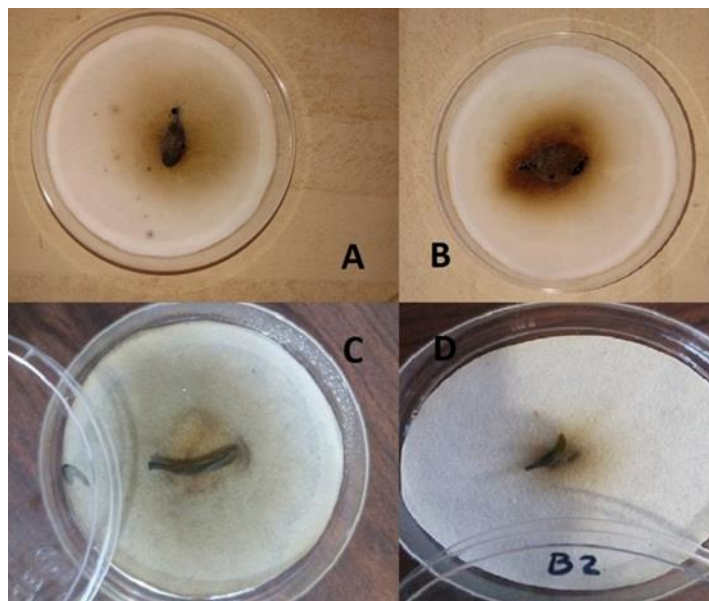


Figura 6. Hojas de *Phoradendron* a los 4 días después de la inoculación con el hongo *Fusarium acuminatum* necrosadas totalmente. A: *P. tomentosum* de *Quercus pringlei*; B.- *P. tomentosum* de *Prosopis glandulosa*; C: *P. lanceolatum* de *Q. microphylla* y D: *P. densum* de *Juniperus angosturana*.

A pesar de no haber diferencias significativas en el análisis estadístico, la prueba de permutación permitió determinar que sí se puede distinguir un patrón de agresividad de las diferentes especies de hongos hacia los muérdagos inoculados. *Fusarium acuminatum* fue el hongo que llenó más rápido las hojas de los muérdagos seguido de *Alternaria alternata*. Los hongos que le siguen, en orden descendente de agresividad son *Curvularia hawaiiensis*, *Colletotrichum gloeosporioides* y finalmente *Nigrospora sphaerica* (Figura 7).

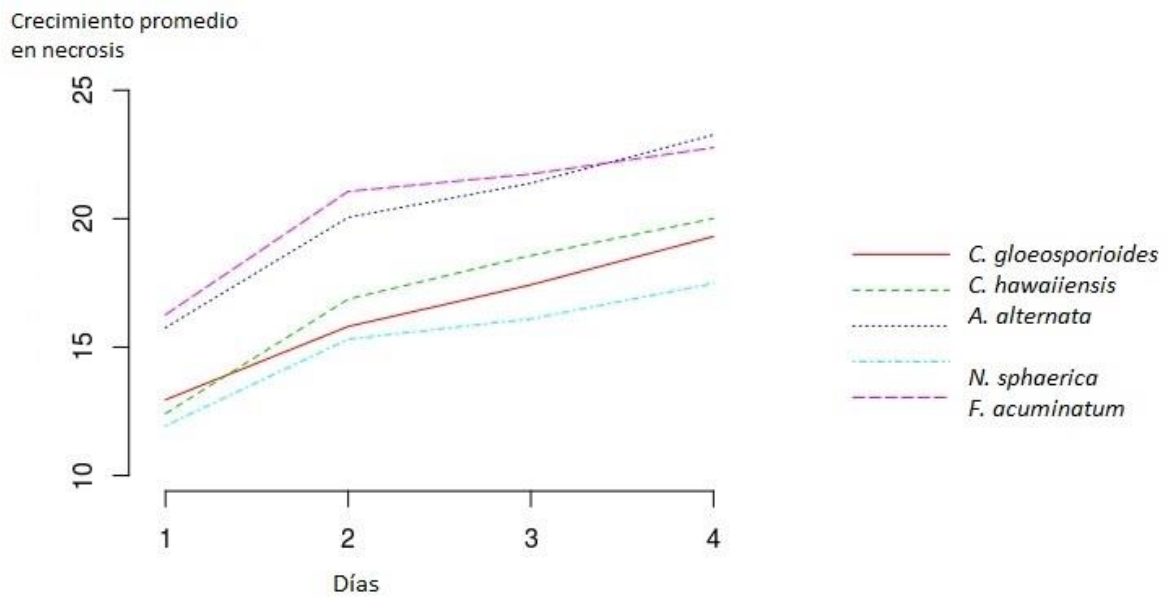


Figura 7. Curso de la infección en hojas de muérdago causada por los hongos probados en este estudio. En el eje vertical, crecimiento en mm.

DISCUSIÓN

Las especies de *Phoradendron* y sus respectivos árboles hospederos estudiados en el presente trabajo ya han sido reportados por varios autores para las dos zonas bajo estudio (Correll y Johnston, 1970; y Henrickson y Johnston, 1997, citados por Villarreal y Castellón, 2008). Estas especies también se encuentran dentro de la colección del herbario ANSM de la UAAAN y son fuente de información sobre flora y vegetación del área.

La prueba de patogenicidad *in vitro* realizada en el presente estudio muestra que las cepas de hongos encontradas provocan necrosis solo al muérdago y no a los árboles forestales dentro de los primeros 4 días del bioensayo. Estos resultados están en concordancia con la bibliografía, ya que no se encontraron reportes que asociaran a *Fusarium acuminatum*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloesporoides*, *Curvularia hawaiiensis* o *Nigrospora sphaerica* como agentes causales de enfermedades en *Quercus microphylla*, *Juniperus angosturana*, *Quercus pringlei* y *Prosopis glandulosa*. Estos resultados son alentadores para determinar a las cepas como posibles candidatos para desarrollar un bioherbicida contra *Phoradendron* ya que éstos deben tener especificidad a hospederos (Coppel y Mertins, 1977). Sin embargo, de acuerdo con Dent (2000) Thacker (2002) y Hajek (2004), es necesario probar dosis en pruebas en campo para poder definir realmente cual será el daño y como funcionara, ya que en el campo podemos encontrar diversos factores como la temperatura, la humedad o el medio ambiente que no podrían ser favorables a nuestra cepa de hongo, o se podría correr el riesgo de no combatir en su totalidad al muérdago, o de encontrarnos con algunos otros factores como incrementar daños a la flora asociados a los arboles forestales hospederos.

El género *Fusarium* es un grupo de hongos filamentosos ampliamente distribuidos en el suelo y plantas. Debido a su capacidad de crecer a 37°C, son considerados oportunistas. Las especies fitopatógenas de *Fusarium* afectan avena, caña de azúcar, arroz, cacao, mango y tomate, entre otros cultivos (Pérez Vicente, 2014). Se ha encontrado con frecuencia en Europa, (Boari and Vurro, 2003), donde la

mayor parte de las especies previamente aisladas y propuestas para el control de malezas parásitas pertenece a *Fusarium* spp y también han encontrado que éste hongo produce siete toxinas que hacen que la maleza parásita no germine, siendo éstas: fusarenon X, nivalenol, doxynivalenol, T-2 Toxin, HT-2 toxin, diacetoxyscirpenol y neosolaniol (Bozoukov y Kouzmanova, 1994 y Amsellem *et al.*, 2001).

Otras especies de *Fusarium* que se usan también como controles de malezas son *Fusarium orobanches*, con buenos resultados contra *Orobanche* sp (planta parásita de Europa) en campos de soya y melón (Wang, 1986). Por su parte *Fusarium moniliforme* controla *Rottboellia cochinchinensis*, maleza de la familia de las Gramíneas (Alan *et al.*, 1995). De acuerdo a lo anterior, *Fusarium acuminatum* podría ser un buen candidato para biocontrol del muérdago dada su mayor agresividad. En la bibliografía hay reportes de casos de control de maleza exitosos con especies de éste género, sin embargo, *F. acuminatum* es una especie invasora secundaria de raíces, tallos y hojas de una amplia gama de plantas que se encuentran en climas templados y tropicales en el mundo (Marasas *et al.*, 1984), lo que podría influir negativamente en la selectividad del hongo al realizar pruebas de campo y evaluarlo con la flora asociada a las zona donde se pretende llevar a cabo el control de *Phoradendron*. Una alta selectividad es una de las características necesarias y fundamentales para un buen bioherbicida.

El género *Alternaria* tiene especies cosmopolitas que se encuentran en un amplio rango de productos y materiales. Cuando son patógenas reducen el rendimiento de las cosechas o afectan a los vegetales almacenados (Andersen *et al.*, 2001). Varias especies también han sido evaluadas como control biológico como *Alternaria macrospora* en plantas de la familia Malvaceae donde *Anoda cristata* es la más susceptible de las especies probadas (Waker Scimbato, 1979 citado por Iracheta Cárdenas, *et al.*, 1992).

Alternaria alternata ya ha sido reportado como fitopatógeno de varios muérdagos, como de *Psittacanthus*, donde produce mancha foliar en las hojas más viejas y tizón en ramas jóvenes (Vazquez, *et al.*, 2006). También se ha encontrado en los géneros

de muérdago *Arceuthobium*, *Viscum* y *Phoradendron* (Geils, *et al.*, 2002). También ha sido reportado sobre *Phoradendron macrophyllum* (Paz, *et al.*, 2013, datos no publicados). Han reportado además tres cepas de *Alternaria alternata* (VAS 202, VAS 205 y VAS 217), que junto con *Acremonium kiliense*, fueron los hongos más efectivos al causar necrosis en las hojas de *Viscum álbum*, el muérdago Europeo (Kotan *et al.*, 2013).

Tomando en cuenta esta información y la prueba de permutación, *Alternaria alternata* puede ser un buen candidato para control biológico de *P. densum*, *P. lanceolatum* y *P. tomentosum*.

Colletotrichum gloeosporioides comúnmente es aislado de los muérdagos enanos (género *Arceuthobium*) en los Estados Unidos de América y provincias occidentales de Canadá (Kope, *et al.*, 1997). Con este hongo se han desarrollado bioherbicidas para manejar a *A. tsugense* y *A. americanum* y tiene tres formulaciones comerciales, uno es el llamado “Colego”, el cual controla la maleza *Aeschynomene virginica* en campos de arroz y soya en Estados Unidos (Te Beest & Templeton, 1985), otro es llamado “Biomal” que controla la maleza *Malva pusilla* en Lentejas en Canadá y uno más llamado “Velgo” que es una formulación de *Colletotrichum coccodes* para el control de *Abutilon theophrasti* en maíz y soya (Greaves y MacQueen, 1990). Con base en estos antecedentes se puede considerar que *C. gloeosporioides* es un buen candidato para bioherbicida.

Las especies de *Curvularia* son capaces de ser patógenos facultativos de las plantas y del suelo (Anónimo, 2003). Pueden causar diferentes tipos de daños en hojas, tallos, flores y semillas, que abarcan desde pequeñas manchas hasta lesiones de mayor tamaño (Cansada *et al.*, 1991) Estas afectaciones abarcan un gran número de cultivos, muchos de ellos de gran importancia económica (Bonilla *et al.*, 1999). Es conocido que *Curvularia* es un patógeno foliar en varios pastos en Estados Unidos de América como *Festuca arundinacea*, *Cynodon dactylon*, *Zoysia japónica* y *Eremochloa ophiuroides* en los cuales provoca lesiones de hojas irregulares de color verde pardusco o negro causando un declive general y muerte de las puntas del césped (Mirabolfathi y Ershad, 2006). Algunas especies de

Curvularia han sido evaluadas para usarse como control biológico en zacate Johnson (*Sorgum halepense*), pero han mostrado ser poco virulentos (Iracheta *et al.*, 1992). No hay información bibliográfica sobre alguna especie de *Curvularia* encontrada en muérdagos y que haya sido evaluada como biocontrol.

Nigrospora sphaerica es común en varias frutillas de diferentes partes del mundo. Causa varias enfermedades en China como la enfermedad de tiro de munición en Mora en donde mancha las hojas dando lugar después a una apariencia de “agujero perforado”. (Chen, *et al.*, 2018) También causa tizón de la hoja en la conífera *Cunninghamia lanceolata* (Xu y Liu, 2017). Igualmente causa la mancha de la hoja en el kiwi (Chen, *et al.*, 2016). En Georgia (USA) *N. sphaerica* causa la mancha de la hoja de la calabaza *Lagenaria siceraria* conocida en México con el nombre común de guaje, una planta trepadora de la familia de la Cucurbitáceas (Li, *et al.*, 2016). En Iraq *N. sphaerica* se aisló a partir de hojas de palmera datilera los cuales mostraron síntomas severos de la mancha de la hoja y el tallo. (Mohammed A. *et al.*, 2013). Al igual que el género *Curvularia*, no hay información bibliográfica sobre alguna especie de *Nigrospora* encontrada en muérdagos y que haya sido evaluada como biocontrol.

Aunque no exista información donde se halla usado alguna especie de *Curvularia* o *Nigrospora* como biocontrol de muérdagos, es necesario realizar pruebas de patogenicidad en campo y de selectividad con flora asociada a los sitios de muestreo para descartar o incluir a *Curvularia hawaiiensis* y *Nigrospora sphaerica* como potenciales agentes de biocontrol.

Los resultados muestran que se acepta la hipótesis de este trabajo, ya que las cinco cepas de hongos fueron patogénicas y específicas a *Phoradendron spp.* En las pruebas *in vitro*.

CONCLUSIONES

Se aislaron 5 hongos fitopatógenos de las especies de *Phoradendron* encontradas en la Presa “El Tulillo” y en la Sierra de Zapalinamé, que fueron: *Fusarium acuminatum* de *P. lanceolatum*; *Alternaria alternata* y *Colletotrichum gloeosporioides* de *P. densum*; y *Curvularia hawaiiensis* y *Nigrospora sphaerica* de *P. tomentosum*. En nuestro conocimiento, todas las especies de hongos encontrados en las especies de *Phoradendron* respectivas son reportes nuevos para las especies del muérdago estudiado.

Las pruebas de selectividad *in vitro* realizadas con las cinco cepas de hongos mostraron ser patógenas para *Phoradendron tomentosum*, *P. lanceolatum* y *P. densum*, y no patógenas para las especies de árboles forestales parasitadas por el muérdago (*Prosopis glandulosa*, *Quercus microphylla*, *Juniperus angosturana* y *Quercus pringlei*).

Aunque no se hubo diferencias estadísticamente significativas, la prueba de permutación permitió distinguir un patrón de agresividad de las diferentes especies de hongos hacia los muérdagos inoculados, siendo *Fusarium acuminatum* y *Alternaria alternata* los más agresivos.

Alternaria alternata y *Fusarium acuminatum* son buenos candidatos para desarrollar un bioherbicida para *Phoradendron*, con base en las pruebas de permutación y la bibliografía consultada.

PERSPECTIVAS

En este trabajo las pruebas de patogenicidad y selectividad de los hongos asociados al muérdago se hicieron solo en condiciones *in vitro*. Se recomiendan pruebas en campo para verificar el daño que podría causar en otras especies de flora asociada a las zonas bajo estudio y evaluar el impacto ecológico. Se deben realizar bioensayos con cultivos, además de estudiarse a fondo al muérdago, por ejemplo saber qué metabolitos son los que están causando la necrosis, su fisiología, en fin, para saber el potencial de lo que asperjamos. Este trabajo, deja mucho por estudiar ya que también la cepas de los hongos ha necrosado a plantas asociadas a los arboles forestales. Se podría decir que es una hipótesis de un nuevo trabajo de investigación. Se recomienda también no descartar ninguna de las especies encontradas (*Fusarium acuminatum*, *Alternaria alternata*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Curvularia hawaiiensis* y *Nigrospora sphaerica*) ya que los comportamientos y resultados en la agresividad pueden diferir entre las pruebas de laboratorio y campo debido a las condiciones de crecimiento bajo control y medio ambiente, respectivamente. Y seguir probando a campo abierto para su control y seguir realizando bioensayos, para así aplicar masivamente a campo y probar nuevamente que nuestra cepa que sería *Alternaria alternata*, no causa daño alguno y aprobarlo como un bioherbicida y poder obtener una patente. Aunque no queda de más probar con *Fusarium acuminatum* que fue el que también necrosó ya que en la curva de crecimiento necrótico se pudo observar.

LITERATURA CITADA

- Abad G. (2002), Identificación de Fitopatógenos asociados a semillas mediante técnicas utilizadas por Plant Pathogen Identification Laboratory, Dept. of Plant pathology North Carolina State University. Primer Taller Internacional sobre “Identificación de Hongos y Stramenopilas Transmitidos por Semilla”, Texcoco, México.
- Adams R. P. 1994. Revisionary study of Caribbean species of *Juniperus*, (Cupressaceae). *Phytologia* 78:134-150.
- Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. 5th ed. Elsevier Academic Press. San Diego, CA. USA. 921.
- Amsellem, Z., Kleifeld, Y., Kerényi, Z., Hornok, L., Goldwasser, Y., Gressel, J., 2001. Isolation, identification and activity of mycoherbicidal pathogens from juvenile broomrape plants. *Biol. Control* 21, 274–284.
- Andersen B, Kroger E, Robert R. G. (2001), Chemical and morphological segregation of *Alternaria alternata*, *A. Gaisen* and *A. longipes*. *Mycol Res* 105: 291- 299.
- Bañuelos B. and Mayek P.N. 2008. Evaluación no destructiva de la Patogenicidad de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) *Revista Mexicana de Fitopatología* 26 (1), 71-75.
- Baranyay, J.A. y Khutson, R.F. 1978. Wood parasites causing tree decay in British Columbia. Ca. Dept. Enviroment For. Serv. Res. Pap. RM-199, 26 pp
- Barnett H.L., y Hunter B.B. 1998. “Ilustrated genera of Imperfect Fungi” Fourth Edition, APS PRESS, The American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, 218p.
- Bernal, M.E. 2010. El Muérdago, planta hemiparásita: ciclo biológico, daños y métodos de control. REDFORESTA en Plagas y enfermedades, Sanidad forestal. Recuperado de: <http://www.redforesta.com/blog/2010/12/28/el-muerdago-planta-hemiparasita-ciclo-biologico-danos-y-metodos-de-control/>

- Boari A. and Vurro M. 2003. Evaluation of *Fusarium* spp and other fungi as biological control agents of broomrape (*Orobancha ramosa*) Istituto di Scienze delle Produzioni Alimentari, C.N.R., viale L. Einaudi, 51, 70125 Bari, Italy.
- Bonilla, Tania; María Ofelia López; J. Mena; Kendra Rodríguez. 1999. Micobiota de *Sorghum halepense* y evaluación de la capacidad de algunas especies para el Control Biológico. *Revista de Protección Vegetal* 14 (1): 65-68.
- Bozoukov, H., Kouzmanova, I., 1994. Biological control of tobacco broomrape (*Orobancha* spp.) by means of some fungi of the genus *Fusarium*. Pieterse, A.H., Verkleij, J.A.C., ter Borg, S.J. (Eds.), *Biology and management of Orobancha*, Proceedings of the Third International Workshop on *Orobancha* and Related *Striga* Research, 8–12 November 1993, Royal Tropical Institute, Amsterdam, Netherlands, pp. 534–538.
- Chen J., T. T. Xiang, X. Y. Liu, W. H. Wang, B. L. Zhang, J. Liu, W. Zhou, Y. J. Wan, G. Chen and H. S. Zhu, 2018. First Report of *Nigrospora sphaerica* Causing Shot Hole Disease on Mulberry in China. *Plant Disease*, Volume 102, Number 1, 245.
- Chen Y., X. Yang, A. F. Zhang, H. Y. Zang, L. Y. Gu, U. Hameed, Y. J. Qi and Y. L. Xu., 2016. First Report of Leaf Spot Caused by *Nigrospora sphaerica* on Kiwifruit in China. *Plant Disease*, Volume 100, Number 11, 2326.
- Cibrián, T, D, Alvarado D, García S, E, (Eds.) 2007. *Enfermedades forestales en México/Forest Diseases in Mexico*. Universidad Autónoma Chapingo; CONAFOR- SEMARNAT, México; Forest Service USDA, EUA; NRCAN Forest Service, Canadá y Comisión Forestal de América del Norte, COFAN, FAO. Chapingo, México. 587 p.
- Conafor 2012, *Revista Electrónica de la Comisión Nacional Forestal*. México Forestal. www.mexicoforestal.gob.mx/plagas
- Coppel, H. C. and J. W. Mertins. 1977. *Biological Insect Pest Suppression*. Springer-Verlag, New York.
- Dent, D. 2000. *Insect pest management*. CABI Bioscience, Ascot, UK.

- Eilenberg, J., A. Hajek, and C. Lomer. 2001. Suggestions for unifying the terminology in biological control. *Biocontrol* 46: 387-400.
- Elósegui, C. O. 2006. Métodos artesanales de producción de bioplaguicidas a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). La Habana, Cuba, 61 p.
- Farjon, A. 2005. A monograph of Cupressaceae and Sciadopitys. Royal Botanic Garden, Kew. Richmond, Surrey. U. K.
- Fernández Larrea O. 1997. Actualidad y perspectivas en la producción e investigación de bioplaguicidas. Situación en Cuba, V Encuentro Nacional Científico-Técnico de Bioplaguicidas, La Habana, Cuba. pp. 9-15.
- García, A. M. 1977. Patología Vegetal Práctica. Editorial Limusa. México. 156 p.
- Geils B.W., J. C. Tovar, and B. Moody 2002. Mistletoes of North American conifers. General Technical Report RMRS-GTR-98. Ogden, UT: USDA Forest Service, Rocky Mountain Research Station. EUA, 123p.
- Geils, B.W., y Vázquez Cl. 2002. Loranthaceae and Viscaceae in Nort America. Mistletoes of North American conifers. Gen. Tech. Rep. RMRS-GTR-98. Ogden, UT: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Rocky Mountain Research Station. EUA. 1-8 pp.
- Greaves, M.P., y MacQueen, M.D. 1990. The use of mycoherbicides in the field. *Aspects of Applied Biology* 24:163-168.
- Gutiérrez R, M, G, Saucedo C, y Favela T, M, 1995. Escalamiento de procesos con fermentación sólida. Curso Avanzado sobre Procesos Biotecnológicos. Instituto de Biotecnología UNAM. Cuernavaca, Morelos 22pp.
- Hajek, A. 2004. Natural enemies: an introduction to biological control. Cambridge University Press., Cambridge, U.K.
- Hawksworth F.G. y Scharpf R.F. 1974. Mistletoes on hardwoods in the United States. : Rocky Mt. Forest and Range Experimental Station, Ft. Collins,

Colorado; Forest Pest Leaflet 147. U.S. Government Printing Office: 1974
O- 547-468. 7 p.

Hawksworth, F.G. 1980. Los muérdagos enanos (*Arceuthobium*) y su importancia en la silvicultura de México. En: Primer simposio nacional sobre parasitología forestal; Uruapan, Michoacán: Sociedad Mexicana de Entomología: 207-228.

ios/ANUARIO 2011 pdf.

Iracheta Cárdenas M. M., Galán Wong L. J., González Garza N. y Morales Ramos L. H., 1992. Evaluación de Hongos como Agentes de Control Biológico de Zacate Johnson (*Sorghum halepense*) Tesis Profesional, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, 51pp.

Kolmans. E. y D. Vázquez, 2002. Manual de agricultura ecológica. Una introducción a los principios básicos y su aplicación. Programa agroecológico campesino a campesino, Colaboración Oxfm Solidaridad de Bélgica y la Asociación Nacional de Agricultores Pequeños, 2002.

Kope, H.H.; Shamoun, S.F.; Oleskevich, C. 1997. First report of *Colletotrichum gloeosporioides* on *Arceuthobium tsugense* subsp *tsugense* in Canada. Plant Disease. 81:1095.

Kotan R., Akif Okutucu, Arzu Ala Gõrmez, Kenan Karagoz, Fatih Dadasoglu, I'sa Karaman, I'smet Hasanekoglu and S,aban Kordali, 2013. Parasitic Bacteria and Fungi on Common Mistletoe (*Viscum album* L.) and Their Potential Application in Biocontrol. Atatürk University, Faculty of Agriculture, Department of Plant Protection, Erzurum, Turkey. Journal of Phytopathology 161:165–171.

Kuijt, J. 2003. Monograph of *Phoradendron* (Viscaceae). System. Bot. Monografia. 66:1-643.

Ladino Rey, Oscar Eduardo; David Rubio, José y Chacin Zambrano, Christian Andrei. 2016. Evaluación de dos métodos de conservación de hongos filamentosos patógenos de palma de aceite. Revista Centro Agrícola (Ctro.

- Agr., vol.43, n.2 pp. 36-41. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-57852016000200005&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0253-5785.
- Li Y. G., M. H. Huang, L. P. Sun and P. Ji. 2016. Occurrence of Leaf Spot of Calabash Caused by *Nigrospora sphaerica* in Georgia. Plant Disease, Volume 100, Number 7, 1506.
- Mark, et al, 1976. The conditions of parasitism in plants. Carnegie. Inot. Wash., Pub. 124, 60 p.
- Marroquín, J, S, 1976. Vegetación y florística del noreste de México. I. Aspectos sinecológicos en Coahuila. Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural 3:69-101.
- Mathiasen R.L., Nickrent, D.L., D.C., Watson, D.M. 2008. Mistletoes, pathology, systematics, ecology and management. Plant Disease. The American Phythopathological Society. Vol.92 N°.7:20p.
- Mirabolfathi, M. y Ershad, D. 2006. Bipolaris, Curvularia, Drechslera y Exserohilum, enfermedades de césped en Irán. Diario Iraní de la Patología de Plantas 42: 257-274.
- Mohammed H}. Abass, Muhammed A.Hameed and Alaa Naser Ahmed. 2013. First report of *Nigrospora sphaerica* (Sacc) Mason as a potential pathogen on date palm (*Phoenix dactylifera* L.) Canadian Journal of Plant Pathology, Volume 35, Number 1, 75-80.
- Neergaard, 1977. Seed Pathology, Volume I y II, Academic Press, John Wiley & Sons New York 200-217 p.
- Nickrent, D.L. y Musselman, L.J. 2004. Introduction to Parasitic Flowering Plants. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I-2004-0330-01.
- Olsen, M. W.; 2003. True Mistletoes. The University of Arizona Cooperative Extension. Publication AZ1308. Tucson, Arizona. State United American. 3.
- Paz Ponce, M., Sánchez Arizpe A., Galindo Cepeda M.E., Sánchez Peña S.R., Flores Flores J.D. 2013. Identificación y Patogenicidad de Hongos en

- Muérdago (*Phoradendron bolleanum* Eichler= *P. saltillense* Trel. En Arteaga y Saltillo, Coahuila. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila 46pp. (Datos no publicados, pero si en la web).
- Robinson, A. S., G. Franz, and K. Fisher. 1999. Genetic sexing strains in the medfly, *Ceratitis capitata*: development, mass rearing and field application. Trends Genet 2: 81-104.
- Rzedowski J., 2006. Vegetación de México. 1ra. Edición digital, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D. F.
- SEMARNAT. 2011. Anuario Estadístico de la Producción Forestal. <http://www.semarnat.gob.mx/temas/gestiónambiental/forestalsuelos/Anuar>
- Te Beest, D.O. and G.E. Templeton. 1985. Mycoherbicides: progress in the biological. Plant Disease 69:6-10.
- Thacker, J. 2002. An introduction to arthropod pest control. Cambridge University Press, Cambridge.
- Valencia, D. M. (2009). *EL MUÉRDAGO EN LA CIUDAD DE MÉXICO*. Recuperado de <http://igavim.org/Documentos%20Generados/Documentos%20Generales/ArbolAMA%20Muerdago.pdf>
- Vázquez Collazo I., A. Villo R., y S. Madrigal H. 2006. Los muérdagos (Loranthaceae) en Michoacán. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de investigación del Pacífico Centro, Campo Experimental, Libro técnico Núm. 2, División Forestal, Uruapan, Michoacán, México. 93p.
- Vazquez, C. I. 1991. Control químico del muérdago verdadero (*Psittacanthus* sp.) en mezquite (*Prosopis juliflora*). VI Simposio Nacional de Parasitología Forestal. Uruapan, Mich., México. 55 pp.
- Villarreal Quintanilla J. Á. y Castellón E. E., 2008. Listados Florísticos de México XXIV. Flora de Nuevo León, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F.

- Villarreal, J. Á. 2001. Listados florísticos de México. XXIII Flora de Coahuila. Instituto de Biología. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F. 137pp.
- Wang, R. 1986. Current status and perspectives of biological weed control in China. Chinese Journal of Biol Control 2:173-177.
- Xu Y. M. and Liu Y. J., 2017. First Report of *Nigrospora sphaerica* Causing Leaf Blight on *Cunninghamia lanceolata* in China. Plant Disease, Volume 101, Number 2, 389pp.
- Young D., y Olsen, M.W. 2003. True Mistletoes. The University of Arizona Cooperative Extension. Publication AZ1308.
- Zamora, N. 2006. Santalaceae (incl.Viscaceae). Flora Digital de la Selva. Organización para Estudios Tropicales. 5 p.
- Zavaleta P.Y., 2008. Identificación, incidencia y severidad del muérdago en el Cañón de los Lirios de la Sierra de Arteaga, Coahuila. Tesis de licenciatura. UAAAN. Saltillo, Coahuila. 65pp.
- Zerbe G. and Murphy J. 1986. On Multiple Comparisons in the Randomization Analysis of Growth and Response Curves. Biometrics, 42 (4) 795-804.