

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO FORESTAL



Determinación de Hongos Fitopatógenos en *Tillandsia recurvata* L.
Asociados a la Muerte de *Pinus cembroides* Zucc en, Coahuila, México

Por:

BULMARO AMARO MALDONADO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO FORESTAL

Saltillo, Coahuila, México.

Noviembre 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO FORESTAL

Determinación de Hongos Fitopatógenos en *Tillandsia recurvata* L.
Asociados a la Muerte de *Pinus cembroides* Zucc en, Coahuila, México

Por:

BULMARO AMARO MALDONADO

TESIS

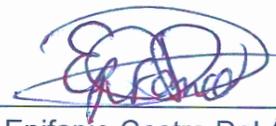
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO FORESTAL

Aprobada por el Comité de Asesoría:


M.C. Jorge David Flores Flores

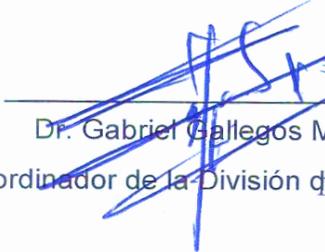
Asesor Principal


Dr. Epifanio Castro Del Ángel

Coasesor


Ing. Sergio Braham Sabag

Coasesor


Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía


Coordinación
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.

Noviembre 2017

DEDICATORIAS

A Dios

A nuestro padre y señor, por darme la fuerza en tantos momentos críticos y difíciles, por darme la oportunidad de a ver concluido mis objetivos y por dirigir mi camino, así como cuidarme y acompañarme siempre.

A mis padres

Antonio Amaro Franco y María Maldonado Ortega

Que me dieron el regalo de la vida, agradezco con todo el corazón el apoyo realizado para que yo lograra terminar mi carrera profesional.

A mi padre, por haber confiado en mí, por sus sacrificios y el apoyo moral que siempre me ha brindado, ¡padre! mil gracias por sus ánimos que me motivaron a irme por el camino recto de la vida, espero algún día recompensar un poco de lo mucho que me has dado.

A mi madre, que es el ser más maravilloso de este mundo, gracias por tus sacrificios, tus desvelos y preocupaciones hacia mí. Por tu gran apoyo moral, económico, cariño y comprensión que me has brindado; por guiar mi camino y estar junto a mí en los momentos buenos y malos de mi vida.

A mi esposa e hija

Anazarit López Acosta, por ese gran amor que me demuestras día con día, por el apoyo en esos momentos críticos, por creer en mí, por darme razones para seguir superándome y por haberme dado una hija tan hermosa como tú, mi hermosa Ximenita. También doy las gracias a tu familia Emilio López Garay, Antonia Acosta Oropeza y Aybit López Acosta, espero tenerlos a todos siempre junto a mí para poder agradecerles y compensarles lo mucho en que me han apoyado.

A mis abuelitos

Antonio Amaro Badillo (†), Concepción Franco Flores y Cresenciana Ortega Juárez por sus consejos, por su amor, cariño y cuidado que me brindaron a mí y a mis hermanos desde que éramos niños. Especialmente a ti abuelito ya que te hubiese gustado verme titular en algo que tanto apreciabas, te doy gracias por tu apoyo incondicional y por quererme tanto, Dios te tenga en santa gloria, y bendiga a mis abuelitas siempre dándoles más años de vida.

A mis hermanos

Emiliano, Maribel y Patricia por formar parte de mi familia y compartir momentos inolvidables conmigo. Por su motivación, sus consejos y su apoyo incondicional. ¡Mil gracias hermanos! sus esfuerzos que han hecho por mí, Dios se los recompensara por siempre.

A mis primos y tíos

Mario Amaro, Agapito Amaro, José Amaro, Sabino Hernández, Marcelino Maldonado, Enrique Amaro, Daniel Maldonado, Brayan Maldonado, Gregorio Amaro, Luis Amaro José Rene Velázquez, Raúl Amaro, Eduardo Maldonado, Guadalupe Amaro, Elvia Amaro, Susana Amaro gracias por su aprecio.

A un amigo

Mario Alberto Contreras Ruiz, gracias por el apoyo incondicional brindado, sabios consejos y aprecio, y por todo ese apoyo económico que me brindaste por años para lograr mis metas.

AGRADECIMIENTOS

A mi “Alma Terra Mater” la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por abrirme sus puertas dándome las facilidades y beneficios que requiere todo estudiante y principalmente por darme la oportunidad de realizar mis estudios profesionales.

Al Departamento Forestal por ser la base para mi formación profesional especialmente a los maestros por transmitirme sus conocimientos, gracias por su comprensión, paciencia y su interés para superarme.

Al M.C. Jorge David Flores Flores a quien le agradezco con profundo respeto su valiosa colaboración en la asesoría y desarrollo de este trabajo, además por brindarme su confianza, su amistad y su apoyo incondicional en todo momento que necesite.

Al Dr. Epifanio Castro del Ángel por su apoyo en los laboratorios, por su conocimiento, paciencia, tiempo prestado y por su amistad y apoyo incondicional en todo momento que necesite.

Al ING. Sergio Braham Sabag por su valiosa participación en la revisión del presente trabajo, por haber permitido culminar mi servicio social bajo su asesoría y brindarme su amistad.

A los integrantes del despacho SIMAFOR, Ing. Roberto Maldonado Castelán y Lic. Fabián Pérez Segundo por brindarme su amistad, sus conocimientos y su confianza durante el Semestre de Prácticas Profesionales.

A mis amigos (as): David Martínez, Yonatan García, H. David De La Rosa, Claudia García, J. Diego Ballesteros, M. Antonio Hernández, M. Luisa Grimaldo, Armando Plata, Karengi, Miguel López

A mis compañeros de la generación, de la Carrera Ingeniero Forestal David, Isidro, M. Luisa, Reinaldo, Mixer, Pablo, Socorro, Claudia, Diego, Cristóbal, Luis Enrique, Nicasio, Miguel, Jorge, Ezequiel, B. Shamayim, Óscar, Gracias a todos.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO.....	I
ÍNDICE DE FIGURAS	III
ÍNDICE DE CUADROS	V
RESUMEN	1
I. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1 Importancia del estudio	2
1.2 Planteamiento del problema.....	2
Objetivo general:.....	4
Objetivos específicos:	4
II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1 Taxonomía de <i>Tillandsia recurvata</i>	5
2.3 Desarrollo de <i>T. recurvata</i>	8
Ciclo biológico.....	8
Hospederos	9
2.4 Distribución de <i>T. recurvata</i>	9
2.5 Daños causados por <i>T. recurvata</i>	10
2.6 Usos potenciales de <i>T. recurvata</i>	10
2.7 Métodos de control de <i>Tillandsia recurvata</i>	12
2.7.1 Métodos de manejo	12
2.7.2 Medidas preventivas	13
2.8 Características de <i>Pinus cembroides</i>	14
2.9 Importancia de <i>Pinus cembroides</i>	15
2.10 Causas que afectan a <i>Pinus cembroides</i>	15
2.11 Hongos.....	16
2.12 Trabajos afines.....	16
III. MATERIALES Y METODOS.....	20
3.1 Descripción del área de estudio	20
3.1.1 Estudios a nivel de campo.....	20

3.2	Etapa de laboratorio.....	23
3.3	Procedimiento experimental.....	26
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	29
4.1	RESULTADOS.....	29
4.1.1	Diversidad de hongos Fitopatógenos encontrados en los análisis.....	29
4.1.2	Porcentaje de diversidad de hongos fitopatogenos encontrados en las diferentes muestras analizadas	32
	Hongos encontrados en la corteza de <i>P. cembroides</i>	32
	Hongos encontrados en el tallo de <i>T. recurvata</i>	33
	Hongos encontrados en los rizoides de <i>T. recurvata</i>	34
4.1.3	Cantidad de hongos Fitopatógenos germinados en los estudios de laboratorio	35
	Porcentajes de concentraciones por bloques y tratamientos.....	36
4.1.4	Análisis de varianza y prueba de comparación de medias mediante la prueba de Tukey	37
	Análisis de varianza con las muestras de corteza de <i>P. cembroides</i>	37
	Análisis de varianza con las muestras del tallo de <i>T. recurvata</i>	38
	Análisis de varianza en las muestras de rizoides de <i>T. recurvata</i>	38
4.2	DISCUSIÓN	39
	Género <i>Fusarium sp</i>	39
	Género <i>Alternaria sp</i>	41
	Género <i>Pestalotia sp</i>	42
	Género <i>Phoma sp</i>	43
	Género <i>Bipolaris sp</i>	45
	Análisis de varianza y pruebas de Tukey.....	46
V.	CONCLUSIONES.....	47
VI.	LITERATURA CITADA	48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Imagen satelital del lugar donde se recolectaron las muestras	22
Figura 2. Recolección de muestras en campo	22
Figura 3. Proceso de preparación del material vegetal para la siembra.....	23
Figura 4. Proceso de siembra del vegetal	24
Figura 5. Procesos de purificación de hongos.....	25
Figura 6. Proceso de identificación de hongos.....	25
Figura 7. Diseño experimental.....	26
Figura 8. Arreglo de diseño experimental.....	27
Figura 9. Hongo del género <i>Fusarium</i> aislado en laboratorio.....	29
Figura 10. Hongo del género <i>Alternaria</i> aislado en laboratorio	29
Figura 11. Hongo del género <i>Pestalotia</i> aislado en laboratorio	30
Figura 12. Hongo del género <i>Phoma</i> aislado en laboratorio	30
Figura 13. Hongo del género <i>Aspergillus</i> aislado en laboratorio	31
Figura 14. Hongo del género <i>Bipolaris</i> aislado en laboratorio	31
Figura 15. Graficas de porcentaje de diversidad de cada tratamiento de corteza de <i>P. cembroides</i>	32
Figura 16. Grafica general de porcentaje de diversidad en los tres tratamientos de corteza de <i>P. cembroides</i>	33
Figura 17. Graficas de porcentaje de diversidad de cada tratamiento de tallo de <i>T. recurvata</i>	33
Figura 18. Grafica general de porcentaje de diversidad en los tres tratamientos de tallo de <i>T. recurvata</i>	34
Figura 19. Graficas de porcentaje de diversidad de cada tratamiento de rizoides de <i>T. recurvata</i>	34
Figura 20. Grafica general de porcentaje de diversidad en los tres tratamientos de rizoides de <i>T. recurvata</i>	35
Figura 21. Concentración de hongos por tratamientos.....	36
Figura 22. Porcentaje de hongos	37
Figura 23. Corteza observada en el área de recolección de las muestras.....	39
Figura 24. Observaciones de corteza a nivel de campo.....	40

Figura 25. Anclaje de <i>T. recurvata</i> en corteza de <i>Pinus cembroides</i>	41
Figura 26. Planta completamente muerta después de la inoculación de <i>Alternaria</i> <i>sp.</i> (Fuente Cruz 2002)	42

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Géneros de hongos	17
Cuadro 2. Coordenadas UTM de los sitios donde se recolectaron las muestras .	21
Cuadro 3. Cantidad de hongos presentados en cada parte vegetativa	35
Cuadro 4. Transformación a porcentaje de las concentraciones de hongos	36
Cuadro 5. Análisis de varianza de tratamientos de corteza de <i>P. cembroides</i>	37
Cuadro 6. Prueba de comparación de medias de Tukey en corteza de <i>P. cembroides</i>	37
Cuadro 7. Análisis de varianza de tratamientos de tallo de <i>T. recurvata</i>	38
Cuadro 8. Prueba de comparación de medias de Tukey de tallo de <i>T. recurvata</i>	38
Cuadro 9. Análisis de varianza de tratamientos de rizoides de <i>T. recurvata</i>	38
Cuadro 10. Prueba de comparación de medias de Tukey rizoides de <i>T. recurvata</i>	38

RESUMEN

Tillandsia recurvata, está considerada entre los grupos de agentes causantes de enfermedades forestales más dañinos y económicamente importantes en el norte de México y en muchos otros estados de la república. El objetivo de este trabajo fue determinar la presencia de hongos asociados a *T. recurvata* causantes de la muerte parcial y completa de *P. cembroides*. La recolección se realizó en el ejido Cuauhtémoc recolectando ramas de 3 a 10 cm de diámetro infestadas con *T. recurvata* de árbol joven, árbol adulto, árbol maduro y árbol testigo, el análisis de hongos se realizó en los laboratorios de Parasitología, ubicados en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Los cortes de tejido, parte aérea y rizoides de *T. recurvata*, y en la corteza de *P. cembroides* (forofito), se desinfectaron en cloro al 3%, se sembraron en medios de Cultivo (PDA) y (AN), se etiquetaron y se sellaron, se incubaron a 26°C, cada cepa diferente se aisló y se purificó. Se hicieron montas semipermanentes en porta objetos con azul de lactofenol, apoyándose con un microscopio compuesto se observó y con la literatura correspondiente de Barnett y Hunter (1989), se determinaron los géneros. Diseño experimental en bloques al azar con arreglo factorial, con tres repeticiones. Los resultados revelan que no existen diferencia estadística significativa en la cantidad de hongos, así como la existencia de hongos fitopatógenos de los géneros *Fusarium*, *Alternaria*, *Pestalotia*, *Phoma*, *Aspergillus* y *Bipolaris* encontrados en todos los tratamientos.

Palabras clave: Análisis, Patógenos, Muerte, Forofito

I. INTRODUCCIÓN

1.1 Importancia del estudio

El potencial productivo de especies forestales en Coahuila, está actualmente amenazado por la presencia del heno motita *Tillandsia recurvata* L, planta epífita que a través de la invasión masiva en los árboles, va causando una lenta pero irremediable muerte de ramas y en muchos casos el arbolado. En las áreas forestales de esta entidad, se reportan más de 68 mil ha., afectadas de *Pinus cembroides* (INIFAP, 2012). Esta planta está considerada entre los grupos de agentes causantes de enfermedades forestales más dañinos y económicamente importantes en el norte de México y en muchos otros estados de la república, ya que provocan pérdidas de crecimiento estimadas en casi dos millones de metros cúbicos anuales (Vásquez, 1994), a pesar de que se trata de una planta epífita considerada únicamente parásita de espacio. *Tillandsia recurvata*, tiene 8 cm en promedio de radio que se agrupa por lo general en varias masas esféricas con un sistema de raicillas rudimentarias llamadas rizoides (Castellanos *et al.*, 2009; Madison, 1977). Sus semillas son fusiformes, pequeñas y que poseen vellos blancos y sedosos que le facilitan su adherencia a cualquier superficie vegetal (Miranda y Hernández, 1963).

Rzedowski (1981), menciona que esta epífita coloniza árboles y cables telefónicos, y que está estructurada por tricomas foliares higroscópicos que le permiten condensar la humedad del viento y así absorber nutrimentos. No ataca el sistema vascular, sus forofitos sólo los utiliza como soporte y tiene fotosíntesis tipo C3 y tipo CAM (Smith *et al.*, 1986).

1.2 Planteamiento del problema

En la actualidad se conoce que las epífitas que se posicionan sobre plantas vasculares pueden ocasionar daño a sus hospederos o forofitos, por lo que han sido llamadas piratas de nutrientes tipo comensalismo, donde *Tillandsia recurvata*

se nutre de residuos de su hospedero, pero también han sido consideradas como plagas y parásitos estructurales. Además se ha asegurado que las epífitas dañan a sus hospederos por mecanismos como el peso acumulado que generan sobre las ramas, epiparasitismo, estrangulamiento de ramillas, liberación de sustancias alelopáticas, piratería de nutrimentos y sombreado (Ruiz y Coronado, 2012).

En la década de los cincuenta se reportó (*T. recurvata*) en Coahuila, convirtiéndose problema número uno de la sanidad en sus recursos forestales y en la mayoría de los estados de la república mexicana (Matuda, 1957). Su distribución es mundial, se encuentra desde el sur de los Estados Unidos hasta la Patagonia Argentina, dispersa en diferentes ecosistemas (Cádiz y Beltramo, 1989; Abedini *et al.*, 1980). El manejo, como el control químico y silvícola (manual y mecánico), son los más usados, sin embargo la mayoría tienen contradicciones y escasean de éxito (Hawksworth, 1980; Chávez, 2009; Mantaras, 2009; Coria y Vázquez, 2008; Beltrán *et al.*, 2010; Hernández, 2010).

T. recurvata es una planta epífita, no considerada parásita por poseer fotosíntesis, requiriendo solo el apoyo físico de donde se encuentra, no absorbe nutrientes de sus hospederos ya que los recibe del polvo y partículas del ambiente las cuales colecta por sus hojas (SEMARNAT, 2006). Entonces si *T. recurvata* es una epífita no una parásita ¿Por qué lleva a la muerte las plantas que utiliza como anclaje?

Recientemente se han realizado estudios donde demuestran que *T. recurvata* es un bioindicador de la contaminación ambiental, donde se han podido encontrar concentraciones de metales pesados en la atmósfera, como Zinc (Zn), Hierro (Fe), Manganeseo (Mn) y que probablemente señalan los autores que estos sean algunos de los elementos que ocasiona la muerte de ramas y de árboles (Ghirard *et al.*, 2010). Mientras que Cabrera (1995), asegura que *T. recurvata* secreta una sustancia alelopática denominada hidroperoxicloartano, actualmente patentado por el Dr. Lowe y utilizado como tratamiento contra el cáncer. En la década de los 90s, Puente y Bashan (1994), descubren en *T. recurvata*, que crece en la zona semiárida de Baja California, México., una bacteria fijadora de

nitrógeno (*Pseudomonas stutzeri*) fue el primer estudio en indicar la posible asociación estrecha entre las plantas de bromelia y las bacterias fijadoras de nitrógeno.

Aguilar *et al.*, (2007), mencionan que cuando la fijación de la epífita es mayor, se observan diferentes grados de invaginación que pueden llegar a la madera y alterar su patrón típico, es decir, causan una reducción en el número y diámetro de los vasos y probablemente favorecen el ataque de patógenos en los tejidos del hospedero. Por lo que en el presente trabajo se plantea probar la presencia de patógenos perjudiciales inoculados por *T. recurvata* causantes de la muerte parcial y planta completa, de la especie de *P. cembroides*.

Hipótesis

Ho: Que la muerte de las ramas y árboles completos de *P. cembroides* infestados de *T. recurvata* es causada por la inoculación de hongos mediante los rizoides de esta epífita.

Ha: Que la muerte de las ramas y árboles de *P. cembroides* no es causada por la presencia de *T. recurvata* y la asociación con patógenos.

Objetivo general:

Determinar la presencia de hongos asociadas a *T. recurvata* causantes de la muerte parcial y completa de *P. cembroides*.

Objetivos específicos:

- a) Determinar la existencia de hongos fitopatógenos en *T. recurvata* transmitidos por su sistema de rizoides a la planta que utiliza de anclaje para causar su muerte.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Taxonomía de *Tillandsia recurvata*

T. recurvata pertenece a la familia de las Bromeliáceas, con más de 500 especies distribuidas en todo el Continente Americano y presente en múltiples ecosistemas. Ciertas especies de bromeliáceas son de gran valor económico y ecológico incluso algunas de ellas se encuentran bajo algún estatus de protección. La familia de las bromeliáceas, son epífitas perennes de tallo corto, con hojas arregladas en espiral y cubiertas de escamas peltadas, flores regulares, con un periantio de seis secciones en dos series parecidas, la exterior verde y la inferior petaloide; androceo de seis estambres, con un ovario trilocular pluriobulado, ínfero o súpero, sobrepuesto de un estilo tripartido. El fruto rápidamente seca, carnoso e indehiscente, trivalvo, con semillas pediculadas, sin apéndice, con embrión en cavidad pequeña en albumen (Conzatti, 1947). El nombre común con que se le conoce en México a *T. recurvata* es heno motita, gallito, paxtle, paistle, roseta, entre otros nombres (Flores *et al.*, 2011).

Conzatti (1947), clasifica de manera taxonómica a *T. recurvata* de la siguiente manera:

- División: Magnoliophyta
- Clase: Liliopsida
- Subclase: Commelinids
- Orden: Poales
- Familia: Bromeliaceae
- Género: *Tillandsia*
- Especie: *recurvata*

2.2 Generalidades de *Tillandsia recurvata*

Rizoides: Ésta planta no tiene una raíz propiamente dicha, sino que posee un sistema de rizoides que le sirven de sostén principal de la planta, mediante el desarrollo de esclerénquima en la raíz vieja, determina la formación de un rígido órgano de sostén, la fijación de *T. recurvata* depende de las ramificaciones de las rizoides adventicias, los pelos radicales intervienen también en el sostén de la planta al hospedero o al suelo (Matuda, 1957).

Hojas: Presenta estructuras denominadas tricomas remplazando a las raíces en la función de absorción (Kamila, 2005). Dístico ordenadas, 3-17 cm de largo, densamente pruinoso-escamosas con escamas cinéreas o ferrugíneas; vainas elíptico-ovadas, delgadas, multinervadas con un margen enervado ancho hialino, con la base extrema glabra, y en lo demás densamente escamosas y con un margen ciliado de escamas alargadas, imbricadas y ocultando completamente el caule; láminas típicamente recurvadas, algunas veces solamente patentes o aún erguidas, lineares, rollizas, de 0.5-2 mm de diámetro, un poco blando con un punto débil (Matuda, 1957).

Inflorescencia: Presenta típicamente de 1-2 flores o raramente hasta 5 flores, densa; brácteas florales como las brácteas del escapo pero menores, igualándolas o más largas que los sépalos pero a menudo distintamente más cortas, varionervadas, densamente escamosas. Flores erguidas, subsésiles. Sépalos lanceolados, usualmente agudos, de 4-9 mm de largo, delgados, con 3 o más nervios prominentes, hasta 13 cm de largo, casi 0.5 mm de diámetro; brácteas del escapo, especies algo escamosos en una proporción creciente de ejemplares. Pétalos estrechos, pálido-violados o blancos. Estambres profundamente superando el pistilo. Cápsula delgadamente cilíndrica, abruptamente corto-picuda, hasta 3 cm (Matuda, 1957).

Fruto: El fruto es una cápsula cilíndrica de unos 5 a 25 mm de largo, de dos o más carpelos, con número variable de cavidades y líneas de dehiscencia,

abruptamente terminada en un pico corto. En su interior alberga varias semillas de consistencia viscosa (Villarreal, 1994).

Reproducción: Se reproducen de dos maneras. La primera es la “normal” por polinización y producción de semillas. Estas no se autofecundan y el polen tiene que venir de otra planta de la misma especie. La otra manera es la reproducción de plántulas llamadas “hijuelos”. De la planta madre brotan nuevas plantas, muchas veces en el tallo. Esto sucede por lo general después de la floración. Una planta puede tener varios hijuelos que pueden ser quitados y desarrollados solos por separado o dejados junto con la planta madre, para formar una colonia (Páez *et al.*, 2005).

Fotosíntesis: Posee metabolismo CAM (ácido de las crasuláceas), según sus siglas en inglés, está estrechamente relacionado con la fotosíntesis C₄, esto se debe a que la enzima PEP carboxilasa fija CO₂ al añadirlo al PEP dando lugar a los ácidos C₄, la formación de los ácidos está separada especialmente del ciclo de Calvin. Como una parte de su adaptación hacia los hábitat secos, solo abren sus estomas durante la noche por lo que es el único momento en que gran cantidad de CO₂ puede penetrar a la hoja. El CO₂ se fija al combinarse con el PEP carboxilasa dando lugar a ácidos C₄ (ácido málico principalmente). Esta adaptación le permite a la planta de *T. recurvata* que aún caída en el suelo, puede sobrevivir (quedar viva) hasta un periodo de seis meses, llegando a completar su periodo de floración y liberación de semillas, la cual se disemina por el viento y las aves. Esta situación obliga a la necesidad de que en un plan fitosanitario se deban destruir las motitas de heno mediante técnicas físico-químicas y mecánicas.

Otros ácidos, tales como el ácido cítrico se derivan del ácido málico, estos ácidos se almacenan en grandes vacuolas de las células fotosintetizadoras. Al salir el sol, los estomas se cierran (impidiendo la pérdida de agua por el calor del día) y la luz dispara la producción de ATP y NADPH, mientras que los ácidos se descomponen para liberar CO₂ (Matuda, 1957).

2.3 Desarrollo de *T. recurvata*

Las condiciones favorables según Crow (2000), para que se desarrolle el heno motita son las siguientes:

Áreas con baja intensidad de luz en donde existe gran densidad de arbolado y por consiguiente es difícil la entrada de luz solar; un área con poca corriente del aire debido a la cobertura de copa de los árboles y una alta humedad relativa que se mantiene debido a la poca entrada de luz.

Dichas condiciones son encontradas bajo el dosel de muchos árboles de sombra. Los árboles suelen desarrollar la mayor parte del follaje en sus extremidades, mientras en la parte interior de la copa está vacía y en los árboles de gran tamaño dentro de las grandes ramas; son los lugares donde se encuentra el hábitat ideal para *T. recurvata*. Como también Chávez (2009), menciona que el lugar propicio para el desarrollo del heno motita es la sombra y lo fortalece la humedad.

Ciclo biológico

Florece en verano generando un número variable de cápsulas (entre 25-35 por planta), las cuales portan en su interior un promedio de 40 semillas cada una. Su sistema de reproducción es sexual y asexual. La semilla se disemina por el viento, aves y otros organismos, que al depositarla sobre la corteza de los árboles o cualquier otra superficie donde pueda arraigar, llega a germinar con gran facilidad. Por otra parte con la fuerza del viento y golpeteo de las ramas, los hijuelos de *Tillandsia* o parte de ellos se desprenden con cierta facilidad y al depositarse en otra rama o cualquier otra estructura forma un nuevo individuo. Estas plantas no toleran el contacto directo del sol, prefiriendo una luz indirecta pero abundante. Dada su estructura anatómica con ramas en roseta y cerosas, llegan a conservar mucha humedad por lo que resisten grandes periodos de sequía y fuertes heladas (Crow, 2000).

Las semillas están contenidas en cápsulas, que abren con la madurez y tienen buena capacidad germinativa, son diseminadas luego de la dehiscencia o apertura natural de las cápsulas, principalmente por el viento y por algunos pájaros; además las semillas poseen tricomas, característica que se les otorga mayor posibilidad de adherencia a la corteza de los árboles y arbustivas hospedantes, (Crow, 2000).

En la Norma Oficial Mexicana NOM-ECOL-O11 se establecen los procedimientos, criterios y especificaciones para el aprovechamiento, transporte y almacenamiento de Musgo, Heno y Doradilla.

Hospederos

Se encuentra con más frecuencia en los géneros: *Cedrus*, *Pinus*, *Cupressus*, *Gingkgo*, *Quercus*, *Prunus* (Neumann, 2004).

Rzedowski (1981), mencionan que *T. recurvata* suele colonizar copas de árboles, cables de línea, telefónicos y rocas. Actualmente se encuentra en una gran diversidad de hospederos del matorral rosetófilo como mezquite, huizache, palmas y en casi todas las cactáceas; además de especies frutícolas como nogal, manzano y en especies de uso urbano (Flores, 2009).

2.4 Distribución de *T. recurvata*

T. recurvata se localiza en muchos de los estados de la república pero se encuentra con más frecuencia en: Michoacán, Guerrero, Chihuahua, Coahuila, Tamaulipas, Tabasco, Oaxaca y San Luis Potosí. Y en el resto del mundo se distribuye desde el sur de los Estados Unidos, Centroamérica y Sudamérica (Matuda, 1957).

2.5 Daños causados por *T. recurvata*

Las plantas epífitas aunque no toman del hospedero agua y nutrientes y sólo lo utilizan como soporte, su sistema radicular es externo y muy primitivo (rizoides) que no están adaptadas para alimentarse de la planta sino para anclarse o sostenerse y se alimenta a través de las hojas que están cubiertas de tricomas especializadas para recolectar agua y nutrientes del ambiente por lo que se les consideran dentro de las plantas parásitas ya que provocan la asfixia de ramas y muerte de los árboles (SEMARNAT, 2010)

Neumann (2004), asegura que *T. recurvata* secreta una sustancia alelopática denominada hidroperoxcicloartano a través de sus rizoides, sustancia que al parecer provoca la muerte de yemas y abscisión del follaje.

Se ha demostrado que las fuertes infestaciones de heno *T. recurvata* en su hospedero pueden causar los siguientes daños (Crow, 2000):

- Sombra a las plantas cercanas de menor tamaño.
- Daño en ramas por peso.
- Reducción de nuevos rebrotes.
- Vista escénica.
- Debilita al arbolado, mata las ramas y finalmente todo el árbol.
- Afecta la dispersión de semilla.
- Afecta el desarrollo del arbolado.
- Causa trastornos fisiológicos.

2.6 Usos potenciales de *T. recurvata*

En la actualidad el heno motita ha sido utilizado con diferentes fines uno de ellos es en la búsqueda de la utilización como sustrato aunque hasta la fecha no se recomienda ya que ha presentado resultados con valores por debajo del 50% de germinación (Roblero, 2013). Mientras que Vázquez (2010), utilizó el heno

motita como sustrato para la germinación de semillas de *Pinus cembroides* Zucc., encontró que el heno motita perfectamente molido, mezclado con Peat Moss, da buen resultado de tal manera que puede ser utilizado como sustrato.

Se han realizado estudios teniendo a *T. recurvata* como un bioindicador de contaminación atmosférica para medir las concentraciones de metales pesados en la atmósfera dentro de ciudades, encontrando Zinc (Zn), Hierro (Fe), Manganeso (Mn) (Ghirard *et al.*, 2010). A pesar de ser epífita, acumula una buena cantidad de silicio, proponiéndola como modelo de planta acumuladora de este elemento (Raya y Aguirre, 2009).

También presenta propiedades curativas ya que recientemente se han encontrado que extractos a base de *T. recurvata* tienen buenas propiedades para curar tumores cancerígenos, el Dr. Lowe patentó su aplicación en Estados Unidos de Norteamérica. (Lowe *et al.*, 2012).

El género *Tillandsia* tiene funciones positivas tales como: fijación de nitrógeno, hábitat y alimento para muchos, roedores, artrópodos y como proveedor de material para la fabricación de nidos de aves, las motitas también son usadas en la decoración en épocas navideñas y planta de ornato, así como en la utilización de manualidades, arreglos florales para decorar salas y oficinas, también se utiliza para transportar objetos delicados actuando como amortiguador de golpes (Neumman, 2004 y Flores, 2009).

En Uruguay en 1997, se logró desarrollar un producto orgánico casero obtenido de *Tillandsia recurvata*, que puede utilizarse en muchas clases de plantas que ayudan a la disminución prolongada del crecimiento, evitar el desarrollo de las malas hierbas, un control del avance de la especie estudiada y lograr un buen manejo de la misma (Mántaras, 2009).

INIFAP (2009), encontró el uso como forraje para la alimentación de caprinos, en donde se determinó el contenido de materia seca (MS), proteína cruda (P), fibra ácido detergente (FDA), fibra neutro detergente (FDN) y total de nutrientes digestibles (TND), además, de ser una planta no tóxica, se establece

que es factible considerar a *T. recurvata* como un forraje de oportunidad para la alimentación de caprinos durante la época de sequía en zonas áridas y semiáridas.

Existen registros en la captura de la niebla, probablemente es la fuente principal durante la estación seca, para este momento se apoya de su actividad fisiológica y reproductiva. La capacidad de almacenamiento de las hojas de esta planta, podría tener influencia en la cantidad de agua disponible para la evaporación, pero si esta especie coloniza los bosques de montaña, el efecto podría ser negativo en la recarga de agua, porque toma hasta 12 horas para alcanzar condiciones de saturación (Guevara *et al.*, 2010).

2.7 Métodos de control de *Tillandsia recurvata*

2.7.1 Métodos de manejo

Control manual: El primer control puede hacerse por remoción manual de la mayor cantidad de heno. Desde luego este método es el menos dañino en especies caducifolias que en las de follaje perenne (Berti *et al.*, 2004). Puede complementarse con el empleo de un cepillo de fibra que no dañe la corteza. Hay que tener en cuenta que se hace dificultosa la limpieza de absolutamente todo el material, un tratamiento químico complementario puede minimizar esta falla (Kamila, 2005). En ejemplares de gran tamaño y grandes extensiones este método no es muy recomendable, ya que se requerirá de grandes cantidades de agua poder abarcar a todo el arbolado infectado. Existe la posibilidad de que pequeñas plántulas o semillas se pueden quedar adheridas al árbol, las cuales pueden continuar el ciclo. Además de que se requiere mucho tiempo, dinero y esfuerzo.

Control físico: Mediante el empleo de agua a alta presión el clavel del aire es arrancado. Se debe graduar la presión o la distancia de la lanza aplicadora a la zona objetivo, con la intención de no lacerar los tejidos del huésped. Cuando los ejemplares son de hoja persistente, ésta metodología se dificulta, y sólo es recomendable para especies caducas en el período de reposo. A los efectos de

solucionar fallas inherentes a la aplicación, también puede complementarse con un tratamiento químico posterior (Kamila, 2005).

Control químico: Este método consiste en fumigar con herbicidas a los árboles infectados, recientemente se ha evaluado el control del heno con herbicidas orgánicos; tal es el caso de Muérdago Killer, en dichos estudios se logró matar las bolas de heno pero no se consiguió el desprendimiento en el hospedero; además que reveló que este producto no es tóxico para los hospederos de *Tillandsia recurvata* (Cisneros y Hernández, 2010).

Control mecánico: El control mecánico consiste en podar cada una de las ramas del árbol afectada por *T. recurvata*, troceo de las ramas y ramillas, traslado del material y la incineración de los mismos. Este método es bastante antiestético para el bosque. Además debe tomarse en cuenta que la parte del fuste que no se intervendrá, conservará al heno y pueden permitir el rebrote de la plaga. La reinfestación después de 4 años de haber aplicado las podas ocurre, de manera más baja de acuerdo al método de Hawksworth (1980), por lo que aunado al largo ciclo biológico que tiene el heno motita, es de esperarse que reinfestaciones más altas solo pudiera ocurrir en un tiempo no menor de 100 años (Chávez, 2009).

2.7.2 Medidas preventivas

a) Aclareos

De acuerdo con CONAFOR (2009), señala que los aclareos son cortas hechas en una masa arbórea con el fin de estimular el crecimiento de los árboles que restan y de aumentar la producción de material utilizable durante el turno.

Desde el punto de vista silvícola existen diferentes tipos de aclareos según Daniel (1982), aclareos de selección en los cuales se eliminan todos los árboles de clases de copa dominantes de modo que se liberan con copas codominantes e intermedias; aclareo mecánico, el cual se aplica por surcos en plantaciones y aclareo libre, en el cual la selección de los árboles se realiza sin apegarse a

ningún método mencionado anteriormente, la eliminación se hace de acuerdo al criterio técnico, en cuanto a que es mejor para el desarrollo del rodal.

b) Podas

Según CONAFOR (2009), se denomina poda al proceso mediante el que se extraen las ramas de los árboles para que el porte de cada uno de ellos sea el más adecuado para el logro de finalidades utilitarias, decorativas o para la producción de frutos y semillas.

c) Cortas de saneamiento

Daniel (1982), menciona que son cortas realizadas con el fin de eliminar los árboles o individuos de alto riesgo que han sido atacados o que se hallan en peligro inminente de ataque por insectos peligrosos u hongos, para impedir que estas plagas se extiendan a otros árboles. Las operaciones realizadas con este propósito no están, necesariamente, limitadas a la extracción de árboles comerciales ni a pies en vuelo principal.

2.8 Características de *Pinus cembroides*

Árbol perennifolio, (hasta 15 m de altura con un diámetro a la altura del pecho de hasta 70 cm, copa redondeada y abierta en individuos maduros y piramidal (espaciada) en individuos jóvenes, con follaje ralo, de color verde oscuro algo azulado, hojas en grupos de 2 a 3, entre 2.5 y 10 cm de longitud, cubren abundantemente las ramas y dejan una cicatriz en éstas cuando caen, tronco corto, ramas ascendentes, delgadas y colocadas irregularmente en el tallo, Corteza externa color café rojiza a casi negra, flores masculinas son amentos cilíndricos, conos subglobosos de 5 a 6 cm de ancho, casi sin pedúnculo, aislados o en grupos de 5, caedizos con escamas grandes gruesas y carnosas, semillas desnudas, subcilíndricas, sin ala, de 10 mm de largo,. Sistema radical profundo. Sexualidad. Monoica (CONABIO, 2008).

2.9 Importancia de *Pinus cembroides*

La importancia económica por el valor de su semilla (piñón), y abastece poco más del 90% de los piñones conocidos en el mercado (CONAFOR, 2012), así como también la importancia ecológica ya que es una vegetación de transición entre las formaciones xerofíticas de la altiplanicie mexicana y las vertientes internas de la Sierra Madre Oriental y Occidental (CONABIO, 1983).

2.10 Causas que afectan a *Pinus cembroides*

Las principales plagas que derivan el decline de *P. cembroides* son insectos. *Ips sp.*, descortezador secundario, *Dendroctonus sp.* Atacando al tronco, *Pityophthorus sp.*, barrenador, *Conotrachelus sp.*, plaga principal del cono en estado maduro. También se ha reportado la presencia de agallas en las hojas por insectos no determinados, el daño se observa por el follaje amarillento, fuste torcido y secreción difusa de resina, así como también contaminación ambiental ya que acumula grandes cantidades de polvo en el follaje. Puede observarse también el bandeado amarillo de las hojas, acortamiento de las mismas y caída del follaje en general (Benavides y García 1991).

Debido a la escasez de recursos forestales en las zonas áridas y semiáridas, los bosques de piño piñonero han sido afectados durante siglos por las actividades humanas: incendios forestales, sobre-explotación, cambio de uso de suelo, depredación natural y la recolección excesiva de piñones, entre otros (Carrillo, 2009).

La INIFAP (2012), reporta amenaza por la presencia del heno motita *Tillandsia recurvata* L, planta epífita que, a través de la invasión masiva en los árboles, va causando la muerte de ramas y en muchos casos el arbolado.

2.11 Hongos

Según Agrios (2005), los hongos son pequeños organismos eucariontes uní o pluricelulares que se desarrollan en sitios húmedos y con poca luz, productores de esporas, generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo filamentosos que carecen de clorofila y que tienen paredes celulares que contienen quitina, celulosa, o ambos componentes.

Los hongos destructores de la madera han sido agrupados tradicionalmente según el tipo y características de pudrición que producen, pero se considera este sistema de clasificación no muy preciso (Blanchette *et al.*, 1990). Los hongos de pudrición blanda aparecen cuando no se ha iniciado el proceso de pudrición marrón y blanca, usualmente hongos basidiomicetes y en situaciones donde existe alto contenido de humedad en el suelo, baja aireación, altas temperaturas, altas concentraciones de nitrógeno, o la presencia de algún componente químico en la madera que favorece su desarrollo (Eaton y Hale, 1993). Estos hongos de pudrición blanda son Ascomicetes y Deuteromicetes. Así los hongos de pudrición blanda ocasionan daños en la madera en servicio en situaciones donde el contenido de humedad es alto durante ciertos periodos del año (Encinas, 2000).

Hongo de la pudrición. La pudrición en la madera es causada normalmente por el hongo de la pudrición. Este hongo se agrupa en tres amplias clases basadas en la forma del ataque y de la apariencia del material podrido. Los tres tipos de hongo de la pudrición son: el hongo de la pudrición parda, el hongo de la pudrición blanca, y el hongo de la pudrición suave (ESA, 2007).

2.12 Trabajos afines

Los reportes que se han realizado sobre la presencia de hongos en especies del género *Tillandsia* aún son pocos, para el caso de *T. ussinooides* se

reportan los hongos *Colletotrichum bromeliacearum* en Texas, y *Volutella cylindrospora* en los Ángeles Estados Unidos (Ellis, 1976).

Para *T. fasciculata*, *T. recurvata* y *T. unsenoides* se encontraron los siguientes hongos: *Pythium sp.*, *Gelacinospora autosteira.*, *Glyphium tillandsiae.*, *Puccinia tillandsiae.*, *Fusarium solani.*, *Fusarium sp.*, *Volutella cylindrospora.*, *Colletotrichum bromeliacearum.*, *Colletotrichum sp.*, *Phyllosticta sp.* (Ellis, 1976)

En Guatemala se han reportado varios géneros., según registros de laboratorio de fitopatología de la facultad de agronomía de la universidad de San Carlos a través del Programa de Vigilancia Fitosanitario desde 1994.

Cuadro 1. Géneros de hongos

Especies de <i>Tillandsia</i>	Géneros de Hongos
<i>T. bulbosa</i>	<i>Fusarium, Colletotrichum</i>
<i>T. capitaria</i>	<i>Curvularia</i>
<i>T. caput medusae</i>	<i>Colletotrichum</i>
<i>T. melanocrater</i>	<i>Roya, Puccinia, Colletotrichum</i>
<i>T. xerographica</i>	<i>Curvularia, Colletotrichum</i>
<i>T. argentea</i>	<i>Colletotrichum</i>
<i>T. juncea</i>	<i>Colletotrichum</i>
<i>T. fasciculata</i>	<i>Leptosphaeria</i>
<i>T. seleraiana</i>	<i>Colletotrichum</i>
<i>T. brachycaulos</i>	<i>Colletotrichum</i>
<i>T. favelata</i>	<i>Piggotia</i>
<i>T. streptophilla</i>	<i>Colletotrichum, Curvularia</i>
<i>T. festucoloides</i>	<i>Colletotrichum</i>
<i>T. magnusiana</i>	<i>Colletotrichum</i>
<i>T. junelfobia</i>	<i>Colletotrichum, Puccinia, Dplodia, Fusarium, Rhizoctonia</i>
<i>T. oaxacana</i>	<i>Colletotrichum</i>

<i>T. bayleyi</i>	<i>Colletotrichum</i>
<i>T. butsi</i>	<i>Colletotrichum, Leptosphaeria</i>
<i>T. bromelifolia</i>	<i>Micospharella, Phoma, Colletotrichum</i>
<i>T. circinnata</i>	<i>Botryodiplodia</i>
<i>T. multiflora</i>	<i>Colletotrichum</i>
<i>T. plageotropica</i>	<i>Colletotrichum</i>
<i>T. tricolor</i>	<i>Colletotrichum</i>
<i>T. maleanocrater</i>	<i>Pestalotia</i>
<i>T. horrisii</i>	<i>Colletotrichum</i>

En cuanto a enfermedades, en el género *Tillandsia* se ha encontrado la Fusariosis, producida por el hongo *Fusarium bulbigenum* principalmente. Este hongo se desarrolla interiormente, obstruyendo los vasos conductores. Son síntomas la pudrición del cuello de la planta y su muerte rápida (Sánchez, 2003).

Barbosa *et al.*, (2004), señalan que *T. recurvata* llega a absorber cierto ácido tóxico y metales pesados que se encuentran en el aire como producto de la contaminación ambiental, y que son algunos de estos elementos los que finalmente ocasionan la muerte de las ramas y posteriormente la muerte del árbol. Neumann (2004), asegura que *T. recurvata* secreta una sustancia alelopática denominada hidroperoxicloartano a través de sus rizoides, sustancia que al parecer provoca la muerte de yemas y abscisión del follaje.

Las raíces no penetran los tejidos, sólo se observa el desarrollo de un súber no mayor a 400 µm de espesor, con células muertas, dilatadas en sentido radial y con inclusiones cristalinas, paredes finas y lumen amplio, alternando con células radialmente comprimidas con paredes gruesas que contienen sustancias que se observan de tono oscuro las cuales se encuentran también por encima del súber (Páez *et al.*, 2005).

La fijación de *T. recurvata* en la corteza de *P. laevigata* provoca diferentes respuestas en su estructura anatómica, afectando diferentes tejidos. Los cambios se manifiestan por la formación de súber de reacción y de células con contenido oscuro, probablemente de naturaleza fenólica y como barrera química al establecimiento de enfermedades. Cuando la fijación de la epífita es mayor, se observan diferentes grados de invaginación que pueden llegar a la madera y alterar su patrón típico, es decir, causar una reducción en el número y diámetro de los vasos. El impacto que la epífita causa sobre el forofito puede favorecer el ataque de patógenos en los tejidos de los hospederos (Aguilar *et al.*, 2007).

T. recurvata, dañan a sus hospederos mediante el peso acumulado que generan sobre las ramas, epiparasitismo, estrangulamiento de ramillas, liberación de sustancias alelopáticas, robo de nutrientes y sombreado (Ruiz y Coronado, 2012).

III. MATERIALES Y METODOS

3.1 Descripción del área de estudio

3.1.1 Estudios a nivel de campo

La recolección de material vegetativo infestado con *T. recurvata* se realizó en la parte sur del estado de Coahuila en el ejido “Cuauhtémoc”, los análisis parasitológicos se llevaron a cabo en el laboratorio de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

El ejido “Cuauhtémoc” se localiza al sureste de Coahuila, en las coordenadas geográficas 25° 17 00 N y 100° 56'11” O, con una altitud de 2300 msnm (Barragán, 2007), a 45 minutos de la ciudad de Saltillo por la carretera 54, siguiendo una carretera de terracería de lado izquierdo, pertenece al Sector Cuauhtémoc del Área Protegida Sierra de Zapalinamé (UAAAN, 1998).

Presenta un clima, según Koppen modificado por García (1973), BSo kw” (e) seco, templado, cálido, semifrío, con temperatura media anual que oscila entre 5 y 12° C, PP 498 mm, régimen de lluvias en verano, oscilación térmica entre 7 y 14° C. Suelos en su mayoría aluviales, de componentes calcáreos arcillosos, originados de depósitos aluviales y fluviales constituidos por gravas, arenas y arcillas, por su carácter de zona de montaña, abundan los suelos Litosoles y Redzinas, siendo suelos pedregosos y someros constituyendo un 80% de la superficie del área. (CETENAL, 1977).

El tipo de vegetación más abundante en el área es el bosque de pino que ocupa el 14% de la superficie total del área protegida de Zapalinamé; el bosque piñonero 12.54% y el bosque de piñonero con matorral xerófilo tan solo 9.55% (Barragán, 2007).

En la parte de la Sierra de Zapalinamé pertenece a la red hidrográfica de las vertientes del Golfo de México y cuencas cerradas del Norte, región hidrológica

24 “Bravo Conchos”, Cuenca hidrológica B y Subcuenca e. Los coeficientes de escurrimiento son del 5 a 10% en casi toda la totalidad del macizo montañoso, 0 a 5% en los fondos de los valles y del 10 a 20% en las zonas más escarpadas. (Barragán, 2007).

Obtención de las muestras

La obtención de las muestras de *T. recurvata*, se realizó en bosque de *P. cembroides* infestado con dicha epífita, con categorías de cinco y seis como lo establece la clasificación de (Hawksworth, 1980). La elección del sitio se designó mediante el criterio de facilitar la obtención de las muestras en forma y tiempo, así como también a que el lugar cuenta con individuos con ramas sobrepobladas por la epífita. La recolección tuvo lugar en el mes de agosto, recolectando motitas de *T. recurvata* de aspecto adulto, los ejemplares se obtuvieron sin ser desprendidos de las ramas vivas de arbolado infestado.

Cuadro 2. Coordenadas UTM de los sitios donde se recolectaron las muestras

Coordenadas UTM		
Muestra	X	Y
Árbol joven	305146	2797416
Árbol adulto	305024	2797346
Árbol maduro	305082	2797309
Árbol testigo	304987	2797269



Figura 1. Imagen satelital del lugar donde se recolectaron las muestras

Las muestras del arbolado fueron ramas con 3-10 cm de diámetro, recolectando tres ramas de cuatro árboles. Los segmentos fueron ramas completas cortados con sierra; las muestras se transportaron al laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología para el análisis de hongos asociados a la muestra, ubicados al sur de Saltillo Coahuila en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.



Figura 2. Recolección de muestras en campo

3.2 Etapa de laboratorio

3.2.1 Aislamiento de microorganismos

Desinfección y secado del material vegetal

Para desinfectar el material vegetal traído de la área de estudio, se realizaron cortes de tejido en la parte aérea y de los rizoides de *T. recurvata*, para el caso de *P. cembroides* los cortes se hicieron en la corteza de la muestra afectada por la epífita, cortes de aproximadamente 0.5 a 0.8 mm, las secciones se desinfectaron en cloro al 3% durante tres minutos y luego fueron enjuagadas por un minuto (paso repetido tres veces) en agua destilada estéril, y secadas en papel estéril en la cámara de flujo laminar.



Figura 3. Proceso de preparación del material vegetal para la siembra

Siembra del material vegetal

El material vegetal de las muestras ya desinfectadas se sembraron en medios de Cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) 23 g y Agar Nutritivo (AN) 13.8 g en 600 ml de agua destilada, con la ayuda de unas pinzas se tomó cada uno de los trozos de tejido y se colocó dentro de la cajas Petri con medio de cultivo (5 secciones), y finalmente se etiquetaron y se sellaron las cajas con Kleen Pack, se colocarán en incubadora a 26°C por 7 días y posteriormente se realizó el aislamiento y purificación de las cepas.



Figura 4. Proceso de siembra del vegetal

Aislamiento de cepas

De cada cepa diferente en color y forma se tomó un explante con el sacabocados para aislarlo de los demás hongos y así se obtuvieron las diferentes cepas que posteriormente se purificaron.

Purificación

De las cepas aisladas se realizó la purificación de los hongos. Los hongos que presentaron cuerpos fructíferos se purificaron por cultivos monospóricos y los hongos que sólo presentaron crecimiento micelial se realizó por punta de hifa.



Figura 5. Procesos de purificación de hongos

Identificación

Una vez purificados los hongos, se realizó la identificación de cuerpos fructíferos, con una aguja de disección se hicieron montas semipermanentes en porta objetos con azul de lactofenol, apoyándose con un microscopio compuesto se observó y con la literatura correspondiente de claves de Barnett y Hunter (1989), se determinó género de cada hongo.



Figura 6. Proceso de identificación de hongos

3.3 Procedimiento experimental

El trabajo de investigación se realizó tomando muestras en bosques de *P. cembroides* infestados con heno motita en el ejido “Cuauhtémoc”. Se seleccionarán tres árboles infestados con *T. recurvata* incluyendo muestras de árboles jóvenes, adultos y maduros, recolectando tres ramas infestadas de cada árbol, de igual forma se obtuvieron muestras de árboles que no presentaban infestación de la epífita esto con el fin de utilizarlos como testigos o control.

Diseño experimental

El diseño experimental fue en bloques al azar con arreglo factorial 3 x 3 x 3, teniendo nueve tratamientos de tres árboles con tres repeticiones cada tratamiento. Los tratamientos corresponden a las muestras de los árboles jóvenes, adultos y maduros, incluyendo muestras infestadas.

También se incluyó un árbol sano que no presenta infestación de *T. recurvata*, utilizándolo como testigo del cual solo se analizó la corteza con sus tres repeticiones correspondientes.

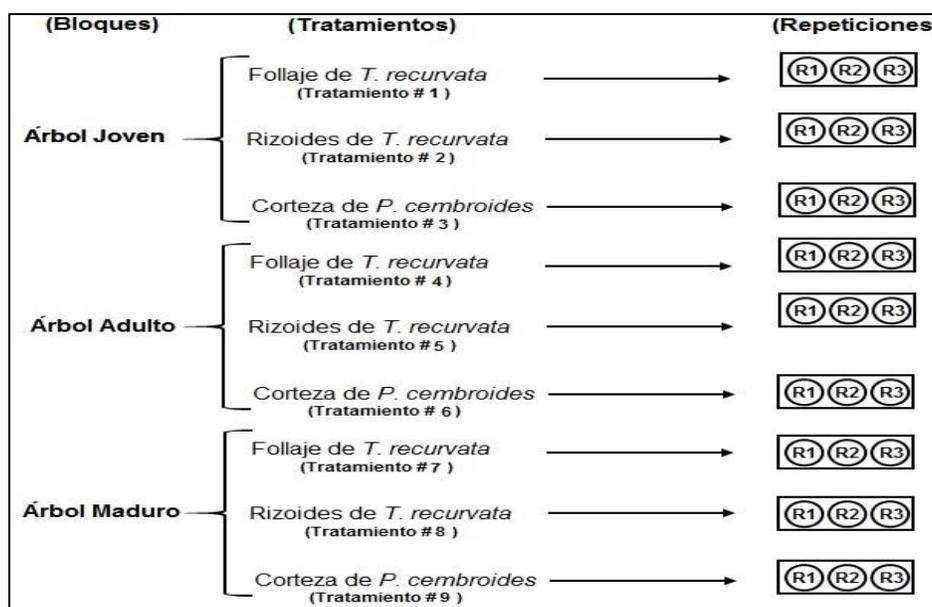


Figura 7. Diseño experimental

Distribución de tratamientos en un diseño experimental con arreglo factorial de 3 x 3 x 3.

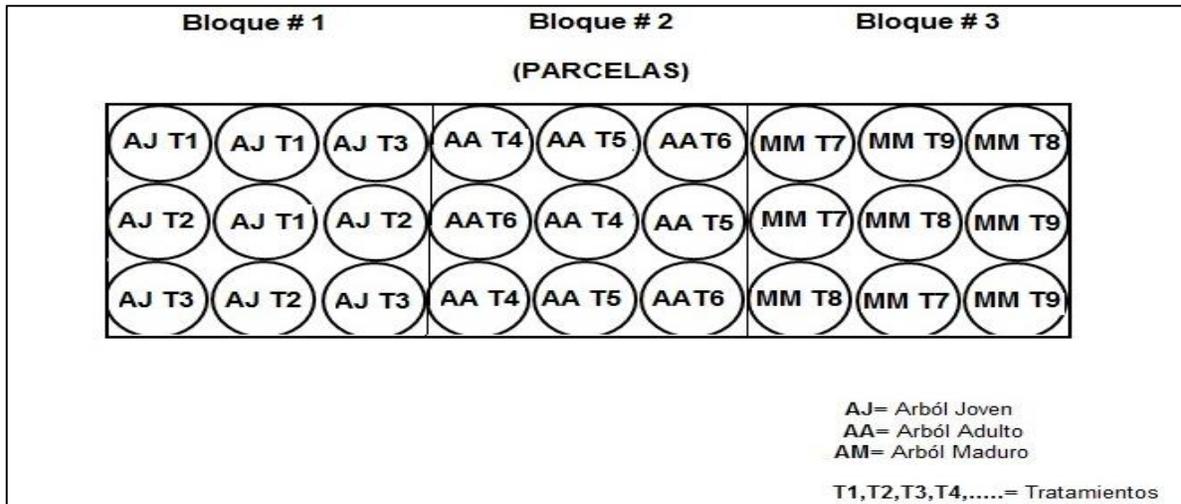


Figura 8. Arreglo de diseño experimental

El modelo estadístico que se utilizó fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij}$$

$i = 1, 2, 3$, (Tratamientos)

$j = 1, 2, 3$ (Repeticiones)

Dónde:

Y_{ij} = Valor observado en las diferentes variables.

μ = Efecto de la media poblacional.

T_i = Efecto verdadero del i -ésimo tratamiento.

E_{ij} = Error experimental en la j -ésima repetición.

Medición y definición de variables

VARIABLES A EVALUAR

Las variables consideradas para la evaluación de cada uno de los tratamientos fueron:

- a. Presencia de hongos potencialmente perjudiciales
- b. Abundancia y diversidad de hongos involucrados en la muerte del hospedero *P. cembroides* infestados con *T. recurvata*.

La presencia de hongos perjudiciales, se observaron en primer instancia en la germinación que presentaron en los cultivos de las cajas Petri que se utilizaron para este estudio, y en segunda instancia en un montaje semipermanente de estos patógenos establecidos en un porta objetos con el cubre objetos. Una vez montados los patógenos en forma fija se observaron con Microscopio óptico.

La abundancia de los hongos se midió mediante la proporción presente en las cajas Petri con cultivos, de las cuales se determinó el porcentaje mediante el conteo de dichos hongos presentes en cada pedacito de material vegetal, cada una contenía cinco pedazos de material vegetal correspondiente al 20% cada uno.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el proceso de la información se realizaron las capturas en la base de datos (Excel) de Microsoft office, estos se clasificaron por número de tratamiento, número de repetición, y variables evaluadas.

Los análisis estadísticos se hicieron mediante el programa SAS 9.0 con lo que se obtuvo el análisis de varianza, la prueba de rango múltiple de medias Tukey.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 RESULTADOS

4.1.1 Diversidad de hongos Fitopatógenos encontrados en los análisis

Fusarium sp



Figura 9. Hongo del género *Fusarium* aislado en laboratorio

Estructura: La fiálide es generalmente fina, con forma de botella; simple o ramificada; cortas o largas; monofialídica (que emergen esporas de un poro de la fiálide) o polifialídica (de varios poros). Los macroconidios presentan forma de medialuna, hialinos y septados (Tapia y Amaro, 2014).

Alternaria sp

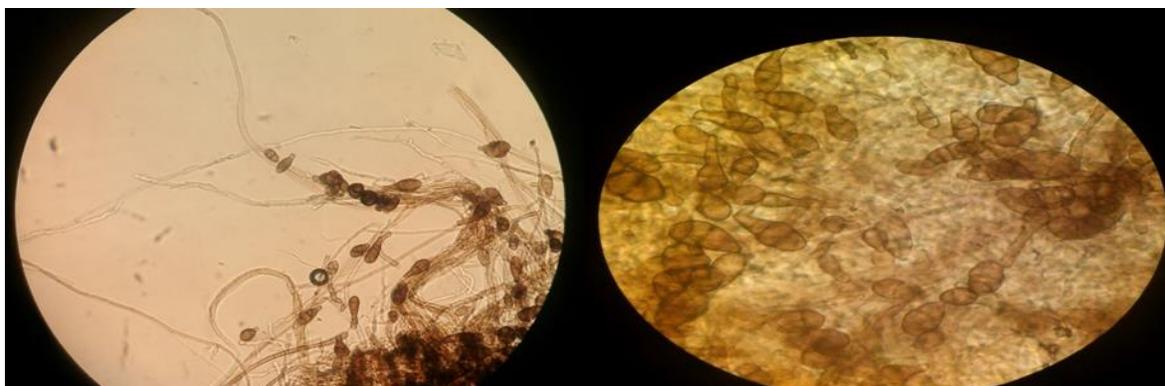


Figura 10. Hongo del género *Alternaria* aislado en laboratorio

Estructura: Conidióforos simples, tabicados, de forma alargada u ovoide. En el extremo del conidióforo se forman unos conidios de color pardo, con septos transversales y verticales (murifor-mes) de disposición irregular (AEM, 2001).

Pestalotia sp

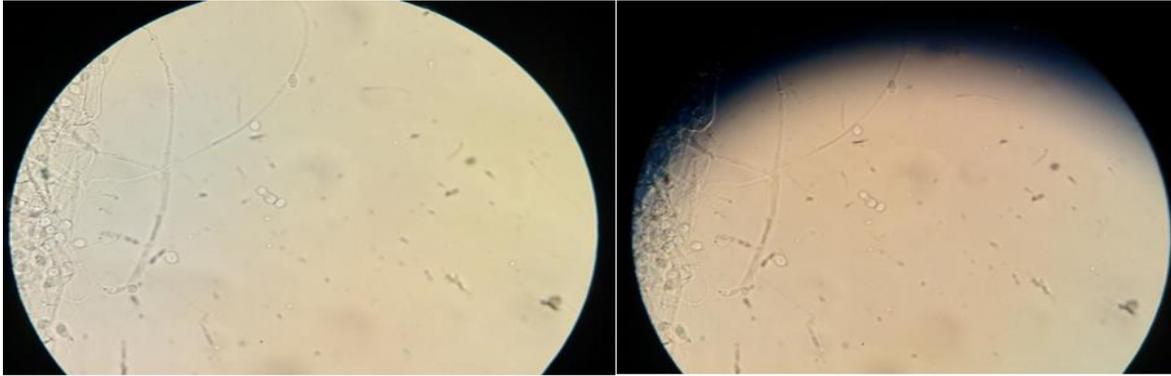


Figura 11. Hongo del género *Pestalotia* aislado en laboratorio

Estructura: Los conidios de *Pestalotia* son de forma fusoide y septados, de tres a seis células, la célula apical presenta de dos a cuatro apéndices largos y la célula basal presenta un solo apéndice mucho más corto (Sutton, 1980). Las células centrales del conidio son color oscuro, y las extremas hialinas (Sosa *et al.*, 2003).

Phoma sp



Figura 12. Hongo del género *Phoma* aislado en laboratorio

Estructura: Color grisáceo, micelio lanoso, denso, con pocas partes con picnidios pero abundante, al reverso de la caja muy oscuro. Conidios rectos o suavemente curvados, ovoide o elipsoidal, gutulado o no, hialino, Clamidosporas unicelulares, solitarias o en cadenas, si es solitario puede ser terminal o intercalar,

generalmente con una gran gutula, pared gruesa, lisa, pálido o marrón (CEFAP, 1998), Se desarrolla en todo tipo de material vegetal, muerto o enfermo.

Aspergillus sp

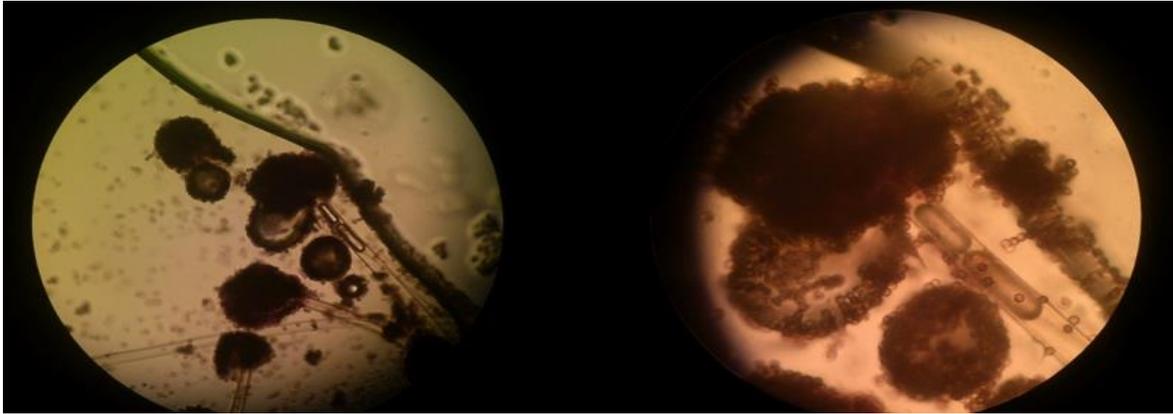


Figura 13. Hongo del género *Aspergillus* aislado en laboratorio

Estructura: Las diferentes especies se diferencian en tamaño, tasa de crecimiento, textura (aterciopelada, granular, algodonosa) y color de la colonia: verde-amarillento. La coloración aparece casi siempre en todas las estructuras aéreas, tanto en el micelio como en las cabezas conidiales (Ponton *et al.*, 2002). Hongo filamentosamente hialino, saprofito, perteneciente al filo Ascomycota.

Bipolaris sp

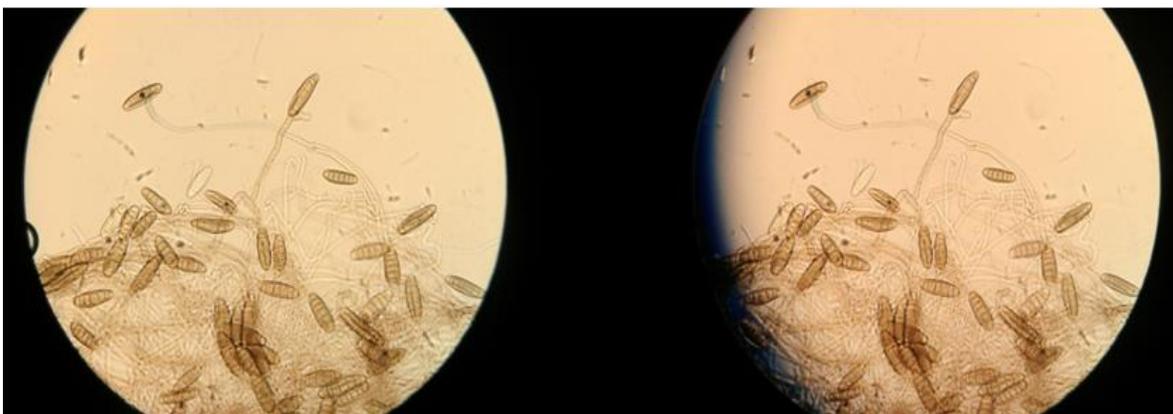


Figura 14. Hongo del género *Bipolaris* aislado en laboratorio

Estructura: Hongo de colonias de color gris oscuro, con micelio aéreo y bordes irregulares. Conidios rectos a ligeramente curvos, de 30-80 μm \times 10-15 μm ; 4-8 distoseptos, hilum no pronunciado; germinación bipolar. (Agueda *et al.*, 2013). Principal plaga sobre plantas de trigo y sorgo de Alepo (*S. halepense*), una de las principales malezas del mundo (Agueda *et al.*, 2013).

4.1.2 Porcentaje de diversidad de hongos fitopatógenos encontrados en las diferentes muestras analizadas

Hongos encontrados en la corteza de *P. cembroides*

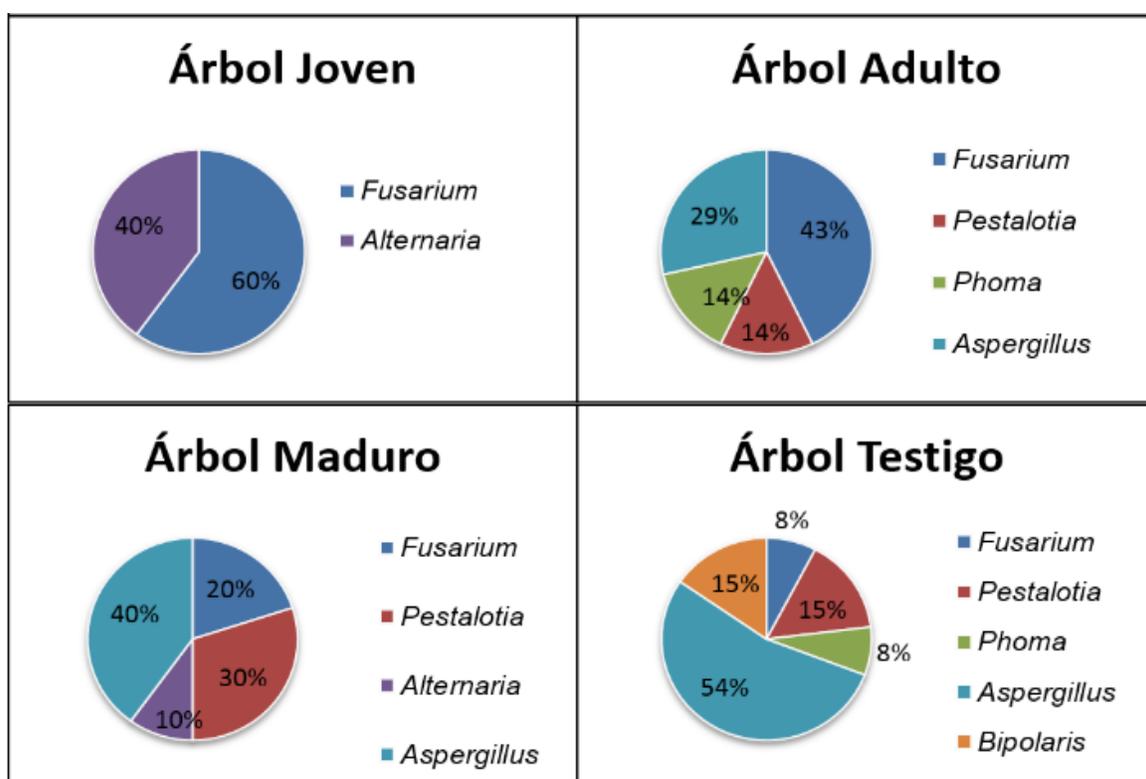


Figura 15. Graficas de porcentaje de diversidad de cada tratamiento de corteza de *P. cembroides*

Diversidad de hongos en corteza de *Pinus cembroides* en los tres tratamientos

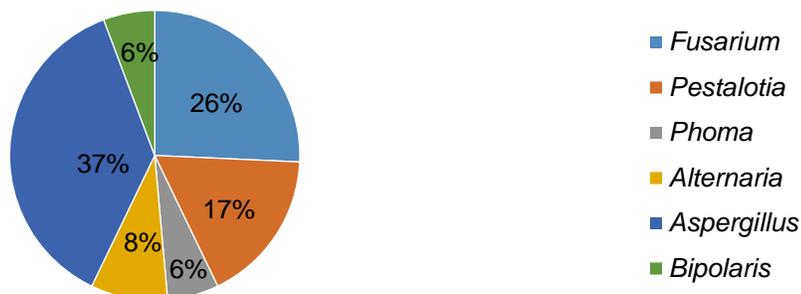


Figura 16. Grafica general de porcentaje de diversidad en los tres tratamientos de corteza de *P. cembroides*

Hongos encontrados en el tallo de *T. recurvata*

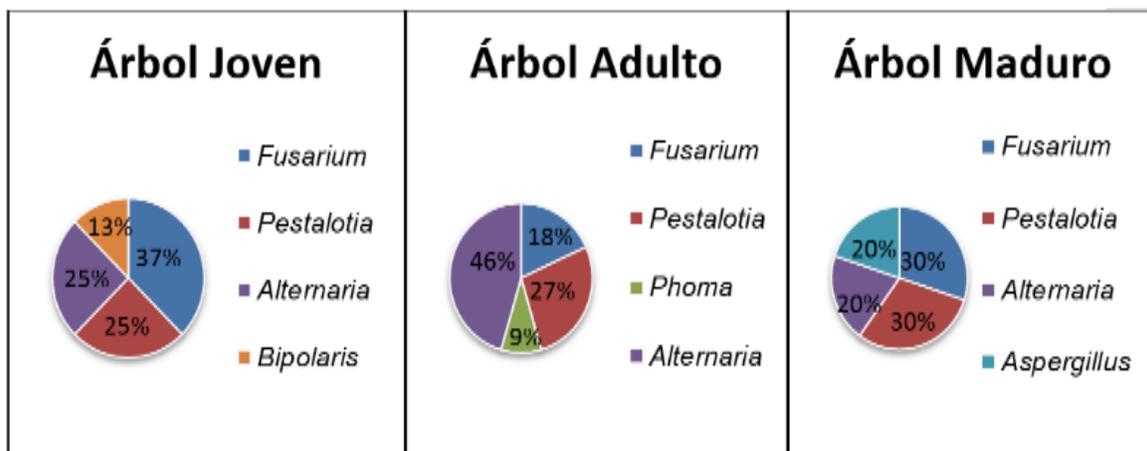


Figura 17. Graficas de porcentaje de diversidad de cada tratamiento de tallo de *T. recurvata*

Diversidad de hongos en tallo de *Tillandsia recurvata* en los tres tratamientos

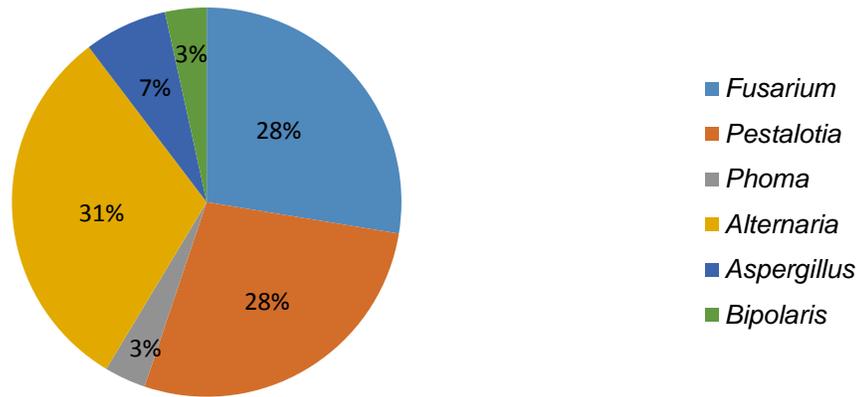


Figura 18. Grafica general de porcentaje de diversidad en los tres tratamientos de tallo de *T. recurvata*

Hongos encontrados en los rizoides de *T. recurvata*

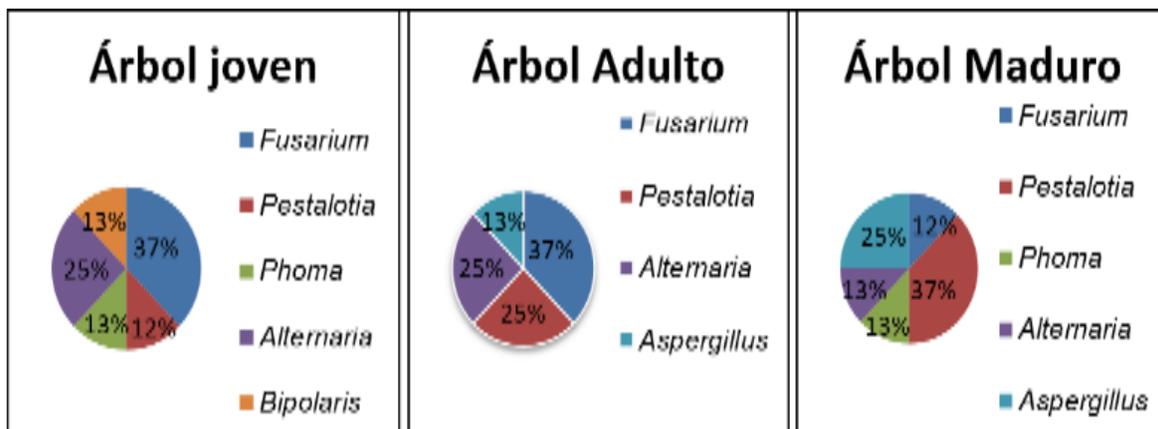


Figura 19. Graficas de porcentaje de diversidad de cada tratamiento de rizoides de *T. recurvata*

Diversidad de hongos en rizoides de *Tillandsia recurvata* en los tres tratamientos

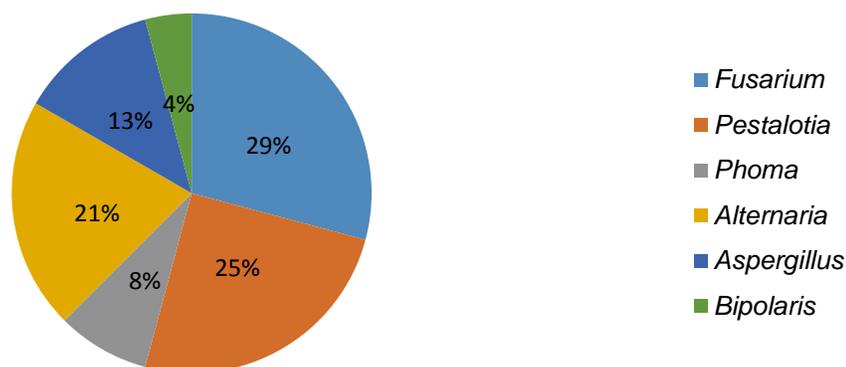


Figura 20. Grafica general de porcentaje de diversidad en los tres tratamientos de rizoides de *T. recurvata*

4.1.3 Cantidad de hongos Fitopatógenos germinados en los estudios de laboratorio

En las siembras realizadas en laboratorio cada cajita Petri represento una repetición y contenía cinco partes vegetativas de los diferentes tratamientos, cada parte equivalente al 20 %.

Cuadro 3. Cantidad de hongos en cada parte vegetativa

Tratamientos	Repeticiones	Hongos en corteza de <i>P. cembroides</i>	Hongos en tallo de <i>T. recurvata</i>	Hongos en rizoides de <i>T. recurvata</i>
(1) Árbol Joven	R 1	4	4	4
	R 2	5	5	5
	R 3	1	1	2
(2) Árbol Adulto	R 1	5	5	3
	R 2	5	5	4
	R 3	0	3	1
(3) Árbol Maduro	R 1	5	5	3
	R 2	5	5	4
	R 3	0	0	2
(4) Árbol Testigo	R 1	5		
	R 2	5		
	R 3	5		

Cuadro 4. Transformación a porcentaje de las concentraciones de hongos

Tratamientos	Repeticiones	Hongos en corteza de <i>P. cembroides</i> (%)	Hongos en tallo de <i>T. recurvata</i> (%)	Hongos en rizoides de <i>T. recurvata</i> (%)
(1) Árbol Joven	R 1	80	80	80
	R 2	100	100	100
	R 3	20	20	40
(2) Árbol Adulto	R 1	100	100	60
	R 2	100	100	80
	R 3	0	60	20
(3) Árbol Maduro	R 1	100	100	60
	R 2	100	100	80
	R 3	0	0	40
(4) Árbol Testigo	R 1	100		
	R 2	100		
	R 3	100		

Cantidades y porcentajes de concentraciones por bloques y tratamientos

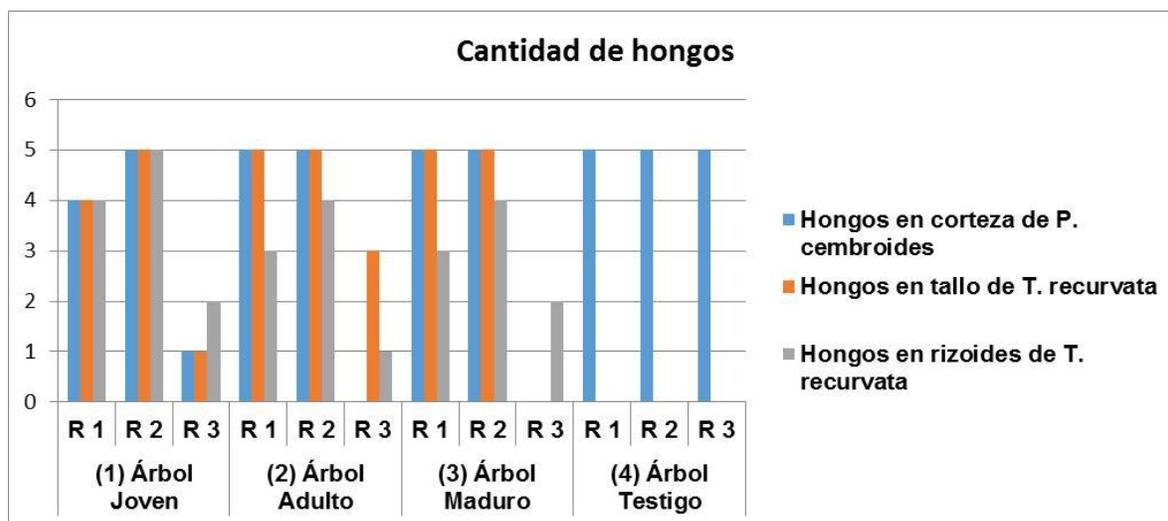


Figura 21. Concentración de hongos por tratamientos

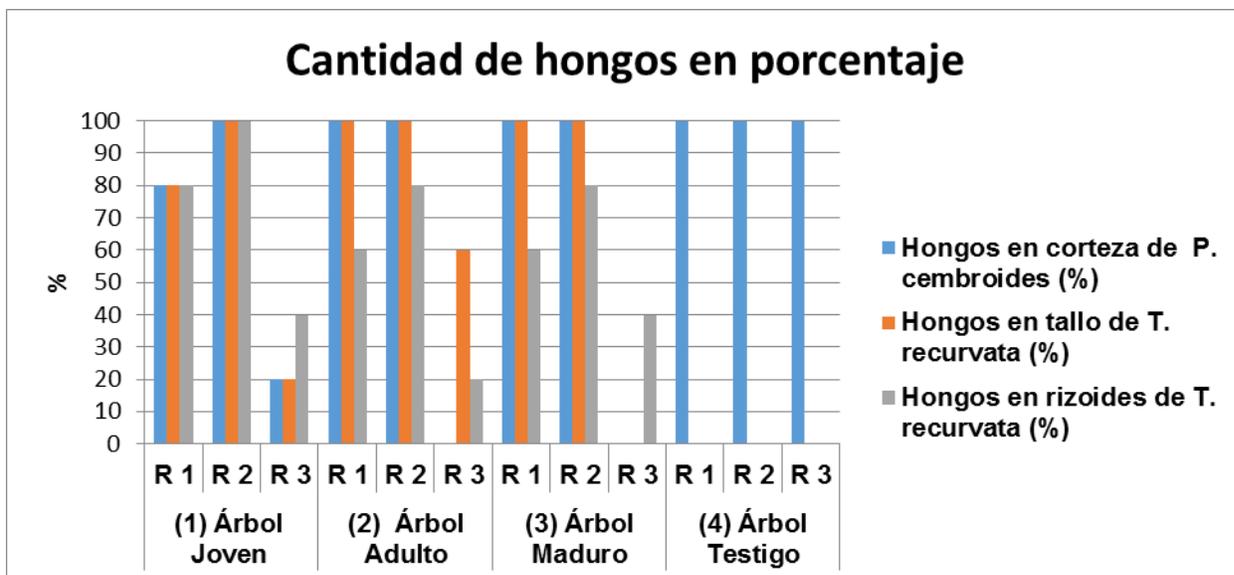


Figura 22. Porcentaje de hongos

4.1.4 Análisis de varianza y prueba de comparación de medias mediante la prueba de Tukey

Análisis de varianza con las muestras de corteza de *P. cembroides*

Cuadro 5. Análisis de varianza de tratamientos de corteza de *P. cembroides*

ANÁLISIS DE VARIANZA					
F.V	GL	SC	CM	FC	P>F
TRATAMIENTO	3	7.333333	2.44444	0.55	0.66
ERROR	8	35.33333	4.41667		
TOTAL	11	42.66667			

FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; SC=Suma de cuadrado; CM=Cuadrado medio;

FC= F calculada; P>F=Probabilidad de cometer error tipo I al rechazar Ho.

Cuadro 6. Prueba de comparación de medias de Tukey en corteza de *P. cembroides*

PRUEBA DE TUKEY		
TRATAMIENTO	MEDIA	AGRUPACION
ÁRBOL JOVEN	3.333	A
ÁRBOL ADULTO	3.333	A
ÁRBOL MADURO	3.000	A
ÁRBOL TESTIGO	5.000	A

Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes;
Nivel de significancia = 0.05, TUKEY = 5.495

Análisis de varianza con las muestras del tallo de *T. recurvata*

Cuadro 7. Análisis de varianza de tratamientos de tallo de *T. recurvata*

ANALISIS DE VARIANZA					
F.V	GL	SC	CM	FC	P>F
TRATAMIENTO	2	0.22222222	0.1111111	0.03	0.9703
ERROR	6	22.0000000	3.666667		
TOTAL	8	22.22222222			

FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; SC=Suma de cuadrado; CM=Cuadrado medio; FC= F calculada; P>F=Probabilidad de cometer error tipo I al rechazar Ho.

Cuadro 8. Prueba de comparación de medias de Tukey de tallo de *T. recurvata*

PRUEBA DE TUKEY		
TRATAMIENTO	MEDIA	AGRUPACION
ÁRBOL JOVEN	3.333	A
ÁRBOL ADULTO	3.333	A
ÁRBOL MADURO	3.667	A

Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes;
Nivel de significancia = 0.05, TUKEY = 4.797

Análisis de varianza en las muestras de rizoides de *T. recurvata*

Cuadro 9. Análisis de varianza de tratamientos de rizoides de *T. recurvata*

ANALISIS DE VARIANZA					
F.V	GL	SC	CM	FC	P>F
TRATAMIENTO	2	4.22222222	2.1111111	0.53	0.615
ERROR	6	24.0000000	4.0000000		
TOTAL	8	26.2222222			

FV= Fuente de variación; GL= Grados de libertad; SC=Suma de cuadrado; CM=Cuadrado medio; FC= F calculada; P>F=Probabilidad de cometer error tipo I al rechazar Ho.

Cuadro 10. Prueba de comparación de medias de Tukey rizoides de *T. recurvata*

PRUEBA DE TUKEY		
TRATAMIENTO	MEDIA	AGRUPACION
ÁRBOL JOVEN	3.333	A
ÁRBOL ADULTO	4.333	A
ÁRBOL MADURO	2.667	A

Las medias con la misma letra no son significativamente diferentes;
Nivel de significancia = 0.05, TUKEY = 5.0103

4.2 DISCUSIÓN

Género *Fusarium sp*

El género *fusarium* de acuerdo Sinclair *et al.*, 1987 señala que es uno de los patógenos más destructivos en los pinos. Afectando a diferentes estructuras vegetativas y reproductoras en diferentes estados de madurez y produce gran diversidad de síntomas, de los que se destacan; la filtración de resina en las lesiones de los vástagos, canceres sobre ramas, troncos y árbol completo, particularmente las especies *F. subglutinans*, y *F. oxysporum*, pero el síntoma más común quizás sea la muerte por heridas del limbo y canceres del tronco, presentado frecuentemente la corteza retenida y la madera de la parte inferior, estos síntomas son los que se observan a nivel de campo donde fueron extraídas las muestras.



Figura 23. Corteza observada en el área de recolección de las muestras

Otros síntomas es la muerte descendente en la corona superior resultante de la formación de canceres en las ramas. La muerte por las heridas severas quizás permanece en la corona por años y sirve de indicador de las enfermedades. Presenta infecciones de estructuras vegetativas y reproductivas, es decir, causa la muerte de flores hembras, de conos maduros, deterioro de

semillas y reducción de crecimiento de las plantas (Hansen y Lewis ,1997). Los síntomas del chancro resinoso varían en función de la especie de pino y las prácticas silvícolas llevadas a cabo (Dwinell *et al.*, 1985).

Otros autores mencionan síntomas donde la corteza se rompe en tiras fibrosas y se desprende con facilidad, algo similar a lo que se encontró en las observaciones realizadas en campo (Figura 24).



Figura 24. Observaciones de corteza a nivel de campo

La corteza y madera afectada muestran colapsos o ligeros hundimientos, el floema y la madera se tornan oscuros, con una pudrición fibrosa (Figura 25), similar a las observaciones realizadas por Páez *et al.*, 2005; y Aguilar *et al.*, 2007. Ramírez (1989), menciona que *Fusarium solanii.*, está asociado con el ahogamiento en *Pinus cembroides* quizá la causa principal del deterioro causante de la muerte de la especie en cuestión.

Es muy posible que en este caso *T. recurvata* actúa como vínculo de este hongo ya que la literatura menciona reportes de hongos encontrados en este género de epifitas y en este estudio se ha encontrado tanto en *Tillandsias* como en el hospedero *P. cembroides*.



Figura 25. Anclaje de *T. recurvata* en corteza de *Pinus cembroides*

Entre las especies más agresivas de este género reportadas en *P. cembroides* tenemos a *F. subglutinans*, *F. oxysporum*, *F. solanii* y *F. circinatum* Gerra y Cibrian 1998; Muños *et al.*, 1994.

Género *Alternaria* sp

El género *alternaria* tiene especies cosmopolitas que tienen un amplio rango de productos y materiales. Como saprobias deterioran alimentos y forrajes, produciendo compuestos biológicamente activos como micotoxinas. Es uno de los organismos reportados como saprofitos, sin embargo algunas especies causan tizones en tejidos vegetales, Walker, (1973) y Landaluce *et al.*, (1971).

El género *alternaria* se ha reportado en diferentes hospederos atacando principalmente a las semillas de las diferentes especies, mas sin embargo es un hongo causante de enfermedades de tizones en tejidos vegetales, aunque a nivel de campo estos síntomas no fueron presentes, no se puede descartar la idea de decir que probablemente este asociado a agentes secundarios relacionados a la

muerte de *Pinus cembroides* ya que Cruz en 2002 menciona mortalidad de árboles en vivero inoculadas por dicho hongo.



Figura 26. Planta completamente muerta después de la inoculación de *Alternaria* sp. (Fuente Cruz 2002)

Género *Pestalotia* sp

El género *Pestalotia* anteriormente denominado imperfecto, debido a que aparentemente no poseen la fase perfecta o reproducción sexual (Agrios, 2005), y correspondiente a un género parasítico o saprófito (Barnett y Hunter, 1998), es decir, se reproduce y desarrolla a expensas de su hospedante, ya sea vivo o muerto. El hecho de poder desarrollarse sobre materia orgánica muerta indica que este género corresponde a un parásito no obligado, que vive gran parte o todo su ciclo de vida como parásito, pero, en ciertas condiciones pueden desarrollarse de manera saprófita sobre la materia orgánica muerta, algunas especies de este género son aisladas frecuentemente del suelo (Rosello *et al.*, 1986).

Está considerado como uno de los géneros más agresivos y causantes de la muerte de partes y plantas completas de diferentes especies vegetales, también acompaña a otras especies más agresivas y como no es fácil de reconocer, puede confundir y llevar a conclusiones falsas sobre la importancia del hongo. La

infección de *Pestalotia* se ve favorecida por heridas en hojas, producidas por fuertes heladas o vientos (Gonzales *et al.*, 2002), o por heridas producidas por la previa invasión de un patógeno primario o insectos.

Algunos síntomas observados en campo son similares a los que señala Sinclair *et al.*, 1987, ya que mencionan daños en corteza fácilmente desprendible, manchas amarillas y pardas que va progresando como manchas cerca de la base de las agujas, marchitez en las heridas, esto ocurre cuando las lesiones son suculentas, ataca principalmente tejido joven, y penetra a través de heridas en la corteza, en condiciones de debilidad del hospedante, en la lesión prosperan anualmente, determinando la muerte del ramillo cuyas hojas presentan síntomas generalizados de marchitez y atabacamiento.

Muñoz *et al.*, 2007 por su parte señala que pueden producirse traslaciones de resina a través de los tejidos infectados, cuando inicia la enfermedad produce una necrosis parcial. Cibrián *et al.* 2007, reportan que este hongo se hospeda en numerosos hospederos tanto coníferas como latifoleadas.

Género *Phoma* sp

Son considerados como hongos secundarios, (Barnet y Hunter, 1988). Las ramas donde se forman los chancros se observan con la corteza fracturada e impregnada de resina, y es sobre estas lesiones donde se da el desarrollo de sus cuerpos fructíferos conocidos como picnidios. Una característica importante que se debe de identificar en este tipo chancro causado por *Phoma* es que el cambium se ve expuesto a abierto, Cibrián y García (2007), mencionan que en síntomas de chancro las esporas que penetran en las ramillas tiernas producen micelio que colonizan el cambium y el floema.

Los chancros se presentan en diferentes épocas del año, la producción de esporas se presenta durante todos los meses, pero se incrementan en tiempos de lluvias. Las esporas son llevadas por el viento y solo aquellas que caen en heridas

recientes que estén en follaje o en ramillas tiernas, germinan y se introducen con éxito al hospedante, Sagro *et al* (2004) y Mohali, (1998) afirman que la especie *Phoma pomorum* Tum es la causante de tizón en acícula y *Phoma Sacc* la causante de chancros en ramas.

Entre las especies de *Phoma* más agresivas en hospederos tenemos: *P. indianensis* (Boerema *et al.*, 1968), *P. pomorum* (Boerema *et al.*, 1971) y Sutton (1980), reporta a *P. pomorum*

El género *Phoma* hasta la fecha no se reporta en *Pinus cembroides*, el hecho de haber encontrado este género en los análisis de laboratorio probablemente se deba a una contaminación de las muestras ya que en el recorrido se atravesó un predio con *Cupresus sempervirens* hospedero preferente de dicho género, y se puede decir que no representa amenaza alguna a *P. cembroides*.

Género *Aspergillus* sp

Los hongos de la especie *Aspergillus* son mohos hialinos de rápido crecimiento, oportunistas comunes que se encuentran en los suelos o sobre materias en descomposición, se desarrollan mejor en ambientes ricos en oxígeno, también crecen bien sobre materiales ricos en carbono, de donde obtiene sus nutrientes, sin embargo, algunas especies de este género pueden sobrevivir en ambientes con muy pocos nutrientes y con poca humedad, como sólo la humedad en el aire (conocidos como xerófilos). Un lugar común donde se puede encontrar *Aspergillus* creciendo, es en el abono o en las hojas caídas, ya que crecen bien en la vegetación en descomposición. También crecen en las plantas y árboles (Ponton *et al.*, 2002).

Hasta la fecha no se reportan daños potenciales del género *Aspergillus* en *Pinus cembroides*, y solo habiendo pocos reportes donde ataca a semillas en especies de nogal, el hecho de encontrar este hongo creciendo en las muestras

de corteza analizadas es debido quizá a que es la parte donde se almacenan restos de material en descomposición proveniente del hospedero, condiciones óptimas para su desarrollo.

Género *Bipolaris* sp

Género principalmente encontrado en gramíneas espontáneas y cereales (céspedes, trigo, cebada, triticale, etc.). En avena es menos común. Es considerado un género oportunista aun que hasta la fecha no se reporta en árboles (SEDAF, 2013).

La presencia de este hongo en el estudio realizado, es debido quizá a que anteriormente el sitio donde se recolectaron las muestras presento algún otro tipo de uso de suelo, ya que en los alrededores se observa la práctica a pequeña escala de agricultura. Otra posible causa de la presencia de este género es que se encuentre de manera temporal y de supervivencia utilizando a *P. cembroides* como un hospedero alternante esperando las condiciones y la especie adecuada para su viral desarrollo.

Como se puede observar en los tres tratamientos y el de árbol testigo la presencia de hongos Fitopatógenos es eminente, aunque la concentración de hongos es baja esto ya revela que las partes analizadas de *T. recurvata* pudiese ser el vínculo o medio de penetración de los hongos a la parte interior del forofito, observando con más valor concentraciones en los tres tratamientos de *Fusarium*, *Alternaria* y *Pestalotia*, mientras que en el tratamiento de árbol testigo la mayor proporción de presencia fue del género *Aspergillus*, algo importante que hay que destacar es que en los tratamientos con infestación el desarrollo de estos patógenos se pudiera incrementar ya que en la parte de los rizoides y corteza como lo menciona la literatura, las condiciones son favorables en temperatura y alimento para que proliferen dichos hongos, de la misma manera la literatura señala que algunos géneros encontrados como *Fusarium*, *Phoma* y *alternaría*,

necesitan un vínculo para poder penetrar el forofito considerándose en algunos casos géneros alternantes o secundarios.

Cuantificación De Hongos

El tratamiento que más presentó incidencia fue el de tallo de *T. recurvata* con 33 hongos, valor por encima de los otros dos tratamientos presentando 30 hongos en corteza de *P. cembroides* y 28 hongos en los rizoides de *T. recurvata*, cabe mencionar que en el tratamiento de corteza de cembroides no se contempló el bloque 4 correspondiente a árbol testigo esto con el fin de comparar la incidencia por bloques con los mismos tratamientos (Cuadro 3).

En la Figura 22, se muestra que el bloque 1,2 y 4 fue donde se presentó mayor la incidencia de hongos, bloques correspondientes a árbol joven, árbol adulto y árbol testigo, esto tal vez a la edad correspondiente de cada individuo y a la humedad que en su momento presentaban las muestras recolectadas.

Análisis de varianza y pruebas de Tukey

De acuerdo a los análisis de varianza (Cuadros 5,7 y 9), realizados con las medias de cantidades de hongos fitopatogenos cuantificados en los tratamientos de árbol joven, árbol adulto y árbol maduro, se revela que no existe diferencia altamente significativa entre tratamientos, en consecuencia los Cuadros 6, 8 y 10 las pruebas de Tukey, revela que no existe diferencia significativa entre los datos obtenidos de los tratamientos.

V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados de los análisis parasitológicos realizados, se tienen las siguientes conclusiones:

1. Los análisis parasitológicos de las muestras revelan la germinación de los géneros de hongos fitopatógenos: *Fusarium*, *Alternaria*, *Pestalotia*, *Phoma*, *Aspergillus* y *Bipolaris*.
2. Los hongos que se pudieran considerar más agresivos, asociados posiblemente con la muerte de ramas y árbol completo de *P. cembroides* son los géneros *Fusarium* y *Alternaria*.
3. Los hongos germinados en los análisis de laboratorio obtenidos en las muestras de los rizoides de *T. recurvata*, así como de la corteza interna de ramas de *P. cembroides* atacados por dicha epífita, se consideran que tienen una gran posibilidad de ser los portadores y transmisores de estos hongos hacia la planta hospedera (forofito).
4. A nivel de campo se muestran síntomas muy evidentes en la corteza de *P. cembroides* del daño potencial de estos patógenos.
5. Los análisis estadísticos de los datos de cantidad de hongos germinados en las muestras de los diferentes tratamientos, revelan que no existen diferencias estadísticas significativas.
6. En virtud del tiempo limitado que se tuvo para realizar este estudio, es conveniente realizar una prueba de patogenicidad (inoculación manual) de las cepas de estos hongos, para ver el efecto en árboles sanos.

VI. LITERATURA CITADA

- Agrios, G .N, (2005). Fitopatología, 2da edición. México, Limusa, 952 p.
- Agueda C. M., Cabrera M. G. y Gutiérrez S. A. (2013). *Bipolaris sorghicola* un patógeno emergente en cultivos de sorgo del NE de Argentina. Cátedra de Fitopatología, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Nordeste, Sargento Cabral. V. 39, n. 4, p. 295-296
- Aguilar, S., Terrazas, T., Aguirre, E., Huidobro E. (2007). Modificaciones en la corteza de *Prosopis laevigata* por el establecimiento de *Tillandsia recurvata*, Botánica Estructural, Boletín de la Sociedad Botánica de México Pp 28-33.
- American Phytopathological Society -APS-. Introductory Plant Pathology Resources. APSnet. Introduction to the Major Pathogen Groups. Consultado agosto 2017]. En: <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/PathogenGroups/Pages/Bacteria.aspx>.
- Asociación Española de Micología. (2001). Micosis más frecuentes en nuestro medio. Revista Iberoamericana de micología.
- Barnett, H.L. y Hunter, B. B. (1998). *Illustrate Genera of Fungi*. Fourth Ed. Minnesota. APS PRESS The American Phytopathological Society. 218 p.
- Barragán, S. C. A. (2007). Recopilación de datos biofísicos y socioeconómicos de la Sierra de Zapalinamé. Monografía. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 61 p.
- Beltrán L., C. Loredó O., A. Arredondo G., H. Gámez V. y C.A. Rosales, N. (2010). Evaluación y control de *Tillandsia recurvata* en ecosistemas forestales del

semidesierto de San Luis Potosí, México. Informe Técnico. CONAFOR-CONACYT.

Berti R N, Abarza S, J Candotti J, Zambran R, Schimpf J. (2004). Clavel del aire: un parásito estructural y su control. Boletín técnico No. 17 editado por INTA– Estación Experimental Agropecuaria Salta, Universidad Nacional Jujuy. Pp 5.

Blakeslee, G. M., S.W. Oak. (1979). Significant mortality associated with pitch canker infection of slash pine in Florida. *Plant Disease Reporter* 63: 1023-1025.

Blanchette, R.; Nilsson, T.; Daniel, G. And Abad, A. (1990). Biological degradation of wood.

Boerema, G. H.; M. M. Dorenbosch y H. A. van Kesteren. (1968). Remarks on species of *Phoma* referred to *Peyronellaea*- II. *Persoonia*, vol. 5, part 2: 201-205.

Boerema, G. H.; M. M. Dorenbosch y H. A. van Kesteren. (1971). Remarks on species of *Phoma* referred to *Peyronellaea*- III. *Persoonia*, vol. 6, part 2: 171-177.

Cabrera, G.M. (1995). Hydroperoxycycloartanes from *Tillandsia recurvata*, *Revista Científica Journal of Natural Products*. V. 58 (12) 1920-1924. P 19

Cádiz, D., O. y J., Beltramo,. (1989). Control of the Epiphytic weeds *Tillandsia recurvata* and *T. aeranthis* with Simazine. *Forest Ecology and Management*, p 28.

Carrillo, J. (2009). Estructura y regeneración de *Pinus cembroides* subsp. *orizabensis* D.K. Bailey en Santa María las Cuevas, Tlaxcala. Tesis de maestría. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México. 64 p.

- Castellanos, V. I., Z. Cano. S.y B. Hernández. .L (2009). Departamento de Ecología y Recursos Naturales. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F 199 p.
- CETENAL, (1977). Cartografía temática (Edafología, Geología, Usos del suelo y Vegetación). Cartas G14C33 y G14C34 Escala 1:50 000. México.
- Chávez, G. A. G. (2009). Respuesta de tres especies forestales a la poda mecánica para el control del heno *Tillandsia recurvata*. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 45 p.
- Cibrián, T.D., Alvarado, R.D. y Garcia, D.S. (2007). Enfermedades Forestales en México. 1era Ed. México, Universidad Autónoma de Chapíngo. 104 a 107, 142, 143,146 a 180, 289 a 305.
- Cisneros, U. P. M. (2010). Efectividad de “Muérdago Killer” para el control de *Tillandsia recurvata*, en un Bosque de *Pinus cembroides* Zucc., en Saltillo Coahuila. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 65 p.
- College of Agricultural Sciences. (2007). *Entomology*. . Consultado el 07 de septiembre de 2017. <https://sites.google.com/site/fungienpatagonia/>
- CONABIO, (1983). Descripción del pino piñonero (*Pinus cembroides*): folleto técnico. 6 p. www.conabio.gob.mx.
- CONABIO, (2008). Ficha técnica de (*Pinus cembroides*). Consultado el 4 de agosto 2017 disponible en http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/54-pinac11m.pdf
- CONAFOR, (2009). Manual para Beneficiarios de Aclareos y Podas. pp., 8-17. En línea.

- CONAFOR, (2012). *Pinus cembroides* Zuuk. Consultado el 5 de agosto 2017 disponible en <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/955Pinus%20cembroides.pdf>
- Conzatti, C. (1947). Flora taxonómica mexicana (plantas vasculares). Tomo II. Monocotiledoneas Diferenciadas-Superiores e Inferiores. México, D.F. 83-86 p.
- Coria A., V. M. y I. Vázquez C. (2008). Estudio de evaluación de efectividad biológica de productos para el control de muérdago enano (*A. globosum*) y muérdago verdadero (*P. calycactus*) en San Juan Nuevo, Ichoacan. INIFAP. 27 p.
- Crow, W. T. (2000). Ball Moss. The Texas Agricultural Extension Service. Disponible en: <http://agriflifebookstore.org/tmppdfs/viewpdf1206.pdf>
- Daniel, T. (1982). Principios de Silvicultura. México: Miembro de la cámara nacional de la industria editorial, reg. Núm. 465
- Dwinell, L. D., J. Barrows-Broadus., E. G. Kuhlman. (1985). Pitch canker: a disease complex of southern pines. *Plant Disease* 69: 270-276.
- Eaton, R. Hale, M. (1993). Wood: Decay, pest and protection. Chapman & Hall, London. 546 p.
- Ellis, M. (1976). Dematiaceous hiphomycetes. Great Britain, Cabrian News Publishing Alberystwyth. 507 p.
- Encinas. O. (2000). Biodegradación de maderas venezolanas en ensayos de cementerios de estacas en los Llanos Occidentales. *Acta Científica Venezolana* 51: 39-44
- Flores, F. J. D., A. Cruz. G., J. L. Nava. M., L.M. Torres. E., A.S. Cortes. P. U., Macías. H. y G. Rodríguez. V. (2005). *Tillandsia recurvata* L. un fuerte problema de sanidad e los recursos forestales del sur de Coahuila.

- Memoria de resúmenes del XIII Simposio Nacional de Parasitología Forestal. Morelia, Michoacán 100-125 p.
- Flores, F. J. D., Najera, C. J. A., Torres. E. M. (2011). Situación del Heno Motita *Tillandsia recurvata* L., en el estado de Coahuila. 175 p.
- Flores, J., Torres, M., Nájera, J. (2009). Situación del heno de motita *Tillandsia recurvata*, en el estado de Coahuila. Memoria del XV congreso nacional de parasitología forestal. Oaxaca. PP. 175-179
- García, E. (1973). Modificaciones para el Sistema de Clasificación Climática Koopen. 1a Edición UNAM, México D.F. 246 P.
- Ghirardi, R., Fosco, M. E., Gervasio, S. G., Imbert, D., Enrique, C. y Pacheco, C. G. (2010). Líquenes y claveles del aire como bioindicadores de contaminación atmosférica por metales pesados en el microcentro santafesino. Revista FABICIB. Volumen 14, PÁGS. 165-173.
- Gordon, T. R. D., Okamoto, A. J., Storer, D. L. y Wood. (1998). Susceptibility of five landscape pines to pitch canker disease, caused by *Fusarium subglutinans* f. sp. *pini*. *Horticultural Science* 33: 868-871.
- Guatemala. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación; Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Agronomía; Agexpront. (2000). Programa de vigilancia fitosanitaria Guatemala. 8 p.
- Guevara A. E. M., Cervantes J, H., Suzan A. E., González S, L., Hernández S, G., Malda B. y M. Martínez D. (2010). Fog interception by Ball moss (*Tillandsia recurvata*). *Hydrology and Earth System Science Discussions*.1656-1675 pp.
- Hawksworth, F.G, (1980). Memoria, primer simposio nacional sobre parasitología forestal, Uruapan Michoacán. pp 239-251.
- Hepting, G. H., E. R. Roth. (1946). Pitch canker, a new disease of some southern pines. *Journal of Forestry* 44: 742-744.

- Hernández, S. E. (2010). Efectividad de “Muérdago Killer” para el control de *Tillandsia recurvata*, en un Bosque de *Pinus cembroides* Zucc., en Saltillo Coahuila. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 55 p.
- INEGI. (Instituto Nacional De Estadística Geográfica e Informática) (1995). Catálogo de Herbario. Tomo II. México D.F. 40 p.
- INIFAP, (2009). *Tillandsia recurvata* L.: Forraje de oportunidad para la Alimentación de Caprinos durante la Época de Sequía. Folleto Recursos Forrajeros.
- INIFAP, (2012). CONTROL DE *Tillandsia recurvata* EN BOSQUES DE *Pinus cembroides* DEL ESTADO DE COAHUILA. Programa de Investigación: Sanidad Forestal y Agrícola.
- INIFAP. (2010). Tecnologías generadas, validadas o transferidas en los Estados de Tamaulipas, San Luis Potosí, Coahuila y Nuevo León: folleto técnico.46:11 p. Disponible en: www.inifapcirne.gob.mx/Revistas/Archivos/FichasTecnologicas.pdf.
- J.J. Guerra-Santos; D. Cibrián-Tovar. (1998). El Cancro Resinoso Causado Por *Fusarium Subglutinans* (Wollenw Y Reink) Nelson, Tousson Y Marasas, Una Nueva Enfermedad De *Pinus* Spp., En Mexico. División de Ciencias Forestales, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. De México. 4(2): 279-284, 1998.
- Kamila, P.G. (2005). Clavel del aire, una planta que afecta a árboles y arbustos, métodos de control. Argentina. Disponible en: <http://riie.com.ar/?a=28067>
- Lowe, H. I.C., Watson, Ch. T., Badal , S., Ateh, E. N., Toyang, N. J and Bryant, J. (2012). Anti-angiogenic properties of the Jamaican ball moss, (*Tillandsia recurvata* L.) International Research Journal of Biological Sciences. Vol. 1(4). 73-76 pp.

- Madison, M. (1977). Vascular epiphytes: their systematic occurrence and salient features. *Selbyana* 2: 1-13.
- Mántaras S. (2009). *Tillandsia recurvata*: un problema una solución. Boletín de la red de vida y la ciencia. [En línea] [Fecha de consulta: 8 de agosto de 2017]. Disponible en: <http://lavidaylaciencia.blogspot.com/2009/03/tillandsia-recurvata-un-problema-y-una.html>.
- Matuda, E. (1957). Bromeliáceas y Aráceas del Estado de México. Impreso en talleres gráficos de la nación, México D.F. 63 p.
- Miranda, F. y E. Hernández X. (1963). Los tipos de vegetación de México y su clasificación. *Bol. Soc. Bot. Méx.* 28: 29-179.
- Montaña C., R. Dirzo R y G. Flores A. (1997). Structural Parasitism of an epiphytic Bromeliad upon *Cercidium Praecox* in an intertropical semiarid ecosystem. *Biotropica*, pp. 517-521.
- Muñoz, C.; Cobos, G.; Martínez, G.; Soldevilla, C.; Martín, I.; Díaz, M. (1997) Micoflora de los piñones de *Pinus pinea* L. En la C. A. de Madrid. Su implicación en las marras de los semilleros. II Congreso Forestal Español. Mesa 5. Pamplona. pp 307-312.
- Neumann, R. (2004). Clavel del aire (*Tillandsia recurvata*) y su control. Trabajo presentado en el XIII Congreso Latinoamericano de Malezas 17,18 y 19 de Septiembre de 1997. Buenos Aires Argentina Boletín Técnico N° 17. Buenos Aires, Argentina. 22 p.
- Páez L., E., S. Aguilar., T. Terrazas, M., E. Huidobro S. y E. Aguirre L. (2005). Cambios anatómicos en la corteza de *Parkinsonia praecox* (Ruiz y Pavon) Hawkins causados por la epifita *Tillandsia recurvata* L. (Bromeliaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México.* 077:59-64.

- Páez, G. L.E. (2005). Biología de *Tillandsia recurvata* L. (Bromeliaceae) y su importancia en aplicaciones prácticas y ecológicas. Tesis profesional. Facultad de Estudios Superiores Itzcala, Universidad Nacional Autónoma de México, Tlalnepantla, Estado de México. 82 p.
- Pontón J., Moragues MD., Gené J., J Guarro, Quindós G. (2002). Hongos y actinomicetos alergénicos. *Revista Iberoamericana de Micología*, Bilbao.
- Puente, M. E., Bashan, Y. (1994). "The desert epiphyte *Tillandsia recurvata* harbours the nitrogen-fixing bacterium *Pseudomonas stutzeri*." *Canadian Journal of Botany*. Volume 72, Number 3. March 1994. Pages 406-408.
- Ramirez E., M. L. (1989). Identificación del agente causal del ahogamiento o secadera de *Pinus cembroides* Zucc. y su control en el vivero de la UAAAN. Tesis profesional. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 38 p.
- Raya, P., J. C.; Aguirre, M., C. L. (2009). Composición elemental de algunas especies de plantas silvestres mexicanas. *Redalyc*. México. Pp, 95-98.
- Roblero, M. J.J. (2013). Germinación y Desarrollo de *Cedrella odorata* L., en Tres Tratamientos Utilizando Composta de *Tillandsia recurvata* L. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo Coahuila México PP. 50. Disponible en <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1056/6/2646s.pdf?sequence=1>
- Ruíz, E., Coronado J. (2012). Are epiphytic plants parasites of the trees? Evidence of mechanisms of direct and indirect damage. *Recursos naturales* p.26
- Rzedowski, J. (1981). *Vegetación de México*. Editorial Limusa. México D. F. México. 430 p.

- Sánchez de Lorenzo, J. M. (2003). Plagas y enfermedades de la familia Bromeliaceae. Obtenido en Octubre del 2003, en <http://www.arbolesornamentales.com>
- SAS® Software Inc. (1989). Statistical Analysis System SAS/STAT User's Guide. Versión 9.1, Cary, N.C.
- SEMARNAT (Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales). (2006). Norma para el aprovechamiento de *Tillandsia recurvata*, en línea. Fecha de consulta: 12 de septiembre de 2017. Disponible en: www.semarnat.gob.mx/pfnm/tillandsiaRecurvata.html.
- Smith, J. A. C., H. Griffiths and U. Lüttge. (1986). Comparative ecophysiology of CAM and C3 Bromeliads: the ecology of the Bromeliaceae in Trinidad. *Plant Cell and Environment* 9: 359-376.
- Sosa N., R. Alvarez y M. Cabrera. (2003). Ocurrencia de *Pestalotia* sp causando lesiones necróticas en plantas de jazmín del cabo (*Gardenia augusta*), en Corrientes, Argentina. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Nacional del Nordeste. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. 3 p.
- SPP. (1983). Síntesis Geográfica de Coahuila. Dirección General de Geografía e informática. Secretaría de Programación y Presupuesto. México. 163 p.
- Sutton, B. C. (1980). The coelomycetes fungi imperfecti with pycnidia, acervuli and stromata;. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 696
- Sutton, B. C. (1980). The Coelomycetes. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England, pp. 696.
- Tapia C. y Amaro J. (2014). Programa de Microbiología y Micología Instituto de Ciencias Biomédicas Facultad de Medicina, Universidad de Chile. Pp 85-86.

- UAAAN, (1998). Programa de Manejo de la Zona Sujeta a Conservación Ecológica Sierra de Zapalinamé. Dirección de Ecología. SEDESOL. Gobierno del Estado de Coahuila de Zaragoza. 170 p.
- Valencia, D. S., Flores, P., Rodríguez, L. V., Ventura, Z. E. and Jiménez, A. A. R. (2010). Effect of host-bark extracts on seed germination in *Tillandsia recurvata* an epiphytic bromeliad. *Journal of Tropical Ecology*. 571-581 pp.
- Vargas, F. T., Kuno, V. A. (2014). Morfología bacteriana. *Revista de Actualización Clínica*, 49(2).2594-2598.
- Vásquez, I. (1994). Intensidad del muestreo para evaluar rodales infestados por muérdago enano (*Arceuthobium globosum* Hawksworth & Wiens). *Foll. Tec.* 17. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Investigaciones del Pacífico Centro. Uruapan, Michoacán. 23 p.
- Vázquez, R. D.E. (2010). Utilización de Heno Motita *Tillandsia recurvata* L, como Sustrato para la Germinación de Semillas de *Pinus cembroides* Zucc. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo Coahuila México PP. 51. Disponible en <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/985/61593s.pdf?sequence=1>
- Villareal, Q. J.A, (1994). Flora vascular de la sierra la paila Coahuila, *Boletín Técnico Informativo*. 16(1): 109-138 p.