

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Micoherbicida Asociado a la Mancha Foliar de *Chenopodium album*
en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Por:

ESDRAS EDUARDO GORDILLO VAZQUEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Febrero, 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Micoherbicida Asociado a la Mancha Foliar de *Chenopodium album* en
Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Por:

ESDRAS EDUARDO GORDILLO VAZQUEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

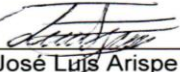
INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Asesor Principal


Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda
Coasesor
Ing. José Luis Arispe Vázquez
Coasesor
Dr. Gabriel Gallegos Morales
Coordinador de la División de Agronomía
Coordinación
División de Agronomía
Saltillo, Coahuila, México

Febrero, 2018

AGRADECIMIENTO

A la Universidad **Autónoma Agraria Antonio Narro**, por abrirme las puertas y ayudarme a culminar mis estudios a nivel licenciatura dentro del área de Agronomía y culminar en la gran dicha de ser llamado Ingeniero Agrónomo Parasitólogo, por darme los conocimientos necesarios.

Al Dr. Abiel Sánchez Arizpe, por ser mi asesor y aceptarme para la realización de este trabajo, por su dedicado esmero en la revisión de este trabajo, aportes para la realización del mismo, por ser un profesor muy comprometido con su trabajo y darnos las armas suficientes para ser unos buenos agrónomos.

A la Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cépeda por el apoyo para la realización de este trabajo y por la revisión del mismo, muchas gracias por todo.

A la M.C. Rodríguez Valdés María Magdalena por ser mi tutora en mi estancia en la escuela, gracias por los consejos y guiarme por buen camino.

Al Ing. José Luis Arispe Vázquez por la revisión del trabajo y por las aportaciones del mismo muchas gracias.

A todos los maestros del Departamento de Parasitología que me dieron clases, ya que ustedes contribuyeron en mi formación como Ingeniero Agrónomo y me dieron las bases para enfrentar problemas que se me presenten.

A todos mis compañeros de la Generación de Ingeniero Agrónomo Parasitólogo, por todos los momentos de convivencia que pasamos y experiencias, espero saber pronto de ustedes.

DEDICATORIA

A DIOS

Primero y, antes que nada, dar gracias a Dios, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A MI PADRE

Julio Cesar Gordillo Vázquez

A mi Padre, por ser el amigo y compañero que me ha ayudado a crecer, ya que con su conocimiento en trabajar la tierra y llevarme desde pequeño me nació ser lo que ahora soy, gracias por estar siempre conmigo en todo momento. Gracias por la paciencia que has tenido para enseñarme por todas las experiencias que me brindaste y para formarme como un hombre de bien, por el amor que me das, por tus cuidados en el tiempo que hemos vivido juntos, por los regaños que me merecía y que no entendía. Gracias papá por estar al pendiente durante toda esta etapa. Te amo papá, gracias por todo.

A MI MADRE

Alicia Vázquez Vázquez

A mi Madre, por ser la amiga y compañera que me ha ayudado a crecer, gracias por estar siempre conmigo en todo momento. Gracias por la paciencia que has tenido para enseñarme, por el amor que me das, por tus cuidados en el tiempo que hemos vivido juntos, por los regaños que me merecía y que no entendía. Gracias Mamá por estar al pendiente durante toda esta etapa. Te amo mamá, gracias por todo.

A MI HERMANO

Erik Gordillo Vázquez

Gracias por tu paciencia, gracias por preocuparte por tu hermano mayor, gracias por dejarme formar parte de tu vida, pero, sobre todo, gracias por estar en momentos importantes en mi vida hermano, te amo mucho y espero algún día tengas una profesión y seas mejor que yo, siempre estaré contigo, te amo mucho hermano.

A MI HERMANA

Ali Vanesa Gordillo Vázquez

Gracias hermana por estar siempre sé que aún estas creciendo eres la más pequeña, pero muchas gracias porque llegaste a nuestras vidas a darnos alegría y que pronto también seas una profesional de bien te amo hermana.

A MIS TÍOS

Usiel, Elías, Mardoqueo, Eluvia, Dalí, Cristino, Joselino, Aquilino, Mabilena, Luisa.

Por apoyarme cuando llegue a necesitar de ustedes, por ofrecerme su ayuda, tíos de verdad Gracias por todo, desde sus consejos hasta sus conocimientos, por todas Gracias.

A MI ESPOSA

Gabriela Elizabeth Domínguez García

Gracias por apoyarme en una parte de mi carrera, gracias por estar ahí siempre sé que no fue fácil pero tampoco imposible, así también gracias por llegar a mi vida le diste un cambio total por eso mil gracias por tu cariño, amor, comprensión y la paciencia que tuviste conmigo TE AMO.

A MIS ABUELOS

Juliana Vázquez Barrios, Jaime Vázquez Tomas.

Les agradezco tantos momentos que pasé y sigo pasando junto a ustedes, porque gracias a ustedes tengo a una madre magnífica, gracias por consentirme como solo ustedes como abuelos pueden hacerlo, y ayudarme en momentos difíciles, los quiero mucho.

María Elena Vázquez, Guillermo Gordillo Aguilar

Les agradezco tantos momentos que pasé y sigo pasando junto a ustedes, abuela sé que ya no estás aquí, pero desde el cielo siempre me estuviste cuidando, gracias por esos consejos porque gracias a ustedes tengo a un padre magnífico, gracias por consentirme como solo ustedes como abuelos pueden hacerlo, y ayudarme en momentos difíciles, los quiero mucho.

ÍNDICE DE CONTENIDO

Pág.

AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA	iv
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
RESUMEN	x
INTRODUCCIÓN	1
Objetivo	3
Justificación	3
Hipótesis	3
REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
Importancia de los Micoherbicidas.....	4
Antecedentes de los Micoherbicidas	5
Micoherbicidas en la Actualidad	8
Estudios de Patógenos para Control de Malezas	9
Reconocimiento de Malezas Robotizado.....	10
Primera Liberación de Agente Fúngico para Control Biológico	10
Clasificación Taxonómica de Acuerdo a Linneo (1753).....	11
Macrophoma como Micoherbicida	11
Hongos que Causan Enfermedades a C. album	12
Clasificación Taxonómica	12

Morfología Específica de Macrophoma	13
Sintomatología de la Enfermedad.....	13
MATERIALES Y MÉTODOS	15
Ubicación del Experimento	15
Material Vegetal Utilizado	15
Identificación Directa	16
Preparación de PDA.....	16
Desinfección de las Muestras.....	17
Aislamiento del Patógeno	18
Identificación de hongos	18
Medición del Hongo	19
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	20
Identificación del hongo.....	20
Medición de conidios	21
CONCLUSIÓN	24
BIBLIOGRAFÍA	25

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
1.- <i>Macrophoma</i> aislada en medio de cultivo PDA.....	13
2.- <i>Macrophoma</i> picnidios oscuros con halo amarillo sobre las hojas de la maleza <i>Chenopodium album</i>	14
3.- Departamento de Parasitología, laboratorio de fitopatología, UAAAN, 2017.....	15
4.- Observación del hongo en el microscopio compuesto en el departamento de parasitología, UAAAN, 2017.....	16
5.- Preparación de hipoclorito de sodio al 3% en el departamento de Parasitología, UAAAN, 2017.....	17
6.- Siembra del material vegetativo en cajas Petri con medio de cultivo PDA, Departamento de Parasitología UAAAN, 2017.....	18
7.- Identificación con microscopio con cámara integrada.....	19
8.- Medición con el programa Axio Vision Release 4.5 (12/ 2005).....	19
9.- Resultados de la siembra de muestras de <i>Chenopodium album</i> . A) Crecimiento de un hongo.....	20
10.- Fotografía microscópica de esporas de <i>Macrophoma</i> sp.....	20
11.- Resultados de la identificación del conidio con dos septos hialina y su respectiva medida.....	21

RESUMEN

Chenopodium album es una maleza nativo y amplio cultivo que incluye la mayor parte de Europa de donde Linneo describió la especie en 1753. Las plantas nativas en la zona oriental de Asia se incluyen en *C. album*, pero a menudo difieren de especímenes europeos. En general se presenta en otros lugares, por ejemplo, África, Australia, América del Norte, y Oceanía, y ahora se produce en casi todas partes en los suelos ricos en nitrógeno, especialmente en terrenos baldíos. Las manchas que ocasiona *Macrophoma* que es la principal en atacar esta maleza benéfica sobre las hojas de *C. album* son muy visibles por lo cual están se caracterizan por presentar picnidios oscuros, redondeados, y globosas sobre ellas, estas pueden estar casi sobre toda la superficie o más o menos concentrados en los tejidos enfermos de la planta, el objetivo de realizar este trabajo Identificar al hongo asociado a la mancha foliar de *Chenopodium album*, las muestras que se utilizaron se colectaron dentro de los terrenos de la UAAAN, así también los muestreos se realizaron de una manera dirigida hacia la malezas que presentaban los síntomas de esta enfermedad y posteriormente fueron trasladadas al laboratorio de fitopatología para su aislamiento y caracterización, por lo cual se realizaron pruebas para poder llegar a identificar al patógeno que está asociado en las muestras colectadas, la prueba a realizar en la identificación del hongo se realizó en base de morfología colonial y el número de septos. Los resultados obtenidos demostraron que el patógeno asociado a la enfermedad es: *Macrophoma*.

Palabras claves: Identificación, *Macrophoma*, Micoherbicida

INTRODUCCIÓN

El nombre genérico de *Chenopodium album* alude a la similitud característica entre la forma de las hojas de las plantas de la mayoría de las especies que constituyen este género y la pata de las ánades ya que *Chenopodium*, en latín, significa "pie de ganso"; y por su parte el epíteto específico *album* alude al color blanquecino que presentan las hojas por el envés. Esta especie es originaria de Europa y en la actualidad está distribuida por todo el mundo. Perteneció a la misma familia que las espinacas.

C. album, "quinoa blanca" es una planta anual, erecta de hasta 2 m de altura que posee hojas alternas irregularmente dentadas. Se encuentra distribuida en Argentina en una vasta zona que comprende desde La Rioja hasta Santa Cruz, siendo maleza de cultivos extensivos como trigo, arroz, girasol y lino (Marzocca, 1997).

En México, actualmente existen tres métodos básicos de control de malezas: mecánico, químico y biológico. Con respecto al tercer método, el biológico, se han desarrollado investigaciones y ensayos de campo para la utilización de *Neochetina eichhorniae* y *N. bruchi*, así como carpas herbívoras para el caso de malezas acuáticas.

El enfoque de micoherbicidas, es una variante del control biológico que está recibiendo mayor atención a nivel mundial dado su potencial valor comercial y los grandes éxitos obtenidos en el control de maleza con los micoherbicidas: COLLEGO, De Vine, Bio Mal, Luboa 2, Velgo, CASST. (Te Beest, 1991). Para el caso de México hasta el momento solo se ha abordado el concepto de herbicida en lirio acuático. Desde el punto de vista social las ventajas que tienen los micoherbicidas: nula toxicidad en mamíferos y fauna en general, no contaminación de suelo y cuerpos de agua (Te Beest, 1991).

La identificación y aplicación de los hongos Fito patógenos que atacan a las malezas como micoherbicidas inicia de 1940s, en Hawai con la aplicación de *Fusarium oxysporum* para controlar al nopal una cactácea, en los 1950, en

Rusia se producen en forma masiva esporas de *Alternaria cuscutacidae* para controlar a *Cuscuta spp.*, en 1963 en China se produce en forma masiva esporas *Colletotrichum gloeosporioides f. sp. cuscutae* para controlar a cuscuta. Este hongo *Colletotrichum gloeosporioides f. sp. cuscutae* dio origen al micoherbicida comercial "Lubao" que actualmente se usa para controlar a especies de cuscuta, es común que hongos de la clase *Deuteromycota* como agentes fitopatógenos de malezas y de los más de 100 proyectos de micoherbicidas que se llevan a cabo a nivel mundial, están representados hongos de la clase ficomicetos, basidiomicetos y ascomicetos, por ejemplo de los micoherbicidas registrados hasta 2005 hay ocho especies de deuteromicetes, una de ficomicetos, y cinco basidiomicetos.

La efectividad del uso de los hongos específicos como micoherbicidas para combatir los cultivos ilícitos sigue siendo cuestionable debido a la falta de calidad, la investigación en profundidad, según un nuevo informe del Consejo Nacional de Investigación. Preguntas sobre el grado de control que se podría lograr con este tipo de micoherbicidas así como la incertidumbre acerca de sus posibles efectos sobre las plantas selectivas, microorganismos, animales, seres humanos (Van Huis, 1981).

Objetivo

Identificar al hongo asociado a la mancha foliar de *Chenopodium album*.

Justificación

La reducción de agroquímicos en la agricultura para disminuir el impacto ecológico, es una necesidad inmediata, por lo cual, las estrategias de manejo deben de dirigirse sobre aspectos de control biológico o amigables, tal es el caso de la investigación con hongos micoherbicida para un diseño de manejo integrado de malezas.

Hipótesis

Se espera encontrar al menos un hongo con características micoherbicida asociado a la mancha foliar de *Chenopodium album*.

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia de los Micoherbicidas

Los micoherbicidas son más que nada formulaciones de hongos patógenos para las plantas que controlan el crecimiento o matan plantas no deseadas dentro de nuestra sociedad (Tesauro, 2013).

El hongo micoherbicida actúa como micro-fábrica viviente de químicos que produce componentes llamados micotoxinas, a las cuales dicho hongo es inmune. Cuando el hongo se encuentra con una forma de vida determinada, tal como la raíz de una planta, segrega estas micotoxinas, las cuales disuelven las paredes celulares de ese organismo. Luego el hongo ingiere el contenido ya licuado del organismo y se reproduce a sí mismo, moviéndose dentro del espacio de las células muertas como un huésped indeseable y mortal. Desde allí, produce más micotoxinas y repite el proceso con las células contiguas hasta cubrir un área sustancial de la planta. Como el hongo suele atacar las raíces, el tallo de la planta se marchita y se seca hasta morir. A diferencia de los herbicidas químicos – que se hacen en fábricas, se aplican a las plantas y luego se degradan (unos más que otros)-, los micoherbicidas pueden ser considerados como fábricas vivientes de químicos, siempre listas para matar e impedir el crecimiento de otras plantas (Jeremy B. 2005).

Por lo tanto, los micoherbicidas en la actualidad tienen una gran importancia ya que muchos lo utilizan para eliminar malezas que afectan el interés del hombre según los científicos investigadores, Algunas de las primeras investigaciones soviéticas mostraron que no es sólo el tejido o las esporas del hongo, lo que puede permanecer por años en el suelo. Es más, las micotoxinas que secreta el hongo pueden durar allí más tiempo que las células vivientes. Muchas de estas micotoxinas no se disuelven en agua ni se degradan rápido, así que pueden permanecer en el suelo y envenenarlo durante varios años, impidiendo el futuro crecimiento de plantas y dejando estériles, durante largo tiempo, terrenos destinados a la agricultura (Jeremy B., 2005).

Antecedentes de los Micoherbicidas

Una especie vegetal constituye una mala hierba, cuando dificulta el crecimiento de las plantas cultivadas (Villarias M., 1979). El concepto botánico de mala hierba no existe, pero se han enlistado algunas características propiamente distintivas. Para ello se seleccionaron 17 malezas que en promedio infestan seriamente 33 diferentes cultivos en 54 países; estas poseen un 85.6% de las propiedades distintivas de una maleza prototipo, es decir, 11 de 13. En contraste las plantas cultivadas poseen un 42% de las características de maleza, solamente 5 de estas (Keeler, 1989).

El patógeno de plantas en el suelo, *Fusarium oxysporum*, causa el marchitamiento de muchas especies de plantas diferentes. El rango de hospedadores limitado de muchos aislados de *F. oxysporum* los hace buenos candidatos para su uso como micoherbicidas en situaciones donde sus huéspedes son indeseables. Antes de que se puedan utilizar micoherbicidas, se deben determinar los factores que influyen en su rango de hospedadores y la patogenicidad. *F. oxysporum* puede producir toxinas que provocan síntomas de enfermedad en las plantas, pero su importancia en el desarrollo de la enfermedad y la determinación del rango del huésped no está clara. Este informe describe la producción de una proteína de 24 kDa por cepas de *F. oxysporum* patógenas en especies de plantas, incluida *Erythroxylum coca*. La proteína induce la producción de etileno y la necrosis en las hojas de muchas especies de plantas diferentes. La influencia de la proteína en el desarrollo de la enfermedad aún no se ha determinado (Bailey B., 2018).

El concepto de micoherbicida surge en 1969, con el descubrimiento de R. J. Smith de un hongo patógeno en *Aeschynomene virginica* (Templeton, 1981). A partir de entonces, hongos patógenos de plantas han sido ampliamente investigados.

Colletotrichum gloeosporioides es el ingrediente activo en dos micoherbicidas registrados en América del Norte, para el control de jointvetch nortño

Aeschynomene virginica y para el control de la malva de hoja redonda *Malva pusilla*. Cada uno de los aislamientos es muy perjudicial para su objetivo y no afecta a otras plantas. Sin embargo, se sabe que las especies de *Colletotrichum* también causan infecciones asintomáticas (o latentes) que a veces resultan en una respuesta tardía de la enfermedad. Estas infecciones son muy difíciles de detectar y la manifestación del patógeno en las plantas infectadas a menudo ocurre durante la senescencia o la maduración. Este fenómeno con especies de *Colletotrichum* plantea problemas significativos desde la perspectiva regulatoria. El herbicida paraquat (1,1'-dimetil-4,4'-ion bipyridinio) indujo la senescencia de las plantas y, por esta razón, se consideró útil para detectar infecciones latentes de especies de *Colletotrichum* en plantas inoculadas (Cerkaskas, 1988). Cerkaskas propuso que el procedimiento del paraquat se incluya en las evaluaciones de riesgo de las especies de *Colletotrichum* que son candidatas para el control biológico de las malezas. Actualmente, un aislamiento de *C. gloeosporioides* de Hungría está bajo evaluación para el control biológico del cardo ruso *Salsola tragus* en los EE. UU. Las pruebas de rangos de huéspedes sugieren que el aislado es específico del huésped; no causa síntomas en una especie de *Salsola* estrechamente relacionada o en otras plantas no objetivo, no afecta visiblemente a la biomasa de estas plantas, y no se esporula en tejidos asintomáticos, incluso en condiciones de cámara húmeda. Sin embargo, El tratamiento con paraquat del tejido asintomático de tres especies de plantas no diana, no relacionadas resultó en la esporulación por *Colletotrichum* (Cekauskas, 1988).

Los enfoques para el control biológico de malezas en cultivos herbáceos y la integración del control biológico de malezas con otros métodos de manejo de malezas son ampliamente discutidos. Se han estudiado varios tipos de enfoques integradores para el control biológico de malezas en cultivos en el marco de un Programa de Investigación Europeo concertado (Muller, 2000).

Durante el período 1994-99, unas 25 instituciones de 16 países se han concentrado en cinco complejos de hierba blanco. Algunos de los principales

logros científicos de COST-816 son: (i) la combinación del patógeno *Ascochyta caulina* con una fitotoxina aislada producida por este hongo para controlar a *Chenopodium album* en maíz y remolacha azucarera; (ii) la elaboración y aplicación preliminar en el campo de un enfoque de gestión del sistema que utiliza el sistema de malezas: patógenos *Senecio vulgaris*: *Puccinia lagenophorae* para reducir la competitividad de la hierba induciendo y estimulando una epidemia de enfermedad; (iii) combinación de cobertura verde no sembrada con la aplicación de esporas de *Stagonospora convolvuli* para controlar las especies de *Convolvulus* en el maíz; (iv) evaluación de la respuesta de diferentes procedencias de *Amaranthus* spp. a la infección por *Alternaria alternata* y *Trematophoma lignicola*, el desarrollo de técnicas de formulación y administración, y un estudio de campo de especies de insectos nativos para controlar *Amaranthus* spp., en remolacha azucarera y maíz; (v) aislamiento de cepas de diferentes *Fusarium* spp., que infectan todas las especies económicamente importantes de *Orobanche* spp., y desarrollo de formulaciones novedosas y almacenables que usan micelios de cultivo líquido. Aunque todavía no se ha logrado un control práctico para ninguna de las cinco malezas objetivo, las soluciones potenciales se han identificado claramente. Se pueden seguir dos rutas principales en el trabajo futuro. El primero es un enfoque tecnológico centrado en un único ciclo de enfermedad altamente destructivo del agente de control y la optimización de la eficacia y la especificidad del agente. El segundo es un enfoque ecológico basado en una mejor comprensión de las interacciones entre el cultivo, la hierba, el antagonista natural y el medio ambiente, que debe ser manejado para maximizar la propagación y el impacto de un antagonista indígena sobre la hierba (Muller, 2000).

Las malezas disminuyen la producción de cultivos por su gran adaptabilidad a diferentes condiciones ambientales, por lo que obstaculizan la utilización de la tierra y compiten por nutrientes, luz y espacio con las plantas cultivadas, interfieren en la irrigación y en la cosecha (Strobel, 1991).

Sin embargo, no solo pueden interferir por competencia directa, sino también a través de alelopatía, esto es, que ciertas especies de malezas o algunas de sus partes liberan a su medio ambiente, sustancias alelopáticas que incrementan su habilidad competitiva. Estudios con una gran variedad de malezas han mostrado exudados de partes de plantas subterráneas, extractos de agua o productos de la descomposición de residuos en suelo contienen tales sustancias alelopáticas (Lolas y Coble, 1982).

El hongo patógeno *Fusarium* es un género de hongos del cual existen varias especies (entre ellas, *F. oxysporum*, *F. solanum*, *F. proliferatum*, *F. verticillioides*), saprofitas de la tierra y patógenas de plantas y animales, causantes de pérdidas para la agricultura y del deterioro de alimentos, entre ellos los granos almacenados (González, 2001).

Micoherbicidas en la Actualidad

En los micoherbicidas se circula la noticia acerca de la posible experimentación con agentes biológicos para el control y erradicación de cultivos ilícitos en territorio de Colombia, en particular del micoherbicida *Fusarium oxysporum*, una variedad de hongo. Esto fue una propuesta planteada por el Programa Internacional de Drogas de las Naciones Unidas (Holm L., 2005).

Algunas pruebas hechas en otros países han demostrado eventuales efectos adversos de este hongo sobre organismos vegetales y animales próximos al área de su aplicación. Incluso está documentado un caso en el que afectó una extensa zona de cultivo de trigo en la antigua Unión Soviética en la década de los 50's, causando desórdenes intestinales y la muerte en varios casos de personas que consumieron dicho trigo.

Los Gobiernos de Colombia y Ecuador, a través de sus respectivos Ministerios de Ambiente, se han opuesto a la realización de pruebas con el *Fusarium*

oxysporum en sus territorios, por considerar que cualquier agente de control biológico externo a los ecosistemas nativos podría presentar graves riesgos al medio ambiente y a la salud humana (Holm L., 1969).

Estudios de Patógenos para Control de Malezas

Se ha estudiado un número considerable de patógenos de plantas para su posible uso en el control de malezas. Algunos han demostrado ser lo suficientemente virulentos para controlar las especies de malas hierbas y competir comercialmente con herbicidas químicos. Sin embargo, la mayoría de los patógenos de malezas no son útiles en su forma silvestre porque no son suficientemente específicos del huésped y / o virulentos (Sands, 2009).

Los autores creen que estas barreras se pueden superar. La presente investigación se ha centrado en los efectos inhibidores de ciertos aminoácidos en el crecimiento y desarrollo de plantas específicas. Los patógenos que producen en exceso estos aminoácidos seleccionados se pueden seleccionar fácilmente de un grupo de mutantes espontáneos. Dichos mutantes pueden tener una mayor patogenicidad para su hierba objetivo y un mejor rendimiento en el campo como agentes de control biológico. Mejora de la eficacia del control biológico en tres sistemas distintos de huésped-patógeno, dos con *Fusarium* y uno con *Pseudomonas*, ya han sido reportados. Se propone utilizar la misma tecnología para mejorar la eficacia del control biológico de las dos especies de *Fusarium* que son patógenos específicos del hospedero del grupo *Orobanche* de malas hierbas parasitarias. El enfoque gradual descrito puede conducir a la obtención de agentes de biocontrol potenciados capaces de producir niveles inhibidores de aminoácidos seleccionados. Se propone que estos enfoques, en combinación con otros métodos de mejora de la virulencia, conduzcan a sistemas sostenibles de control biológico de malezas parasitarias (Sands, 2009).

Teóricamente todas las clases de patógenos de plantas pueden ser considerados como potenciales agentes de control biológico, se incluyen: virus, hongos, bacterias y nematodos. Hasta ahora el número de hongos excede considerablemente a los organismos patógenos, de 83 patógenos estudiados: 71 son hongos, 6 virus, 3 bacterias y 3 nematodos (Templeton, 1981)

Reconocimiento de Malezas Robotizado

Los sistemas autónomos de control de malezas robóticos son prometedores para la automatización de una de las pocas tareas agrícolas sin mecanizar y drásticas que quedan, el control manual de las malas hierbas. La tecnología robótica también puede proporcionar un medio para reducir la dependencia actual de la agricultura a los herbicidas, mejorar su sustentabilidad y reducir su impacto ambiental. Esta revisión describe el estado actual de las cuatro tecnologías básicas (orientación, detección e identificación, control de malezas en hileras de precisión y mapeo) requerido para el desarrollo exitoso de un sistema robótico de uso general para el control de malezas. De los cuatro, la detección e identificación de malezas bajo la amplia gama de condiciones comunes a los campos agrícolas sigue siendo el mayor desafío. Unos pocos sistemas robóticos completos de control de malezas han demostrado el potencial de la tecnología en el campo (Slaughter, 2008).

Primera Liberación de Agente Fúngico para Control Biológico

El hongo de la roya *Puccinia komarovii* var. *Glanduliferae* se identificó por primera vez infectando a *Impatiens glandulifera* en su rango nativo (Himalaya occidental) entre 2006 y 2010. Posteriormente, se importó en cuarentena en el Reino Unido para su evaluación como un agente de control biológico clásico. Para evaluar la seguridad del óxido, se probaron las susceptibles a las especies de plantas relevantes para Europa. Para confirmar el ciclo de vida, todas las

etapas de esporas infecciosas se inocularon en *I. glandulifera* para seguir la progresión de la enfermedad. Las teliosporas se prepararon con blanqueamiento y bajas temperaturas para romper la latencia (Tanner, 2015).

Clasificación Taxonómica de Acuerdo a Linneo (1753)

Reino: *Plantae*

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: *Caryophyllidae*

Orden: *Caryophyllales*

Familia: *Chenopodiaceae*

Subfamilia: *Chenopodioideae*

Género: *Chenopodium*

Especie: *album*

***Macrophoma* como Micoherbicida**

Los hongos son organismos eucariontes uni o pluricelulares que se desarrollan en sitios húmedos y con poca luz. Las células de los segundos se agrupan en filamentos llamados hifas que en conjunto recibe el nombre de micelio.

Según Agrios (2005); Urbina (2011), los hongos son pequeños organismos 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. La mayoría de las 100000 especies de hongos conocidas son estrictamente saprofitas y viven sobre la materia orgánica muerta, a la que descomponen. Alrededor de 50 especies de hongos producen enfermedades en el hombre y casi el mismo número ocasiona enfermedades en los animales, la mayoría de las cuales son

enfermedades superficiales de la piel o de sus apéndices. Se considera que más de 8.000 especies de hongos producen enfermedades en las plantas (Arauz, 1998).

Hongos que Causan Enfermedades a *C. album*

Existe una gran variedad de enfermedades causadas por los hongos que sobre todo dañan hojas, frutos, tallos, entre ellos se encuentran *Ascochyta chenopodii*, *Cercospora chenopodii*, *Chaetodiplodia caulina*, *Chaetoplea calvescens*, *Peronospora farinosa*. (González, 2005).

Clasificación Taxonómica

Según Alexopolus y Mims (1985), citados por Hilj *et al.* (1991) este hongo está clasificado taxonómicamente de la siguiente manera:

Reino: *Mycetae*

División: Amastigomycota

Subdivisión: Deuteromycotina

Clase: Deuteromycetes

Orden: Sphaeropsidales

Familia: *Sphaeropsidaceae*

Género: *Macrophoma*

Morfología Específica de *Macrophoma*

Micelio aéreo, septado, marrón oscuro, ramificado, picnidios semisumergidos en los tejidos, errumpentes de color negro, subgloboso, monoostiolados, de 350-500 μm . conidióforos cortos de 8-20 μm de largo, conidio, simples, elipsoidales a subglobosos, mayores de 15-30 μm de largo y de 5-10 μm de ancho (Gonzales *et al.*, 1973).



Figura 1. *Macrophoma* aislada en medio de cultivo PDA.

Sintomatología de la Enfermedad

Los síntomas que produce el hongo *Macrophoma* en todas las hojas de la maleza *C. álbura* (Figura 2), esta se caracteriza por presentar los picnidios oscuros sobre las hojas, y dejando la hoja con un halo amarillento este hongo se presenta en invierno donde hospeda sobre el suelo para posteriormente pasar a las hojas (Walker, 1973).



Figura 2. *Macrophoma* picnidios oscuros con halo amarillo sobre las hojas de la maleza *Chenopodium album*

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Experimento

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Fitopatología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, geográficamente sobre las coordenadas 25° 22" Latitud Norte y 101° 00" Longitud Oeste, con una altura sobre el nivel del mar 1743 m, ubicada en Buenavista a 7 km al sur de la ciudad de Saltillo, Coahuila.



Figura 3. Departamento de Parasitología, laboratorio de fitopatología UAAAN, 2017.

Material Vegetal Utilizado

Se hizo un recorrido en el bajo de la universidad y se llevaron a cabo muestreos de *Chenopodium album*, cenizo o quihuill, una especie de hierbas de la familia *Chenopodiaceae*, que presentaron síntomas de la mancha foliar identificándose los picnidios de manera directa a nivel macroscópico por planta.

Identificación Directa

Lo primero a realizar fue identificar a la maleza, posteriormente se logró observar los picnidios sobre las hojas de la misma con la ayuda del estereoscopio, de tal manera no se pudo identificar a manera directa se llevaron las muestras al laboratorio de Fitopatología para realizar montas del material colectado, por lo cual se utilizó una gota de lactofenol para colocarlo en un porta objetos, posteriormente colocar la muestra que se macero utilizando una aguja de disección y así mismo colocar el cubre objetos, ya teniendo la monta del hongo en el porta objetos se colocó al microscopio compuesto enfocado con el objetivo 4x para poder ubicar la estructura del hongo, así mismo colocarlo al objetivo 10x para su oportuna observación de las primeras partes del hongo, por último se ajustó al objetivo 40x.



Figura 4. Observación del hongo en el microscopio compuesto en el departamento de parasitología, UAAAN, 2017.

Preparación de PDA

Se pesó 18.5 gr de PDA se colocó en un matraz agregándole 500 ml de agua destilada se agitó constantemente, posteriormente se esterilizo en una olla de

presión de 15 Lb/15 Min., enseguida se dejó enfriar por un determinado tiempo y finalmente se vació en cajas Petri.

Reactivo	gr/L
PDA	39

Desinfección de las Muestras

Para este paso se realizó una serie de procedimientos para evitar la contaminación que pudiera afectar el trabajo que se está realizando.

Primeramente, fue la desinfección de la superficie de la cámara de flujo laminar utilizando alcohol con un atomizador, enseguida se realizaron pequeños cortes del material vegetativo, así también se prosiguió con la desinfección de los pequeños cortes, este procedimiento se realizó con hipoclorito de sodio al 3% durante tres minutos para enjuagar por tres veces con agua destilada estéril durante tres minutos. Así mismo se colocaron los cortes vegetativos en sanitas estériles con la ayuda de unas pinzas y se dejaron secar los cortes por un lapso de una hora.



Figura 5. Preparación de hipoclorito de sodio al 3% en el departamento de Parasitología, UAAAN, 2017.

Después de transcurrir una hora se prosiguió a sembrarlas en cajas Petri con medio de cultivo PDA. Se colocaron cuatro cortes por cada caja Petri, la siembra se realizó en la cámara de flujo laminar previamente desinfectado con alcohol, una vez terminado de sembrar se sellaron con cinta transparente (Kleen pack), para incubarla con una temperatura constante de 28°C durante siete días.



Figura 6. Siembra del material vegetativo en cajas Petri con medio de cultivo PDA, Departamento de Parasitología UAAAN, 2017.

Aislamiento del Patógeno

Transcurrido el tiempo se observó el crecimiento de *Macrophoma*, se purificó mediante punta de hifa colocando en placas de PDA, incubando por 7 días a 28 °C

Identificación de hongos

Una vez que se observó el crecimiento en las cajas Petri se prosiguió a identificar el hongo, por lo cual se colocó una gota de lactofenol en el portaobjetos para después colocar la muestra que se macero de la caja Petri con una aguja de disección posteriormente se le colocó el cubre objetos. Ya teniendo la monta del hongo en el portaobjetos se pasa a observar en el microscopio con cámara integrada del laboratorio de citogenética de la

universidad, enfocado con el objetivo 4x para poder ubicar la estructura del hongo, así mismo colocarlo al objetivo 10x para su oportuna observación de las primeras partes del hongo, por último, se ajustó al objetivo 40x. Para la identificación del hongo se realizó en base a la morfología presentada y al número de septos que presentaba. (Barnett y Hunter 1972) figura 7



Figura 7. Identificación con microscopio con cámara integrada.

Medición del Hongo

Se utilizó el programa Axio Vision Release 4.5 (2005), y se ajustó a la escala en μm para medir el largo y ancho de los conidios.

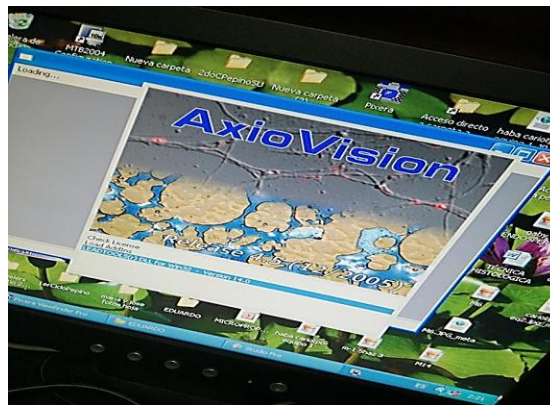


Figura 8. Medición con el programa Axio Vision Release 4.5 (12/ 2005).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las muestras de *Chenopodium* con síntomas de manchas se aisló un hongo con micelio blanco el cual fue consistente en todas las muestras sembradas fig. 9

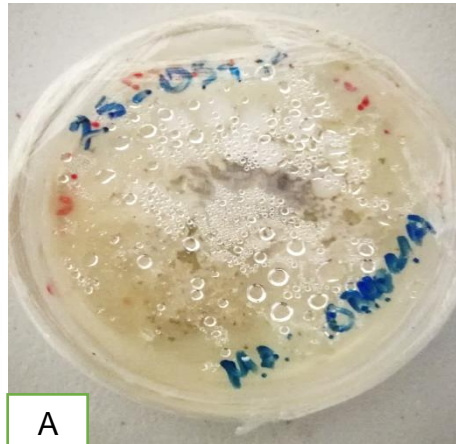


Figura 9. Resultados de la siembra de muestras de *Chenopodium album*. A) Crecimiento de un hongo.

Identificación del hongo

La identificación del hongo se realizó en base a las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1972) de acuerdo a la morfología que presentaban los conidios. Ver figura 10

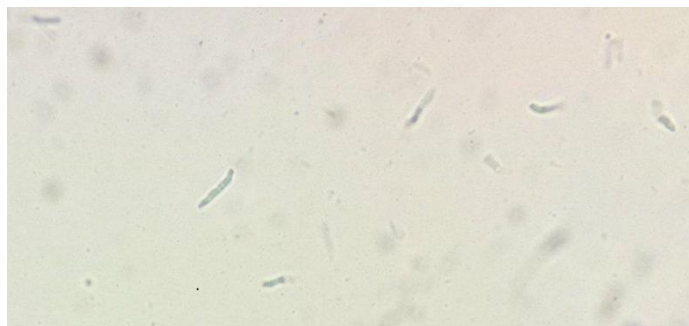


Figura 10. Fotografía microscópica de esporas de *Macrophoma* sp.

Medición de conidios

La medición de conidios se realizó con el programa Axio Vision Realse 4.5 (12/2005), consistió en realizar mediciones de 20 laminillas para obtener la media del total, por el cual obtuvimos medidas del largo del conidio de 18.21 μm y de ancho 2.56 μm , este procedimiento nos ayudó a llegar con su respectiva identificación del hongo de acuerdo con Barnett y Hunter (1972) quienes mencionan que el tamaño del conidio del genero de *Macrophoma* es mayor de 15 μm .

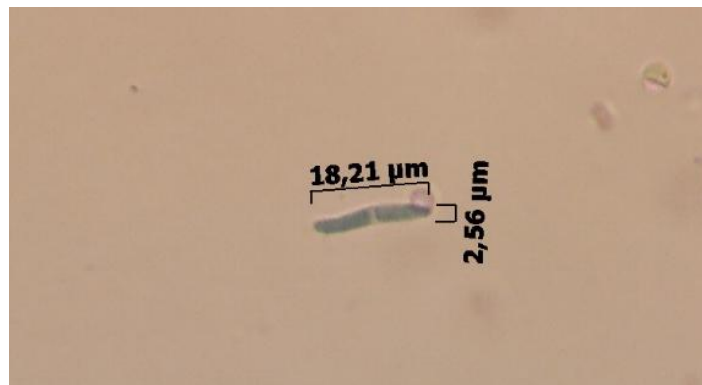


Figura 11. Resultados de la identificación del conidio con dos septos hialina y su respectiva medida.

Chenopodium album es uno de los colonizadores más exitosos malezas, que crecen en la mayoría de los sistemas de cultivo cultivables y muchos tipos de suelo en una amplia gama de valores de pH (Holm *et al.*, 1977). Es una mala hierba problemática en los cultivos de remolacha azucarera, papa, maíz, cereales y vegetales en todo el mundo (Holm *et al.*, 1977), y se considera una de las diez peores malezas en Europa. Es actualmente controlado con herbicidas en la mayoría de los cultivos, pero en maíz y algunas verduras es relativamente tolerante o resistente a muchos herbicidas (Heap, 2016). *Ascochyta caulina* (P. Karst.) Aa & Kesteren es la agente causal de hongos de una enfermedad de *C. album*.

Este patógeno ha sido estudiado y propuesto como un posible agente para el control biológico de *C. album* (Kempenaar *et al.*, 1996; Vurro *et al.*, 2001), como la publicación posterior aplicación de picnidiosporas fúngicas a jóvenes las plantas causaron la aparición rápida de manchas necróticas. Dependiendo de la cantidad de necrosis desarrollada, esta enfermedad retrasó el crecimiento o dio como resultado una planta muerta (Kempenaar *et al.*, 1996). En estudios previos, tres principales fitotoxinas hidrofílicas de bajo peso molecular de cultura líquida se filtra del hongo, a saber, ascaulitoxina, ascaulitoxina aglicona y trans-4-amino prolina, se aislaron y químicamente y caracterizado biológicamente (Evidente *et al.*, 1998, 2000, 2001). Su uso en la mezcla como un natural y herbicida amigable con el medio ambiente con amplio espectro de acción propuesto, basado en una serie de propiedades biológicas y tecnológicas relevantes (es decir, fitotoxicidad de amplio espectro de pequeño tamaño molecular a diferentes especies de plantas, falta de antibióticos y actividades zootóxicas, y solubilidad total en agua) (Vurro *et al.*, 2012).

Hojas de *Chenopodium album* tratadas con soluciones de toxinas fueron severamente deshidratados con pérdida de células Turgour 72 h después del tratamiento y aparición de necrosis y áreas cloróticas (datos no mostrados). Estudio informan que una suspensión de picnidiosporas de *A. caulina* rociada en plantas jóvenes de *C. album* causada aparición rápida de manchas necróticas; y una correlación se encontró entre el desarrollo de la necrosis y la pérdida de la eficiencia fotosintética (Kempenaar *et al.*, 1996). Los experimentos de invernadero han demostrado que uso de soluciones de toxinas junto con esporas de *A. caulina* mejoró fuertemente la eficacia del control biológico de este hongo en más del 30%. Además, la aplicación simultánea de toxinas o esporas de hongos, junto con bajas dosis de herbicidas (metribuzin y rimsulfuron a 1/5 de las dosis recomendadas), fueron más fitotóxicos que los tratamientos de agente único (Vurro *et al.*, 2001). Nuestros resultados indican que el biológico la actividad de la mezcla de toxinas está involucrada en desarrollo de la necrosis, cuyos efectos en consecuencia obstaculizar la fotosíntesis de la hoja.

Los hongos patógenos son potencialmente complementos valiosos dentro del arsenal de armas contra las malezas. El control biológico clásico ofrece un método barato, libre de contaminación y método de manejo sostenible de malezas invasivas, particularmente en ecosistemas naturales, pero también en aquellas situaciones donde, debido a las vastas áreas involucradas, las formas convencionales de control no son económicas, son difíciles de implementar o ambientalmente indeseables, o más usualmente, una combinación de todo esto. Se ha alcanzado un éxito notable con retornos financieros y ambientales significativos.

El papel de los micoherbicidas, no obstante, es todavía problemático, pero, debido a presiones actuales para reducir la dependencia de herbicidas químicos, los cuales solo pueden aumentar en el futuro, pueden ser una contribución importante al control de malezas, cuando las limitaciones bien documentadas hayan sido eliminadas, particularmente a través de formulaciones mejoradas y mercadeo.

La preocupación primordial, de las autoridades reguladoras y el público en general, sobre el uso de hongos patógenos en el control de malezas, es su amenaza potencial hacia otras plantas no objetivo del control. Esto es especialmente relevante para el control biológico clásico, donde se introducen patógenos exóticos en nuevos ecosistemas.

CONCLUSIÓN

Se logró la identificación del patógeno que está asociado a la enfermedad, el cual fue el hongo: *Macrophoma sp.*

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios G.N., 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Ed. Elsevier Academic Press. San Diego, California. 992 pp.
- Ainsworth G. C.; Sparrow, F.K.; Sussman, A. S. 1973. The Fungi: an advanced treatise. 4A:1-621
- Alexopolus C. J., Mins C. W and Blackwell, H. 1966. Introductory mycology. 4th Edition. Ed. John Wiley and Sons. Inc New York. Pp.632 y 869.
- Aprogip 2015. Asociación para la promoción de la Gestión Integrada de Plagas.
- Arauz C. L. F. 1998. Fitopatología un enfoque agroecológico. 1ra. Ed, San José. Costa Rica. Editorial de la Universidad de Costa Rica. 40 p.
- Asturnatura.com. No. 157
- Barnett H.L. y Hunter B. B. Illustrated genera of imperfect fungi. 3ª. Ed. Burgess Publ. Minnesota, 1972. 241 p.
- Bailey, BA, Ali, S., Akrofi, A., Meinhardt, LW 2016. Phytophthora megakarya, un agente causal de la pudrición de la vaina negra en África. En: Bailey, BA, Meinhardt, LW, editores. Enfermedades del cacao: una historia de viejos enemigos y nuevos encuentros. Suiza: Springer. pag. 267-303.
- Castroviejo Bolibar, Santiago & al. (eds.). Flora iberica. Vol. II. Platanaceae-Plumbaginaceae (partim), 1990.
- Collego, De Vine, Bio Mal, Luboa 2, Velgo, CASST.
- Cifuentes, J. 2008. Hongos. En: S. Ocegueda y J. Llorente-Bousquets (coord.). Catalogo taxonómica de especies de México. En: capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. CONABIO. México, CD1
- Eat the weeds: Ficha del Cenizo, 2010.*
- Espinosa, F. J. Manual para identificación de malezas.

- FAGRO, 2012. Facultad de Agronomía Universidad de la Republica.
- FAO 1992, Report on the expert consultation on guidelines for the introduction of biological control agents. Roma 17-19 septiembre 1991.
- Farr, D. F., G. F. Bills, G. P. Chamuris, and A. Y. Rossman. 1989. Fungi on Plants and Plants products in the United States. American Phytopathological Society, St, Paul MN.
- Fernández, O.A. Las Malezas y su evolución. Ciencia e Investigación. 35:49-60, 1979.
- Fryer, J. D. y S. Mat su nak a. Integrated Control of Weeds. Japan Scientific Societies Press. 262 pp., 1977
- González L. C. introducción a la fitopatología. Instituto
- Guzmán, G. 1996. Cuantos hongos crecen en México, Ciencia y Desarrollo. 127:86-89.
- Interamericano de Ciencias Agrícolas. San José Costa Rica. 1977. P.
- Heywood VH. 1993 Flowering Plants of the World. B T Batsford Ltd, London. 263 p.
- HILJ, 1991. Chemical and morphological the Macrophoma.
- Holm, L. 1969. Weed problems in developing countries. Weed Science 17:20-37.
- Infoagro, 2012. Malezas de *Chenopodium album*.
- JULIEN, M. & M. W. GRIFFITHS. 1999. *Biological control of weeds: A world catalog of agents and their target weeds*. Fourth Edition. CABI Publishing, UK.
- Keeler, K.H. 1989. Can genetically engineered crops become weeds Biotechnology. 7:1134-1139.
- L. BOSC EX MOQ. Chenopodiaceae *Chenopodium album* Bosc. Ex Moq

- Mandaba, N. B. 1985. Plant Growth Substances 1985: Proceedings of the 12th International.
- Lolas, P.C. and Coble, H.D. 1982. Noncompetitive effects of Jhonsongrass (*Sorghum halepense*) on soybean (*Glicine max*). *Weed Science* 30:589-593.
- Martínez, M., 1979. *Chenopodium murale* - ficha informativa Conabio
- Marzocca, 1997. Efecto de extractos de *Chenopodium album* L.
- Moreno, 1986 la guía de Incafo de los hongos de la península Ibérica. 2 vols. Madrid: Editorial Incafo. Guía descriptiva; cogn sección introductoria y fotografías en color. Disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos15/hongos/hongos.shtml#ixzz54kZzQTnT>
- Muller-Scharer, S., Scheepens, PC y Greaves, MP 2000. Control biológico de malezas en cultivos europeos: logros recientes y trabajo futuro. *Weed Res.* 40: 83 – 98 Disponible en: <https://doi.org/10.1046/j.1365-3180.2000.00170.x> [Crossref] [ISI]
- Presidencia de la República, 2005. Censo de cultivos de coca arroja disminución de un 7% durante el último año: desarrollo alternativo principal factor. Bogotá, 14 de junio de 2005. Disponible en: <http://www.acci.gov.co/Comunicados/Noticia/Noticia41.htm>
- Rice, E. L. 1984. The Allelopathic Potential of *Conocarpus lancifolius* (Engl.) Leaves on Dicot (*Vigna sinensis* L.), Monocot (*Zea mays* L.) and Soil-Borne Pathogenic Fungi
- Ruiz Fernández J. M. (1997): *Guía Micológica. Orden boletales en España*. SERVISISTEM – Euskoprinter
- SAMPLE, M.L; GRAVEL, D.; OXLEY, C.; BALDWIN, T.; GARBER, G.; RAMOTAR, K. An Outbreak of Vancomycin-Resistant Enterococci in a Hematology- Oncology Unit: Control by Patient Cohorting and Terminal

Cleaning of the Environment. Infection Control and Hospital Epidemiology, v.23, p.468-469, 2002.

Sands, DC, y Pilgeram, AL 2009. Métodos para seleccionar agentes de biocontrol hipervirulentos de malas hierbas: por qué y cómo. Pest Manag. Sci. 65: 581 - 587. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ps.1739> [Crossref] [ISI]

Siddiqui, I. and R. Bajwa, 2001. Variation in weed composition in wheat fields of Lahore and Gujranwala divisions. Pakistan J. Biol. Sci., 4: 492–504

Slaughter, DC, Giles, DK y Downey, D. 2008. Sistemas autónomos de control robótico de malezas: una revisión. Comput. Electrón. Agric. 61:63-78. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.compag.2007.05.008> [Crossref] [ISI]

Strobel, G.A. 1991. Biological control of weeds. Scientific American 265:71-78

Summit Agro, 2012. Summit Agro México

Tanner, RA, Pollard, KM, Varia, S., Evans, HC y Ellison, CA 2015. Primera liberación de un agente fúngico de control biológico clásico contra una hierba extraterrestre invasora en Europa: la biología del óxido, *Puccinia komarovii* var. *glanduliferae*. Planta Pathol. 64:1130-1139. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/ppa.12352> .[Crossref] [ISI]

Te Beest, 1991. Mycology in Sustainable Development: Expanding Concepts, Vanishing Borders.

Ung S.H. y A. Yunus 1981. The present status of the biological control of *Cordia curassavica* in Malaysia. En: E.S. Delfosse E.S. (Ed.) *Proceedings of the Fifth International Symposium on Biological Control of Weeds, Brisbane Australia, 1980*. Melbourne, Australia, CSIRO. pp 489-498.

Uotila P. 1990. *Chenopodium* L. En: Castroviejo, S. et al. (Eds.) *Flora Ibérica* Vol. II: 484-500. C.S.I.C., Madrid.

- Van Huis, H. Integrated pest management in the small farmer's maize crop in Nicaragua. Medelingen Landbouwhogeschool, Wageningen, Netherland, 221 pp., 1981.
- Volk, T. J. 2001. Fungi. pp. 141-163. In: S.A. Levin (Ed.), Encyclopedia of Biodiversity, vol. 3, Academic Press, San Diego.
- Walker, J. C. 1973 Patología vegetal. 2^a ed. Ediciones omega. Barcelona.
- Yoshimura, I. 1998. Lobaria in Latin America: taxonomic, geographic and evolutionary aspects. In Marcelli, M. P. & Seaward, M. R. D. (Eds.). Lichenology in Latin America: History, Current Knowledge and Applications: 129-134. CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental), São Paulo, Brazil.