

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
DIVISION DE AGRONOMIA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA



**IDENTIFICACION DE FITOPATOGENOS ASOCIADOS A MALEZA EN
MANZANO EN JAME, ARTEAGA, COAHUILA.**

Por:

MARIO AURELIO MORAS RAMIREZ

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para

Obtener el Título de:

INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Febrero 2007

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

DIVISION DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA

**IDENTIFICACION FITOPATOGENOS ASOCIADOS A MALEZA EN
MANZANO EN JAME, ARTEAGA, COAHUILA.**

Presentada por:

MARIO AURELIO MORAS RAMIREZ

TESIS

Que somete a consideración del H. Jurado Examinador

como requisito parcial para obtener el titulo de:

INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

Aprobada por:

**MC. Arturo Coronado Leza
Presidente del jurado**

**DR. Oswaldo García Martínez
Sinodal**

**MC. Faustino Lara Victoriano
sinodal**

COORDINADOR DE LA DIVISION DE AGRONOMIA

MC. Arnoldo Oyervides García

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Febrero 2007

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

Maria Ramírez Meza y Aurelio Moras Ramírez por darme la vida, cariño, comprensión y apoyarme en terminar mi carrera.

A MIS ABUELOS:

Adulfa Muñoz y Antonio Moras

Lidia Meza y Fernando Ramírez (+)

Por el cariño, comprensión y por el apoyo que me brindaron en los años buenos y malos.

A MIS HERMANOS

Albert

Fernando

A MIS TIAS

Rosalva, Socorro, Carmela, Indalecia, Yuri, Gloria, Antonia, Elizabeth, y sus familias.

A MIS TIOS

Roberto, José, Arquimides, Higinio, Celso, Vicente y sus familias.

A MIS COMPAÑEROS DE LA GENERACIÓN 102 DE INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO.

A MIS AMIGOS (a)

Iván Mendoza (+), Antonio Sánchez, José Luís Díaz, Jerónimo Panchito, Jorge Moyao, Ignacio Morales, Rubén Ríos, Néstor Cruz, Mario López, Marvin, Dagoberto, Rodrigo Pacheco, Rosario Andrade, Juan Carlos Raudales, Janet Leon, Alma Morales, Margarita solano, Bertha Ríos, Rosina, Luz Elena, Mariana, etc., de los equipos de Baloncesto Apocalipsis, Buitres de la UAAAN y de Fútbol Moscas negras.

AGREDECIMIENTOS

- A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN); por la oportunidad de realizar mis estudios universitarios y haberme formado profesionalmente en su seno.

- Al MC. Arturo Coronado Leza. Por su valiosa dirección y magnífica asesoría en la realización de la presente investigación, por el tiempo que dedico desinteresadamente, por su confianza y amistad.

- A los Ing. Esther García, Ing. Edith Ramírez Ramírez, Ing. Samela del CISEF. S.A. de C.V., de Saltillo, Coahuila. Por su colaboración en el presente trabajo de tesis; gracias a la ayuda que me brindaron.

- Al Dr. Oswaldo García Martínez. Por su participación en la presentación de este trabajo.

- Al MC. Faustino Lara Victoriano. Por su participación en la presentación de este trabajo.

INDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTOS	4
INDICE DE CONTENIDO	5
INDICE DE FIGURAS	6
INDICE DE CUADROS	7
INTRDUCCION	8
OBJETIVOS	10
Historia	11
Antecedentes	15
Importancia Económica	20
MATERIALES y METODOS	24
Área de muestreo.....	24
Identificación de fitopatógenos presentes en las malezas en Jame, Arteaga; Coahuila., 2006.	24
Muestreo en campo de las malezas	25
Aislamiento e Identificación	26
Diagnostico de fitoplasma con la técnica del PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)	27
Identificación de insectos (Aphidos sp.)	32
Identificación de virus con la prueba de ELISA	33
RESULTADOS Y DISCUSIONES ---	37
Descripción morfológica de las 6 malezas colectadas en jame, Arteaga; Coahuila.	37
Aislamiento e Identificación de hongos asociados a las malezas colectadas en Jame, Coahuila.	44
Descripción de los géneros de hongos encontrados en las malezas colectadas en Jame, Coahuila.	47
Resultados de la prueba de Biología Molecular para fitoplasmas en las malezas colectadas en Jame, Coahuila	51
Resultados de la identificación de insectos en las malezas colectadas en Jame, Coahuila.	53
Resultados de la identificación de virus de las malezas colectadas en Jame, Coahuila.	54
Cuadros de resultados concentrados de los diferentes organismos fitopatógenos encontrados en cada maleza.	57
CONCLUSIONES	63
LITERATURA CITADA	64
APENDICES	67

INDICE DE FIGURAS

Figura		Paginas
1	Correhuela <i>Ipomoea purpúrea</i> (L) Roth., colectada en Jame, Coahuila. -----	38
2	Avena silvestre <i>Avena fatua</i> L., colectada en Jame, Coahuila. -----	39
3	Polocotillo <i>Helianthus laciniatus</i> Gray., colectada en Jame, Coahuila. -----	40
4	Rosetilla <i>Bidens odorata</i> Cav., colectada en Jame, Coahuila. -----	41
5	Rosilla <i>Bidens bipinnata</i> L., colectada en Jame, Coahuila. -----	42
6	Lechuguilla <i>Sonchus oleraceus</i> L., colectada en Jame, Coahuila. ---	43
7	Colonia de los diferentes hongos encontrados en <i>I. purpurea</i> (L) Roth., en el medio de cultivo PDA. -----	44
8	Colonia de los diferentes hongos encontrados en <i>A. fatua</i> L., en el medio de cultivo PDA. -----	44
9	Colonia de los diferentes hongos encontrados en <i>H. laciniatus</i> Gray., en el medio de cultivo PDA. -----	45
10	Colonia de los diferentes hongos encontrados en <i>B. odorata</i> Cav., en el medio de cultivo PDA. -----	45
11	Colonia de los diferentes hongos encontrados en <i>B. bipinnata</i> L., en el medio de cultivo PDA. -----	46
12	Colonia de los diferentes hongos encontrados en <i>S. oleraceus</i> L., en el medio de cultivo en PDA. -----	46
13	Fialides cortas con microconidios de <i>F. oxysporum</i> encontrado en <i>I. purpurea</i> L., <i>A. fatua</i> L., y <i>H. laciniatus</i> Gray. -----	47
14	Fialides largas con microconidios de <i>F. solani</i> encontrado en varias malezas. -----	48
15	Conidioforos con conidios oscuros septados longitudinalmente y transversalmente en forma de cadena de <i>Alternaria</i> sp. encontrado en varias malezas -----	49
16	Conidioforos oscuros con conidios anchos en la parte terminal <i>Stemphylium</i> sp., encontrados en <i>B. bipinnata</i> L., y <i>S. oleraceus</i> L. -	50
17	Conidioforos con cabezuelas y fialides; característico del genero de <i>Aspergillus</i> sp. -----	51
17	Aphido <i>Macrisiphum euphorbiae</i> encontrado en <i>S. oleraceus</i> L. -----	53

INDICE DE CUADROS

1	Resultados de la Reacción PCR con primers universales -----	51
2	Resultados de la Reacción de PCR ANIDADO con primers diferentes -----	52
3	Placa de resultados de virus en la maleza <i>Ipomoea purpúrea</i> (L) Roth., colectada en Jame, Coahuila., la cual fue positiva al virus PLRV -----	54
4	Placa de resultados de virus en la maleza <i>Ipomoea purpurea</i> (L) Roth., colectada en Jame, Coahuila., la cual fue positiva al virus PVS. -----	56
5	Organismos fitopatógenos encontrados en <i>Ipomoea purpúrea</i> (L) Roth., colectada en Jame, Coahuila. -----	57
6	Organismos fitopatógenos encontrados en <i>Avena fatua</i> L., colectada en Jame, Coahuila. -----	58
7	Organismos fitopatógenos encontrados en <i>Helianthus laciniatus</i> Gray., colectada en Jame, Coahuila. -----	59
8	Organismos fitopatógenos encontrados en <i>Bidens odorata</i> Cav., colectada en Jame, Coahuila. -----	60
9	Organismos fitopatógenos encontrados en <i>Bidens bipinnata</i> L., colectada en jame, Coahuila. -----	61
10	Organismos fitopatógenos encontrados en <i>Sonchus oleraceus</i> L., colectada en Jame, Coahuila. -----	62

INTRODUCCION

Una mala hierba, (maleza) es una planta que se encuentra en un lugar inapropiado. Las malas hierbas pueden estar relacionadas o por sí mismas pueden ser, en otras situaciones, plantas valiosas. Este hecho, es una consideración de fundamental importancia en el control biológico.

Desde un principio de la agricultura, el hombre está empeñado en una batalla sin fin contra las malas hierbas. Aunque actualmente existen grandes áreas en las cuales las malas hierbas prosperan. A menudo, los productos químicos aplicados para controlarlas no tienen efectos sobre ellas o este método es impráctico. Con algunas de las malas hierbas más dañinas que se conocen, y donde otros métodos de control han fallado, el control biológico ha dado buenos resultados. De hecho, generalmente este método ha sido empleado solo después de que otros han probado ser inadecuados. Muchos entomólogos se sorprenden al saber que los agricultores algunas veces consideran a las malas hierbas como más destructoras para la agricultura que los insectos (Robbins, Crafts y Raynor 1942, (citado por DeBach, 1968). El objetivo del MIM no es la erradicación, sino la reducción de densidades a niveles no económicos. Esto puede lograrse ya sea mediante una acción directa o indirecta de los enemigos naturales que se van a usar.

Los métodos de control biológico de malas hierbas (CMB) no han sido muy aceptados por dos razones:

1.- La creencia de que los riesgos son demasiado grandes comparados con las oportunidades de éxito.

2.- El conflicto en aceptar que una planta es una mala hierba (maleza), junto con el hecho de que los agentes introducidos pueden moverse a otros lugares donde la planta puede ser de utilidad. (citado por DeBach, 1968).

La teoría de control biológico de malas hierbas (CBM) esta basada en una dependencia mutua en el estado de la mala hierba (maleza) y un insecto u otro agente capaz de controlarla. Generalmente ha sido aplicada contra malas hierbas (malezas) exóticas; y en verdad, la abundancia de tales plantas exóticas es a menudo debido a que han escapado de los enemigos naturales comunes ellas en sus tierras nativas.

OBJETIVOS:

- 1) Identificar géneros de patógenos presentes en 6 malezas.

- 2) Identificar los aphidos presentes en esa maleza.

- 3) Aplicar la Biología Molecular para determinar la presencia de fitopatógenos en esas especies.

- 4) Identificar que virus están presentes en las malezas por la prueba de ELISA.

REVISIÓN DE LITERATURA

Historia

Cualquier organismo que detenga el desarrollo o reproducción de una planta puede ser usado como un agente de control biológico. Por lo tanto, potencialmente puede incluirse animales superiores o inferiores a los insectos y también plantas superiores parásitas, hongos, bacterias y virus.

Tillyard (1929, 1930) y Sweetman (1936, 1958) se refieren al control biológico de las malas hierbas (CBM) como inverso al Control Biológico de los Insectos (CBI) (citado por DeBach, 1968).

En amplios términos, el control biológico puede definirse como el uso de organismos vivos para el control de plagas. Algunas estrategias diferentes para el uso de estos organismos vivos (enemigos naturales) pueden reconocerse, y en este sentido, el objeto de la discusión que a continuación se expone va dirigido al control biológico clásico, aumentativo y el natural, así como su aceptación para su uso en los sistemas agrícolas de bajos insumos.

Los enemigos naturales utilizados para el control biológico de malezas son aquellos que atacan las malezas, ya sea ingiriendo la masa vegetal por el animal

liberado (usualmente insectos, pero también puede incluir ácaros, nemátodos, etc.), o por enfermedades de las plantas, particularmente hongos (Evans, 1987a).

La mayor parte de las investigaciones en el pasado se ha dirigido a malezas dicotiledóneas (Julien, 1992), pero en años recientes la atención se ha dirigido a las especies monocotiledóneas, particularmente para la evaluación de los agentes fungosos de control potenciales (Evans 1991).

Control biológico clásico

Este método se basa en la introducción de enemigos exóticos naturales en áreas, donde anteriormente no estaban presentes, para el control de una maleza específica. Por lo general el método se aplica, pero no siempre es el caso, a malezas exóticas. Esto se debe a que una maleza exótica es normalmente introducida en una nueva área libre de sus enemigos naturales normales, lo que crea un desbalance ecológico que posibilita su reproducción y diseminación con mucho más éxito que en su región de origen, donde es atacada por un número de enemigos naturales que reducen su competencia.

Esta introducción de enemigos naturales, traídos del área de origen de la maleza a su nuevo hábitat exótico, es la que permite el control exitoso de la maleza y la restauración del balance natural. Se suelen introducir sólo aquellas que han pasado satisfactoriamente su evaluación en pruebas de especificidad al efecto. Este procedimiento, el cual se basa en pruebas de inanición y de selección utilizando un rango diverso de plantas cultivables similares a la maleza y de importancia

económica, aparece resumido en varias reseñas (Wapshere, 1974; 1989; Weidemann y Tebeest, 1990) y en una hoja informativa del IIBC (IIBC, 1986).

La introducción de un agente de control biológico no se aprueba para su ulterior liberación en nuevas áreas hasta que se haya demostrado, más allá de las dudas razonables, que no representa ningún riesgo al hombre, sus cultivos, animales o ambiente.

Control biológico aumentativo

El término es utilizado para abarcar el uso de los enemigos naturales de la maleza, los que han sido producidos previamente a nivel de laboratorio o en otras instalaciones apropiadas, para ser luego liberados sobre la maleza objeto de control.

Estos enemigos naturales son aquellos que ocurren naturalmente en el área de control, pero que por varias razones no han ejercido un control efectivo de la maleza. En general, los patógenos de las plantas son los que ofrecen las mejores opciones para el control biológico aumentativo de las malezas, ya que algunos patógenos pueden producirse masivamente a bajo costo por vía de fermentación a escala industrial y ser vendidos comercialmente como micoplaguicidas. Los insectos, por su parte, aunque ellos al ser liberados en gran número pueden efectivamente dañar o destruir las malezas, son más complicados y caros en su producción masiva.

Actualmente, los micoplaguicidas son producidos en los países desarrollados y vendidos de igual manera que un plaguicida químico para su uso en cultivos de alto valor, con altos insumos (Charudattan y DeLoach, 1988), o sea, ellos no son apropiados para la agricultura de bajos insumos. Si estos patógenos no son producidos a bajo costo en el país, sea centralmente o localmente, son pocas las posibilidades de que sean utilizados al nivel de la agricultura de bajos insumos. Hay un número de iniciativas para desarrollar nacionalmente capacidades de producción para patógenos de insectos en el mundo en desarrollo, pero ninguna existe todavía para patógenos de las plantas.

Control biológico natural

Esta estrategia, que puede ser igualmente descrita como la manipulación de los enemigos naturales, está basada en la conservación o aumento de los enemigos naturales existentes para incrementar su impacto sobre las malezas objeto de control. Este campo de manejo de estrategias potencialmente efectivas de control de malezas está muy poco desarrollado y no aparece en los libros de texto de malezología. Uno podría desarrollar la hipótesis de algunas estrategias que podrían funcionar, pero nadie aún ha hecho la necesaria investigación para establecer si tales manipulaciones podrían tener algún impacto.

Un mecanismo ya desarrollado para incrementar el impacto de los enemigos naturales es ayudar a éstos a sobrevivir las condiciones adversas, tales como las que predominan en períodos invernales o de sequía. En los EE.UU., el coquito

amarillo *Cyperus esculentus* L., ha sido controlado de esta manera al usar el hongo nativo causante de roya, *Puccinia canaliculata* (Schweinitz) Lagerh. La investigación ha mostrado que al mantener plantas en potes infectadas con el hongo durante el período invernal en casas de cristal y luego ubicando los potes con las plantas en el campo durante el inicio del verano, epidemias tempranas del hongo se pueden inducir, por lo que se reduce la habilidad competitiva de la maleza (Phatak *et al.*, 1983). El ejemplo indicado no es realmente aplicable en la agricultura de bajos insumos. No obstante, tal enfoque es posible adaptarlo y lograr una tecnología apropiada de bajo costo.

Antecedentes

El primer reporte publicado sobre el uso deliberado de insectos para el control de especies de plantas indeseables, o el uso de insectos en el control biológico de malas hierbas; fue realizado por Perkins y Swezey (1924). Este reporte se refirió al trabajo realizado en 1902 en Hawai, donde *Lantana camara* L., una planta ornamental introducida, había infestado gran cantidad de tierras de pastoreo y estaba causando grandes problemas. (citado por DeLoach *et al.*, 1989).

Probablemente uno de los ejemplos más notables del control biológico de malas hierbas principió en 1920 con la iniciación de la búsqueda de insectos destructores de *Opuntia sp.*

En 1927, Nueva Zelandia se interesó en estos medios de control de malas hierbas, y poco tiempo después se comenzó a trabajar en Fiji.

En 1922 el profesor Harry S. Smith, que estaba a cargo del Departamento de Control Biológico de la Universidad de California y era uno de los líderes en este método de combate en los Estados Unidos de Norteamérica, se interesó en las posibilidades del control biológico de la mala hierba Klamath, *Hypericum perforatum* L. Sin embargo, no fue aceptada la idea de que deliberadamente se introdujera un insecto fitófago. No fue sino hasta 1944 cuando se obtuvo el permiso para introducir insectos para el control de esta mala hierba, y este proyecto fue el primero que se realizó en la parte continental de los Estados Unidos.

Lantana - *Lantana camara* L.

Después del reporte publicado por Perkins y Swezey (1924). Se cree que los mejores resultados de los trabajos para controlar *Lantana camara* L., han sido obtenidos debido a la actividad de estos insectos que reducen la producción de semilla viable ya sea previniendo la floración o destruyendo la semilla ya formada. Los insectos introducidos reducen considerablemente la diseminación de esta planta (Citado por DeBach, 1968).

La Búsqueda realizada por Albert Koebele en México y Centroamérica para insectos destructores de *Lantana camara* L en 1902 dio como resultado el establecimiento en Hawái de una mosca de las semillas *Ophiomyia lantanae*; una chinche de encaje *Teleonemia scrupulosa* Stal; una palomilla plumosa *Platyptilia pusillodactyla* Wlkr; una mosca formadora de agallas *Eutreta xanthochaeta* Ald; y dos mariposas *Techla echion* L. y *T. bazochii* Godart. Se cree que los mejores resultados de los trabajos para controlar *L. camara* L. han sido obtenidos debido a

la actividad de estos insectos que reducen la producción de semilla viable ya sea previniendo la floración o destruyendo la semilla ya formada. Koebele encontró otros insectos que atacaban a *Lantana camara* L., pero durante aquella época la transportación de México a Hawai tomaba varias semanas y algunas de las especies no sobrevivieron al viaje, mientras que otras llegaron vivas, pero en pequeñas cantidades y malas condiciones. Con el inicio de la transportación aérea se considero que algunas de esas especies que no habían llegado vivas podrían transportarse fácilmente a Hawai, y también, de acuerdo con el mismo razonamiento, que se podrían realizar exploraciones aun en países más lejanos. Este esfuerzo renovado dio por resultado la importación y liberación de los siguientes insectos: Una chinche de encaje, *teleonemia vanduzeei* Drake de Cuba y Florida (Krauss 1953); un cerambycido, *Aerenicopsis championi* Bates; los nóctuidos, *Catabena esula* Druce, *Diastema tigris* Genee e *Hypena jussalis* Genee (Davis 1958; Dodd 1957); piráustidos, *Syngamia haemorrhoidalis* Genee y *Blepharomastix acutangulalis* Snell, *Hypena jussalis* esta realizo un trabajo excelente defoliando completamente plantas de todos los tamaños. Puede volverse un factor importante. (Citado por DeBach, 1968).

Templeton (1982) resumió los trabajos de los primeros 10 años de investigación sobre la aplicación de los fitopatógenos en el Control Biológico de Malezas (CBM) brindando la siguiente información. Se llevaron a cabo proyectos en 13 países y en 18 estados de EE. UU., abarcando climas templados a tropicales y malezas acuáticas y terrestres, anuales y perennes, herbáceas y leñosas, plantas tóxicas y parásitas. Fueron estudiados aproximadamente 83 fitopatógenos para el

control de 54 especies de malezas, los cuales incluye hongos, bacterias, nematodos y virus (citado por DeLoach et al., 1989).

Existen dos tácticas de aplicación

1.- La aplicación clásica o tradicional que consiste en la importación de patógenos desde el lugar de origen de la maleza y su liberación en el sitio del problema, es más apropiada para las malezas introducidas en pastizales naturales y cursos de agua donde otros métodos de control no son eficientes. Pueden citarse varios ejemplos exitosos:

- El control de *Chondrilla juncea* L. en Australia con la roya *Puccinia chondrillina* Dubak et Sydenham, importada del área del Mediterráneo.
- El control de *Ageratina Eupatorium riparium* Regel; en Hawai con el hongo *Cercospora ageratinae* (n.n.), importado del Caribe (King et Robins).
- El control de *Rubus constrictus* Lef. et M. en Chile con la roya *Phragmidium violaceum* (Schultz) Wint. importada del Oeste de Europa.

2.- La táctica del bioherbicida consiste en esencia, en el incremento de fitopatógenos locales a partir de su detección, cultivo en gran escala, formulación y aplicación a la manera de un herbicida. Es más apropiada para el control de malezas nativas o introducidas, anuales o perennes en cultivos de alto valor. Entre los ejemplos más importantes se mencionan:

- El control de *Morrenia odorata* (Hook et Arn.) Lindley, maleza exótica en cultivos cítricos de Florida, EE. UU., con el hongo *phythophtora palmivora* (Butler) Butler que se comercializa con el hongo de DEVINE.

- El control de *Aeschynomene virginica* (L.) B.S.P., maleza nativa de los EE. UU. y perjudicial en arrozales y cultivos de soja en Arkansas, con el hongo *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. Et Sacc. f. sp. aeschynomene, comercializado como COLEGO.

- El control de las leñosas *Diospyros virginiana* L. *Cassia surattensis* Lam., *Quercus* sp. En los EE. UU.; *Hakea serica* Shrader en Sudáfrica y *Prunas serotina* Ehrh. En Holanda con diferentes hongos que se aplican a través de heridas.

El CBM mediante el uso de fitopatogenos ha sido extensivamente tratado por Wilson (1969), Charudattan (1978), Charudattan et al. (1976, 1978a,.. 1980), Templeton et al. (1979), Emge & Templeton (1981) y Charudattan & Walter (1982). (citado por De Loach, C. 1989).

Importancia económica de las malezas

Biología y ecología de las malezas.

Se estima que de las 250,000 especies vegetales existentes en el mundo, aproximadamente 250 se consideran como las principales malas hierbas en la agricultura y de éstas, 76 se han clasificado como las “peores malas hierbas del mundo” (Holm et al., 1977). Es importante señalar que el 70% de las principales malas hierbas están comprendidas en sólo 12 familias botánicas, entre las que destacan las gramíneas (Poaceae) y las compuestas (Asteraceae).

El manejo de maleza debe considerar la biología y la ecología de las plantas, ya que la maleza y los cultivos interactúan en los agroecosistemas (Bridges, 1995). Desde un punto de vista ecológico, las malas hierbas son plantas que están adaptadas al disturbio causado en la producción de cultivos y en muchos casos su supervivencia y diseminación dependen del hombre. Adicionalmente, las malas hierbas presentan características que le permiten reprimir o desplazar a los cultivos. Entre las características de la mala hierba “ideal” se pueden mencionar (Baker, 1974):

- * Germinación de semillas en diversos ambientes.
- * Semillas con latencia y gran longevidad.
- * Rápido crecimiento entre la fase vegetativa y reproductiva.
- * Producción continua de semilla mientras las condiciones de crecimiento

lo permitan.

- * Auto compatibilidad, sin ser completamente autógena o apomítica.
- * Si es de polinización cruzada, requiere sólo de viento o agentes no especializados.
- * Alta producción de semilla en ambientes favorables.
- * Producción de semilla en una amplia gama de condiciones ambientales.
- * Dispersión de semillas tanto en corta como en larga distancia.
- * Si es perenne, con tasa de reproducción vegetativa alta a través de rizomas, estolones y otros órganos.
- * Habilidad para competir con otras especies vegetales.
- * Alelopatía, es decir producción y liberación al medio ambiente de inhibidores de otras plantas.

(citado por Rosales, R. E., et al., 2002)

Se considera que la alta capacidad reproductiva, la longevidad y latencia de semillas en el suelo y la reproducción vegetativa, son las características más comunes de las principales malas hierbas. Es importante considerar que el control de maleza en cultivos agrícolas debe entenderse como un sistema de manejo de las poblaciones actuales y futuras de estas especies. Se ha determinado que solamente de 2 a 10 % de la población total de semillas en el suelo germina y emerge en un año y el resto del banco de semillas permanece en latencia (Zimdahl, 1993). Al respecto, se estima que en suelos agrícolas el banco de semillas en la capa arable del suelo varía de 200 a 137,000 semillas por metro cuadrado (Forcella *et al.*, 1993). Por lo tanto, cualquier medida de control ejercida sobre la maleza,

emergida o por emerger, afectará solamente a esta pequeña proporción de la población potencial y el resto se establecerá en el futuro.

Algunos ejemplos de malas hierbas con una alta producción de semillas son el zacate Johnson *Sorghum halepense* (L.) Pers y el quelite *Amaranthus* spp., los cuales pueden producir hasta 80,000 y 100,000 semillas por planta respectivamente, en un período de desarrollo. En cuanto a la longevidad de semillas de maleza, se ha determinado que algunas especies como la correhuela perenne *Convolvulus arvensis* L. puede sobrevivir por más de 50 años en el suelo, el polocote o girasol silvestre *Helianthus annuus* L. ocho años, la lengua de vaca *Rumex crispus* L. 39 años y el quelite *Amaranthus* sp. 10 años.

Debido a lo anterior, el conocimiento de la ecología de la maleza es indispensable en la planeación de sistemas de manejo de maleza en cualquier cultivo y sistema de labranza (Anderson, 1996). (citado por Rosales, R. E., et al., 2002).

Daños directos

Son los daños que afectan a la economía del productor. Los daños directos incluyen tanto las pérdidas de rendimiento como el costo de la cosecha y la calidad del producto cosechado (Radosevich *et al.*, 1997). Las pérdidas de rendimiento son ocasionadas principalmente por la competencia entre maleza y

cultivo por luz, agua y nutrimentos, factores básicos para el desarrollo de las plantas (citado por Rosales, R. E., et al., 2002).

Daños indirectos

Son los daños causados por la presencia de maleza que no afectan económicamente al productor en forma directa o a corto plazo. Sin embargo, constituyen un serio problema a largo plazo. (Aldrich and Kremer, 1997).

Uno de los principales daños indirectos de la maleza es la mayor incidencia de insectos y patógenos que las utilizan como hospederas alternantes. Además, en es tipo de daños se pueden considerar la interferencia de maleza en lotes de producción de semilla de plantas cultivadas, la dificultad en el manejo y distribución del agua de riego y la depreciación de los lotes agrícolas infestados con maleza (citado por Rosales R. E., et al., 2002).

MATERIALES Y METODOS

Área de muestreo.

La presente investigación se inicio en el periodo de Agosto a Noviembre del 2006. La recolección de los materiales que utilizaron para las muestras se obtuvieron en la zona manzanera de Jame, Arteaga; Coahuila. Que se localiza en la parte del sureste del estado de Coahuila, el cual se encuentra enclavado en la zona montañosa que forma parte de la Sierra Madre Oriental, que se le denomina comúnmente como la Sierra de Arteaga. Colinda al norte con el municipio de Ramos Arizpe y el estado de Nuevo León; y al sur con el municipio de Saltillo, con una extensión territorial de 1486 km.

Identificación de fitopatógenos presentes en la maleza.

En este estudio se utilizaron 6 malezas que presentaban síntomas de estar atacadas por géneros de hongos que se pudieron observar a simple vista, como son manchas foliares en las hojas, tallo y secadera en la parte foliar, lo cual se verifico por medio de la siembra de tejidos de la maleza en PDA.

Se observaron daños a simple vista de posibles enfermedades causadas por virus como es amarillamiento de las hojas, achaparramiento, enchinamiento de las hojas, lo cual se verifico por medio de la prueba de ELISA.

Así mismo, se observaron aphidos que se encontraban en las malezas y se identificaron por medio de claves taxonómicas.

Muestreo en campo de las malezas:

Se hicieron muestreos en las huertas de manzanas en Arteaga, Coahuila., para observar síntomas a simple vista de hongos, fitoplasma, virus; y además observar aphidos presentes en alguna de las 6 malezas diferentes. Las malezas se extrajeron completamente (raíz, tallo y hojas) con una pala, se pusieron en bolsas de plástico y se guardaron en un refrigerador en un laboratorio; hasta hacer el aislamiento de los patógenos, la prueba de ELISA, las pruebas de PCR.

Los aphidos encontrados en algunas malezas se colocaron en tubos de ensaye los cuales contenían alcohol al 70 % para posteriormente someterse a identificación en el laboratorio.

Cada maleza se ponía en una bolsa de plástico y con etiquetas con un número consecutivo, además de su procedencia para su identificación en el laboratorio; los aphidos encontrados en alguna maleza se identificaban con el número de la maleza en el tubo de ensaye para saber en que maleza estuvieron presentes. Así mismo con la ayuda de una cámara digital se tomaron fotos a las 6 malezas.

Aislamiento e identificación:

Siempre que se desee aislar un patógeno de los tejidos de una planta enferma (en este caso la planta enferma es una maleza), deben llevarse a cabo el siguiente procedimiento:

Se esteriliza el material de cristalería (cajas petri, matraces, etc.), todo material que se trate químicamente debe enjuagarse 3 veces con agua estéril mediante ebullición; se preparo la solución de Hipoclorito 1.8 % (apéndice A1) con el fin de reducir contaminantes de superficie que pudieran interferir con el aislamiento. En matraces de 1000 ml se preparo el PDA (Apéndice A2) se vació en cajas petri de plástico, se dejo a la temperatura del laboratorio hasta que quedara como una gelatina y se obtuvo el medio de cultivo.

Se hicieron cortes pequeños de los tallos, hojas y raíz con un bisturí o tijeras del borde de la lesión infectada con el fin de obtener tejidos enfermos y tejidos al parecer sanos, estos cortes se pusieron en papel secante al cual se le puso la clave para identificar de que maleza se trataba, los cortes se vaciaron en un matraz de 250 ml se le agrego hipoclorito 1.8% los cortes se dejaron ahí por 1 minuto, se tiro el hipoclorito y al matraz se le agrego agua destilada para lavar de los cortes de la maleza esto repitió 3 o 4 veces, los cortes se pusieron a secar en papel filtro estéril para eliminar el exceso de cloro por 4 o 5 horas, posteriormente fueron llevados en el papel filtro a la cámara de transferencia previamente desinfectada con alcohol 70% y encendida 15 minutos antes, se colocaron 3 mecheros encendidos cerca las

cajas petri y el papel filtro con los cortes para que el medio de cultivo no se contamine al momento de la siembra de los cortes de la maleza, en un vaso de precipitado se pone alcohol para esterilizar las pinzas que se utilizaron para trasladar los cortes de la maleza del papel filtro a las cajas petri con PDA, se pusieron 5 o 6 cortes bien dispersados en cada caja petri, por maleza se pusieron 6 cajas petri; las cajas petri se taparon con yurex y se pusieron en una incubadora a una temperatura constante de 28 °C, se dejaron 2 semanas para el desarrollo de los géneros de hongos que se encontraban en cada maleza, para posteriormente identificar de que géneros de hongos se encontraban afectando a esas malezas.

Diagnostico de fitoplasmas con la técnica del PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa).

Extracción del ADN de las 6 malezas:

Esta prueba del PCR se llevo acabo en el Laboratorio de Biología Molecular del CISEF. Se lavaron las 6 malezas con agua de la llave para quitar toda la tierra de las raíces, hojas y tallos, se dejaron secar al interfiere en papel secante, con un bisturí se hacen pequeños cortes de hojas, tallo y raíz de cada maleza y se ponen en una placa de papel aluminio con el numero designado para cada maleza se marcaron por los 2 lados, las placas de aluminio se guardan en un congelador a una temperatura de -17 a 3 °C., para conservarlas en buen estado, las placas de aluminio se sacan del congelador y se ponen en un termo de Nitrógeno liquido a -70 °C por 15 minutos para congelar las muestras, en esos 15 minutos se

etiquetaron o marcaron 14 microtubos de 1500 microlitros (μl) con el numero que se le dio a cada maleza, a demás otros 2 microtubos con muestras positivas de fitoplasma (Papa + y coco +) por hilera, se marcaron 4 hileras con diferente color empezando con la primera de color azul, la segunda de color rojo, la tercera de color negro y la cuarta de color azul; en los 14 microtubos de la primera hilera se le agregaron con una micropipeta 1000 μl de Buffer de extracción CTAB y se pusieron en un gradilla.

Las placas de papel de aluminio se sacan del termo de nitrógeno liquido, se maceran lo mas rápido posible en un mortero estéril hasta dejar la muestra echa polvo y se pone en los microtubos que contienen los 1000 μl de CTAB, cada muestra se agito en el vortex, los 14 microtubos se la agregan 30 μl de Albúmina Serica Bovina ASB (su función es degradar las proteínas) en el caso de las malezas, a los cultivo se recomienda 20 μl ASB se le dio un paso de vortex para homogenizar la ASB con la muestra de la malezas; se coloca en baño maría por 30 minutos a 55 °C, para agilizar la desnaturalización de las proteínas, se sedimenta el sólido. Posteriormente los microtubos se pusieron en la centrifugadora por 5 minutos a 1200 r.p.m, después de la centrifugación se formaron 2 capas en los microtubos la primera el sobrenadante con una micropipeta se extrajeron 700 μl de cada microtubo sin obtener nada de la segunda lo precipitado; los 700 μl obtenidos se pusieron en la segunda hilera de microtubos de color rojo, se mezclo con 750 μl de cloroformo y alcohol isoamilico (24:1) con los dedos la mano al cada microtubo se le hicieron inversiones suaves para homogenizar la muestra y lavar el ADN, los microtubos se ponen a centrifugación por 10 minutos a 1200 r.p.m., después se forman 3 capas en los microtubos la capa de arriba es el ADN puro, la de en medio

son los restos vegetales y la de abajo es el cloroformo y alcohol isoamilico; con la micropipeta se extrae todo el ADN puro de cada microtubo y se coloca en la tercera hilera de color negro, en los microtubos se repiten los mismo pasos que para la segunda hilera; hasta volver a formar las 3 capas en los microtubos después de la centrifugación de la tercera hilera se extrae de los microtubos el ADN puro con una micropipeta y se ponen en los microtubos de la 4 hilera de color azul, se agregan 50 µl a cada microtubo de Acetato de Amonio 7.5 M para precipitar el ADN puro + 800 µl por microtubo de Etanol Absoluto, se mezclan con inversiones suaves, se guardan los en el congelador para formar la pastilla de 1 a 2 horas a -20°C., se sacaron los microtubos del congelador se ponen en centrifugación por 5 minutos a 1200 r.p.m., para precipitar el ADN y se forme la pastilla, se tira el sobrenadante por que el ADN quedo precipitado formándose la pastilla; cada microtubo se lavo con alcohol 70% agregándole 1ml, se le dan inversiones suaves, se puso en centrifugación por 5 minutos a 7000 r.p.m., se elimino el sobrenadante evitando tirar la pastilla y se dejo evaporar en su totalidad el alcohol 70%; se le agregan a cada microtubo 200 µl de agua desionizada destilada estéril con para suspender la pastilla de ADN, con pequeños golpes con el dedo el ADN se impregna en la pared del microtubo; el ADN obtenido se conservo en refrigeración a 4 °C hasta el momento de ser usado.

Determinación de la calidad del ADN

Con el fin de verificar si el ADN extraído de las 6 malezas eran positivos a fitoplasmas, se realizo un electroforesis en gel de agarosa al 1 % la cual se preparo

de la siguiente manera; en un matraz heyemert de 125 ml esterilizado se colocaron 45 ml de TBE 0.5 al 1 % y en un papel de aluminio estéril se pesaron .45 g de agarosa se deposito en el matraz y se coloco sobre un placa termoagitadora a una temperatura de 200 °C hasta que la agarosa se disolviera. Una vez disuelta la agarosa se retiro el matraz de la placa dejándose enfriar esto es hasta que soportara el matraz en la palma de la mano por 10 segundos, al tiempo que se enfriaba la agarosa liquida, se preparo el portageles, este se tapo en los extremos con cinta adhesiva y se coloco un peine de 20 dientes para formar los pozos para las muestras, cuando la agarosa se enfrió se agrego con una micropipeta y una puntilla de 10 µl estéril 6 µl de Bromuro de Etidio el cual se diluyo con agitación suave del matraz para no generar burbujas y se vertió en el portageles y se dejo en el refrigerador para solidificar el gel; se prepararon dos geles de agarosa para correr dos tipos de muestras.

Reacción del PCR con primers universales:

En un microtubo de 1500 µl se mezclaron los reactivos necesarios (cóctel) para la reacción en el orden y cantidades necesarias para 16 muestras (40 µl de Buffex 10x; 16 µl Mg Cl₂ (50mM); 8 DNTPs 10 mM; 32 µl de cada primer derecho e izquierdo; 8 µl de la enzima Taq-polimera; 232 µl de agua DDE). (apéndice B1).

Una vez que estuvo el cóctel se colocaron 23 µl del cóctel y 2 µl del ADN extraído a 16 microtubos se mezclaron suavemente con pequeños golpes con el dedo para homogenizar la muestra, posteriormente se le agrego una gota de aceite mineral estéril a los 16 microtubos, se ponen a centrifugación y después se colocan en el

termociclador y se busco el programa de punta morada; la muestras se conservan a 4 °C.

Visualización de los productos amplificados del PCR con primers universales:

Una vez listo el gel de agarosa se quito el peine que se colocó como base, se colocaron en un papel parafilm con una micropipeta y una puntilla 10 µl se colocaron 16 gotas con 5 µl de azul de bromofenol para cada muestra y contra puntilla de 20 µl se tomaron 10 µl de la Reacción del PCR se mezclaron, con la mismo puntilla subiendo y bajando con la micropipeta, ya mezclado se colocó en el primer pozo de la gel. Utilizando una nueva puntilla de 20 µl se tomaron 10 µl de la reacción del PCR de la siguiente muestra y se mezclaron con los 5 µl de azul de bromofenol, ya mezclado se colocó en el segundo pozo de la gel; con nuevas puntillas se proceso de la misma manera para las 14 muestras siguientes.

Una vez colocado el gel con las muestras dentro de la cámara de electroforesis es llenada con buffer TE o TBE cuidando que el buffer no arrastrara la muestra y la sacara de los pozos. Se cerro la cámara conecto a una intensidad de 50 volts por un periodo de 15 minutos pasado ese tiempo se subió la corriente hasta 100 volts y permaneció así por hasta que la muestra recorrió tres cuartas partes de la longitud del gel, luego se apago y el gel es colocado en una cámara de rayos ultravioletas y se hace una comparación con las 15 muestras con la Muestra Molecular para observar si son positivas a fitoplasmas con praimers universales y se toma una fotografía para comparar que salieron negativas o positivas esas muestras. Lo que sobra del ADN

extraído de las muestras se conservan en congelación para posteriormente ocuparlas en otra prueba PCR Anidado.

Reacción de PCR Anidado (apéndice B2)

Es el mismo procedimiento que la Reacción de PCR con primers universales, la diferencia es que los primers universales son cambiados por otros dos diferentes, también cambia el programa en el termociclador con el que se va a trabajar en este caso es el programa NESTED.

Identificación de insectos (*Aphidos* sp.)

Los tubos de ensaye con los pulgones que se colectaron de la maleza se vacían en una cápsula de porcelana, con el Estereoscopio se seleccionaron pulgones adultos de preferencia alados, se le hicieron una inserción en el abdomen con la una aguja de deserción y se colocaron en un tubo de ensaye que contenía 3 ml de agua destilada + 1 ml de KOH 40%. El KOH 40% sirve para remover el contenido graso del abdomen del pulgón; el tubo de ensaye se puso en baño maría evitando que hierva el contenido del tubo agitándolo a cada rato durante 10 a 15 minutos hasta que los pulgones se aclaren, una vez aclarados los pulgones se lavan 1 o 2 veces con agua destilada para evitar que lleven residuos grasos en el cuerpo, se pusieron en una cápsula de porcelana 1 o 2 días en Clorofenol para que se aclararan un poco mas, se hicieron los montajes de los pulgones en liquido de Hoyer en portaobjetos en forma dorsal

acomodando las antenas, patas, sinfunculos y la cuada; posteriormente se le puso un cubreobjetos evitando mover el espécimen.

Se observo en el microscopio compuesto y empezamos a correr las claves para su identificación.

Identificación de virus con la prueba de ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

El procedimiento de la técnica de ELISA se divide en una serie de etapas, la primera es la sensibilización de 13 placas de microtitulación, en la cual se usaron 13 anticuerpos diferentes, a cada placa se sensibilizo 32 pozos (12 pozos para la muestra de la maleza + 2 controles positivos y 2 negativos + una repetición por placa); para eso se agregaron con ayuda de una micropipeta y puntillas 3.2 ml de buffer de cobertura (apéndice C1) + 13 μ l del anticuerpo (Virus A de la Papa (PVA), Virus X de la Papa (PVX), Virus S de la Papa (PVS), Virus del Enrollado de la Papa (PLRV), Virus Y de la Papa (PVY), Virus del Mosaico de la Alfalfa (AMV), Virus del Mosaico del Tomate (ToMV), Virus Grabado del Tabaco (TEV), Virus de las Manchas Anilladas del Tomate (ToRSV), Virus de las Manchas Anulares del Tabaco (TRSV), Virus del Mosaico del Pepino (CMV), Virus del Bronceado del Tomate (TSWV) y Virus del moteado suave del pimiento (PMMoV). La dilución se realizo en cajas petri de vidrio, con la micropipeta y puntillas se pusieron 100 μ l a cada pozo de la placa (32 pozos).

Posteriormente se incubaron las placas en una cámara humedad por 24 horas a 4 °C en el refrigerador. Transcurrido el tiempo de incubación se vació la placa y se lavo con ayuda de un pizeta de 8 canales que contenía Buffer de lavado o PBS-Tween (apéndice C2), llenando los pozos de la placa y vaciándolos de inmediato para retirar el exceso de anticuerpos, el lavado se repitió 3 o 4 veces. Finalmente se llevo acabo el secado de la placa golpeando con firmeza la placa de microtitulacion sobre papel secante para eliminar por completo el Buffer de lavado.

Una vez fijado el anticuerpo en las placas, el segundo paso fue la colocación de las 12 muestras de malezas, para lo cual, se pesaron en una balanza analítica las hojas mas tiernas que tenia la parte foliar de las malezas el peso puede variar de .700 a .800 g /muestra; las muestras pesadas se pusieron en bolsas de maceración y se marcaron con una clave o numero (UA7.....UA12); para cada gramo de tejido vegetal se le agrega 1ml de Buffer de Extracción (apéndice C3); en la bolsa de maceración. Posteriormente las muestras se maceraron las muestras con un macerador eléctrico, una vez que se mecero la muestra se le agregaron 6 ml de buffer de extracción para que pudiéramos poner 100 µl pozo (para 32 pozos por placa) de la siguiente manera; la columnas 1, los pozos de las letras A y B de la placa no se usan por que están cercanos a los bordes de la placa; los pozos de las letras C y D se la agrega Buffer de extracción como pruebas negativas; el de la letra E se le agrega el anticuerpo al 100 %, el de la letra F se pone el 50 % buffer de extracción + 50% del anticuerpo como muestras positivas, en las letras F, G y de la columna 2 letras A, B, C, D, E, F, G, H; columna 3 letras A, B se colocaron 100 µl de solución obtenida de la maceración de las muestras con su respectiva repetición; este paso se hizo para las otras 12 placas,

además para cada muestra se cambiaron las puntillas. Las placas se pusieron en cámara humedad y se guardaron en refrigeración a 4 °C por 24 horas. Seguido de esto se eliminó el contenido de la placa y se lavó con PBS-Tween llenando los pozos de la placa y vaciándolos de inmediato, el lavado se repitió 3 o 4 veces. Finalmente se llevó a cabo el secado de la placa golpeando con firmeza la placa de microtitulación sobre papel secante para eliminar por completo el Buffer de lavado.

Seguido de ese paso se volvieron a sensibilizar las 13 placas con ayuda de 3.4 ml de Buffer ECI (apéndice C4) + 13 µl de la enzima específica para los siguientes anticuerpos (PVA, PVX, PVS, PIRV, PVY, AMV, ToMV, TEV, ToRSV, TRSV, CMV, TSWV y PMMoV); la dilución se llevó a cabo en cajas petri de vidrio y se agregaron con una micropipeta y puntillas 100 µl a cada pozo de la placa y se dejaron en incubación en una cámara humedad a temperatura ambiente por 2 horas. Transcurrido el tiempo de incubación se eliminó el conjugado enzimático de la placa y se lavó de acuerdo al procedimiento anterior.

En vaso de precipitado cubierto de aluminio se le agregó 20 ml de Buffer de PNP (apéndice C5) + una pastilla de PNP; para cada pastilla se agrega para 10 ml de Buffer PNP; el vaso de precipitado se agita hasta que se disuelva la pastilla, ya disuelta el líquido se pone en una caja petri y con ayuda de la micropipeta y puntillas se pusieron 100 µl por pozo en los 32 pozos por placa utilizados en los pasos anteriores en las 13 placas. Posteriormente las placas se incubaron a temperatura ambiente y en oscuridad por espacio de 20 a 30 minutos.

El último paso es la medición de la reacción. Este se realiza con la ayuda de un lector de placas ELISA. Cada placa se pone en el lector el virus y se busca el programa en el lector para ese virus y con la impresora integrada al lector se saca una lectura de las placas para comprobar si son positivas o negativas las muestras a esos virus; si la muestra es positiva se hace otra nueva lectura a los 30 o 40 minutos para comprobar que la muestra es positiva a ese virus.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Se recolectaron malezas que tenían síntomas de enfermedades causadas por hongos, virus y fitoplasmas, estas presentaban manchas foliares, marchitamiento del área foliar y amarillamiento en las hojas; se determinó el agente causal de estos síntomas en el laboratorio sembrándolos en medio de cultivo para determinar los géneros de hongos se encontraban asociados a las malezas, también se hizo el análisis molecular empleando la prueba de PCR para conocer si eran positivas a fitoplasmas; y se empleó la técnica de ELISA para detectar la presencia de los virus de las 6 malezas; así también se identificaron insectos presentes en las malezas en este caso fueron aphidos, los cuales podrían ser vectores de diferentes virus. Las malezas fueron recolectadas en el ejido de Jame, Arteaga; Coahuila., en el 2006 en una región manzanera siendo las siguientes malezas:

Descripción morfológica de las 6 malezas colectadas en Jame, Coahuila., 2006.

Ubicación taxonómica:

Familia: CONVULVULÁCEAE

Genero: *Ipomoea*

Especie: *I. purpurea* (L) Roth.

La Correhuela (*Ipomoea purpurea* L. Roth) fue recolectada en el 2006 en Jame, Arteaga; Coahuila. (Figura 1) es una hierba anual, con floración durante los

meses de julio a noviembre; se reproduce, básicamente, por semilla. Especie nativa del trópico americano, con amplia distribución como maleza ruderal; cubre comúnmente, cercas o vallas de caminos. Es una plaga en campos de cultivo y jardines, donde se enreda con las plantas cultivadas; compite el espacio disponible, por la luz solar y entorpece el crecimiento de la planta que le sirve de soporte.

Características distintivas: Planta con tallos volubles, hojas acorazonadas, flores en forma de campana de color purpúrea.



Figura 1. Se observan en las hojas de correhuela *Ipomoea purpurea* (L) Roth., manchas circulares de color café, donde destacan anillos concéntricos de color mas oscuro; encontrada en Jame, Coahuila.

Ubicación taxonómica:

Familia: POACEAE (GRAMINAE)

Genero: *Avena*

Especie: *A. fatua* L.

La Avena silvestre (*Avena fatua* L.) fue recolectada en el 2006 en Jame, Arteaga; Coahuila. (Figura 2) es una planta anual, originaria de Europa, actualmente presenta amplia distribución mundial, florece durante primavera y verano, en los meses de abril a octubre; se reproduce solamente por semilla. Es una maleza común en cultivos, sobre todo de cereales de invierno; sus semillas se mezclan con las de a cosecha, contaminando incluso la avena cultivada, de la cual es difícil de diferenciar; esta ultima presenta aristas mas cortas o ausentes y florecillas que carecen, por lo general, de pelos cafés en su base; también es común en lugares con disturbios, terrenos baldíos y jardines. La especie se usa comúnmente, como forraje y como materia prima para la obtención de harina de grano.

Características distintivas: Gramínea anual con panículas terminales abiertas; espiguillas sobre pedicelos delgados y colgantes, formadas por 2 glumas muy agrandadas; florecillas de pelos toscos y arista dorsal.



Figura 2. Se observan en las hojas de Avena silvestre *Avena fatua* L. que el color verde del follaje cambia a color amarillo paja, un marchitamiento del área foliar; encontrada en Jame, Coahuila.

Ubicación taxonómica:

Familia: ASTERACEAE (COMPOSITAE)

Genero: *Helianthus*

Especie: *H. laciniatus* Gray.

El Polocotillo (*Helianthus laciniatus* Gray.) fue recolectado en el 2006 en Jame, Arteaga; Coahuila., (Figura 3) es una hierba perenne con floración en primavera y verano, de mayo a septiembre, reproducción por semilla y tallos subterráneos que producen nuevos brotes cada año. Originaria del norte de México, se distribuye desde el sur de Estados Unidos hasta algunas regiones del centro de México, tanto en suelos secos como en áreas húmedas y con problemas de sales. Es muy frecuente en cultivos de terrenos abandonados, orilla de camino; es una plaga de difícil control por sus tallos subterráneos persistentes, los cuales al ser fragmentados y esparcidos por el arado, propician su propagación, formando de este modo nuevas colonias.

Características distintivas: Hierba perenne de flores en cabezuelas, con ligulas amarillas y parte central hemisférica.



Figura 3. Se observan en el polocotillo *Helianthus laciniatus* Gray., en el área foliar marchitez de las cabezuelas; encontrada en Jame, Coahuila.

Ubicación taxonómica:

Familia: ASTERACEAE (COMPOSITAE)

Genero: *Bidens*

Especie: *B. odorata* Cav.

La Rosetilla (*Bidens odorata* Cav.) fue colectada en el 2006 en Jame, Arteaga; Coahuila., (Figura 4) es una hierba anual de verano y otoño, con floración desde junio hasta noviembre y reproducción solo por semilla. La rosetilla es una maleza nativa de la parte cálido – húmeda del continente, con distribución actual en todas las regiones tropicales y subtropicales del mundo donde ha sido introducida. Crece como maleza en cultivos, a orillas de caminos, patios caseros etc., por lo general en casi todos los lugares con disturbio y humedad.

Características distintivas: Hierba con hojas compuestas por 3 a 5 hojuelas: cabezuelas con 5 flores liguladas blancas; frutos alargados, con 2 aristas terminales y barbillas dirigidas hacia abajo.

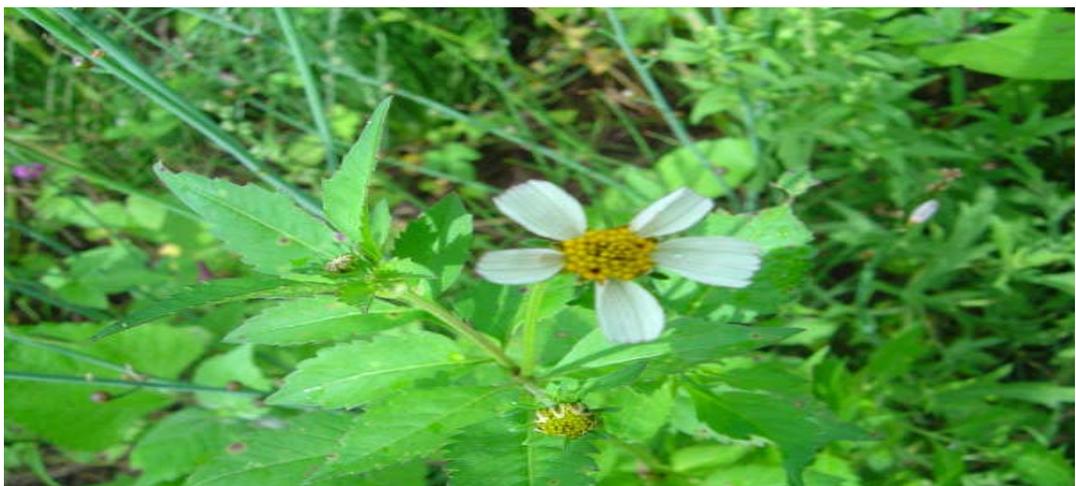


Figura 4. Se observan en las hojas de la Rosetilla *Bidens odorata* Cav., manchas circulares de color café, donde destacan anillos concéntricos de color mas oscuro, encontrada en Jame, Coahuila.

Ubicación taxonómica:

Familia: ASTERACEAE (COMPOSITAE)

Genero: *Bidens*

Especie: *B. bipinnata* L.

La Rosilla (*Bidens bipinnata* L.) fue colectada en el 2006 en Jame, Arteaga; Coahuila., (Figura 5) es una planta anual con floración durante el verano y el otoño, durante los meses de mayo a septiembre, y con reproducción solo por semilla. Es una especie nativa con distribución similar a la *Bidens odorata* en las regiones cálido – humadas del mundo, con la cual comúnmente se le encuentra asociada, formando ambas especies una plaga persistente en los cultivos, a orilla de caminos y en jardines.

Características distintivas: Hierba de hojas dos o tres veces compuestas; flores en cabezuelas con lígulas blancas; fruto con aristas terminales, estas con pelos ganchudos.



Figura 5. Se observan en las hojas de Rosilla *Bidens bipinnata* L. manchas circulares de color café, encontrada en Jame, Coahuila.

Ubicación taxonómica:

Familia: *ASTERACEAE (COMPOSITAE)*

Genero: *Sonchus*

Especie: *S. oleraceus* L.

Lechuguilla o falso diente de leon (*Sonchus oleraceus* L.) fue colectada en el 2006 en Jame, Arteaga; Coahuila. (Figura 6) es Planta anual, con crecimiento y floración durante todo el año, pero más constante en primavera y verano; se reproduce únicamente por semilla. Es originaria de Europa con amplia distribución en la actualidad; es una maleza común en tierras cultivadas, jardines y áreas con disturbio. El follaje tierno de la planta se usa en ensaladas y es muy apetecido por el ganado, y sus semillas consumidas por las aves.

Características distintivas: Hierba anual con tallos huecos, carnosos y con jugo lechoso, cabezuelas amarillas, frutos con mechón de pelos finos y apicales, fácilmente caedizos.



Figura 6. Tolerante aparentemente no se observaron síntomas de hongos en la Lechuguilla *Sonchus oleraceus* L., pero se observaron aphidos presentes.

Aislamiento e identificación de hongos asociados a las malezas colectadas en Jame, Coahuila.

En *Ipomoea purpurea* L. Roth se pudo observar diferentes crecimientos de hongos en color, forma (Figura 7) en el medio de cultivo PDA, así también se detecto un alto nivel de estos patógenos en esta maleza analizada.

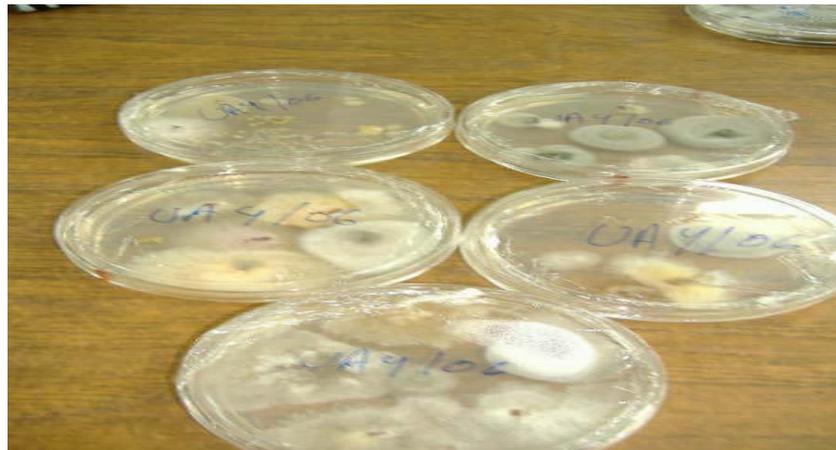


Figura 7. Colonias de los diferentes hongos encontrados en *Ipomoea purpurea* (L) Roth., después de 10 días de haber hecho la siembra en PDA, colectada en Jame, Coahuila.

En *Avena fatua* L. se pudo observar diferentes crecimientos de hongos en forma, color (Figura 8) en los medios de cultivo PDA.



Figura 8. Colonias de los diferentes hongos encontrados en *Avena fatua* L., a los 10 días de haber hecho la siembra en PDA, colectada en Jame, Coahuila.

En *Helianthus laciniatus* Gray., se pudo observar diferentes crecimientos de hongos en forma, color (Figura 9) en los medios de cultivo PDA.

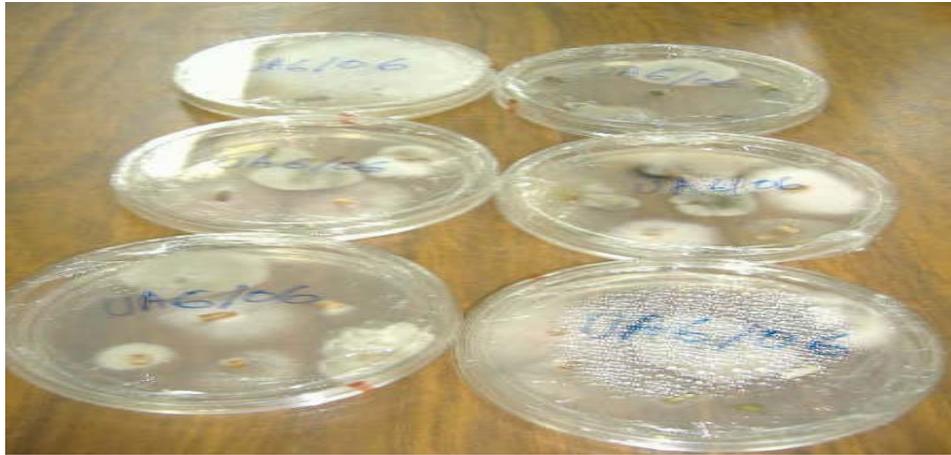


Figura 9. Colonias de los diferentes hongos encontrados en *Helianthus laciniatus* Gray., a los 10 días de haber hecho la siembra en PDA, colectada en Jame, Coahuila.

En *Bidens odorata* Cav., se pudo observar diferentes crecimientos de hongos en forma, color (Figura 10) en los medios de cultivo PDA.



Figura 10. Colonias de los diferentes hongos encontrados en *Bidens odorata* Cav., a los 10 días de haber hecho la siembra en PDA, colectada en Jame, Coahuila.

En *Bidens bipinnata* L., se pudo observar diferentes crecimientos de hongos en forma, color (Figura 11) en los medios de cultivo PDA.

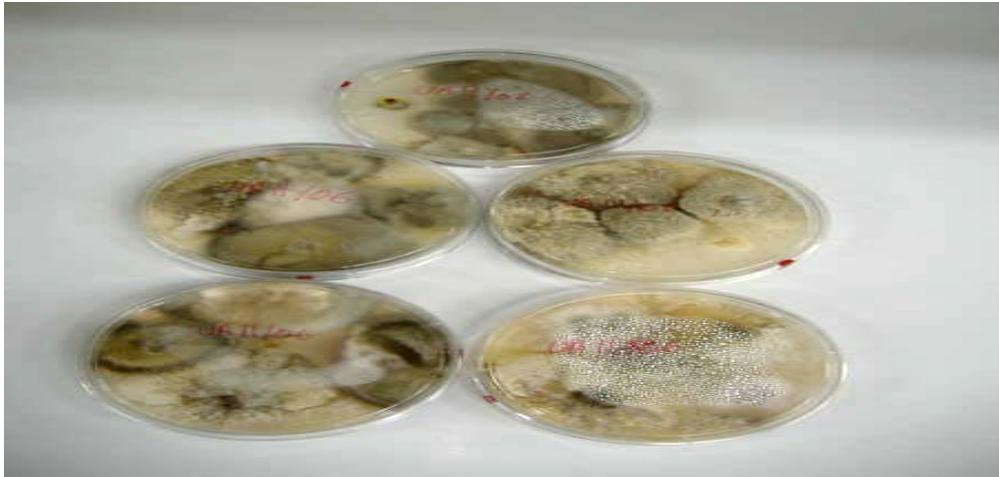


Figura 11. Colonias de los diferentes hongos encontrados en *Bidens bipinnata* L., a los 10 días de haber hecho la siembra en PDA, colectada en Jame, Coahuila.

En *Sonchus oleraceus* L., se pudo observar diferentes crecimientos de hongos en forma, color (Figura 12) en los medios de cultivo PDA.



Figura 12. Colonias de los diferentes hongos encontrados en *Sonchus oleraceus* L., a los 10 días de haber hecho la siembra en PDA, colectad en Jame, Coahuila.

Descripción de los géneros de hongos encontrados en las malezas colectadas en Jame, Coahuila en el 2006.

Fusarium oxysporum Schlechtend

Uno de los primeros síntomas es el marchitamiento de los brotes más jóvenes y es común observar como se distorsiona el tallo o se encorva hacia el lado afectado. El color verde del follaje cambia a amarillo paja, indicio de su muerte. El hongo también daña y bloquea los haces vasculares de la raíz, por lo que las plantas se marchitan y luego mueren. Las colonias de *F. oxysporum*, en medios de cultivo PDA, presentaron al principio una coloración blanca con sectores violeta; posteriormente, predominó el violeta con pequeños puntos blanquecinos. El crecimiento del micelio fue lento (cada semana). Al microscopio óptico se observaron macroconidios delgados, de diferente tamaño, generalmente 3 o 4 septos y en forma de media luna; microconidios unicelulares más o menos elípticos y clamidosporas globosas intercalares. Los conidióforos de esta especie tienen filídes, cortas no ramificadas.

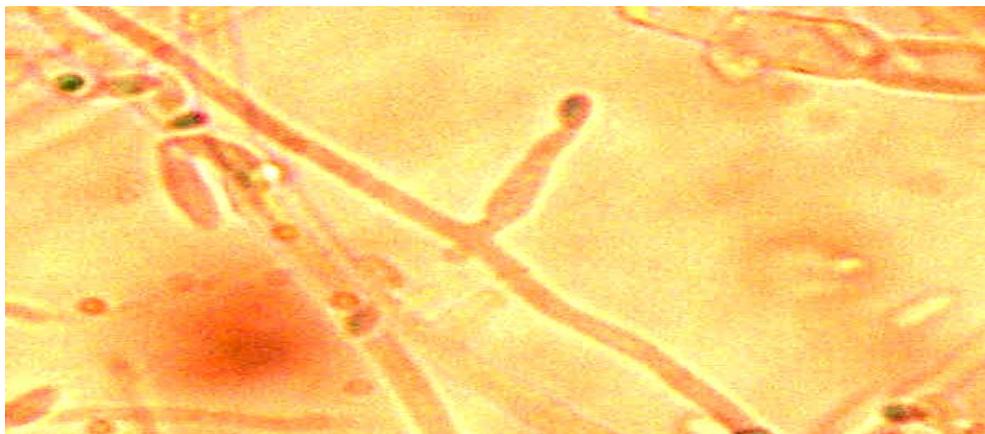


Figura 13. Filídes cortas con microconidios de *F. oxysporum* en *I. purpurea* L., *A. fatua* L. y *H. laciniatus* Gray., colectadas en Jame, Coahuila. Imagen a 40x.

Fusarium solani

Sobre PDA formó rápidamente colonias micelio extensivo y algodonoso de color crema con presencia de esporodoquios. Sus principales características distintivas de *F. oxysporum* fueron: microconidias más largas, de pared más gruesa y producidos en menor cantidad. Sus macroconidias fueron más gruesas y de forma cilíndrica. Sus fialides fueron ramificadas o simples, mucho más largas y elongadas que las de *F. oxysporum*.



Figura 14. Fialides largas con microconidios de *Fusarium solani* en varias malezas colectadas en Jame, Coahuila. Imagen a 40x

Alternaria sp.

Este hongo causa manchas foliares en las hojas, son pequeñas y de color púrpura al principio, crecen rápidamente de forma circular. Es frecuente observar grandes áreas necróticas en las hojas debido a la unión de varias manchas. En los tallos las lesiones son superficiales al principio, pero después penetran en lo

profundo, con lo que causan una especie de ahorcamiento y, por consiguiente, deshidratan los tejidos infectados, lo que provoca la muerte.

Las colonias de *Alternaria sp.* En el medio de cultivo PDA el hongo formo un micelio blanquecino de aspecto algodonoso y de crecimiento profuso. Al décimo día, el hongo empezó a formar esclerocios de forma irregular y de color pardo oscuro. Al microscopio óptico se observaron conidioforos oscuros largos y delgados en ramas; fialides donde nacían la cadena de conidios moriformes, generalmente simples, cortos o alongados, típicamente con septos longitudinales o transversales; de forma variada, clava o raqueta, frecuentemente formados acropetalmente en cadenas largas; en algunas instancias formados individualmente y presentando un apéndice apical simple o ramificado.



Figura 15. Conidioforos oscuros, con conidios (poroesporas) oscuras, típicamente con septos longitudinales o transversales, formados en cadenas encontrados en varias malezas recolectadas en Jame, Coahuila. Imagen a 10X.

Stemphylium sp

Para el caso se *Stemphylium sp.*, las colonias en PDA formaron un micelio de color pardo claro, con un crecimiento profuso, muy similar al presentado por *Alternaria sp.* Al microscopio óptico se observaron conidioforos oscuros con conidios anchos en la parte terminal de forma variable, los cuales presentan septos tanto transversales como longitudinales y “ verrugas “ en sus paredes.



Figura 16. Conidioforos oscuros con conidios anchos en la parte terminal, con septos transversales y longitudinales, encontrados en las malezas *B. bipinnata L.* y *S. oleraceus L.* colectadas en Jame, Coahuila. Imagen a 40x.

Aspergillus sp.

En el medio de cultivo PDA este hongo presento un crecimiento rastrero de aspecto polvinoso. En las preparaciones microscópicas se observo conidioforos erectos, simples, terminando en un ensanchamiento, globoso o clavado, presentando fialides en el ápice o en toda la superficie; conidios (fialoesporas) unicelulares, globosa de color amarillo, en cadenas secas basipetalas.

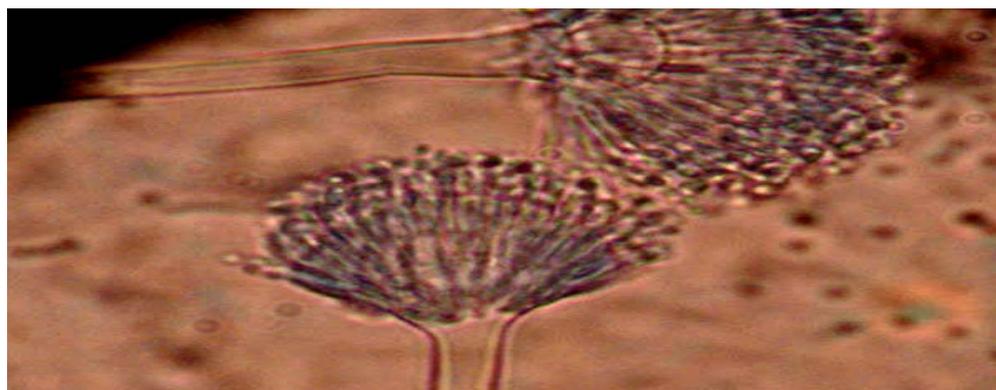


Figura 17. conidioforo con cabezuelas y fialides característico del genero de *Aspergillus sp.*, en la maleza *S. oleraceus L.*, Imagen a 40x.

Resultados de las pruebas de Biología Molecular para fitoplasmas en las melazas colectadas en Jame, Arteaga, Coahuila.

Por lo que respecta a la prueba del PCR para la detención de fitoplasmas a las 6 malezas colectadas en Jame, Arteaga; Coahuila., en el 2006 los resultados fueron los siguientes:

Cuadro 1. Resultados de la Reacción PCR con primers universales (apéndice B1)

Registro	Producto maleza	Muestras	Resultados
UA 4	<i>Ipomoea purpurea</i>	1	Negativo
UA 5	<i>Avena fatua</i>	1	Negativo
UA 6	<i>Helianthus laciniatus</i>	1	Negativo
UA 10	<i>Bidens odorata</i>	1	Negativo
UA 11	<i>Bidens bipinnata</i>	1	Negativo
UA 12	<i>Sonchus oleraceus</i>	1	Negativo
Coco (+)	Control positivo	1	Positivo
Papa (-)	Control negativo	1	Negativo

Cuadro 2. Resultados de la Reacción de PCR ANIDADO (apéndice B2). Con primers diferentes.

Registro	Producto maleza	Muestras	Resultados
UA 4	<i>Ipomoea purpurea</i>	1	Negativo
UA 5	<i>Avena fatua</i>	1	Negativo
UA 6	<i>Helianthus laciniatus</i>	1	Negativo
UA 10	<i>Bidens odorata</i>	1	Negativo
UA 11	<i>Bidens bipinnata</i>	1	Negativo
UA 12	<i>Sonchus oleraceus</i>	1	Negativo
Coco (+)	Control positivo	1	Positivo
Papa (-)	Control negativo	1	Negativo

En los **cuadros 1 y 2**; muestran los mismos resultados los cuales salieron negativos, en PCR con primers universales y PCR ANIDADO con primers diferentes; para las 6 malezas colectadas en Jame, Coahuila., a las cuales se le realizo la prueba para la detección de fitoplasmas; ya que simplemente se amplificó la muestra de coco (+) a fitoplasmas en el gel de agarosa en las 2 pruebas de PCR.

Resultados de la identificación de insectos en las malezas colectadas en Jame, Arteaga, Coahuila.

Por lo que respecta a la presencia de insectos se encontraron algunos aphidos en la maleza *S. oleraceus* L., los que se muestran a continuación:



Figura 18. Aphido *Macrosiphum euphorbiae* encontrado en *Sonchus oleraceus* L., en Jame, Coahuila., en el 2006.

También se identifico el aphido *Macrosiphum euphorbiae*, en la maleza de *S. oleraceus* el cual se observo que se alimentaba de la savia de la planta que succionaba de las partes mas tiernas de la planta.

El pulgón verde del tomate *Macrosiphum euphorbiae* es un pulgón alargado, de 2-4 mm, con patas bastante largas y ojos rojos. Las antenas son más largas que el cuerpo. La cauda es bastante larga. Los largos sifones tienen el extremo oscuro. El color es generalmente verde, pero a veces amarillento o rosado. Las larvas tienen una línea longitudinal en la espalda. Es notable que el pulgón verde del tomate es muy móvil. También se deja caer fácilmente. Aunque en América del Norte este aphido inverna generalmente en rosa, aquí pasa el invierno a menudo en el invernadero. El pulgón verde del tomate tiene más de 200 plantas huésped tales

come tomate, berenjena, rosa, crisantemo, pelargonio, tabaco o patata. Se encuentra mucho en las partes jóvenes de la planta, lo que produce hojas deformadas (rizadas o abollonadas) que imitan a una infestación de virus.

Resultados de la identificación de virus en las malezas colectadas en Jame, Arteaga, Coahuila.

Cuadro 3. Placas de resultados de virus en la maleza *Ipomoea purpurea* (L) Roth., colectada en Jame, Coahuila la cual fue positiva al Virus PLRV.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BLANK	.009	.004	-0	-0	-0	BLANK	.003	.005	-00	-0	-0
B	BLANK	.004	.005	-0	-0	-0	BLANK	.005	.003	-00	-0	-0
C	.002	.010	.003	-0	-0	-0	-.002	.016	.000	-00	-0	-0
D	.003	.007	-.01	-0	-0	-0	.000	.008	-.01	-00	-0	-0
E	.264	.164	-.01	-0	-0	-0	.293	.190	-00	-00	-0	-0
F	.429	.006	-.01	-0	-0	-0	.460	.000	-00	-00	-0	-0
G	.008	-.003	-.01	-0	-0	-0	.005	-.002	-.01	-00	-0	-0
H	.000	-.002	-.01	-0	-0	-0	.000	-.005	-.01	-00	-0	-0

En el **cuadro 3**; se muestran los resultados positivos o encontrados en la prueba de ELISA realizada a la maleza *Ipomoea purpurea* (L) con el Virus del Enrollado de la Papa (PLRV); la columna 1 las hileras A, B es Blanco con sustrato-sin anticuerpo ni conjugado enzimático; la columna 1 hileras C,D son Testigos Negativos-Buffer de extracción; la columna 1 hilera E es Testigo Positivo Diluido; la columna 1 hilera F

es Testigo Positivo Concentrado; columna 1 hilera G,H., columna 2 hileras A,B,C,D,E,F,G,H y la columna 3 hilera A,B son las muestras de las malezas que se sometieron la prueba de ELISA y en la Columna 7 de la placa de ELISA se hace una repetición.

En la columna 2 hilera E muestra el resultado positivo al virus PLRV **.164** y la repetición muestra **.190** esta lectura se dio a los 20 minutos, se volvió a tomar otra lectura a los 30 minutos dio como resultado en la columna 2 hilera E **.206** y la repetición muestra **.236** para confirmar que la muestra de la maleza era positiva a este virus PLRV; para que una muestra sea positiva tiene ser mayor a **.100**

Cuadro 4. Placa de resultados de virus en la maleza *I. purpurea* (L) Roth., colectada en Jame, Coahuila., la cual fue positiva al virus PVS

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	BLANK	.009	.008	-0	-0	-0	BLANK	.009	.007	-00	-0	-0
B	BLANK	.018	.010	-0	-0	-0	BLANK	.018	.008	-00	-0	-0
C	.005	.042	.003	-0	-0	-0	.008	.044	.000	-00	-0	-0
D	.005	.015	-.01	-0	-0	-0	.000	.014	-.01	-00	-0	-0
E	.689	.093	-.01	-0	-0	-0	.610	.097	-00	-00	-0	-0
F	.999	.013	-.01	-0	-0	-0	1.051	.014	-00	-00	-0	-0
G	.008	.005	-.01	-0	-0	-0	.009	.008	-.01	-00	-0	-0
H	.006	.004	-.01	-0	-0	-0	.007	.002	-.01	-00	-0	-0

En el **cuadro 4**; se muestran los resultados positivos o encontrados en la prueba de ELISA realizada a la maleza *Ipomoea purpurea* (L) con el Virus S de la Papa (PVS); la columna 1 las hileras A, B es Blanco con sustrato-sin anticuerpo ni conjugado enzimático; la columna 1 hileras C,D son Testigos Negativos-Buffer de extracción; la columna 1 hilera E es Testigo Positivo Diluido; la columna 1 hilera F es Testigo Positivo Concentrado; columna 1 hilera G,H., columna 2 hileras A,B,C,D,E,F,G,H y la columna 3 hilera A,B son las muestras de las malezas que se sometieron la prueba de ELISA y en la Columna 7 de la placa de ELISA se hace una repetición.

En la columna 2 hilera E muestra el resultado positivo al virus PVS **.093** y la repetición muestra **.097** esta lectura se dio a los 20 minutos, se volvió a tomar otra

lectura a los 30 minutos columna 2 hilera E .126 y la repetición muestra .145 para confirmar que la muestra de la maleza era positiva a este virus PVS.

A continuación se muestran los resultados concentrados de los diferentes organismos fitopatógenos estudiados en el presente trabajo encontrados en cada maleza:

Cuadro 5. Organismos fitopatógenos encontrados en *Ipomoea purpurea* (L) Roth., colectada en Jame, Arteaga; Coahuila., en el 2006.

Maleza	Géneros de hongos	Fitoplasmas	Aphidos	Virus
<i>I. purpúrea</i> (L) Roth	<i>Fusarium solani</i>	Negativa	Negativa	PLRV
	<i>F. oxysporum</i>	-	-	PVS
	<i>Alternaria sp.</i>	-	-	-
	<i>Cephalosporium sp.</i>	-	-	-

En *Ipomoea purpurea* (L) Roth., en campo se observaron manchas foliares de color café en hojas, clorosis y marchitez, son los mismos síntomas que describe (Romero 1993) los géneros de *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.* y síntomas causados por virus como achaparramiento, bordes amarillos de las hojas y enrollamiento. Los géneros de hongos y virus encontrados en *I. purpurea* (L) Roth., se muestran en el **cuadro 5**; en cuanto fitoplasmas y aphidos no se encontraron presentes en esta maleza.

Cuadro 6. Organismos fitopatógenos encontrados en *Avena fatua* L. colectada en Jame, Arteaga; Coahuila., en el 2006.

Maleza	Géneros de hongos	Fitoplasmas	Aphidos	Virus
<i>Avena. fatua</i> L.	<i>Fusarium solani</i>	-	-	-
	<i>F. oxysporum</i>	-	-	-
	<i>F. sambucina</i>	-	-	-
	<i>Alternaria sp..</i>	-	-	-

En *Avena fatua* L. en campo se observo que en las hojas el color verde del follaje cambia a color amarillo paja, un marchitamiento del área foliar; síntomas que describe (Romero, 1993) para *Fusarium sp.*

Los géneros de hongos encontrados en *A. fatua* L. se muestran en el **cuadro 6**; en cuanto a fitoplasmas y aphidos no se encontraron presentes en esta maleza; por lo que respecta a virus se observaron síntomas como clorosis en las nervaduras de hojas, tallos pero el la prueba de ELISA no se pudo identificar ha este virus. Ya que solo se probaron 13 anticuerpos que afectan principalmente a solanáceas lo cual pudo ser un factor para su detección.

Cuadro 7. Organismos fitopatógenos encontrados en *Helianthus laciniatus* Gray., colectada en Jame, Arteaga; Coahuila., en el 2006.

Maleza	Géneros de hongos	Fitoplasmas	Aphidos	Virus
<i>H. laciniatus</i> Gray.	<i>Fusarium solani</i>	-	-	-
	<i>F. oxysporum</i>	-	-	-
	<i>Alternaria sp.</i>	-	-	-
	<i>Verticillium albo-atrum</i>	-	-	-

En *Helianthus laciniatus* Gray., se observo manchas foliares de color café en las hojas, clorosis y marchitez son los mismos síntomas que describe (Romero, 1993) para *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.*; *verticillium sp.*

Los géneros de hongos encontrados en *H. laciniatus* Gray., se muestran en el **cuadro 7**; en cuanto fitoplasmas y aphidos no se encontraron presentes en esta maleza; por lo que respecta a virus se encontraron síntomas pero el la prueba de ELISA no se pudo identificar ha este virus. Ya que solo se probaron 13 anticuerpos que afectan principalmente a solanáceas lo cual pudo ser un factor para su detección.

Cuadro 8. Organismos fitopatógenos encontrados en *Bidens odorata* Cav. colectada en Jame, Arteaga; Coahuila., en el 2006.

Maleza	Géneros de hongos	Fitoplasmas	Aphidos	Virus
<i>B. odorata</i> Cav.	<i>Fusarium culmorum</i>	-	-	-
	<i>Alternaria sp.</i>	-	-	-
	<i>Fosiccocum sp.</i>	-	-	-

En *Bidens odorata* Cav. En campo se observo manchas foliares de color café en las hojas, clorosis y marchitez son los mismos síntomas que describe (Romero, 1993) para *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.*

Los géneros de hongos encontrados en *B. odorata* Cav., se muestran en el **cuadro 8**; en cuanto a fitoplasmas y aphidos no se encontraron presentes en esta maleza; por lo que respecta a virus se observaron síntomas pero el la prueba de ELISA no se pudo identificar ha este virus. Ya que solo se probaron 13 anticuerpos que afectan principalmente a solanáceas lo cual pudo ser un factor para su detección.

Cuadro 9. Organismos fitopatógenos encontrados en *Bidens bipinnata* L. colectada en Jame, Arteaga; Coahuila., en el 2006.

Maleza	Géneros de hongos	Fitoplasmas	Aphidos	Virus
<i>B. bipinnata</i> L.	<i>Fusarium solani</i>	-	-	-
	<i>Alternaria sp.</i>	-	-	-
	<i>Stemphylium sp</i>	-	-	-

En *Bidens bipinnata* L., se observo en campo manchas foliares de color café en las hojas, clorosis y marchitez son los mismos síntomas que describe (Romero, 1993) para *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.*

Los géneros de hongos encontrados en *B. bipinnata* L., se muestran en el **cuadro 9**; en cuanto a fitoplasmas y aphidos no se encontraron presentes en esta maleza; por lo que respecta a virus se observaron síntomas pero el la prueba de ELISA no se pudo identificar ha este virus. Ya que solo se probaron 13 anticuerpos que afectan principalmente a solanáceas lo cual pudo ser un factor para su detección.

Cuadro 10. Organismos fitopatógenos encontrados en *Sonchus oleraceus* L. colectada en Jame, Arteaga; Coahuila., en el 2006.

Maleza	Géneros de hongos	Fitoplasmas	Aphidos	Virus
<i>S. oleraceus</i> L.	<i>Fusarium solani</i>	-	<i>Macrosiphum euphorbiae</i>	-
	<i>F. culmorum</i>	-		-
	<i>Alternaria sp.</i>	-		-
	<i>Stemphylium sp.</i>	-		-
	<i>Aspergillus sp.</i>	-		-
	<i>Ulocladium sp.</i>	-		-
	<i>Verticillium sp.</i>	-		-

En *Sonchus oleraceus* L., se observaron aphidos presentes en esta maleza, pero no se observaron síntomas a simple vista de generos de hongos presentes; no se observaron síntomas de virus en esta maleza.

Los géneros de hongos encontrados en *S. oleraceus* L., y los aphidos presentes se muestran en el cuadro 10; en cuanto a fitoplasmas no se encontraron presentes; por lo que respecta a virus no presentaron síntomas.

CONCLUSIONES:

- Los géneros de hongos que se encontraron en las malezas afectan a la mayoría de los cultivos agrícolas, y limitan su utilización como agentes de control biológico de malezas.
- Las pruebas del PCR para fitoplasmas aplicadas a las 6 malezas salieron negativas lo mas recomendable es hacer la prueba a malezas que se encuentran en el cultivo de Papa o Tomate para ver cuales malezas son hospedaras de fitoplasma que causan la punta morada.
- La maleza *S. oleraceus* L. es hospedera alternante del Aphido *M. Euphorbiae* que puede transmitir el VYP en el cultivo de Papa.
- La maleza *I. purpúrea* (L) Roth., colectada en Jame, Arteaga, Coahuila., resulto positiva a los virus PLRV y PVS los cuales afectan a las solanaceas.

LITERATURA CITADA

- Aldrich, R. J. and R. J. Kremer. 1997. Principles in Weed Management. Iowa State Univ. Press. Ames, Iowa.
- Anderson, W. P. 1996. Weed Science: Principles Practices. 3rd. Ed. West Publishing Company. Minneapolis, MN.
- Baker, H. G. 1974. The evolution of weed. Annual Rev. Ecol. Syst. Pp 1-24
- Barnett, H. L. y B. B. Hunter. 1972. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Third Edition. Editorial Burgess Publishing. Compani. Minneapolis, USA. 241 p.
- Bridges, D. C. 1995. Weed interferente and weed ecology. In: Herbicide Action Cuorse. Purdue University. West Lafayette, Indiana. pp: 417-422
- Castro, M. E. 1985. Combate de Maleza de Hoja Ancha que dificulta la cosecha de Maíz y Sorgo. Folleto para Productores Num. 2. Campo Experimental Río Bravo, INIFAP.
- Cruz, F. M. y Frías, T. G. A. 1997. "Guía Ilustrada de la Prueba de Inmunoadsorcion con enzimas ligadas para la detección de fitopatogenos ELISA SAGAR. México D.F. p 23.
- Charudattan, R. 1978. Biological Control Projects in Plant Pathology, a Directory. IFAS, Univ. of Florida, Gainesville, Fla., Dep. of Plant Pathology, 76 p.
- Charudattan, R. 1982. Regulation of Microbial Weed Control Agents. Cap. 11, Pp. 175 – 188. In: R, Charudattan & H. L. Walker (Eds.).
- Charudattan, R. y Walker (eds.). 1982. Biological Control of Weeds with Plant Patogens. John Wiley and Sons, New York, 293 p.
- DeBach, P. 1964. Biological control of insect pests and weeds. Reinhold, N.Y. 844 p.
- DeBach, P. 1968 en español. Control Biológico de las Plagas de Insectos y Malas hierbas. 949 p.

- De Loach, C., Cordo, A. H. ; Cruzel I. S. 1989. Control Biológico de Malezas. Editorial: El Ateneo. 266 p.
- Emge, R.G., y G. E. Templeton. 1981. Biological control of weeds with plant pathogens. Pp 219-226.
- Evans, H. C. 1987a. Fungal Pathogens of some Subtropical and Tropical Weeds and the Possibilities for Biological Control. *Biocontrol News and Information* Pp 8: 7-30. Editorial: Continental, S. A.
- Evans, H.C. 1991. Biological control of tropical grassy weeds. In: F.W. Baker and P.J. Terry (Eds.) *Tropical Grassy Weeds*. Wallingford, UK, CAB Internacional. Pp 52-72.
- Forcella, F., K. Eradat-Oskoui, and S. W. Wagner. 1993. Application of weed seedbank ecology to low-input crop management. *Ecol. Appl.* Pp 3:74-83.
- Guell, F. Malas hierbas diccionario clasificatorio ilustrado, Barcelona: OIKOS – TAU,.. IL. (Tratados de especialización agrícola OIKOS – TAU) 217 p.
- Holm, L. G., D. L. Plunknet, J. V. Pancho, and J. P. Herberger. 1997. *The World's Worst Weeds: Distribution and Biology*. University Press of Hawaii, Honolulu.
- IIBC (International Institute of Biological Control) 1986. *Screening Organisms for Biological Control of Weeds*. Second Edition. Farnham Royal, U.K., CAB International Institute of Biological Control. 6 p.
- Julien, M.H. 1992. *Biological Control of Weeds. A World catalogue of Agents and their Target Weeds*. Third Edition. Wallingford, R.U., International Institute of Biological Control. 186 p.
- Phatak S.C., D.R. Sumner, H.D. Wells, D.K. Bell y N.C. Glaze 1983. Biological control of yellow nutsedge with the indigenous rust fungus *Puccinia canaliculata*. *Science* **219**: 1446-1447.
- Radosevich, S., J. Holt, and C. Ghera. 1997. *Weed Ecology: Implications and Management*. Second Ed. John Wiley and Sons. New Cork.

- Robbins, W. W., A. S. Crafts, and R. N. Raynor. 1942. *Weed Control*. McGraw-Hill Book Co. New York and London. 543 p.
- Romero, C. S. 1993. *Hongos fitopatógenos* ED. Luciano Tres V. México: UACH, 34 / 22 CM. IL. . 347 p.
- Rosales, R. E., T. M. Cazares, E. C. de la Cruz, L. M. T. Esquer y V. E. Esquivel. 2002. Manejo de maleza en maíz, sorgo y trigo bajo labranza de conservación. INIFAP-CIRNE. Campo Experimental Río Bravo. Folleto Técnico Núm. 24 Tamaulipas, México. 81p.
- Templeton, G. E. 1982. Status of Control with Plant Pathogens. Cap. 3. Pp 29 - 44 In: R. Charudattan & H. L. Walter (Eds.).
- Templeton, G. E., D. O. TeBeest y R. J. Smith, Jr. 1979. Biological weed control with mycoherbicides. *Annu. Rev. Phytopatol.* Pp 17: 301-310.
- Urias, C., Rodríguez R., Alejandro T. 1992. Identificación de Aphidos de Importancia Agrícola.
- Villarreal, Q. J. A. Malezas de Buenavista, Coahuila, Buenavista, Saltillo, Coahuila; UAAAN, p. 271. CM. IL
- Weidemann G.J. y D.O. Tebeest 1990. Biology of host range testing for biocontrol of weeds. *Weed Technology.* Pp 4: 465-470.
- Wilson, C. L. 1969. Use of Plant Pathogens in Weed Control. *Ann. Rev. Phytopathology.* Pp 7: 411- 434.
- Zimdahl R. L. 1993. Weed biology: reproduction and dispersal. Pp 59-89. In: R. L. Zimdahl, *Fundamentals of Weed Science*. Academic Press, N. Y.

APENDICES

A. Medios y reactivos usados para el aislamiento de los géneros de hongos:

1.- Hipocloritos de sodio

Cloro al 1.8% 300 ml

Agua destilada 700 ml

2.- Preparación de PDA para 1 litro

Papa 200g

Sacarosa 20g

Sulfato de amonio 1 g

Cloranfenicol 0.4 g

Agua destilada 1 litro

B. Relación de reactivos para la reacción de PCR

1.- Reacción del PCR con primers universales.

Preparación de la mezcla para las Reacciones de PCR con primers universales:

Reactivos	# de muestras				
	1	5	10	15	16
Buffex 10x	2.5	13.75	27.5	41.2	40
Mg Cl ₂ (50 mM)	1.0	5.5	11.0	16.5	16
DNTP5 10 mM	0.5	2.75	5.5	8.25	8
1 Praimer der. (10 moles/ul)	2.0	11.0	22.0	33.0	32
2 Praimer izq. (10 moles/ul)	2.0	11.0	22.0	33.0	32
Taq – polimerasa (5 / ul)	0.5	2.75	5.5	8.25	8
Agua DDE	14.5	79.75	159.5	229.25	232
DNC	2.0				
Volumen total	25 µl / microtubo				
DNA diluido	2 µl / microtubo				

Todas estas cantidades están dadas en microlitros (µl)

2.- Reaccion del PCR ANIDADO

Preparación de la mezcla para las Reacciones de PCR con anidado

Reactivos	# de muestras				
	1	5	10	15	16
Buffex 10x	2.5	13.75	27.5	41.2	40
Mg Cl ₂ (50 mM)	1.0	5.5	11.0	16.5	16
DNTP5 10 mM	0.5	2.75	5.5	8.25	8
R16 F2	2.0	11.0	22.0	33.0	32
R 16 R2	2.0	11.0	22.0	33.0	32
Taq – polimerasa (5 / ul)	0.5	2.75	5.5	8.25	8
Agua DDE	14.5	79.75	159.5	229.25	232
DNC	2.0				
Volumen total	25 µl / microtubo				
DNA diluido	2 µl / microtubo				

C.- Soluciones usadas para la Prueba de ELISA

1.- Buffer de cobertura

Carbonato de sodio 1.59g

Bicarbonato de sodio 2.93g

Azida de sodio 0.2g

Agua destilada 1 L

Ajustar a un PH de 9.6

Puede almacenarse por un mes, en refrigeración a 4-6 °C.

2.- Buffer de lavado o Buffer PBS-Tween 1x

Cloruro de sodio 8.0 g

Fosfato de sodio dibásico 1.15

Fosfato de potasio monobásico 0.2 g

Cloruro de potasio 0.2 g

Tween 20 0.5 ml

Ajustar el PH a 7.4

3.- Buffer de extracción

Diluir en 1000 ml de SOLAM

Sulfito de sodio 1.3 g

*Polivinilpirrolidona MW 24 – 40,000 20.0 g (2%)

Albúmina de huevo 2.0 g (0.2%)

Tween – 20 20.0 ml

Azida de sodio 0.2 g

Ajustar el PH de 7.4

Almacenar a 4 – 6 °C y usarse como máximo una semana después de su preparación.

4.- Buffer ECI

Albúmina de suero de bovino	2.0g
Polivinilpirrolidona MW 24 – 40,000	20.0 g (2%)
Azida de sodio	0.2g
Buffer PSB-Tween	1 L

Almacenar de 4-6 °C y usarse como máximo una semana después de su preparación.

5.- Buffer PNP

Cloruro de magnesio	0.1g
Azida de sodio	0.2g
Dietanolamina	97 ml
Agua destilada	800 ml

Ajustar a un PH de 9.8 con ácido clorhídrico concentrado.

Se agrega hasta completar 1 L.

Esta solución debe ser preparada justo antes de su aplicación.