

**IDENTIFICACIÓN Y PATOGENICIDAD DE HONGOS EN MUÉRDAGO
(*Phoradendron bolleanum* = *P. saltillense* Trel. EN ARTEAGA Y SALTILLO,
COAHUILA.**

MARIA PAZ PONCE

TESIS

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGIA AGRICOLA**



UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA

ANTONIO NARRO

Buenavista, Saltillo, Coah.

JUNIO DEL 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

IDENTIFICACIÓN Y PATOGENICIDAD DE HONGOS EN MUÉRDAGO (*Phoradendron bolleanum* Eichler = *P. saltillense* Trel. EN ARTEAGA Y SALTILLO, COAHUILA.

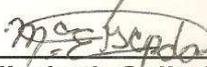
Por:
MARIA PAZ PONCE

Tesis elaborada bajo la supervisión del Comité Particular
De Asesoría y Aprobada como requisito parcial, para optar
el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS EN
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

COMITÉ PARTICULAR

Asesor Principal: 
M. C. Abiel Sánchez Arizpe

Asesor: 
Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda

Asesor: 
Dr. Sergio René Sánchez Peña

Asesor: 
M. C. Jorge David Flores Flores


Dr. Fernando Ruiz Zárate
Subdirector de Postgrado

Buenavista, Saltillo, Coahuila a Junio del 2013.

AGRADECIMIENTOS

AL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA POR HABERME BRINDADO EL APOYO FINANCIERO PARA LA REALIZACIÓN DEL POSTGRADO EN LA MAESTRÍA DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA.

A MIS MAESTROSASESORES DE LA UAAAN,

DEL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA:

M. C. ABIEL SÁNCHEZ ARIZPE, POR SU PACIENCIA Y APOYO TOTAL COMO ASESOR PRINCIPAL.

DR. SERGIO RENÉ SÁNCHEZ PEÑA, POR AYUDARME SIEMPRE EN CUALQUIER DUDA Y ENSEÑARME LO QUE ES EL CONTROL BIOLÓGICO.

DRA. MA. ELIZABETH GALINDO CEPEDA, POR SER SIEMPRE TAN BUENA CONMIGO Y ENSEÑARME EL ARTE DE IDENTIFICAR BACTERIAS Y HONGOS.

DEL DEPARTAMENTO FORESTAL:

M. C. JORGE DAVID FLORES FLORES, POR SU APOYO INCONDICIONAL EN TODO MOMENTO Y HABERME ENSEÑADO TODO SOBRE LAS PLANTAS PARÁSITAS.

A MI ASESOR EXTERNO DE LA UA DE C.

M.C. EMILIO PADRÓN CORRAL, DE LA FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICO MATEMÁTICAS POR SU VALIOSO TIEMPO Y DISPONIBILIDAD PARA ACLARAR MIS DUDAS EN LOS ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.

AL DR. JOSÉ ÁNGEL VILLARREAL QUINTANILLA, DEL DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA DE LA UAAAN, POR AYUDARME A LA IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE MUÉRDAGO Y HOSPEDEROS.

A MIS MAESTROS Y COMPAÑEROS DEL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA, POR SUS ENSEÑANZAS Y CONSEJOS QUE ME LLEVARON A REALIZAR ESTE TRABAJO.

A TODO EL DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA POR LA OPORTUNIDAD QUE ME DIERON PARA INGRESAR A LA MAESTRÍA.

A LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO” POR HABERME HECHO PARTE DEL GRAN PROYECTO EDUCATIVO QUE GENERA DÍA CON DÍA.

DEDICATORIA

A NUESTRO PADRE TODOPODEROSO:

POR HACER

ALENTAR Y

REGALAR

EL

UNIVERSO.

A MIS PADRES:

SR. ALFONSO PAZ HERNÁNDEZ Y SRA. LUZ MARÍA PONCE CEBALLOS, CON TODO MI AMOR POR DARME LA OPORTUNIDAD DE NACER, ENSEÑARME A VIVIR Y SEGUIR CONMIGO EN APOYO CONSTANTE.

A MIS HERMANOS:

LUZ ANGÉLICA, ALFONSO, MIGUEL, JORGE, ADRIANA, SAMUEL Y ADA MARGARITA POR SU AMOR Y APOYO DE SIEMPRE.

A MI ESPOSO E HIJOS:

OSCAR GUAJARDO RÍOS, ISAAC, BERTHA Y JESÚS GUAJARDO PAZ, POR SU INCONDICIONAL AMOR, SUS CONSEJOS, APOYO MORAL Y ESPIRITUAL QUE SIEMPRE ME HAN DADO PARA SALIR ADELANTE.

A TODAS Y CADA UNA DE LAS PERSONAS QUE DE UNA U OTRA FORMA HAN CONTRIBUIDO EN MIS ESTUDIOS Y EN LA CULMINACIÓN DE ELLOS CON EL PRESENTE TRABAJO.

COMPENDIO

Identificación y Patogenicidad de hongos en muérdago (*Phoradendron bolleanum*)
en Arteaga y Saltillo, Coahuila.

POR

MARÍA PAZ PONCE

MAESTRÍA

PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, JUNIO DEL 2013

M. C. Abiel Sánchez Arizpe – Asesor

Palabras clave: *Phoradendron*, Hongos, Control Biológico.

La SEMARNAT (2005) reporta que en Coahuila existen 200 hectáreas afectadas por diferentes especies de muérdago, cantidad que para el siguiente año se multiplicó por 10 y un poco más subiendo a 2059 has; de estas existencias, del 40 al 100% pertenece al género *Phoradendron sp.* (Zavaleta, 2008) que se encuentra en la zona del Cañón de los Lirios de la Sierra de Arteaga. Además en Saltillo ya está atacando a los nogales, por lo que se realizó el siguiente estudio para investigar qué hongos pueden atacar al muérdago y se propuso el objetivo de encontrar un hongo que fungiera como control biológico para estas plantas

parásitas. Se llevaron a cabo recolectas de muérdagos con hongos en la Sierra de Arteaga, y Saltillo, las cuales se trasladaron al laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN, donde se sembraron en medios de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), para su aislamiento e identificación; Posteriormente, por medio de la técnica de la hoja desprendida de Bañuelos (2008) se inocularon los hongos al muérdago; en un primer bioensayo se puso una caja petri con papel filtro húmedo y una hoja de muérdago, a la cual se le añadió un explante de 0.5 cm de PDA con hongo y en un segundo bioensayo, se hizo lo mismo pero ahora se inocularon las hojas con una suspensión de esporas, estas cajas se sellaron y se dejaron a 25°C para que creciera el hongo, se midió la necrosis en cm con un vernier hasta que cubrió a la hoja por completo. La evaluación se hizo con un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 4 X 17 con 7 repeticiones por cada tratamiento, el número de tratamientos fue de acuerdo al número de hongos, para el primer bioensayo; para el segundo bioensayo fue con un arreglo factorial 7 X 8 con 7 repeticiones. Los análisis estadísticos se hicieron con el programa estadístico SAS, 2004, obteniéndose la prueba Tukey y la DMS (diferencia mínima Significativa). Los resultados fueron: 3 hongos encontrados: *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* y *Alternaria infectoria*; en el primer bioensayo, en los cuatro tratamientos no hubo significancia en la interacción muérdago X días, pero sí superó *Fusarium oxysporum* en necrosis al resto con un 99.9% de confianza. El nivel de significancia utilizado en la prueba de comparación múltiple entre medias fue 0.001. Para el segundo bioensayo, en el análisis de varianza se encontró diferencia altamente significativa en la interacción de los 7 tratamientos de hongos y los 8 días al 99.9% de confianza. Por lo que se concluye que *Fusarium oxysporum* fue superior que los demás para un futuro control del muérdago *Phoradendron bolleanum*.

ABSTRACT

Identification and Pathogenicity of fungi in mistletoe (*Phoradendron bolleanum*) in Arteaga and Saltillo, Coahuila.

BY

MARIA PAZ PONCE

MASTER

AGRICULTURAL PARASITOLOGY

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA, JUNE 2013

M. C. Abiel Sánchez Arizpe - Advisor

Keywords: *Phoradendron*, Fungi, Biological Control.

The SEMARNAT (2005) reports for Coahuila 200 hectares affected by different species of mistletoe, an amount that for the following year was multiplied by 10 and a little more up to 2059 hectares. Of these stocks belong a 40 to 100% to the genus *Phoradendron* (Zavaleta, 2008), that is in the area of Cañón de los Lirios of the Sierra de Arteaga. In Saltillo actually is attacking the walnuts, so the following study was conducted to find out which fungi can attack the mistletoe and set the objective of finding a fungus who could act as a biological control for these

parasitic plants. It were performed collects of mistletoes with fungus in the Sierra de Arteaga, and Saltillo, which were transferred to the laboratory of Plant Pathology, Department of Agricultural Parasitology UAAAN, where they were planted in culture media Potato dextrose agar (PDA) to subsequent isolation and identification. Subsequently, through the technique of detached leaf Bañuelos (2008) were inoculated fungi to mistletoe; in first bioassay it was placed a petri dish with wet filter paper and a leaf of mistletoe, to which was added a 0.5 cm explant fungus PDA and in a second bioassay was the same but now the leaves were inoculated with a spore suspension, these boxes were sealed and left at 25 °C to grow the fungus; necrosis was measured with vernier cm until the leaf was completely filled. The evaluation was done with a completely randomized design with factorial arrangement 4 X 17 with 7 replications per treatment, the number of treatments was based on the number of fungi, for the first bioassay; for the second bioassay was with a factorial arrangement 7 X 8 with 7 reps. Statistical analysis were done with the program SAS, 2004 and means were compared using the Tukey test and LSD test (least significant difference). The results were: 3 fungi found: *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* and *Alternaria infectoria*, in the first bioassay, in the four treatments were not significant in the interaction mistletoe X days, but *Fusarium oxysporum* necrosis exceeded the rest with 99.9% confidence. The significance level used in multiple comparison test between means was 0.001. For the second bioassay, analysis of variance was found highly significant difference in the interaction of the 7 treatments fungi and 8 days at 99.9% confidence level. So it is concluded that *Fusarium oxysporum* was higher than the others for future control of mistletoe *Phoradendron bolleanum*.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCION.....	1
1.1.	Importancia del estudio.....	1
1.2.	Planteamiento del Problema.....	6
	Objetivo General.....	6
	Hipótesis.....	7
II.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	8
2.1.	Taxonomía de las Plantas Parásitas.....	9
2.2.	Ciclo de vida de <i>Phoradendron</i>	10
2.3.	Distribución de <i>P. bolleanum</i> en Norteamérica.....	11
2.4.	Hospederos del muérdago <i>P. bolleanum</i>	12
2.5.	Hongos en muérdago <i>P. bolleanum</i>	15
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	21
3.1.	Localización.....	21
3.2.	Clima.....	21
3.3.	Geología.....	22

3.4.	Hidrología.....	23
3.5.	Suelos.....	23
3.6.	Vegetación.....	24
3.7.	Estudio del Primer Objetivo.....	24
3.8.	Estudio del Segundo Objetivo.....	26
3.8.1.	Siembra del muérdago in vitro.....	26
3.8.2.	Preparación del agua de coco (AC) para el medio de Cultivo...	28
3.8.3.	Técnica de la hoja desprendida.....	28
3.8.3.1	Primer bioensayo.....	28
3.8.3.2.	Segundo bioensayo.....	29
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	30
4.1.	Primer bioensayo de Patogenicidad.....	32
4.2.	Segundo bioensayo de Patogenicidad.....	34
V.	DISCUSIÓN.....	36
5.1.	Hongos presentes en el muérdago.....	36
5.2.	Bioensayos de Patogenicidad.....	36
VI.	CONCLUSIONES.....	38

VII.	RESUMEN.....	39
VIII.	LITERATURA CITADA.....	41
IX.	APÉNDICE.....	45

INDICE DE CUADROS

Tabla 1.- Prueba de Tukey para el rango múltiple de medias del grado de necrosis en el muérdago.....	33
Gráfico 1.-Representación del grado de necrosis en las hojas del muérdago (Primer bioensayo).....	33
Tabla 2.- Prueba de Tukey para el rango múltiple de medias del grado de necrosis en el muérdago y en <i>Cupressus</i>	34
Gráfico 2.- Representación del grado de necrosis en las hojas de muérdago y <i>Cupressus</i> (Segundo bioensayo).....	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1 <i>Phoradendron bolleanum</i> , Seen (Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013).....	5
Fig. 2.- Haustorio y su corte transversal en <i>Phoradendron spp.</i>	5
Figura 3.- Ciclo biológico de <i>P. bolleanum</i>	11
Figura 4.- Distribución de <i>P. bolleanum</i>	12
Figura 5.- <i>Phoradendron bolleanum</i> en <i>Cupressus arizónica</i> . (Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013).....	25
Figura 6.- <i>Phoradendron lanceolatum</i> en <i>Quercus striatula</i> (Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013).....	25
Figura 7.- <i>Phoradendron macrophyllum</i> en nogal pacanero <i>Carya illinoensis</i> (Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013).....	26
Figura 8.- Frascos de vidrio con el medio de Cultivo Murashige&Skoog (Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013).....	27
Figura No. 9a.- <i>Fusarium oxysporum</i>	31
Figura 9b.- <i>Alternaria alternata</i>	31
Figura 9c.- <i>Alternaria infectoria</i>	32

I. INTRODUCCION

1.1 Importancia del estudio

Se define como planta parásita a una angiosperma (planta con flor) que ataca directamente a otra planta a través de un haustorio. Un haustorio es una raíz modificada que forma una cadena morfológica y fisiológica entre el parásito y su huésped. La mayor parte de las plantas son autótrofas y producen su propio carbono por medio de la fotosíntesis, sin embargo algunas plantas no poseen clorofila y son parasíticas. (Kuijt 1969).

Este parásito arbustivo aéreo produce flores vistosas o crípticas; las semillas son dispersadas por aves o por los mismos frutos, los cuales son explosivos. Los muérdagos son parásitos obligados que dependen de su huésped para obtener agua, nutrientes y la mayoría de sus carbohidratos. Los efectos que causa en su hospedero son: deformación del tallo infectado, pérdida de crecimiento, aumento en la susceptibilidad para otras enfermedades, insectos y reduce la longevidad. La presencia del muérdago y la mortalidad causada por éstos tienen efectos ecológicos y económicos significantes en bosques y áreas de recreación severamente infestados. Los muérdagos son un grupo diverso dentro del orden Santalales, de plantas parásitas arbustivas, usualmente aéreas, con frutos que poseen una capa de viscina. Estos, están ampliamente distribuidos geográficamente y como grupo tienen amplio rango de hospederos en coníferas y otras plantas leñosas. Muchos muérdagos están especialmente adaptados para la polinización y dispersión por aves. (Vázquez y Geils, 2002).

Las familias de muérdagos son Loranthaceae y Viscaceae. Las lorantáceas y viscáceas han sido consideradas subfamilias dentro de Loranthaceae, pero

ahora son reconocidas como familias distintas aunque relacionadas. Éstas tienen varias diferencias anatómicas, embriológicas, y cromosomales entre ellas, y una de esas diferencias es que las flores en Viscaceae son pequeñas e inconspicuas, mientras que en Loranthaceae son largas, coloreadas y poseen un cálculo. Las plantas de la familia Viscaceae ocurren en zonas tropicales y templadas del hemisferio norte, en cambio las Loranthaceae están generalmente en zonas tropicales. Ambas familias se encuentran en territorio mexicano (Vázquez y Geils, 2002).

Los muérdagos enanos (*Arceuthobium spp.*) causan enfermedades graves y económicamente importantes de coníferas en muchos bosque del Oeste de América del Norte, en Europa, Asia y Norte de África. Se relacionan con las más conocidas pero menos perjudiciales de hoja verde o muérdagos verdaderos: géneros *Phoradendron* y *Viscum*, que parasitan coníferas, frutales y nogales (Worrall y Geils, 2006).

Los géneros *Psittacanthus*, *Phoradendron* y *Arceuthobium* causan los más grandes impactos ecológicos y económicos, los cuales dependen del árbol huésped para obtener agua y nutrientes, además de carbohidratos. La patología que causan en su hospedero incluye deformación de los tallos infectados, crecimiento disminuido, aumentando además la susceptibilidad a otros agentes infecciosos e insectos y la reducción de su longevidad (Geilset *al.*, 2002)

Muchos muérdagos están muy bien adaptados y la polinización y dispersión de semillas es por medio de aves y varias especies de ellas hacen un amplio uso de estos recursos (Kuijt 1969, Watson 2001).

Actualmente en México, según la CONAFOR (2012), los muérdagos se encuentran distribuidos en los Estados de Aguascalientes, Baja California Norte, Baja California Sur, Colima, Distrito federal, Durango, Guanajuato, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Querétaro, Quintana Roo, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Tlaxcala, Veracruz y

Zacatecas. En Coahuila los recursos forestales maderables son escasos, no sujetos a aprovechamientos forestales. Su importancia se valora desde el punto de vista ecológico, científico y recreativo. Por tal razón estamos más obligados a protegerlos y conservarlos. Debido a la sequía, heladas e incendios forestales los árboles han quedado extremadamente debilitados, susceptibles al ataque de plagas, enfermedades y plantas parásitas.

Los muérdagos *Phoradendron sp.* están atacando fuertemente a los árboles forestales de la Sierra de Arteaga, tanto a los *Juniperus angosturana* como a los *Quercus striatula* y *Cupressus arizonica*, y como extraen de ellos principalmente agua y nutrientes, los están debilitando a tal grado que ya existe una incidencia de 40% al 100%, y en Saltillo tenemos al *Phoradendron macrophyllum* que está infestando a los nogales, por lo que cobran una gran importancia estas plantas parásitas no solo ecológica sino también social y económica (Cibrián *et al.*, 2007).

Género *Phoradendron*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Santalales

Familia: Santalaceae

Género: *Phoradendron* Nuttall.

Especie: *bolleanum* Seem

Phoradendron es un género de muérdago nativo de regiones templadas y tropicales del continente americano. Son leñosas hemi-parásitas arbustos con ramas de 10-80 cm de largo, que crecen sobre otros árboles. El follaje es de ramificación dicotómica, con pares opuestos de las hojas, que son bastante grandes, de 2-5 cm de largo, verdes y fotosíntesis en algunas especies (por ejemplo, *P. leucarpum*), pero reducidas en algunos otros (por ejemplo, *P.*

californicum). A pesar de que son capaces de realizar la fotosíntesis, la planta depende de su huésped para algunos nutrientes. La planta extrae su agua mineral utilizando un haustorio que crece en los tallos del huésped. Las diferentes especies de *Phoradendron* tienden a utilizar varios hospederos diferentes. Las flores son poco visibles, de color amarillo verdoso, de 1-3 mm de diámetro (Fig. 1) El fruto es una baya que cuando madura es de color: blanca, amarilla, naranja o roja, y contiene varias semillas embebidas en un jugo muy pegajoso; las semillas se dispersan por medio de aves, las cuales comen la fruta, y las depositan en otras ramas de otros árboles donde pueden germinar. El follaje y frutos de algunas especies de *Phoradendron* son tóxicos. Ciclo biológico. La infección se lleva a cabo cuando se adhieren las semillas a la corteza o a una rama joven susceptible como huésped. Durante la germinación el muérdago forma un hipocotilo que se elonga hasta que es detenido por un abultamiento o por la base de una hoja, en ese momento, la radícula produce un apresorio que hace presión directamente sobre las ramas del hospedero y da lugar a la clavija y la raíz principal como haustorio (Scharpf y Hawkworth, 1974).

Una vez que el muérdago penetró al tejido del hospedero, éste desarrolla el sistema endofítico que consiste en hebras que corren en forma paralela al Cortex y haustorios, para después producir los brotes aéreos, Fig 2 (Mathiasen, *et al.*, 2008).



Figura 1.- *Phoradendron bolleanum*, Seen (Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013).



Figura 2.- Haustorio y su corte transversal en *Phoradendron* sp.

1.2. Planteamiento del problema

El llevar a cabo esta investigación es por la necesidad de estudio de las plantas parásitas en la zona de los Lirios, que forma parte de la Sierra de Arteaga, la cual presenta bosques con una asociación principal de pino-encino, siendo éste último al que más están atacando los muérdagos, y si el encino se acabara, entonces se terminarían también los bosques, pues los encinos son la mayoría de la vegetación. Además, el control químico de los muérdagos está sumamente limitado por la normatividad de la legislación forestal en materia de sanidad forestal, lo que quiere decir que no se permite el uso de cualquier producto químico que controle las poblaciones de estas plantas parásitas, por lo que el uso de productos de origen biológico o de organismos biorreguladores cobra gran importancia en esta área. Es importante señalar que en Saltillo lo más apremiante son los muérdagos que atacan a los Nogales, ya que éstos son el sustento de muchas familias. En consecuencia urge encontrar un control biológico efectivo para los muérdagos por lo que en el presente trabajo se pretende descubrir un hongo que realmente pueda controlar a los muérdagos.

Por lo tanto se plantearon los siguientes

OBJETIVOS

Objetivo General

Identificación y Patogenicidad de hongos que atacan al muérdago.

Objetivos específicos:

- 1.- Identificar los hongos asociados al muérdago *Phoradendron sp.*
- 2.- Determinar la patogenicidad de los hongos sobre el muérdago *Phoradendron sp.*

HIPÓTESIS

Ho 1: No existen hongos fitopatógenos asociados al muérdago *Phoradendron*.

Ha: Sí existen hongos fitopatógenos asociados a dicho muérdago.

Ho 2: Ninguno de los hongos detectados le causa daños de importancia significativa al muérdago *Phoradendron*.

Ha: Al menos un hongo de los encontrados tendrá un control satisfactorio sobre el muérdago *Phoradendron*.

II. REVISION DE LITERATURA

Forest Renewal, British Columbia (FRBC) Canadá (1992), publicaron que el muérdago *Arceuthobium tsugense* ataca específicamente a *Abies abietinum*, ocurriendo esto exclusivamente en British Columbia y encontraron que el árbol tiene otros hiperparásitos más comúnmente encontrados como *Walirothiella arceuthobli* que ataca semillas de plantas femeninas y *Colletotrichum gloeosporioides* y *Cylindrocarpon* sp que predominantemente atacan las raíces del muérdago.

Funk, *et al.*, (1973), encontraron que *Nectria fuckeliana* Stand var. *Macrospora* (Wr.) Booth estaba asociado comúnmente con llagas abiertas, resinosas de hinchazones de muérdago enano de la cicuta occidental (*Tsuga heterophylla* (Raf.) Sarg.) en British Columbia, Canadá. La patogenicidad de los hongos fue demostrada por inoculación artificial y reaislamiento de los tejidos enmohecidos. Los chancros redujeron sustancialmente la reproducción del muérdago enano.

Cepeda (2010), reporta para el Cañón de los Lirios de la Sierra de Arteaga, Coahuila *Juniperus*, *Quercus* y *Cupressus* con un 71% de incidencia de *Phoradendron densum* = *P. bolleanum*.

García (2010), para la misma Sierra, específicamente para Jamé dice que *Phoradendron tomentosum* presenta una incidencia de 49.52% en *Quercus* y *Juniperus*.

Deek *et al.*, (2002) evaluaron la patogenicidad de dos hongos que parasitan al muérdago enano (*Arceuthobium tsugense*) y encontraron que *Cylindrocarpon cylindroides* fue más virulento que *Colletotrichum gloeosporioides*.

Vázquez, *et al.*, (2006), mencionan para el Control biológico del muérdago, al hongo *Colletotrichum gloeosporioides* que causa marchitez en tallos. Además mencionan que Baranyay y Khutson, 1978, reportaron a *Cylindrocarpon gillii* que les produce antracnosis y Mark *et al.*, 1976 mencionan a *Aureobasidium pullulans* y *Alternaria alternata* como agentes de marchitez y muerte de los tallos de muérdago.

Zavaleta (2008), en su tesis encontró para la Sierra de Arteaga una incidencia de 40% a 100% de *Phoradendron spp.* En *Quercus*, *Cupressus* y *Juniperus* con un gradiente de dispersión de 0.8598.

2.1. Taxonomía de las plantas parásitas

A continuación se presenta información de 5 géneros de muérdagos: *Arceuthobium*, *Phoradendron*, *Psittacanthus*, *Cladocolea* y *Struthanthus*; para separarlos a nivel de género se da una clave que permite su rápida identificación.

Clave para los géneros de muérdagos en México

Flores con cáliz, con pétalos, por lo general grandes y coloridos

..... Loranthaceae

Flores de menos de 1 cm de longitud, verde brillante o amarillento; hojas de menos de 5 cm de longitud y 2 cm de ancho.....*Cladocolea*

Flores de 3-5 cm de longitud, pétalos amarillos o rojizos; hojas de 5-8 cm de longitud más de 2 cm de ancho..... *Psittacanthus*

Flores sin cáliz ni pétalos, con tépalos, de menos de 3 mm de longitud, del mismo color que la parte aérea, plantas sin hojas o con hojas de menos de 5 cm de longitud o 2 cm de ancho

.....Viscaceae

Plantas rojizas, amarillentas o negruzcas, carentes de clorofila; hojas reducidas o brácteas, frutos elongados y bicolorados, semillas dispersadas de manera explosiva (una excepción); parásitos de coníferas

.....*Arceuthobium*

Plantas verdes o verde amarillento, con clorofila; hojas bien desarrolladas, o algunas veces ausentes; frutos redondeados, rosas, rojo pálido o blancos; semillas dispersadas por aves; parásitos en juníperos, cipreses y plantas de flor.....*Phoradendron*

Cibrián, (2007).

2.2. Ciclo de Vida de *Phoradendron*

Phoradendron tiene un ciclo de vida típico de los demás muérdagos pertenecientes a este género, caracterizado por la diseminación de aves, un parasitismo interno en su hospedante leñoso y un crecimiento aéreo para la producción de flores y frutos (Geils et al., 2002).

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

Las semillas del muérdago son diseminadas por aves, durante la germinación, la semilla produce una radícula y un apresorio que penetra la rama del hospedero, desarrollando un sistema endofítico interno. Una vez que los brotes aéreos son producidos, inicia la realización de fotosíntesis del muérdago, son plantas dioicas es decir hembra y macho, la producción de flores es típica y su reproducción es sexual. Los frutos son producidos después de uno o más años de la infección, Fig. 3 (Geils et al., 2002).

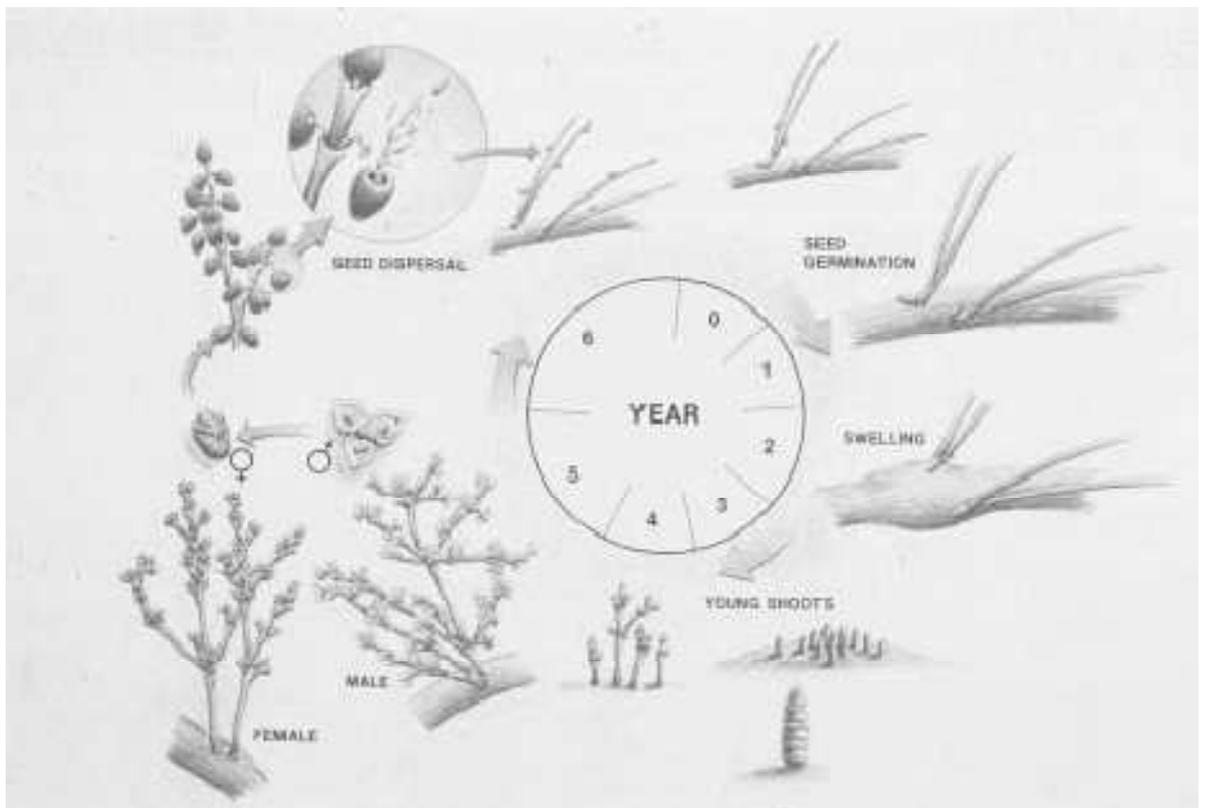


Fig. 3.- Ciclo biológico del género *Phoradendron* spp (Geils y Vazquez, 2002).

2.3. Distribución de *P. bolleanum* en Norte América

Olsen (2003), dio los reportes de *P. bolleanum* en México y E.U.A.

México.- En la Sierra de San Pedro Mártir, en Baja California, Trelease (1916) informa de *P. bolleanum* en el estado de Sonora y el Herbario de Patología Forestal de la ciudad de Fort Collins, Colorado, E.U.A. Cuenta en su colección especímenes colectados en Coahuila y Nuevo León.

E.U.A.- Hawksworth y Scharpf (1980), mencionaron la presencia de *P. bolleanum* en Oregón, California, Arizona, Nuevo México y Texas (Figura 4). En un rango de elevación es de 200 a 2,300 msnm.

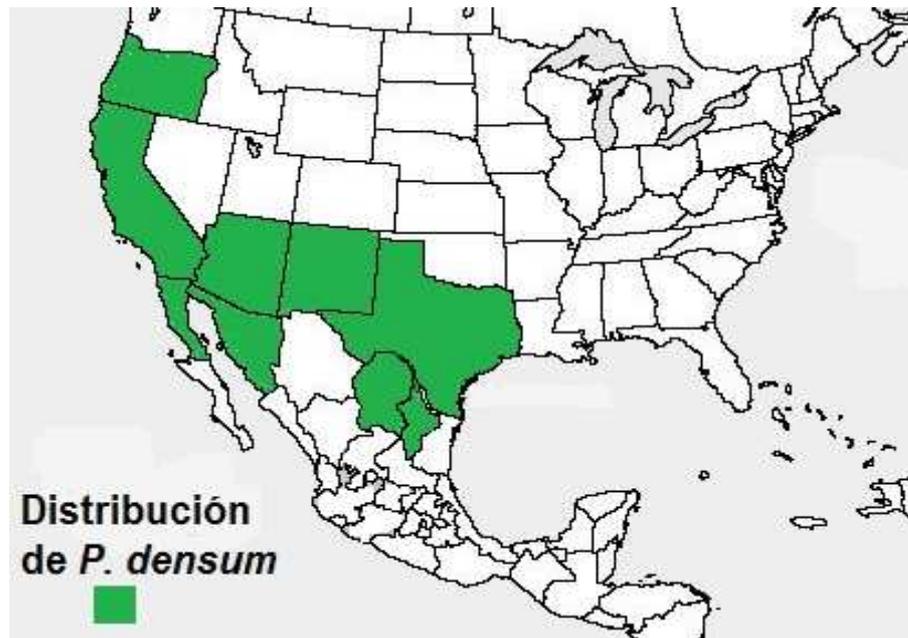


Figura 4. Distribución de *P. densum*, sinónimo de *P. bolleanum*= *P. saltillensis* en Norte América, (Hawksworth y Scharpf 1980).

2.4. Hospederos de muérdagos del género *Phoradendron*

Género *Juniperus*

El género *Juniperus* forma parte de los nueve géneros de las coníferas mexicanas. Juega un papel importante desde el punto de vista económico, social y ecológico, se utiliza para la industria cosmética, farmacéutica, mueblera y artesanal; también se usa en el medio rural para postes o leña; además, conservación de nichos ecológicos y alimentación de la fauna silvestre. El género *Juniperus* presenta características distintivas que lo separan del resto de las coníferas mexicanas y presenta un gran número de especies, variedades y formas, las que se presentan a continuación, basado en el trabajo de Maximino Martínez, realizado en 1963, el cual se considera

vigente, ya que no se han encontrado trabajos adicionales para el género (Adams, 2004).

Descripción general.

Los *Juniperus* son arboles o arbustos siempre verdes, con hojas opuestas o alternas, aciculares en las plantas jóvenes y escamiformes en las adultas (en Europa y los Estados Unidos hay algunas especies con hojas aciculares en ambos casos). Las especies mexicanas, son dioicas, es decir, las flores masculinas se producen en una planta y las femeninas en otra. Las masculinas están en pequeños amentos ovales, de unos 5 mm, formados por escamas que abrigan cada una cuatro saquitos de polen. Las flores femeninas constan de 3 a 8 escamas carnosas dispuestas en roseta, que protegen a cada uno de los óvulos; estas escamas, después de la fecundación, se ensanchan y unen dos formando un falso ovario que, al madurar, constituye un fruto indehiscente, más o menos globoso, llamado gámbula, semejante en unos casos a una drupa y en otros a una baya. Madura a los dos años (Adams, 2004).

Juniperus angosturana(Adams, 1994)

Clasificación:

Reino Plantae

División Pinophyta

Clase Coniferopsida

Orden Coniferales

Familia Cupressaceae

Género *Juniperus angosturana*

Nombre común y notas taxonómicas. Sinónimo de *Juniperus monosperma*, *vargracilis* Martínez 1946 (Farjon, 2005).

Descripción.- Pequeño árbol de hoja perenne, árbol o arbusto dioico, 3-8 (-10) m de altura y hasta 50 cm de ancho de tronco, y a menudo se bifurcan. Corteza lisa en las ramas, poco exfoliante en pequeñas escamas, marrón claro o gris. Ramas gruesas, crecimiento tortuoso, con caída de follaje formando una corona irregular con cúpula, conos con semillas numerosas, terminales en las ramas laterales, semillas de 1-2 ovaladas o subglobosas, ápice agudo con un hilo basal. (Farjon, 2005).

Encinos (*Quercus sp.*)

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

***Quercus striatula* Trel.**

Arbustos rizomatosos de hoja perenne, muy ramificados, de 0.3-1 m de alto. Corteza oscura a negruzca, fisurada, ramillas delgadas y densas, glabras al segundo año. Hojas firmes, elípticas, de 1-6 cm de largo x 0.5-2.5 cm de ancho, base redondeada a cordiforme, ápice agudo y cortamente mucronado (que termina en una punta rígida, corta y aguda). 6 a 8 pares de nervios secundarios. Pecíolo blanquecino, ensanchado en la base, de hasta 0.2 cm de largo. Bellotas de cúpula hemisférica, de alrededor de 1 cm de alto por 1.5 cm de ancho. Especie nativa de Chihuahua, Durango y Zacatecas. (Huang Chen & Chiu *et al.*, 1998).

***Carya Illinoensis* (Wangenh) K. Koch**

Sinónimos: *Carya oliviformes* (Michx. F.) Nutt; *Carya pecan* (Marshall) Engl. & Graebn; *Hicoria pecan* (Marshall) Britton.

El árbol de la nuez pecán o nuez pacana, es nativo del noreste de México (Chihuahua, Coahuila, Tamaulipas y Nuevo León) y sureste de Estados Unidos (Indiana, Iowa, Mississippi y Texas). Los principales productores son Los Estados Unidos (72%) con los siguientes estados: Georgia, Texas y Nuevo México. La república Mexicana con un 25% en Chihuahua, Nuevo León y Coahuila.

Es un árbol que puede alcanzar 60 metros de altura, con la corteza marrón, irregularmente agrietada, desprendiéndose en escamas. Hojas de hasta 50 cm de longitud, con 11-17 folíolos lanceolados u oblongos. Base redondeada. Limbo de color verde amarillento en el haz y en el envés más pálido. Flores masculinas en amentos del mismo color del limbo. Flores femeninas en espigas con pubescencia amarilla. Frutos en racimos, oblongos, puntiagudos, con 4 costillas. Nuez ovoide o elipsoidal, de agradable sabor y alto valor alimenticio. Su madera es pesada y dura, utilizada como combustible y para la fabricación de muebles. (Manning, 1949)

2.5. Hongos en muérdago *Phoradendron*

Fusarium oxysporum

Es un hongo cosmopolita que existe en muchas formas patogénicas, parasitando más de 100 especies de plantas Gimnospermas y Angiospermas, gracias a los diversos mecanismos que tiene el hongo para vencer las defensas de muchas plantas (Bosland, 1988).

Se caracteriza por producir colonias de rápido crecimiento, con una tasa diaria cercana a un centímetro en medio papa- dextrosa agar (PDA) a 25°C. La morfología de las colonias es muy variable y puede presentar dos tipos: una de tipo micelial caracterizada por la producción de abundante micelio aéreo, algodonoso, con una coloración variable, de blanco a rosado durazno, pero usualmente con un tinte púrpura o violeta más intenso en la superficie del agar y pocas microconidias, y una con la formación de poco o ningún micelio aéreo y abundantes microconidias (Booth, 1970).

Este hongo produce tres clases de esporas:

Microconidias.- esporas unicelulares, sin septos, hialinas, elipsoidales a cilíndricas, rectas o curvadas; se forman sobre fiálides laterales, cortas, simples o sobre conidióforos poco ramificados. Las microconidias tienen de 5-12µm de largo por 2.5-3.5µm de ancho (Nelson, 1981).

Macroconidias.- Esporas de paredes delgadas, fusiformes, largas, moderadamente curvadas en forma de hoz, con varias células y de 3 a 5 septos transversales, con la célula basal elongada y la célula apical atenuada; las macroconidias tienen un tamaño de 27 a 46 µm de largo por 3.0 a 4.5µm de ancho (Nelson, 1981).

Clamidosporas.- Esporas formadas a partir de la condensación del contenido de las hifas y de las conidias, de paredes gruesas. Se forman simples o en pares, terminales o intercalares: poseen un tamaño de 5-10µm de diámetro (Nelson, 1981). Gracias a ellas el hongo sobrevive en condiciones ambientales desfavorables y en el suelo como saprófito de vida libre en ausencia de plantas hospedantes (Garret, 1977).

El estudio taxonómico de *Fusarium oxysporum* se basa en la morfología, en el desarrollo de las estructuras reproductivas y en la manera como se forman

(Kistler, 1997). Hacia el año 1935 Hollenweber y Reinking ubican en la sección (grupo) *Elegans*, aquellas especies caracterizadas por presentar diferencias morfológicas pequeñas sujetas principalmente a influencia ambiental: posteriormente unen la sección *Elegans* en una especie única: *Fusarium oxysporum*, reconociendo, sin embargo, la existencia de variantes dentro de la especie, particularmente con respecto a la especialización de la planta hospedante.

El taxón forma especial (f. sp.) corresponde a cepas cuyas características morfológicas y de cultivo son indistinguibles, pero muestran diferentes propiedades fisiológicas en su habilidad para parasitar un hospedante específico (Booth 1975) Este taxón se ha empleado para categorizar aislamientos que causan enfermedades en una especie, género o familia, en particular (Bosland y Williams, 1987; Bosland, 1988); por lo cual, aislamientos con el mismo rango de hospedante se asignan a una forma especial. Se han reportado más de 70 formas especiales del patógeno (Kistler, 1997).

Las formas especiales de *Fusarium oxysporum* se subdividen en razas fisiológicas, con base a su especificidad patogénica sobre determinadas variables de una misma especie de planta, razón por la cual las pruebas de patogenicidad y las características de virulencia de los aislamientos del hongo son el principal criterio para diferenciar las formas especiales de *Fusarium oxysporum* y sus razas fisiológicas (Bosland, 1988).

Alternaria

El género *Alternaria* tiene especies cosmopolitas que se encuentran en un amplio rango de productos y materiales. Como saprobias deterioran alimentos y forrajes, produciendo compuestos biológicamente activos como micotoxinas. Como patógenas reducen el rendimiento de las cosechas o afectan a los vegetales almacenados. Es necesaria una identificación precisa de las especies

porque cada nombre tiene un conjunto de características (preferencias para el crecimiento, patogenicidad, producción de metabolitos secundarios) que permiten predecir el comportamiento del hongo (Andersen *et al.*, 2001).

Medios de cultivo

Las características del crecimiento del hongo constituyen uno de los criterios para la clasificación. En Czapek Levadura *A. alternata* y *A. infectoria* producen colonias de tamaño similar (56 - 63 mm de diámetro en 1 semana a 27°C), chatas y ligeramente algodonosas. El micelio aéreo es gris verdoso con reverso negro parduzco. Muchas cepas de *A. infectoria* forman pocos conidios, tienen un micelio algodonoso y al revés, la colonia es oscura en el centro y rodeada de un anillo anaranjado pálido (Andrews, 1992).

En Malta-Glucosa *A. alternata* forma colonias algodonosas, elevadas, con micelio gris verdoso y esporas negro parduzco. *A. infectoria* tiene colonias pardas aceituna a negro parduzco, chatas y algodonosas, a veces con fascículos y esporulación moderada mostrando el micelio gris y con frecuencia un pigmento soluble verde amarillento. Otras especies casi no presentan esporulación sobre este medio (Andrews, 1992).

En Czapek-Glicerol *A. alternata* y *A. infectoria* producen colonias indistinguibles, de color pardo grisáceo a pardo oliva, 7 - 12 mm de diámetro en 1 semana a 27°C, con micelio poco denso. En Malta-Diclorán, las colonias tienen un diámetro de 40 - 45 mm en iguales condiciones. Tiene un color negro verdoso en anillos concéntricos, la colonia aterciopelada tiene largas cadenas no ramificadas de conidios lisos. *A. infectoria* tiene colonias fasciculadas, de color gris verdoso, con cadenas siempre ramificadas de conidios rugosos y con frecuencia forman estructuras teleomórficas inmaduras (Andrews 1992).

Pero el medio de cultivo más conveniente para separar las especies de *Alternaria* en grupos con características macro y micromorfológicas similares es Papa-Zanahoria, si la incubación se hace a 25°C con luz fluorescente durante 8 hrs seguida de 16 hrs en la obscuridad (Andersen *et al.*, 2001).

Identificación

Los conidios de *Alternaria* tienen septos transversales y longitudinales y se les conoce como dictiosporas, además son pardos y picudos. Nacen por la brotación apical de una célula conidiógena o de la espora anterior, dando lugar en este último caso a una cadena que suele ramificarse si una espora produce más de un brote. La especie *A. infectoria* tiene un estado perfecto que pertenece al género *Pleospora*. Éste forma pseudotecios sobre el tallo de cereales o hierbas con ascas bitunicadas cilíndricas en los lóculos del estroma, dentro de las cuales hay 8 ascosporas provistas de septos transversales y longitudinales (Webster, 1986).

A las cepas se las solía dividir en tres secciones según formaran o no cadenas de dictiosporas, y si tales cadenas eran cortas o largas (Chou & Wu, 2002) pero luego se tomó en cuenta el aspecto de los conidióforos y se las reunió en otras tres secciones que abarcan seis grupos de especies en base a la morfología sobre Papa-Zanahoria, a 25°C con alternancia día-noche (Andersen *et al.*, 2001). Una sección comprende especies fitopatógenas que forman conidios solitarios con grandes picos, rara vez en cadenas de 2 o 3 conidios, como por ejemplo *A. dauci* que se transmite a través de las semillas de zanahoria (Konstantinova *et al.*, 2002).

Otra sección reúne a las especies que producen conidios en cadenas no ramificadas, por ejemplo *A. gaisen* con esporas ovoides gruesas en cadenas relativamente cortas (Andersen *et al.*, 2001). El grupo *A. tenuissima* tiene cadenas rectas relativamente largas de esporas nacidas sobre cortos

conidióforos primarios, pero ocasionalmente hay una ramificación corta sobre un conidióforo secundario nacido en la base de la cadena desde una célula intercalar del conidio. En cultivo las cadenas tienen una posición erguida, vertical (Roberts *et al.*, 2000).

La tercera sección comprende a los grupos de especies cuyas cadenas están ramificadas de manera diversa y abarca especies toxigénicas y otras que no lo son. El grupo *A. alternata* produce cadenas de 10 o más conidios muy ramificadas a partir de conidióforos cortos. La ramificación de los conidios surge de conidióforos secundarios desde células conidiales basales o apicales, en relación 1, dando un aspecto abierto (Andersen *et al.*, 2001).

El grupo *A. infectoria*, se caracteriza por los largos conidióforos secundarios apicales, con varios lóculos conidiógenos, lo que resulta en una ramificación abierta. Los conidióforos primarios son cortos y se producen en manojos dando al cultivo un aspecto granular. La forma de los conidios, el color y la superficie de la colonia varía dentro de este grupo de especies. Las colonias tienen un aspecto granular (Roberts *et al.*, 2000).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización

Esta investigación se llevó a cabo en Saltillo y la Sierra de Arteaga, donde se recolectaron las muestras y en el Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, donde se procesaron.

3.2. Clima

Climas Templados y Semifríos de las Sierras del Sureste.

En las partes altas de las sierras que se extienden al sur y sureste de la entidad, por encima de los 2,000 ó 2,200 m de altitud, reinan climas templados y semifríos subhúmedos, como en las sierras de El Fraile, Playa Madero, San Antonio, y en las que las rodean las poblaciones de Huachichil, San Miguel y Escobedo, entre otras. Se trata de las únicas áreas coahuilenses no afectadas por climas secos. Presentan vegetación de bosques y chaparrales en las sierras; pastizales y algunos matorrales en bajadas y llanuras altas. El clima que más se extiende es el templado subhúmedo con lluvias escasas todo el año y precipitación total anual entre 450 a un poco más de 500 mm. Los porcentajes de lluvia invernal son relativamente altos, sin embargo la precipitación alcanza sus niveles máximos en el verano. La temperatura media anual es, en estas áreas, de 13°C. Las medias mensuales más elevadas, que se aprecian en mayo y junio, rebasan apenas los 16°C; y las más bajas —en enero— son del orden de los 9°C. En los límites con Nuevo León, en la sierra de San Antonio,

existen áreas con clima templado subhúmedo con lluvias de verano, de más de 600 mm de precipitación total anual, y temperatura media anual de 14°C.

3.3. Geología

A la zona de estudio se le denomina provincia o subprovincia de la Gran Sierra Plegada, a continuación sus características geológicas.

La subprovincia de la Gran sierra plegada se inicia inmediatamente al este de Saltillo, Coahuila, y tuerce al sur en las proximidades de Monterrey, Nuevo León. La morfología que domina en esta zona es de estratos plegados de calizas, con prominentes ejes estructurales. La región flexionada al este de Saltillo y sur de Monterrey se conoce como anticlinorio de Arteaga, un anticlinorio es la sucesión estructural de pliegues, que juntos integran un anticlinal general.

La parte oeste del anticlinorio de Arteaga es lo que de esta subprovincia corresponde a Coahuila, y está constituida por los sistemas de topoformas designados sierra pliegue flexionada, bajada, bajada con sierras y valle intermontano. Esta porción cubre 2,178.18 km² de la superficie total estatal, y abarca partes importantes del municipio de Arteaga (95%) y una fracción muy reducida de Saltillo.

3.4. Hidrología

En el estado de Coahuila son abundantes los terrenos con posibilidades moderadas o altas de infiltración, que permite la recarga de muchos acuíferos subterráneos.

La región hidrológica de la zona de estudio se llama "El Salado"

Región Hidrológica "El Salado".- De todas las regiones hidrológicas comprendidas en el estado de Coahuila, ésta es la de menor extensión. Sin embargo, es una de las vertientes interiores más importantes del país. Está

integrada por un conjunto hidrográfico de cuencas cerradas de muy diferentes dimensiones. Corresponden al estado de Coahuila porciones de tres de sus cuencas, las que a continuación se describen.

1.- Sierra Madre Oriental. Con una extensión en el estado de 1 293.77 km². Corresponde a esta cuenca en el estado una pequeña porción al sureste de Saltillo, que forma parte de la subcuenca intermedia de San Rafael. Los escurrimientos superficiales en la cuenca son de 10 a 20 mm anuales.

2.- Matehuala. Con una área dentro del estado de 311.69 km². La población principal de esta cuenca es precisamente la ciudad potosina del mismo nombre. Su aprovechamiento hacia el estado de Coahuila es nulo, y los escurrimientos 28.

3.- Sierra de Rodríguez. Con una superficie dentro del estado de 3 372.10 km². Esta cuenca es la que ocupa mayor extensión en esta región. Sin embargo, como en los casos anteriores, sus aguas son aprovechadas en otras entidades, en particular en San Luis Potosí. Los escurrimientos superficiales que se calcularon para esta cuenca son de menos de 10mm al año, similar a la anterior. La cuenca tiene entre los límites de Coahuila una subcuenca intermedia: Concepción del Oro.

3.5. Suelos

Los sistemas montañosos de la subprovincia presentan abundantes afloramientos rocosos que se alternan con áreas de suelos muy someros; Los Litosoles, menores de 10 cm de profundidad, que sobreyacen a la roca, son los más abundantes. Los Regosoles calcáricos, derivados de calizas o areniscas, se encuentran asociados al Litosol en la mayor parte de las laderas, y son suelos de textura media o gruesa, colores claros y bajo contenido en materia orgánica. Los suelos más profundos en las sierras, generalmente son

pedregosos o gravosos, y limitados en su profundidad por capas de guijarros o piedras, o bien por extensas y potentes láminas de caliche.

3.6. Vegetación

Los matorrales desérticos micrófilo y rosetófilo son los tipos de vegetación dominantes en esta subprovincia; el rosetófilo se distribuye en sierras, bajadas y lomeríos; y alternándose con él, encontramos el micrófilo en las partes llanas, en suelos aluviales y profundos. Al norte de San Martín de las Varas, en el matorral rosetófilo, hay cierta abundancia de pinos piñoneros (*Pinus cembroides*) sin llegar a modificar la fisonomía de estos matorrales. En la parte sur de la región, sobre las bajadas de la sierra El Jabalí, encontramos bosques de pino que se densifican a medida que la altitud aumenta. Entre los matorrales y los bosques, hay áreas de pastizales de dos tipos, naturales e inducidos. Del primero, dos áreas importantes se encuentran, una al sur de General Cepeda y otra al sur de Saltillo en los lomeríos próximos a Estación Agua Nueva, sus componentes principales son pastos de los géneros *Bouteloua* y *Sporobolus*. Del segundo — pastizal inducido—, al este de Saltillo hay una extensión considerable compuesta por pastos de los géneros *Bouteloua*, y *Aristida* principalmente.

3.7. Estudio del Primer Objetivo

Identificación de los hongos

Se llevaron a cabo 3 salidas importantes: la primera fue a la Sierra de Arteaga, específicamente a la región de “Los Lirios”, de la cual se colectaron muérdagos *Phoradendron bolleanum* (Figura 5). La segunda salida fue a la misma región, pero ahora a la parte turística en Monterreal, donde se recolectaron muérdagos del género *Phoradendron lanceolatum* (Figura 6). La última salida a la zona urbana de Saltillo, para recolectar muérdago de nogal pacanero *Phoradendron macrophyllum* (Figura 7).



Figura 5.- *Phoradendron bolleanum* en *Cupressus arizónica*. (Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013).



Figura 6.- *Phoradendron lanceolatum* en *Quercus striatula* (Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013).



Figura 7.- *Phoradendron macrophyllum* en nogal pacanero *Carya illinoensis* (Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013).

Se realizaron recorridos a la zona de estudio y se hizo una recolecta dirigida hacia los muérdagos que presentaban hongos. Todos los muérdagos se trasladaron al laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN, Buenavista, Saltillo, donde se sembraron en la cámara de flujo en estrictas condiciones de asepsia y con lámparas de alcohol prendidas, en medio de cultivo PDA (Papa dextrosa Agar), para su posterior purificación y traslado a una laminilla para identificarlos.

3.8. Estudio del Segundo Objetivo: Pruebas de Patogenicidad

3.8.1. Siembra de Muérdago in vitro (Deeks et al., 2002)

Las semillas de muérdago se sembraron en el Medio de cultivo Murashige & Skoog (Cuadro 4, Apéndice). Este cultivo de tejidos fue para inducir la formación de callo, y así después obtener muérdago sano para su posterior prueba de patogenicidad.

Procedimiento: A 4.43 gr de medio Murashige & skoog preparado, se le agregan 300 ml de leche de coco (AC), 30 gr de Sacarosa o dextrosa y 20 gr de agar bacteriológico, todo se pone a hervir durante 2 a 3 minutos y luego se esteriliza en el autoclave a 15 libras de presión, durante 15 minutos.

Enseguida en la cámara de flujo se vació el medio a frascos de vidrio, y ya solidificado se sembraron las semillas desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2%, una por frasco, tapando éstos con celofán y liga, todo bajo estrictas condiciones de asepsia, y dejándolas en incubación en el laboratorio de Parasitología Molecular a 25°C con luz constante durante 7 meses (Figura 8).



Figura 8.- Frascos de vidrio con el medio de Cultivo Murashige & Skoog (Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013).

3.8.2. Preparación del agua de coco (AC) para el medio de cultivo

Se consiguen los cocos, se drena el líquido, se cuele el líquido empleando 2 a 3 capas de lienzo para extraer pedacitos de cáscara o fibras u otros componentes que caen en el agua durante el proceso.

Coloque el agua en un matraz, tápela con algodón absorbente y esterilícela en autoclave a 15 libras de presión, durante 20 minutos.

Este proceso precipitará gran cantidad de proteínas presentes en el AC.

Después de dejar que el agua se enfríe (preferiblemente a la mañana siguiente), se filtra con papel filtro Whatman No. 2; primero se decanta el líquido claro de la parte superior y, finalmente, la porción que contiene el precipitado denso (Krikorian, 1981).

3.8.3. Técnica de la hoja desprendida

3.8.3.1 Primer bioensayo (Bañuelos, 2008).

En condiciones de asepsia con lámparas de alcohol, las hojas de muérdago se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2% durante 3 minutos, se enjuagaron en agua destilada estéril y se colocaron en papel secante esterilizado. Se acomodaron individualmente con el envés hacia arriba en cajas Petri que contenían papel filtro estéril humedecido con agua destilada estéril. En el haz de la hoja se colocó un disco de PDA de 0.5 cm de diámetro con crecimiento de la cepa respectiva.

Variable medida: Se midió la longitud de la lesión (en cm) por medio de un vernier (marca General con Calibrador de 150 mm) causada por el hongo, diariamente hasta que se llenó la hoja con el hongo. La unidad experimental fue una hoja de muérdago en una caja Petri.

Se utilizó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 4X17 con 7 repeticiones por cada tratamiento, el número de tratamientos se obtuvo de

acuerdo al número de hongos (4) y los días (17). Los análisis estadísticos se hicieron con el programa estadístico SAS, 2004 y se compararon las medias por medio de la prueba de Tukey y DMS (Diferencia Mínima Significativa).

3.8.3.2 Segundo Bioensayo

En este se hizo lo mismo que en el primero, lo único que varió fue que las hojas de muérdago se inocularon con el hongo bañándose en la suspensión de esporas que se hizo (Cuadro 5 Apéndice). A saber, para los diferentes hongos se preparó una suspensión de esporas agitando bien el matraz, colocando en 10 ml de agua destilada 5 explantes del hongo ya esporulado y utilizando la cámara de Neubauer y microscopio compuesto contar las esporas por mililitro. Igualmente se utilizó un diseño completamente al azar, con arreglo factorial 7X8 con 7 repeticiones por cada tratamiento, el número de tratamientos se obtuvo de acuerdo al número de hongos (7) y los días (8). Los análisis estadísticos se hicieron con el programa estadístico SAS, 2004 y se compararon las medias por medio de la prueba Tukey y DMS (Diferencia mínima significativa).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

El objetivo de identificación de hongos asociados a las hojas de muérdago (*Phoradendron bolleanum*) se encontró a *Fusarium oxysporum* (Fig 9a), *Alternaria alternata* (Fig. 9b) y *Alternaria infectoria* (Fig. 9c). Los que se identificaron con las claves de Abad, 2002, Neergaard, 1977 y Barnett, 1998.

Encontrando para *Fusarium oxysporum* que su característica principal es que posee microconidias y macroconidias y estas tienen de 3 a 5 septos. En este trabajo fue identificado este hongo por sus macroconidias, las cuales son esporas de paredes delgadas, largas y curvadas en forma de hoz con varias células.

Alternaria alternata se caracteriza por largas cadenas de conidias. Las cadenas forman masas verde oscuro. La colonia aterciopelada tiene grandes cadenas no ramificadas de conidios lisos. Este hongo fue identificado por producir cadenas de 10 o más conidios muy ramificadas a partir de conidióforos cortos.

Alternaria infectoria por su parte tiene colonias fasciculadas de color gris verdoso, y algunas cepas no producen muchos conidios. En el presente trabajo fue identificada por sus largos conidióforos secundarios apicales, lo que resulta en una ramificación abierta.



Fig. 9a.- *Fusarium oxysporum*

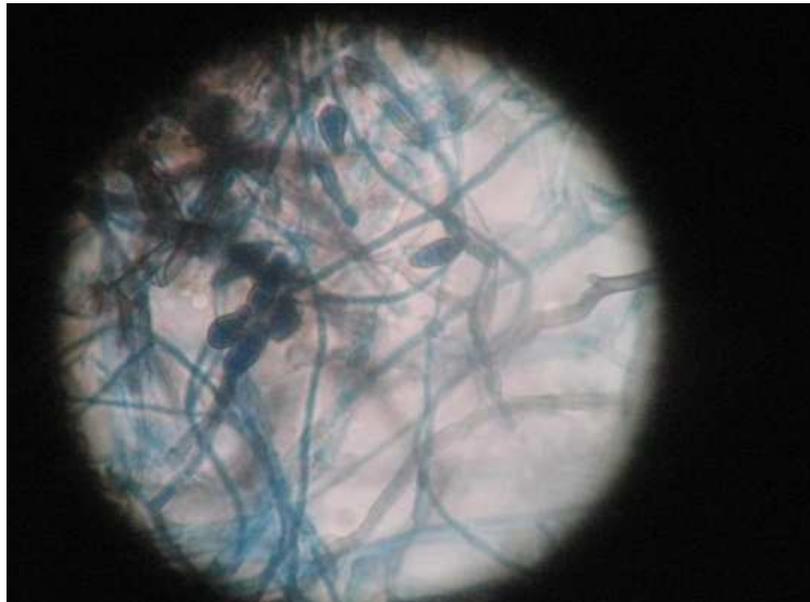


Fig. 9b.- *Alternaria infectoria*



Figura 9c.- *Alternaria alternata*

Para nuestro segundo objetivo de las pruebas de patogenicidad la semilla de muérdago sembrado en medio Murashige & Skoog después de 7 meses presentó un crecimiento de 2 mm, por lo que a partir del 2013 se sometió a oscuridad para estimular crecimiento, pero no manifestó desarrollo alguno, por lo que el crecimiento de 2 mm no es suficiente para inocular los hongos asociados a la hoja de muérdago, y se optó por la alternativa de colectar hojas sanas para realizar dicha prueba.

4.1. Primer Bioensayo de Patogenicidad

El análisis de varianza se puede ver en el apéndice, Cuadro 1, ahí se puede observar que no hubo diferencia significativa en el crecimiento de necrosis a través de los días. En la Tabla 1 podemos apreciar el promedio del área en centímetros de las lesiones causadas después de aplicar el explante de los diferentes hongos encontrados, esto ya con el análisis factorial.

Tabla 1.- Prueba de Tukey para el rango múltiple de medias del grado de necrosis en el muérdago, dada en centímetros.

Tratamiento de las hojas	Media	Agrupación
Muérdago con <i>F. oxysporum</i>	0.8454	A
Muérdago con <i>A. alternata</i>	0.2587	B
Muérdago con <i>A. infectoria</i>	0.2042	B
Muérdago Testigo (sin aplicación)	0.1454	B

Los valores agrupados con la misma letra no son significativamente diferentes entre sí, a un nivel de significancia del 5%.

La interacción entre crecimiento necrótico de la hoja y días de incubación no fue significativo, sin embargo la media estadística A muestra una diferencia entre el avance de daño de *Fusarium oxysporum* al que ocasiona *A. alternata* y *A. infectoria* ya que estos no presentan diferencia con el testigo (Gráfico 1) con un nivel de confianza del 99.9%.

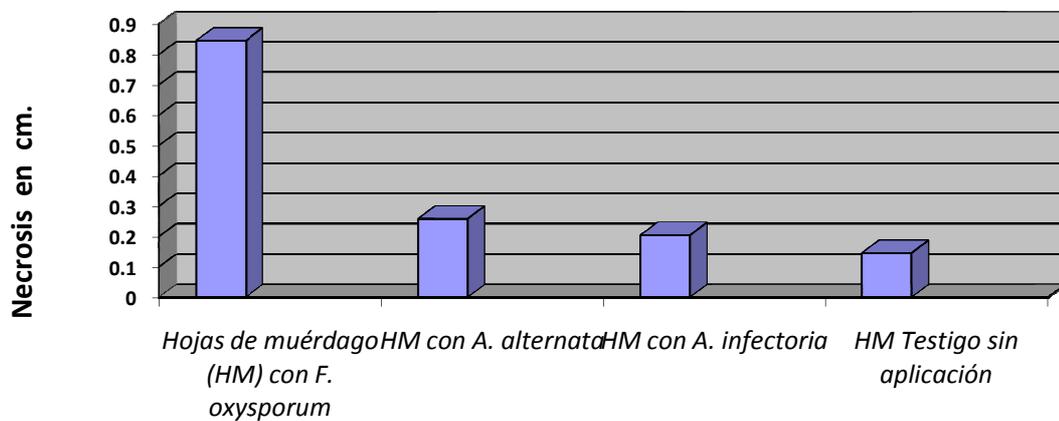


Gráfico 1 Representación del grado de necrosis en las hojas de muérdago dada en centímetros durante los 17 días del primer bioensayo.

4.2. Segundo bioensayo de patogenicidad

En el análisis de varianza se encontró diferencia altamente significativa (0.001) en la interacción crecimiento necrótico en las hojas de muérdago, después de aplicar conidias de hongos X 8 días, con un al 99.9% de confianza (Apéndice, Cuadro 2).

Tabla 2.- Prueba de Tukey para el rango múltiple de medias del grado de necrosis en el muérdago y en *Cupressus* dada en centímetros.

TABLA DE MEDIAS Y AGRUPACION								
Tratamiento de las hojas	1	2	3	4	5	6	7	8
Hoja de muérdago (HM) con <i>Fusarium oxysporum</i>	0.185 A	0.314 AB	0.428 A	0.550 A	0.728 A	1.852 B	2.288 A	3.087 A
HM con <i>A. alternata</i>	0.252 A	0.375 A	0.385 AB	0.507 A	0.714 AB	2.898 A	3.190 A	3.287 A
HM con <i>A. infectoria</i>	0.092 A	0.121 AB	0.121 ABC	0.157 AB	0.228 BC	0.342 C	0.415 B	0.557 B
<i>Cupressus</i> (C) con <i>F. oxysporum</i>	0.000 A	0.000 B	0.000 C	0.000 B	0.014 C	0.281 C	0.385 C	0.400 B
C con <i>A. alternata</i>	0.042 A	0.014 AB	0.028 BC	0.042 B	0.014 C	0.285 C	0.385 BC	0.400 B
C con <i>A. infectoria</i>	0.000 A	0.000 B	0.000 C	0.000 B	0.042 C	0.342 C	0.557 B	0.464 B
HM Testigo (sin aplicación)	0.000 A	0.028 AB	0.015 BC	0.057 B	0.085 BC	0.278 C	0.310 C	0.347 B

Los valores están dados en centímetros de necrosis en el muérdago y en *Cupressus*, durante los 8 días del segundo bioensayo. Los grupos con la misma letra no son significativamente diferentes entre sí, a un nivel de significancia del 5%.

La interacción entre crecimiento necrótico de la hoja y días de incubación fue altamente significativo a partir del segundo día. La media estadística A muestra una diferencia entre el avance de daño de *Fusarium oxysporum* en comparación con *A. alternata* y *A. infectoria*, sin embargo *A. alternata* en el día 4 estuvo a la altura de *F. oxysporum* pues quedaron con las mismas letras. Esto con un nivel de confianza del 99.9% (Gráfico 2).

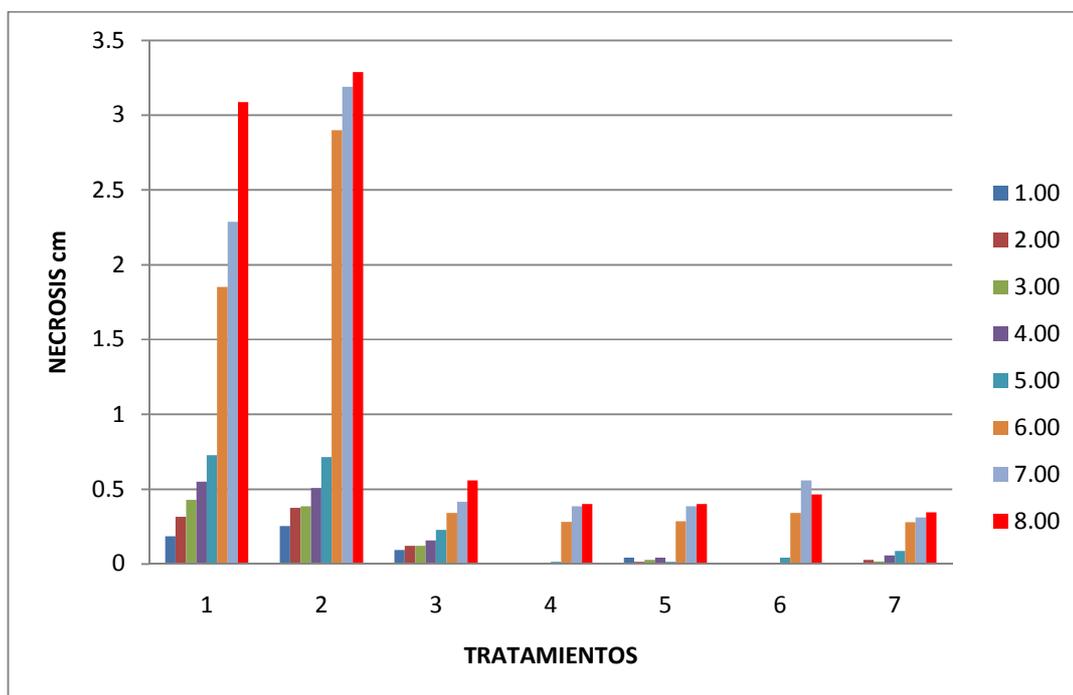


Gráfico 2. Representación del grado de necrosis en las hojas de muérdago y *Cupressus* dada en centímetros durante los 8 días del segundo bioensayo.

1= Hojas de muérdago (HM) con *F. oxysporum*, 2= HM con *A. alternata*, 3= HM con *A. infectoria*, 4= *Cupressus* (C) con *F. oxysporum*, 5= C con *A. alternata*, 6= C con *A. infectoria* y 7= Muérdago Testigo sin aplicación.

V. DISCUSIÓN

5.1. Hongos presentes en el muérdago

De acuerdo a Vázquez *et al.*, (2006) donde mencionan entre otros a *Alternaria alternata* como agentes de marchitez en los tallos del muérdago, el presente trabajo tuvo resultados iguales al encontrar nosotros también el mismo patógeno, coincidiendo probablemente por ser un trabajo hecho en México, como el nuestro.

Forest Restore of Canadá (1992), reportaron *Colletotrichum gloeosporioides* y *Cylindrocarpon sp* en *Arceuthobium tsugense*, que comparados con el presente trabajo no se encontraron, probablemente porque ellos trabajaron con *Arceuthobium tsugense* y nosotros con *Phoradendron bolleanum*, especies emparentadas pero no iguales.

Respecto a Funk, *et al.*, (1973), que encontró *Nectria fuckeliana var. macrospora* en *Arceuthobium vaginatum*, aquí nosotros tampoco encontramos estos hongos, por haber trabajado con *P. bolleanum* y no *Arceuthobium*.

5.2. Bioensayos de Patogenicidad

De acuerdo a los resultados de los dos métodos de inoculación del hongo en el muérdago, se puso en evidencia que el de suspensión de esporas es mucho más eficiente, porque en solo 8 días, las hojas de muérdago se llenaron de necrosis y en la del explante se tardaron 17 días.

En los análisis de varianza el resultado fue altamente significativo, y por lo tanto se puede aseverar que *Fusarium oxysporum* fue el hongo más agresivo para el muérdago, siguiéndole *Alternaria alternata* y *Alternaria infectoria*, sin afectación a *Cupressus*.

Algo que cabe mencionar es que los Coeficientes de variación, los cuales podemos apreciar en el apéndice, fueron obtenidos al transformar los datos y fue lo menos que se pudieron bajar.

El hongo *Colletotrichum gloeosporioides*, es común en la literatura (Deek, 2002 and Forest Restore of Canada, 1992) pero no se encontró debido probablemente a que dos de las colectas importantes se hicieron en tiempo de invierno, por lo que pensamos que esto haya influido para no encontrar a este hongo importante.

Sin duda, en base a los resultados podemos asegurar que el hongo *F. oxysporum* fue más agresivo en llenar las hojas de muérdago, sin embargo *Alternaria alternata* en el segundo bioensayo día 4 superó a *F. oxysporum*, por lo que se piensa que también este hongo tiene su propia patogenicidad hacia el muérdago *Phoradendron bolleanum*.

El que definitivamente no causó necrosis considerable, fue *Alternaria infectoria* hongo que creció muy lento en las hojas de muérdago.

Se recomienda seguir con esta línea de investigación, ya que hace mucha falta que se sigan estudiando los hongos que presentan los muérdagos para llegar a la meta deseada de poder obtener un efectivo control biológico de estas plantas parásitas.

VI. CONCLUSIONES

Una vez hechos los análisis de los 2 bioensayos de Patogenicidad de los hongos sobre el muérdago, y de acuerdo a los resultados obtenidos, se puede concluir lo siguiente:

Fusarium oxysporum fue el hongo que se comportó con una patogenicidad superior a los demás, por lo tanto, se puede aseverar que es un buen candidato para un futuro biocontrol de los muérdagos del género *Phoradendron*.

VII. RESUMEN

Los muérdagos (*Phoradendron bolleanum*) al ser plantas parásitas que están acabando con las coníferas de la Sierra de Arteaga, además de los Nogales de Saltillo, y ésta una de las causas mayoritarias de la muerte del arbolado, urge el estudio de los Hongos que lo atacan para un futuro control biológico de ésta planta parásita, por lo que se llevó a cabo el presente trabajo. Se hicieron 3 salidas importantes en esta investigación, la primera fue a la Sierra de Arteaga, específicamente a la región de los Lirios, de la cual se colectaron muérdagos *Phoradendron bolleanum*. La segunda salida fue a la misma región, pero ahora a la parte turística en Monterreal, donde se recolectaron muérdagos del género *Phoradendron lanceolatum*. La última salida fue a la zona urbana de Saltillo, para colectar muérdago de nogal (*Phoradendron macrophyllum*), cabe mencionar que todos los muérdagos se escogieron de los que traían manchas de hongos. Todos los muérdagos con hongos se trasladaron al laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN, Buenavista, Saltillo, en donde se sembraron en PDA y luego se aislaron para identificarse, encontrándose 3 hongos: *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* y *Alternaria infectoria*.

Con estos hongos se hicieron 2 pruebas de patogenicidad sobre los muérdagos, según la técnica de la hoja desprendida (Bañuelos Balandrán, 2008), en donde como unidad experimental fue una Caja Petri con papel filtro húmedo y una hoja de muérdago con un explante de PDA de 0.5 cm de diámetro de hongo, el otro bioensayo se hizo lo mismo, solo que ahora se

inocularon los hongos sumergiendo la hoja de muérdago en una suspensión de esporas. La evaluación se hizo con un diseño completamente al azar con arreglo factorial 4 X 17 con 7 repeticiones por cada tratamiento, el número de tratamientos fue de acuerdo al número de hongos, esto para el primer bioensayo, para el segundo fue con un arreglo factorial 7 X 8 con 7 repeticiones. Los análisis estadísticos se hicieron con el programa estadístico SAS, 2004 y se compararon las medias por medio de Tukey y se hizo la prueba DMS (Diferencia mínima significativa). Los resultados fueron 3 hongos encontrados: *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* y *Alternaria infectoria*. *F. oxysporum* tiene una mayor patogenicidad que el Hongo *Alternaria alternata* y *Alternaria infectoria*; en el primer bioensayo en los cuatro tratamientos de los 3 hongos y el testigo no hubo significancia en la interacción muérdago X días, por lo que no se pudo descomponer dicha interacción, pero sí *Fusarium oxysporum* superó en necrosis al resto con un 99.9% de confianza. El nivel de significancia utilizado en la prueba de comparación múltiple entre medias fue 0.001. Para el segundo bioensayo, en el análisis de varianza se encontró diferencia altamente significativa en la interacción de los tratamientos de hongos y los 8 días al 99.9 % de confianza. Por lo que se concluye que *Fusarium oxysporum* fue superior que los demás hongos, y por lo tanto un posible control biológico de muérdagos a futuro.

VIII. LITERATURA CITADA

- Abad G. (2002), Identificación de Fitopatógenos asociados a semillas mediante técnicas utilizadas por Plant Pathogen Identification Laboratory, Dept. of Plant pathology North Carolina State University. Primer Taller Internacional sobre "Identificación de Hongos y Stramenopilas Transmitidos por Semilla", Texcoco, México.
- Adams R. P. (1994), Revisionary study of Caribbean species of *Juniperus Cupressaceae*. *Phytologia* 78: 134-150
- Andersen B, Kroger E, Robert R. G. (2001), Chemical and morphological segregation of *Alternaria alternata*, *A. Gaisen* and *A. longipes*. *Mycol Res* 105: 291- 299.
- Andrews S. (1992), Differentiation of *Alternaria* species isolated from cereals on dichloran malt extract agar. pp. 351-355 en: Samson RA et al., editores. *Modern Methods in Food Mycology*. Elsevier, Amsterdam.
- Bañuelos Balandrán José Jaime (2008), Evaluación no destructiva de la Patogenicidad de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en Frijol (*Phaseolus vulgaris* L.)
- Barnett HL, Barry B. Hunter (1998), "Illustrated genera of Imperfect Fungi" Fourth Edition, APS PRESS, The American Phytopathological Society, St Paul, Minnesota, 218p.
- Booth, C. (1970), *Fusarium oxysporum* CMI descriptions of plant pathogenic fungi and bacteria. No. 211. Commonwealth Agricultural Bureaux. London.
- _____. (1975), The present status of *Fusarium* taxonomy. *Annual review of Phytopathology*. 13:83-93.
- Bosland, P. W. (1988), *Fusarium oxysporum* a pathogen of many plant species. *Advances in plant pathology*. 6:281-289.

- _____ and Williams, P. H. 1987. An evaluation of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozyme polymorphism, vegetative compatibility and geographical origin. Canadian Journal of Botany. 65:2067-2073.
- Cepeda Puente María Guadalupe (2010), Incidencia y Severidad de *Phoradendron spp* en la Sierra de Arteaga, Coahuila, México. TESIS UAAAN.
- Cibrián, T. D., D. Alvarado R. y S. E, García D (Eds). (2007), Enfermedades Forestales en México/ Forest Diseases in Mexico. Universidad Autónoma Chapingo; CONAFOR- SEMARNAT, México; Forest Service USDA, EUA; NRCAN Forest Service, Canadá y Comisión Forestal de América del Norte, COFAN, FAO. Chapingo, México. 587 p.
- CONAFOR (2012), Revista Electrónica de la Comisión Nacional Forestal. México Forestal.
<http://www.mexicoforestal.gob.mx/plagas/muérdago-reduce-crecimiento-del-arbolado-en-52>.
- Chou HH, Wu WS. (2002), Phylogenetic analysis of internal transcriber spacer regions of the genus *Alternaria* and the significance of filament-beaked conidia. 106: 164-169.
- Deeks Shannon, Shamoun Simon, and Punja Zamir (2002), Histopathology of Callus and Germinating Seeds of *Arceuthobium tsugense subsp. Tsugense* infected by *Cylindrocarpon cylindroides* and *Colletotrichum gloeosporioides*. Int. J. Plant Sci. 163(5): 765-773, Her Majesty the Queen in right of Canada, Canadian Forest Service.
- Ellis MB. (1971), Dematiaceous Hyphomycetes. CMI, Kew. *Alternaria* and the significance of filament-beaked conidia. 106: 164-169.
- Farjon, A. (2005), A monograph of Cupressaceae and Sciadopitys. Royal Botanic Garden, Kew. Richmond, Surrey. U. K.
- Funk A, JA Baranyay (1973), Additional fungi and a gall disease of dwarf mistletoe swellings in western hemlock. Can Plant Dis Surv 53: 182.
- F. G. Hawksworth and D. Weins (1996), Agric. Handb. 709, USDA, Forest Service, Washington, D.C. (2) B. C. Sutton. 1980. The Coelomycetes. Commonw. Mycol. Inst., Kew, England.
- Forest Renewal, British Columbia (1992), Leaflet ISBN 0-662-20243-0 Cat. No.Fo. 29-6/44-1992E Canadá- British Columbia Partnership, Agreement on Forest Resource Development- FRDA II BC Canadá.

- García Franco José Luis (2010), Identificación, Incidencia y Severidad del muérdago *Phoradendron* sobre *Quercus spp.* y *Juniperus spp.* en los Cañones Jamé y Los Lirios de la Sierra de Arteaga, Coahuila. TESIS UAAAN.
- Garret, S. D. (1977), Pathogenic root-infecting fungi. Cambridge press. 294p.
- Geils B. W., Vazquez C. L. (2002), Loranthaceae y Viscaceae in North America. Mistletoes of North American conifers. Gen. Tech. Rep. RMRS-GTR- 98
- Hawksworth F. G. (1980), Los muérdagos enanos y su importancia en la Silvicultura de México. Simposio Nacional sobre parasitología Forestal. Uruapan, Michoacan. Mexico. 208-228
- Hawksworth, F. G. y Scharpf R. F. (1980), *Phoradendron* on coníferas. Departament of Agriculture Forest Service.
- Konstantinova P *et al.* (2002), Development of specific primers for detection and identification of *Alternaria spp.* in carrot material by PCR and comparison with blotter and plating assays. Mycological Research 106: 23-33
- Kistler, H. C. (1977), Genetic diversity in the plant pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. Phytopathology. 87:474-479.
- Kuij (1969), The biology of parasitic flowering plants. University of California Press.
- Manning, W. E. (1949), The genus *Carya* in México, J. Arnold Arbor. 30: 425-432.
- Nelson (1981), Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. 51-80. In M. E. Mace, A: A: Bell and C. C.H. Beckman. (Eds). Fungal wilt diseases of plants. Academic Press. New York
- Neergaard (1977), Seed Pathology, Volume I y II, John Wiley& Sons New York 200-217 p.
- Olsen, M. W. (2003), True Mistletoes. The University of Arizona. Cooperative Extension. Publication AZ1308. 1-3 pp.
- Roberts RG *et al.* (2000), RAPD fragment pattern analysis and morphological segregation of small-spored *Alternaria* species and species groups. Mycological Research 104: 151-160.

- Scharpf R. F. and Hawksworth F. G. (1974), Mistletoes on hardwoods in the United States; Rocky Mt. Forest and Range Experimental Station, Ft. Collins, Colorado; Forest Pest Leaflet 147. U. S. Government Printing Office: 1974 O-547-468. 7p.
- SEMARNAT (2011), Anuario Estadístico de La Producción Forestal. [http://www.semarnat.gob.mx/temas/gestiónambiental/forestalsuelos/Anuarios/ANUARIO 2011 pdf.](http://www.semarnat.gob.mx/temas/gestiónambiental/forestalsuelos/Anuarios/ANUARIO%202011.pdf)
- Síntesis Geográfica de Coahuila (1983), Secretaría de Programación y Presupuesto, Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática, Dirección General de Geografía, México, D. F.
- Valencia, A. S. y G. Flores-Franco (2006), Catálogo de Autoridad Taxonómica del género *Quercus*, Fagaceae en México. Herbario FCME, Facultad de Ciencias, UNAM. Base de Datos SNIB- CONABIO proyecto CS008. México, D. F.
- Vázquez Collazo, *et al.*, (2006), Los muérdagos (Loranthaceae) en Michoacán. Instituto Nacional de investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de investigación Regional del Pacífico Centro, Campo Experimental, Libro técnico Núm. 2, División Forestal, Uruapan, Michoacán, 93p.
- Worrall and Brian Geils (2006), Dwarf mistletoes. The Plant Health Instructor. 01: 10.1094 (PHI- 1-2006-1117-01 APSnet
- Watson D. M. (2001), Mistletoe- a Keystone resource in forests and woodlands worldwide. Annual Review of Ecology and Systematics 32, 219- 249. DOI: 10.1146/ANNUREV. ECOL.SYS.32.081501. 114024
- Webster J. (1986), Introduction to Fungi. Cambridge University Press. pp. 393, 555-557.
- Worral J. and Geils B. (2006), Dwarf mistletoes. The Plant Health Instructor. USDA ForestService, DOI: 10.1094/PHI-I-2006-1117-01

I. APÉNDICE

Cuadro 1.- Análisis de varianza del primer bioensayo. Datos dados en centímetros y transformados con $\sqrt{X+0.1}$.

FV	GL	SC	CM	Fc	P≥F
HONGOS	3	12.913	4.304	48.636	0.000
DÍAS	16	5.688	0.355	4.0172	0.000
INTERACCION	48	1.167	0.024	0.274	1.000
ERROR	408	36.110	0.088		
TOTAL	475	55.879			
C.V. = 50.92%					

Cuadro 2.- Análisis de varianza del segundo bioensayo. Datos dados en centímetros y transformados con $\sqrt{X+0.1}$.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
HONGOS	6	26.4458	4.4076	66.6872	0.000
DÍAS	7	22.7469	3.2495	49.1657	0.000
INTERACCION	42	9.7538	0.2322	3.5137	0.000
ERROR	336	22.2076	0.0660		
TOTAL	391	81.1542			
C. V. = 40.18%					

Cuadro 3.- Nivel de infestación de árboles de acuerdo a CONAFOR, 2012.

Grado de infección	Daño	%volumen infectado de copa
0	Sano	0
1	Leve	1-30
2	Medio	31-60
3	Fuerte	61-90

Cuadro 4.- Componentes del medio Murashige & Skoog.

CONTITUYENTE	CONCENTRACION DE LA SOLUCION MADRE (g/L)	VOLUMEN DE LA SOLUCION MADRE POR LITRO DE MEDIO
Macros		100 ml
NH ₄ NO ₃	16.5	
KNO ₃	19	
CaCl ₂ . 2 H ₂ O	4.4	
MgSO ₄ .7H ₂ O	3.7	
KH ₂ PO ₄	1.7	
Micros		10 ml
MnSO ₄ .H ₂ O	1.69	
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0.86	
H ₃ BO ₃	0.62	
KI	0.083	
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.025	
CuSO ₄ .5H ₂ O 10 ml de solución 25 mg/100ml		10 ml
CoCl ₂ .6H ₂ O 10 ml de solución 25 mg/100ml		
Fuente de hierro		10 ml
FeSO ₄ .7H ₂ O	0.00556	
Na ₂ EDTA.2H ₂ O	0.00746	
Vitaminas		10 ml
Inositol	10	
Nicotínico	0.05	
HCl-Piridoxina	0.05	
Glicina	0.2	
HCl-Tiamina	0.01	

Cuadro 5.- Concentración de esporas de hongo por mililitro de agua destilada estéril.

Hongo	Esporas/mililitro
<i>Fusarium oxysporum</i>	7 x 10 ⁶
<i>Alternaria alternata</i>	5 X 10 ⁶
<i>Alternaria infectoria</i>	6 x 10 ⁶