

# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

---

INSTITUCION DE ENSEÑANZA E INVESTIGACION EN CIENCIAS  
AGRÍCOLAS



CAMPUS MONTECILLO  
POSTGRADO DE FITOSANIDAD



FITOPATOLOGÍA

**ALTERNATIVAS DE CONTROL PARA EL MANEJO  
DE *Cladocolea loniceroides* (Van Tiegh) Kuijt y *Struthanthus  
interruptus* (Kunth) Blume PRESENTES EN LA ZONA  
URBANA DEL DISTRITO FEDERAL, MÉXICO**

BIOL. VICTORIA CÁRDENAS SOLÍS

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:  
MAESTRA EN CIENCIAS

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MEXICO

2014

La presente tesis titulada: **ALTERNATIVAS DE CONTROL PARA EL MANEJO DE *Cladocolea loniceroides* (Van Tiegh) Kuijt y *Struthanthus interruptus* (Kunth) Blume PRESENTES EN LA ZONA URBANA DEL DISTRITO FEDERAL, MÉXICO.**

Realizada por el alumno: Victoria Cárdenas Solís bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRA

EN CIENCIAS

FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERO

\_\_\_\_\_

Dr. Dionicio Alvarado Rosales

ASESOR

\_\_\_\_\_

Dr. Armando Equihua Martínez

ASESOR

\_\_\_\_\_

M. en C. Silvia Edith García Díaz

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Agosto de 2014

## DEDICATORIA

*“En lo tocante a la ciencia, la autoridad de un millar no es superior al humilde razonamiento de una sola persona”.*

Para mis padres Victor y Beatriz por su interminable apoyo en todo momento de mi vida, por sus enseñanzas, consejos y por su eterna paciencia.

Para mis hermanos Brisa, Victor y Ernesto, por todo su apoyo y consejos que me han brindado.

A los sueños y a la vida, por todo el aprendizaje que he forjado en el camino a la Felicidad.

<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>I</b>
<b>ÍNDICE.....</b>	<b>II</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS.....</b>	<b>V</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS.....</b>	<b>IX</b>
<b>ÍNDICE DE APÉNDICES.....</b>	<b>X</b>

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por financiar mis estudios de Maestría.

A la Dirección de manejo y regulación de áreas verdes urbanas, especialmente a las biólogas Ma. Teresa Cantoral Herrera (responsable del centro de manejo fitosanitario) y Ma. Teresa Patiño Pineda (asesor técnico), por todo el apoyo, asesoría, comentarios y amistad que me brindaron para el desarrollo de dicha investigación.

A la Facultad de ciencias UNAM, Departamento de Ecología y Recursos Naturales, laboratorio de Fitoquímica, en especial a la Dra. Josefina Herrera Santoyo por todo el apoyo, asesoría, comentarios y amistad que me brindo en el desarrollo de esta investigación.

Al Colegio de Postgraduados, Posgrado de Fitosanidad-Fitopatología, laboratorio de Histología, en especial a la Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce por su asesoría, apoyo y comentarios.

A los miembros de mi consejo particular Dr. Dionicio Alvarado Rosales, Dr. Armando Equihua Martínez, M en C Silvia Edith García Díaz, por su colaboración y paciencia en la elaboración de esta investigación.

Al Colegio de Postgraduados, en especial al Posgrado de Fitosanidad-Fitopatología y sus investigadores.

A mis padres victor y bety, mis hermanos brisa, victor y ernesto quienes siempre han sido cómplices de mis sueños gracias por estar siempre a mi lado.

Y muy especial a todas las personas que estuvieron y han estado en mis sueños, gracias por las palabras de aliento que me brindaron para ser una mejor persona.

## **INDICE**

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	3
2. OBJETIVOS.....	6
3. HIPOTESIS.....	7
4. JUSTIFICACIÓN.....	7
5. REVISIÓN DE LITERATURA.....	8
6. BIBLIOGRAFÍA CITADA.....	21

## **CAPITULO I.**

### **Contribución al conocimiento de *Cladocolea loniceroides* (Van Tiegh) Kuijt y *Struthanthus interruptus* (Kunth) blume, en arbolado del Distrito Federal.**

RESUMEN.....	25
ABSTRACT.....	26
1. INTRODUCCIÓN.....	27
2. OBJETIVO.....	28
3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	29
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
6. CONCLUSIONES.....	48
7. BIBLIOGRAFIA CITADA.....	49

## **CAPITULO II**

### **Control biológico y agrohomeopático de *Cladocolea loniceroides* (Van Tiegh) Kuijt y *Struthanthus interruptus* (Kunth) Blume.**

RESUMEN.....	51
ABSTRACT.....	52
1. INTRODUCCIÓN.....	53
2. OBJETIVO.....	54
3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	55
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	63
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	71
6. CONCLUSIÓN.....	84
7. LITERATURA CITADA.....	85

## **CAPITULO III**

### **Aleopatía para la inhibición de *Cladocolea loniceroides* (Van Tiegh) Kuijt y *Struthanthus interruptus* (Kunth) Blume**

RESUMEN.....	95
ABSTRACT.....	96
1. INTRODUCCIÓN.....	97
2. OBJETIVO.....	99
3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	100
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	107
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	110

6. CONCLUSIONES.....	122
7. BIBLIOGRAFIA CITADA.....	123

#### **CAPITULO IV**

##### **Descripción del haustorio secundario *Struthanthus interruptus* (Kunth) Blume**

RESUMEN.....	127
ABSTRACT.....	128
1. INTRODUCCIÓN.....	123
2. OBJETIVO.....	130
3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	131
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	135
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	138
6. CONCLUSIONES.....	142
7. BIBLIOGRAFIA CITADA.....	144



## INDICE DE FIGURAS

### INTRODUCCION GENERAL

<b>Figura 1.</b> <i>Cladocolea loniceroides</i> .....	14
<b>Figura 2.</b> <i>Struthanthus interruptus</i> .....	15
<b>Figura 3.</b> Escala de infección por muérdago verdadero” modificada por Alvarado y Saavedra (2005).....	17
<b>Figura 4.</b> Escala utilizada en el monitoreo de Mora <i>et al.</i> 2009-2010.....	19

### CAPITULO I

<b>Figura 1.</b> A) Tratamientos en bloques al azar; B) Semilla con testa de <i>Struthanthus interruptus</i> ; C) eliminación de la testa de <i>S. interruptus</i> ; y D) colocación de semillas al azar de <i>S.</i> <i>interruptus</i> en fresno.....	35
<b>Figura 2.</b> A) Capas de la semilla de <i>Cladocolea loniceroides</i> , B) semillas maduras de <i>C. loniceroides</i> y C) semillas maduras e inmaduras de <i>Struthanthus interruptus</i> .....	36
<b>Figura 3.</b> Porcentaje y desviación estándar de germinación y viabilidad.....	38
<b>Figura 4.</b> Muerte de <i>Cladocolea loniceroides</i> a - 4 °C.....	42
<b>Figura 5.</b> Ciclo biológico <i>Cladocolea loniceroides</i> de acuerdo a observaciones <i>In situ</i> .....	43
<b>Figura 6.</b> Semilla madurando de <i>Struthanthus interruptus</i> el día 11 de enero del 2013.....	44
<b>Figura 7.</b> Ciclo biológico de <i>Struthanthus interruptus</i> acuerdo a observaciones <i>In situ</i> .....	47

## CAPITULO II

- Figura 1.** Necrosis en hoja de *Struthanthus interruptus*..... 64
- Figura 2.** Repeticiones de acuerdo al eje cardinal, tratamiento por concentración y por hongo, a) *Fusarium foae*, b) *F. lateritium*, c) *F. solani* y d) *Phoma longicola*, para el caso de *C. loniceroides* y a) *Alternaria longipes*, b) *A. brassicinae*, c) *F. equiseti* y d) *F. solani* en *S. interruptus*..... 69
- Figura 3.** Inyección en raíz del árbol en dirección hacia el muérdago..... 70
- Figura 4.** Síntomas causados por fitoplasmas a) aplanamiento de tallo y b) desarrollo vegetativo en *C. loniceroides*..... 72
- Figura 5.** Género *Uromyces* a) Síntomas y telias, b) acias sobre fruto, c) acias sobre hojas, d y e) teliosporas y f) aeciosporas, en *C. loniceroides*..... 73
- Figura 6.** Síntoma de necrosis y formación de micelio a las 72 hrs en hojas de *C. loniceroides*..... 74
- Figura 7.** Ausencia de síntomas, 72 hrs. después de la inoculación, a) *C. loniceroides* y b) *S. interruptus*..... 75
- Figura 8.** Síntomas de necrosis y formación de micelio a las 48 hrs., a) *Fusarium foae*, b) *F. lateritium*, c) *Phoma longicola* y d) *F. solani*..... 76
- Figura 9.** Síntomas presentes a las 48 hrs. a) Mancha necrótica por *Alternaria longipes*, b) Mancha necrótica y micelio por *A. brassicinae*, c) mancha necrótica y clorosis por *F. equiseti* y d) mancha necrótica por *F. solani*..... 76
- Figura 10.** A las 72 hrs., control sano y las cinco repeticiones invadida completamente por *F. foae*, a) *C. loniceroides* y b) *S. interruptus*..... 77
- Figura 11.** Efecto de *F. foae* como agente de control biológico, a) 22, b) 45 y c) 109 días..... 79
- Figura 12.** *S. interruptus*, a) día de la inoculación, b) 22 días, síntoma de clorosis y puntos necróticos, c) 45 días pérdida de follaje y síntomas presentes y d) 65 días 80% de pérdida de

follaje.....	80
<b>Figura 13.</b> Perdida de follaje, a) 22 días y b) 43 días después de la inyección.....	82
<b>Figura 14.</b> <i>S. interruptus</i> , a) sin inyección agrohomeopática. b) 22 días, c y d) a los 43 días.....	84
 <b>CAPITULO III</b>	
<b>Figura 1.</b> Diseño experimental.....	107
<b>Figura 2.</b> Rendimiento de los extracto de hoja y tallo de cada 100 g y de flor 45 g de material vegetal molido.....	111
<b>Figura 3.</b> Rendimiento de los extracto de hoja y tallo de cada 100 g y de flor 75 g de material vegetal molido.....	112
<b>Figura 4.</b> Bioensayos de inhibicion A) extracto alcaloidico de <i>C. loniceroides</i> de hoja a 1000 ppm, B) cafeína, C) cloroformo y C) agua.....	114
<b>Figura 5.</b> Porcentajes de inhibición en semillas de <i>Lactuca sativa</i> a con los cuatro extractos a diferentes concentracions y su grupo control.....	116
<b>Figura 6.</b> Bioensayos de inhibicion A) extracto alcaloidico de <i>S. interruptus</i> de hoja a 1000 ppm, B) cafeína, C) cloroformo y C) agua.....	119
<b>Figura 7.</b> Porcentajes de inhibición de <i>Lactuca sativa</i> a con los cuatro extractos a diferentes concentraciones, respecto al grupo control (agua, cloroformo y cafeína).....	120
 <b>CAPITULO IV</b>	
<b>Figura 1.</b> <i>Struthanthus interruptus</i> a 42 días después de la inoculación, a) mesocarpo, b) cuello, c) apresorio y d) hospedante Fresno ( <i>Fraxinus</i> sp.).....	132
<b>Figura 2.</b> Raíz epicortical de <i>Struthanthus interruptus</i> en <i>Ligostrium</i> sp., a) Raíz epicortical (RE) joven, b) haustorio secundario, c) hospedante y d) haustorio primario.....	138
<b>Figura 3.</b> Fotomicrografía de sección transversal del haustorio secundario de <i>Struthanthus interruptus</i> en <i>Ulmus</i>	

sp. A. Vista general del haustorio secundario en donde se observa el desplazamiento de la corteza y endófito en el xilema del hospedante. B-E. Detalles de la interacción entre la planta parásita y su hospedante. B. Células de la base del haustorio secundario caracterizadas por presentar núcleos grandes. C-E. Tejidos del cuerpo hialino, constituido por células meristemática, elementos traqueales y esclereidas. P: peridermis; M: medula; X: xilema; CT: corteza; EF: endófito; CC; células colapsadas; TR: traqueidas; ES: esclereidas; CR: cristales. Barras A: 1mm, B-D: 1000µm..... 140

**Figura 4.** Fotomicrografía de sección transversal del haustorio secundario de *Struthanthus interruptus*. A. Detalle de la interfase parásito-hospedante en donde se observan las células asociadas al endófito penetrando el tejido vascular del hospedante. B. Haustorio secundario en *Taxodium* sp. con acumulación de almidón (Flechas). C. Haustorio secundario en *Taxodium* sp. en donde se aprecia pequeñas áreas con depósitos de calosa (\*). BHS: base del haustorio secundario, CH: cuerpo hialino, X: xilema. A y C: 100 µm; B: 1mm..... 141

## INDICE DE CUADROS

### INTRODUCCION GENERAL

<b>Cuadro 1.</b> Proceso de germinación en días <i>de Cladocolea loniceroides</i> en diferentes hospedantes.....	18
--	----

### CAPITULO I 15

<b>Cuadro 1.</b> Inicio de la germinación, día 7 hasta el día 99 <i>de Struthanthus interruptus</i> en diferentes hospedantes.....	41
--	----

<b>Cuadro 2.</b> Inicio de la germinación, día 7 hasta el día 99 <i>de Struthanthus interruptus</i> en diferentes hospedantes.....	46
--	----

### CAPITULO III

<b>Cuadro 1.</b> Porcentajes de inhibición de <i>Lactuca sativa</i> expuestas a los extractos de <i>C. loniceroides</i> a 10, 100 y 100 ppm.....	114
--	-----

<b>Cuadro 2.</b> Porcentajes de inhibición de <i>Lactuca sativa</i> expuestas a los extractos de <i>C. loniceroides</i> a 10, 100 y 100 ppm.....	118
--	-----

## INDICE APÉNDICES

### CAPITULO II

**Apéndice I.** Hongos utilizados en pruebas de patogenicidad *in vitro* en hojas de *Cladocolea loniceroides*. 89

**Apéndice II.** Hongos utilizadas en pruebas de patogenicidad *in vitro* en hojas de *Struthanthus interruptus*. 90

**Apéndice III.** Aplicaciones de agentes de control biológico en plantas de *Cladocolea loniceroides*. 91

**Apéndice IV.** Aplicaciones de agentes de control biológico en plantas de *Struthanthus interruptus*. 92

**Apéndice V.** Aplicaciones de soluciones agrohomeopático para árboles infestados de *Cladocolea loniceroides*. 93

**Apéndice VI.** Aplicaciones de soluciones agrohomeopáticas en arboles infestados de *Struthanthus interruptus*. 94

## RESUMEN

### **ALTERNATIVAS DE CONTROL PARA EL MANEJO DE *Cladoclea loniceroides* (Van Tiegh) Kuijt y *Struthanthus interruptus* (Kunth) Blume PRESENTES EN LA ZONA URBANA DE LA CIUDAD DE MÉXICO**

Colegio de Postgraduados  
Fitosanidad – Fitopatología, 2014

Victoria Cárdenas Solís

En las ciudades, las áreas verdes urbanas representan sistemas ambientales que juegan un papel importante para los ciudadanos, desempeñando una doble función, por un lado contribuyen al aspecto social, siendo espacios públicos de recreación, ocio y democratizadores, además de ser un importante factor en el ámbito ecológico ya que funcionan como “pulmones” para las ciudades. La calidad de vida de los ciudadanos esta sustentada en gran parte en sus áreas verdes urbanas, donde los árboles son elementos que aportan múltiples beneficios, desgraciadamente el número de árboles se ha disminuido por diversos factores bióticos y abióticos que pueden alterar la salud de estos espacios, un ejemplo de ello son los muérdagos, que son plantas parasitas o hemiparásitas que afectan a los árboles de los áreas y bosques urbanos de la Cd. de México. Estudios sobre su biología y control son pocos e insuficientes para poder tener un control efectivo, es por eso que este estudio tuvo como objetivos encontrar alternativas de control y contribuir al conocimiento del ciclo biológico de *Cladoclea loniceroides* y *Struthanthus interruptus*, muérdagos que tiene un impacto negativo en el buen desarrollo del arbolado urbano.

**Palabras claves.** Bosques urbanos, manejo y control, *Cladoclea loniceroides*, *Struthanthus interruptus*.

## ABSTRACT

### **CONTROL ALTERNATIVES FOR MANAGING *Cladoclea loniceroides* (Van Tiegh) Kuijt and *Struthanthus interruptus* (Kunth) Blume PRESENT IN THE URBAN ZONE OF MEXICO CITY**

Colegio de Postgraduados  
Fitosanidad – Fitopatología, 2014

Victoria Solis Cardenas

In the cities, urban green areas represent environmental systems that play an important role for dwellers, playing a dual role, on one hand they contribute to the social aspect, being public spaces for recreation, leisure and democratization, as well as being an important factor in the ecological environment as it works as "lungs" for cities. The quality of life of dwellers is sustained largely on their urban green areas where trees are elements that provide multiple benefits, unfortunately the number of trees has decreased by various biotic and abiotic factors that affect their health of these spaces, an example of this is the mistletoe, which are parasitic or hemiparasites plants that affect trees and urban forest areas of Mexico City. Studies on the biology and control are few and insufficient to have effective control, that is why this study aims to find alternatives of control and contribute to the knowledge of the biological cycle of *Cladoclea loniceroides* and *Struthanthus interruptus*, mistletoes that have a negative impact in the successful development of urban trees.

**KeyWords:** Urban forests, management and control, *Cladoclea loniceroides* y *Struthanthus interruptus*.



## 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Históricamente las áreas verdes urbanas han tenido una función fundamental en el desarrollo de los centros urbanos, lo que ha dependido de la época en que dichas áreas han sido creadas y del modelo de la ciudad que ha estado detrás de estas propuestas espaciales. Muchas de las ciudades antiguas contaban con áreas agrícolas dentro de las murallas de protección. En la cultura mesopotámica y mucho más tarde, en el esplendor del islam, los jardines al interior de recintos urbanos alcanzaban fabulosas conformaciones. En la edad media, los patios con jardines de las iglesias cobraron importancia porque eran espacios para la reflexión y la paz espiritual. En la época del renacimiento, las ciudades Europeas presentaban murallas que limitaban las ciudades con hileras de árboles, a manera de proveer a las clases dominantes lugares para espacios de relajación y la recreación. Los jardines europeos se caracterizaron por ser estructuras de la vida aristócrata y por aportar al entorno urbano la concepción del verde como espacios para la reflexión, pensamiento y la vida romántica (Rodríguez *et al.*, 2003).

Años después, con el incremento de la población en las grandes ciudades durante la revolución industrial, contribuyó a la emergencia de espacios públicos disponibles para todas las clases sociales, lo que determinó la posterior conformación de las áreas verdes urbanas. Dentro de los líderes de la construcción de espacios urbanos en el siglo XIX, uno de los más connotados fue Fredereck Law Olmsted, quien diseñó el Central Park, de la ciudad de Nueva York. Olmsted estaba interesado en espacios públicos que aglutinaran necesidades sociales y psicológicas de la población. Sin embargo, Botkin en 1997 señala que el propósito primario de las áreas verdes urbanas en el siglo XIX no fue ni estético, ni de conservación y mucho menos de conservación biológica, sino más bien fue parte de una serie de reformas sanitarias que los

gobiernos de las ciudades consideraron para contrarrestar la amenaza de enfermedades producto de la rápida industrialización y urbanización. En la actualidad, los jardines y áreas verdes de uso públicos son capaces de generar enormes beneficios económicos a la ciudad además de los valores estéticos e históricos intrínsecos que se pueden encontrar en ellos (Rodríguez *et al.*, 2003).

En las ciudades, las áreas verdes representan sistemas ambientales, que juegan un papel importante para los ciudadanos, desempeñan una doble función, por un lado contribuyen al aspecto social, siendo espacios públicos de recreación, ocio y democratizadores, además de ser un importante factor en el ámbito ecológico ya que funcionan como “pulmones” para las ciudades (Romero *et al.*, 2001). La contaminación en las ciudades, significa un problema ambiental que afecta a la salud y el bienestar de los ciudadanos (Escobedo *et al.* 2009). Dentro de las funciones ecológicas de las áreas verdes urbanas, se encuentra el secuestro de carbono, la formación de oxígeno, el aislamiento del ruido y amortiguación de la temperatura, además de albergar diversas especies de animales, plantas y hongos que favorecen la conservación de la biodiversidad (Sierra *et al.*, 2010) y que son necesarios para su propio auto-mantenimiento, por lo que el resultado será las interacciones de los factores bióticos y abióticos (Dobbs *et al.*, 2011).

Además de los servicios ambientales, las áreas verdes proporcionan servicios sociales y psicológicos, que son de gran importancia para el bienestar de los habitantes de las ciudades (Chiesura A. 2004). La experiencia y el contacto con las áreas verdes urbanas, reduce significativamente el estrés y proporciona una sensación de tranquilidad; por ejemplo, en un hospital pacientes que se encuentran en recuperación y pueden contemplar por la ventana los árboles y la naturaleza su recuperación es más rápida, en comparación de aquellos que solo pueden observar edificios y concreto (Ulrich 1981). En estudios posteriores, los resultados fueron similares reforzando las hipótesis de

que los ambientes naturales tiene una influencia positiva en la salud psicológica y mental (Ulrich 1984).

Se han realizado diferentes estudios sobre las áreas verdes urbanas en Brasil, Argentina, Ecuador y México, el objetivo de estos trabajos ha sido principalmente la gestión y estado del arbolado, así como los componentes específicos que conforman la vegetación urbana (Escobedo *et al.* 2006).

Los bosques y las áreas verdes urbanas son de gran importancia ambiental y para la calidad de vida de los ciudadanos, desgraciadamente las condiciones que tienen dichas áreas no son las mejores ya que al convivir en un medio urbano, donde hay la presencia de contaminantes, suelo compactado, pobre de nutrientes, escases de agua, estrés hídrico en algunas temporadas, etc., aunado al efecto del cambio climático, conlleva a que dichas áreas se encuentren susceptibles a la presencia de agentes causantes de enfermedades, como la presencia de muérdagos verdaderos, que después de años sin atención de dicha enfermedad repercute en la remoción de árboles y esto, aunado a la poca información sobre su manejo y biología, causa un gran impacto para las áreas verdes y bosques urbanos, es por eso la importancia de estudios como este cuya finalidad es conocer más sobre la biología y empleo de diferentes medios de control.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. General**

- Alternativas de control para el manejo de los muérdagos *Cladocolea loniceroides* y *Struthanthus interruptus* presentes en la zona urbana del Distrito Federal.

### **2.2. Particulares**

- Contribuir a determinar el ciclo biológico de *Cladocolea loniceroides* y *Struthanthus interruptus*.
- Evaluar el efecto del control biológico y agrohomeopático en las especies de muérdago.
- Evaluar el efecto de los extractos hexánico, acetato de etilo, metanólico y alcaloídico de *C. loniceroides* y *S. interruptus* como inhibidoras de la germinación de *Lactarius sativa*
- Descripción del haustorio secundario de *S. interruptus*.

### **3. HIPÓTESIS**

Alternativas de control para el manejo de *Cladocolea loniceroides* y *Struthanthus interruptus* es una opción para reducir el impacto negativo que ocasiona en el arbolado urbano del Distrito Federal.

### **4. JUSTIFICACIÓN**

El impacto negativo que las plantas hemiparásitas están causando sobre el arbolado urbano en la Cd. de México justifica el conocimiento de las mismas para fundamentar la elaboración de planes de manejo y técnicas para su control integral, ya que la enfermedad que ocasionan debilita a los árboles e incluso los mata, con la consecuente pérdida de la conservación y preservación de las áreas verdes urbanas.

## **5. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **5.1. Problemática de las áreas verdes urbanas en la Ciudad México.**

Chacalo en 1994, menciona que grandes esfuerzos se han realizado para la plantación de árboles y el cuidado de las áreas verdes urbanas en la ciudad de México, pero la planificación, selección y el mantenimiento no han sido los adecuados.

Las áreas verdes urbanas conforman un recurso indispensable para la sustentabilidad y el mejoramiento de la calidad de vida de los habitantes de las ciudades. La superficie total del Distrito Federal cubierta por áreas verdes representa el 18.5%, siendo las delegaciones Miguel Hidalgo, Coyoacán, Cuajimalpa, Xochimilco y Tlalpan las que concentran más del 50% de esta superficie; mientras que las delegaciones Azcapotzalco, Benito Juárez, Cuauhtémoc, Iztacalco e Iztapalapa sólo contribuyen con 10% del total (PAOT, 2011).

La Ley General de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (LGEEPA) en el 2013, hace mención en el Artículo 1ro., Fracción I y III que “se debe de garantizar el derecho a todos a vivir en un ambiente adecuado para su desarrollo, salud y bienestar; así como la preservación, restauración y el mejoramiento del ambiente”.

La calidad de vida de los ciudadanos está sustentada en gran parte en sus áreas verdes urbanas, donde los árboles son elementos que predominan porque proporcionan múltiples beneficios ambientales (SMA, 2009). Desafortunadamente, las enfermedades de los árboles son consideradas problemas que tienen una grave influencia, algunos de los efectos que causan incluye el retardo de crecimiento, pérdida de volumen y/o su degradación. La preocupación acerca de las consecuencias de las enfermedades forestales pareciera que únicamente es cuando la silvicultura alcanza un cierto grado de intensidad. En

pocas palabras, cuando la presencia de la enfermedad comienza a provocar seriamente efectos negativos (FAO, 1965).

Las enfermedades son componentes dinámicos y naturales de cualquier ecosistema. Sin embargo, bajo ciertas condiciones pueden afectarlos negativamente; un ejemplo es que al reducir las tasas de crecimiento y de supervivencia de los árboles, disminuyen los hábitat de la vida silvestre, el valor recreativo, escénico y cultural de los bosques (FAO, 2007). La incidencia y presencia de las enfermedades se encuentran representadas por organismos patógenos o por las condiciones ambientales. Una vez que la enfermedad se establece esta tarda en producir cambios histológicos, dichos cambios se hacen notables y vienen a constituir los síntomas de enfermedades (Agrios, 2004).

Desafortunadamente, el número de árboles ha disminuido en los últimos años por diversos factores bióticos y abióticos que pueden alterar la salud de estos espacios, como es la presencia de agentes patógenos que causan enfermedades en los que se incluyen hongos, bacterias, virus, fitoplasmas, plantas parásitas, etc.,

Se ha estimado que alrededor de un 1% (aproximadamente 3000 especies) de las plantas superiores son parásitas de otras plantas. Estas plantas forman conexiones estrechamente con el sistema vascular de la planta hospedante a través de estructuras especializadas denominadas haustorios y obtiene de ella su nutrientes (Musselman *et al.* 1995). En las plantas cultivadas como cítricos, tejocote, aguacate, etc., solo unas pocas especies llegan a causar trastornos fisiológicos lo suficientemente grandes como para requerir su combate. Estas plantas están limitadas a las Familias Scrophulariaceae, Convolvulaceae, Viscaceae y Loranthaceae, los daños causados por estas plantas pueden ser considerables.

## 5.2. Los Muérdagos.

“Muérdago” es el nombre común mediante el cual se le designa a las plantas hemiparásitas y parásitas que infectan árboles y arbustos (Marchal, 2009), más de 1400 especies pertenecen a cinco Familias del orden Santalales (Hosseini *et al.*, 2008). Existe una gran diversidad de clasificación de los muérdagos, lo cual muestra lo mucho que aun esta por saberse y por determinar de ellos. Una de sus clasificaciones señala que la gran mayoría de los muérdagos pertenecen a la Familias Loranthaceae (muérdagos gigantes, verdaderos o tropicales) y Viscaceae (muérdagos enano o templados) (Marchal, 2009).

Entre las diferencias de estas dos Familias, se encuentra la diferencia en los cromosomas y en la morfología. Una de las características más distintivas en la Familia Viscaceae son las flores pequeñas e inconspicuas, su presencia en zonas tropicales y templadas, mientras que en la Familia Loranthaceae sus flores son grandes, coloridas, poseen cálculo y se encuentran generalmente en las zonas tropicales. Estas dos Familias se encuentran presentes en México, la familia Loranthaceae presenta 75 géneros, de los cuales 72 géneros son parásitos y hemiparásitas aéreos. Los géneros con una mayor incidencia e importancias son *Cladocolea*, *Struthanthus*, *Psittacanthus*, *Dendropemon* (Vázquez, *et al* 2002).

Los muérdagos en general han sido durante mucho tiempo especies de importancia en algunos pueblos y en diferentes culturas jugando un papel sagrado, mítico y mágico; han sido una fuerte inspiración para el arte, en la sociedad actual; en la agricultura los muérdagos en general proporcionan follaje, colorantes y algunas medicinas. Pero la gran mayoría de los muérdagos se encuentran en gran abundancia en diferentes localidades alterando significativamente el ambiente, debido a que causan enfermedad y perturbación en diferentes ecosistemas (Vázquez, *et al* 2002).



### 5.3. Importancia de los muérdagos verdaderos

Los muérdagos verdaderos se presentan con una mayor distribución geográfica en áreas de África, Australia, Nueva Zelanda, Malasia (Geils *et al.* 2002), Canadá, Estados Unidos de América y México (Wilson *et al.* 2006), teniendo un grupo extenso de hospedante en coníferas y plantas leñosas (Geils *et al.* 2002).

En México, para el año 2010 la CONAFOR atendió las plagas y enfermedades de acuerdo a su nivel de importancia, las plantas parasitas se encontraron en segundo lugar con 15, 260. 554 ha. Cházaro en 1987, reportó su distribución en todos los estados de la república, siendo Chiapas, Oaxaca y Veracruz los que presentaron el mayor número de especies, en donde se incluyen los géneros *Cladocolea* y *Struthanthus.*, el objetivo de la CONAFOR de atender las plagas y enfermedades fue reducir los efectos negativos económicos, ecológicos y sociales en el país.

Sandoval y Gutiérrez (2006), muestrearon áreas verdes y camellones en 10 delegaciones del Distrito Federal, observaron a 15 Familias botánicas susceptibles al muérdago verdadero, encontrando un 17 % de árboles sanos, 29% con infestación leve, 25% con infestación media y 29% con infestación severa.

Arriola y colaboradores (2010), realizaron un monitoreo y evaluación del muérdago verdadero en áreas verdes urbanas de la ciudad de México, mencionando el desconocimiento de las especies así como su distribución, por lo que se ha limitado la implementación de planes de manejo. Del total observados, el 49.11% de los árboles presentaron nivel dos de infestación (con una mata de muérdago), 38.39% tres (con más de una mata de muérdago pero domina el follaje del hospedante) y el 12.50% cuatro (más de una mata pero domina el muérdago).

La PAOT en conjunto con la Secretaria del Medio Ambiente (SMA) en el 2011, retiraron 67 árboles de la delegación Azcapotzalco, debido a la muerte a causa del muérdago *Struthanthus* sp. Así mismo, en el 2012 realizaron un censo-diagnóstico del arbolado infectado por muérdago en los poblados de San Juan Tepenáhuac y Santa Ana Tlacotenco en la delegación de Milpa Alta, en donde realizaron recorridos para la observación de las condiciones que presenta el arbolado urbano; encontrando que una alta densidad de árboles se encontraba afectada. De acuerdo a las características físicas y fitosanitarias de cada ejemplar forestal, de los 726 ejemplares con muérdago, 158 presentaban un estado fitosanitario bueno, 351 un estado regular y 217 en mal estado.

Durante el 2012, en el parque Tezozómoc se podaron 900 árboles que presentaban algún grado de infección por muérdago y se retiraron 600 individuos arbóreos secos, muertos o que representaban un riesgo para los visitantes, “se erradicó completamente el brote de muérdago y se implementó el cuidado de la salud de más de 5 mil 700 árboles de ese espacio recreativo”, señaló el jefe delegacional.

#### **5.4. Taxonomía de muérdagos verdaderos**

**Reino** Plantae

**División** Espermatofitos

**Subdivisión** Angiospermae

**Clase** Dicotiledóneas

**Orden** Santalales

**Familia** Loranthaceae

**Genero** *Cladocolea*

*Struthanthus*

## LORANTHACEAE

Planta generalmente arbustiva o subarbustiva, hemiparasitas de arbustos y árboles, rara vez árboles de vida libre; tallos comúnmente dicotómicos; hojas verdes, amarillas hasta anaranjadas o negras, simples, enteras, a veces reducidas a escamas, generalmente opuestas, sin estipulas; flores solitarias o agrupadas en inflorescencia racimosas, panículas o espigas; flores hermafroditas o unicelulares (plantas generalmente dioicas), actinomorfas, perianto biseriado, de 3 a 6 divisiones, verdoso o de color llamativo, sin diferencia de cáliz ni corona, pero a veces provisto de una especie de calículo; estambres del mismo número que las divisiones del perianto y opuestos a ellas, anteras sésiles o subsésiles; ovario inferior con un ovulo indiferenciado; fruto carnoso y mucilaginoso. Unos 30 géneros con unas 100 especies, habitando principalmente en las zonas tropicales (Rzedowski *et al.*, 2010).

## CLADOCOLEA van Tieghem

Arbustos por lo general dioicos, usualmente glabros, parásitos de plantas leñosas; tallos cilíndricos o aplanados, erguidos o volubles; hojas laminares, opuestas o alternas, con frecuencia coriáceas, penninervadas; flores comúnmente dispuestas en racimos, corimbos o en cabezuelas axilares; flores con un pequeño calículo entero o algo dentado en el extremo superior, si son unisexuales, por lo general presentan el otro sexo atrofiado; piezas del perianto 6, verdosa o amarillentas, libres, con frecuencia lineales, estambres 6, ubicados en diferentes alturas del perianto; ovario obovoide o algo globoso, estilo manifestó, a veces sigmoideo, estigma capitado, ambos calículos; fruto carnoso (**Figura 1**) (Rzedowski *et al.* 2010).

Se incluyen al menos 23 especies de este género sobre todo en América central y el sur de México, los cuales han sido poco estudiados. La mayoría de estas especies parasitan robles y otras especies arbóreas (Geisl *et al.* 2002).



**Figura 1.** *Cladocolea loniceroides*.

### **STRUTHANTHUS Martius.**

Arbustos parásitos de plantas leñosas principalmente del grupo de las dicotiledóneas, por lo general dioicos, usualmente glabros, tallos erguidos o volubles, más o menos ramificados, hojas opuestas o subopuestas, a veces alternas, laminas por lo común pecioladas, coriáceas y peninervadas; flores dispuestas a veces en fascículos de 2 o 3 estos a su vez organizados en inflorescencias variadas; flores pequeñas, caliculadas, rara vez pediceladas, tépalos 6, libres, verdosos o amarillentos, las masculinas con 6 estambres y gineceo reducido, las

femeninas con androceo reducido; fruto carnososo (**Figura 2**) (Rzedowski *et al.* 2010).

Este género también se caracteriza porque presenta un crecimiento de enredadera a varios metros de longitud, se incluyen de 50 a 60 especies, desde México hasta Argentina y tiene un amplio rango de hospedantes.



**Figura 2.** *Struthanthus interruptus*.

### **5.5. Biología de muérdagos verdaderos**

La biología básica de los muérdagos es remarcable. La infección en el hospedante se describe detalladamente en algunos géneros y en otros no, pero se considera similar en casi todos.

En general, la biología inicia con las semillas que son diseminadas, principalmente por aves. Una vez que la semilla se

adhiera a la rama gracias a la viscina, comienza a producirse una estructura de penetración llamada haustorio. El haustorio son raíces modificadas que desarrollan células de penetración y de fijación a la rama. Van creciendo a través de los tejidos primarios y secundarios del hospedante, separando la corteza externa, el córtex, el floema, hasta llegar al xilema, del que absorben hasta el 90% de los recursos que requiere. Además de absorber agua y sales minerales del xilema y algunos compuestos orgánicos del floema, los haustorios liberan hacia el árbol reguladores de crecimiento que mantienen abiertas las vías de intercambio de recursos y minimizan las reacciones de defensivas del árbol. Si la invasión resulta muy agresiva, la rama podría compartimentalizar el tejido y la infección fracasaría. Por así decirlo, el muérdago debe mantener permanentemente engañada a la rama, haciéndole creer que es parte suya, para así obtener de ella lo que necesita. Se establece una continuidad entre el xilema de la planta hospedera y el parásito. Conforme el haustorio se expande, se va convirtiendo en un estrangulador funcional de la rama. A partir del sitio de inserción del muérdago, la punta de la rama termina por ser totalmente estrangulada y segmentada (Marchal 2009).

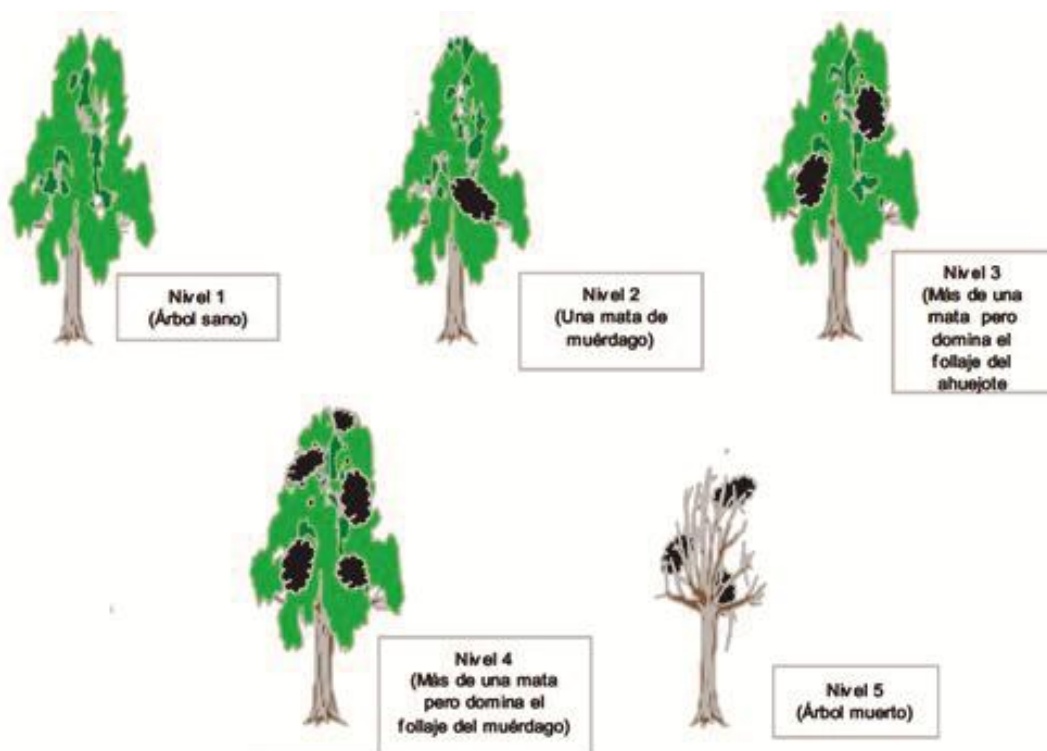
Por otro lado, cuando el muérdago verdadero ya se ha establecido, mantiene sus estomas ampliamente abiertos, por lo que tiene un potencial de agua más negativo que el árbol, en ocasiones más del doble de volumen que requiere un área superficial equivalente del follaje del mismo. Con el tiempo, el muérdago gana área de follaje a costa del árbol. Por lo anterior, el sitio de infección se convierte en un área estructural débil, por la que puede entrar al árbol hongos, bacterias e insectos (Marchal 2009).

## **5.6. Diagnóstico de la enfermedad.**

El daño de los árboles hospedantes inicia cuando el parásito se fija en las ramas mediante un órgano especializado llamado haustorio. Esto

da lugar a la fase parasítica que afecta funciones importantes el árbol y se manifiesta en cambios de coloración y en la caída prematura del follaje (Chacalo *et al.* 2009).

Para evaluar el daño provocado a los árboles por el muérdago verdadero por lo general se utiliza “la escala de infección por muérdago verdadero” modificada por Alvarado y Saavedra (2005).



**Figura 3.** Escala de infección por muérdago verdadero” modificada por Alvarado y Saavedra (2005).

### 5.7. Epidemiología.

Mora y colaboradores (2009-2010), realizaron un diagnóstico epidemiológico regional del estatus de infestación del muérdago estableciendo distribución, prevalencia e intensidades de daño en las 16 delegaciones de la ciudad de México. Los sitios de muestreo se

localizaron de manera dispersa dentro de las 16 delegaciones para de esta manera tener un aspecto más amplio del análisis, por otro lado tuvieron mayor peso (número de sitios) en aquellas delegaciones de mayor importancia ambiental y tipología de superficie.

La mayor distribución del muérdago predominó en las delegaciones Benito Juárez, Azcapotzalco, Iztapalapa, Venustiano Carranza, Coyoacán, Milpa Alta y Obregón. El cuadro 1 muestra la incidencia de muérdago con sus hospedantes.

**Cuadro 1.** Presencia de muérdago en 7 delegaciones y sus hospedantes (Mora *et al.* 2009-2010).

Delegación	Hospedante								
	Fresno	Capulín	Aile	Trueno	Álamo	Olmo	Jacaranda	Casuarina	Cedro
<b>B. Juárez</b>	◆	◆		◆	◆	◆	◆	◆	◆
<b>Azcapotzalco</b>	◆			◆	◆	◆	◆		
<b>Iztapalapa</b>	◆			◆	◆	◆	◆	◆	◆
<b>V. Carranza</b>	◆			◆	◆	◆	◆	◆	◆
<b>Coyoacán</b>	◆				◆	◆			◆
<b>Milpa alta</b>		◆	◆			◆			
<b>Obregón</b>						◆	◆	◆	◆

De acuerdo a este estudio las condiciones ambientales, son características claves para el desarrollo de dicho muérdago, en las áreas donde el clima es templado subhúmedo es aparentemente aquel que tiene mayor interacción con la presencia de muérdago en el D.F. Los



índices de precipitación pluvial fueron de 600-1000 mm y aparentemente son condiciones que permiten al muérdago la interacción con el hospedante. En la realización de este estudio los datos de siete Delegaciones y con base a una escala (**Figura 4**), la dispersión se mantuvo del centro de Distrito Federal al suroeste pero se percibe un nuevo frente de mayor intensidad hacia el norte (Azcapotzalco) y noreste (Iztapalapa y Venustiano Carranza).

<b>0 = Nula infestación</b>
<b>1 = Poca infestación</b>
<b>2 = Baja infestación</b>
<b>3 = Regular infestación</b>
<b>4 = Alta infestación</b>
<b>5 = Muy alta infestación</b>

**Figura 4.** Escala utilizada en el monitoreo de Mora *et al.* 2009-2010.

## **5.8 Estrategias de control.**

En México la primera experiencia sobre el manejo de muérdago a gran escala, es la que se realizó en los años 2002-2003 por la delegación Xochimilco, personal de la CONAFOR y el Colegio de Postgraduados con la colaboración de los propietarios. Esta consistió en realizar podas con diferentes intensidades de acuerdo al nivel de severidad de daño que cada árbol presentaba. Un total de 25, 000 ahuejotes y sauces fueron podados durante el año 2002 (Alvarado y Saavedra, 2005).

La permanencia de los árboles en el Distrito Federal requiere de un programa integral que inicie urgentemente con un programa de mantenimiento que permita a los árboles desarrollarse y proporcionar las funciones para lo que fueron plantados: ambientales, ornamentales

o de paisaje. Es indispensable, necesario y apremiante establecer un control en las Ciudades en todos los ámbitos de las áreas verdes (Vázquez *et al.* 1986).

A partir de la fundación de la CONAFOR, la atención de plagas y enfermedades forestales tomaron diferentes líneas como son: la aplicación del concepto de Salud y Vitalidad de Ecosistemas, la función de los insectos y patógenos en los ecosistemas, causas subyacentes de la exposición poblacional de insectos, aplicación de tecnología avanzada para el diagnóstico y tratamiento fitosanitario, atención creciente a plagas no nativas y usos de sustancias orgánicas y control biológico. Las principales plagas y enfermedades son atendidas por su importancia tanto nacional, regional o local; de acuerdo a su importancia encontramos a los descortezadores, muérdagos y plantas parásitas, defoliadores, barrenadores, insectos de conos y semillas, enfermedades vasculares, chupadores de savia, plagas y enfermedades de origen exótico (CONAFOR, 2010).

El control del muérdago se ha enfocado y frecuentemente se practica alrededor de todo el mundo donde las plantas parasitas dañan a los árboles y arbustos, evaluándose estrictamente en lo económico. Las principales medidas de control son, la remoción física del muérdago mediante la poda o la quema (silvicultura), que básicamente es la remoción del muérdago o bien la eliminación del hospedante; químico, aplicación de productos para medir efectividad, toxicidad, etc., y biológico, mediante la utilización de agentes biológicos como son hongos e insectos, midiendo su efectividad. La silvicultura no ha sido muy eficiente ya que es poco el personal capacitado para esta problemática; sobre el control químico son pocos los estudios que se han realizado y no han sido eficientes; del control biológico son casi nulos los estudios y la investigación que se ha realizado pero puede ser un control potencial junto con un buen manejo para el control del muérdago.

## 6. BIBLIOGRAFÍA CITADA.

- Agrios G.N. 2004. Plant Pathology. Fifth edition. Academic Press. San Diego, California. USA.
- Alvarado, R. y Saavedra, R. 2005. El género *Cladocolea* (Loranthaceae) en México: muérdago verdadero o injerto. Ciencias Forestales y del Ambiente. 11: 5-9
- Arriola, P., Hernández, T., Bautista, V., González, H. y Romero, S. 2010. Monitoreo y evaluación del muérdago verdadero en áreas verdes urbanas de la ciudad de México. V Reunión Nacional de Innovación Forestal. Campeche. 143.
- Bello, M. 1984. Estudio de muérdago (Loranthaceae) en la región Tarasca, Michoacán. Inst. Nac. Invest. For. México. 7-13.
- Chacalo, A., Aldama, A. y Grabinsky, J. 1994. Street tree inventory in México City. Journal of Arboriculture. 4:222-226.
- Chiesura, A. 2004. The role of urban parks for the sustainable city. ELSEVIER. Landscape and Urban Planning. 68: 129-138.
- CONAFOR 2010. [www.conafor.gob.mx/portal/index.php/temas-forestales/sanidad](http://www.conafor.gob.mx/portal/index.php/temas-forestales/sanidad)
- Dobbs, C., Escobedo, F. y Zipperer, W. 2011. A framework for developing urban forest ecosystem services and goods indicators. ELSEVIER. Landscape and Urban Planning.. 99: 196-206.
- Escobedo, F. y Nowak, D. 2009. Spatial heterogeneity and air pollution removal by an urban forest. ELSEVIER. Landscape and Urban Planning. 90: 102-110.
- Escobedo, F., Nowak, D., Wagner, J., De la Maza, C., Rodriguez, M., Crane, D. y Hernandez, J. 2006. The socioeconomics and

- management of Santiago de Chile's public urban forests. ELSEVIER. *Urban Forestry & Urban Greening*. 4:105-114.
- FAO. 1965. <http://www.fao.org/docrep/24847s/24847s00.htm>
- FAO. 2006. Manual de campo, plagas y enfermedades de eucaliptos y pinos en el Uruguay. Proyecto PCT/URU/3002.
- FAO. 2007. Situaciones de los bosques del mundo.
- Geils, B. y Vázquez I. 2002. Loranthaceae and Viscaceae in North America. *In: Mistletoes of North America Conifers*. USDA. 1:1-8.
- Hosseini, S., Kartoolinejad, D., Mirnia, S., Tabibzadeh, Z., Akbarinia, M. y Shayanmehr, F. 2008. The European mistletoe Effects on leaves and nutritional elements of two host species in Hyrcanian forests. *SciELO Portugal. Silva Lusitana*. 16:229-237.
- Ley de Genera de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente (LGEEPA) 2013. <http://www.semarnat.gob.mx/leyes-y-normas/leyes-federales>.
- Marchal, V. 2009. El muérdago en la ciudad de México. *Arbolama, Asociación Mexicana de Arboricultura*. 1:18-30.
- Musselman, L. y Press, M. 1995. Introduction to parasitic plants. *In: Parasitic Plants* Press, M. y Graves, J. Quinta edición 1995. Editorial CHAPMAN & HALL. 1:11
- PAOT. 2011. Diagnóstico fitosanitario del arbolado del parque Trébol, Delegación Tlalpan. Subprocuraduría de protección ambiental, dirección de estudios, dictámenes y peritajes. IPA-06-2011.
- Rodríguez L. y Alarcón M. 2003. Para llamarse ciudad. Áreas verdes y espacios de paz en la ciudad presente. *Revista Austral de Ciencias Sociales*. Vol. 7.Ppg . 129-138.

- Romero, H., Toledo, X., Órdenes, F. y Vásquez, A. 2001. Ecología urbana y gestión ambiental sustentable de las ciudades intermedias chilenas. *Ambiente y Desarrollo*. Vol. XVII. No. 4. Ppg. 45-51.
- Rzedowski, J. y Calderón G. 2010. Flora fanerógama del Valle de México. CONABIO. Instituto de Ecología. Edición digital 2010. 44:100.
- Sandoval, L. y Gutiérrez, G. 2006. Plantas parásitas del arbolado urbano. *En: Arbórea*, Asociación Mexicana de Arboricultura. 8:23-32 2006.
- Sierra, I. y Ramírez-Silva, J. 2010. Los parques como elementos de sustentabilidad de las ciudades. *Revista de Divulgación*. Universidad Autónoma de Nayarit. 5:6-14.
- SMA (Secretaría del Medio Ambiente). 2009. Estudio Base para el Manejo de Arbolado Urbano Infestado por Muérdago.
- Ulrich, R. 1981. Natural versus urban scenes: Some psychophysiological effects. *Environment and Behavior*. 13: 523-556.
- Ulrich, R. 1984. View through a window may influence recovery from surgery. *JSTOR. Science, New Series*. 224: 420-421.
- Vázquez C. y Geilis B. 2002. Mistletoes of North American conifers. Chapter 1. United States Department of Agriculture. 1-8.
- Vázquez, C., Perez, C. & Perez, C. 1986. Control químico del muérdago verdadero (*Psittacanthus* sp.) en la sierra purepecha (meseta tarasca). *Rev. Ciencia Forestal*. 59:11:106-126.

Wilson, C. and Calvin, C. 2006. An origin of brach parasitism in the mistletoe family, Loranthaceae. *American Journal of Botany*. 93: 787-796.

## CAPITULO I

### RESUMEN

**Contribución al conocimiento del ciclo biológico de *Cladocolea loniceroides* (Van Tiegh) Kuijt y *Struthanthus interruptus* (Kunth) Blume, en árboles del Distrito Federal.**

**Colegio de Postgraduados  
Fitosanidad – Fitopatología, 2014**

**Victoria Cárdenas Solís**

La familia Loranthaceae se caracteriza por presentar plantas parásitas y hemiparásitas, conocidas comúnmente como muérdagos verdaderos, comprende 75 géneros y aproximadamente 1000 especies, tres géneros son parásitos terrestres (considerado como su hábito ancestral) y 75 géneros aéreos; *Psittacanthus*, *Cladocolea* y *Struthanthus* son de importancia para México. Las especies de *Cladocolea loniceroides* y *Struthanthus interruptus* afectan el arbolado urbano de la ciudad de México, estudios sobre su biología son escasos, motivo por el cual, el presente estudio tienen como objetivo contribuir al conocimiento del ciclo biológico de ambas especies. Como resultados se encontró que *Cladocolea loniceroides* presenta frutos durante todo el año, con mayor cantidad en los meses de mayo a septiembre y disminuyendo de octubre a febrero; para el caso de *Struthanthus interruptus* las semillas solo se presentan a partir de los meses de febrero hasta el mes de agosto y no hay en los meses septiembre a enero. Cabe mencionar que en ambos casos desde que la semilla germina hasta la primera floración puede ser entre los cuatro y cinco años, después su ciclo es cada año.

**Palabras claves:** Ciclo de vida, frutos.

## ABSTRACT

### **Contribution to the knowledge of the life cycle of *Cladocolea loniceroides* (Van Tiegh) Kuijt and *Struthanthus interruptus* (Kunth) Blume in México city trees.**

**Colegio de Postgraduados  
Fitosanidad – Fitopatología, 2014**

**Victoria Cárdenas Solís**

The Loranthaceae family is characterized by parasitic and .hemiparasites plants, commonly known as true mistletoes comprises 75 genus and about 1000 species, three genus are terrestrial parasites (considered as their ancestral inhabit) and 75 aerial genus; *Psittacanthus*, *Cladocolea* and *Struthanthus* are important to Mexico. *Cladocolea loniceroides* and *Struthanthus interruptus* are species that affect urban trees of the city of Mexico, studies about their biology are scarce, it was the main reason to carry out this study, to contribute to the knowledge of the life cycle of both species. As a result it was found that *Cladocolea loniceorides* produces fruits throughout the year, mainly in the months of May to September and October to February decline; in the case of *Struthanthus interruptus* seeds production occur only from the months of February to August and there are no seeds in the months of September to January. Note that in both cases, since the seed germination until first flowering, it can take between four and five years, then seeding is every year.

**Keywords:** Life cycle, fruit.



## 1. INTRODUCCIÓN

Hay más de 3 000 especies de plantas parásitas con flor distribuidas en 17 familias, la mayor característica de estas plantas es que dependen en gran parte de la planta hospedante debido a que absorben nutrientes de ella. Existen dos tipos de relación de las plantas parásitas: holoparásita, que dependen totalmente de los nutrientes del hospedante ya que no posee clorofila, por lo que es incapaz de asimilar carbono, nitrógeno y no puede realizar la fotosíntesis; y la hemiparásita, que no depende totalmente de los nutrientes del hospedante ya que posee clorofila y puede realizar la fotosíntesis, pero requiere agua, minerales y un soporte físico del hospedante. Estas plantas pueden ser parásitas de tallo o raíz y su ciclo de vida se complementa con la producción de flores y semillas (Shannon *et al.*, 1999).

La familia Loranthaceae se caracteriza por presentar plantas parásitas y hemiparásitas, son conocidos comúnmente como muérdagos verdaderos. Carecen de raíz, pero se fijan a los troncos, ramas de árboles y arbustos mediante una estructura especializada llamada haustorio, (Cid 2006). La familia Loranthaceae comprende 75 géneros y aproximadamente 1000 especies, comprende tres géneros parásitos terrestres (se considera su hábito ancestral) y 72 géneros parásitos aéreos (Wilson *et al.* 2006).

La cuantificación de los daños que ocasionan los muérdagos verdaderos en el territorio nacional son poco conocidos (Cházaro *et al.*, 1992), pero se sabe que cuando son abundantes sobre el árbol provocan la muerte del mismo. (Cibrián *et al.*, 2007). En los últimos años este problema se ha incrementado en el Distrito Federal al grado que las especies arbóreas existentes están infestadas, los géneros *Cladocolea* y *Struthanthus* son los que mayormente se han reportado, desafortunadamente la información sobre dichas especies es escasa (PAOT, 2010).

## 2. **OBJETIVO**

- Contribuir al conocimiento de la determinación del ciclo biológico de los muérdagos verdaderos *Cladocolea loniceroides* y *Struthanthus interruptus* presentes en la zona urbana del Distrito Federal.

### 3. REVISIÓN DE LITERATURA

Los muérdagos se presentan con una mayor distribución geográfica en áreas de África, Australia, Nueva Zelanda, Malasia (Geils *et al.* 2002), Canadá, Estados Unidos de América y México (Wilson *et al.* 2006), teniendo un grupo extenso de hospedante en coníferas y plantas leñosas (Geils *et al.* 2002). Estos muérdagos pertenecen a dos familias la Viscaceae o muérdagos enanos con 9 géneros, siendo los de mayor importancia en México *Viscum*, *Arceuthobium* y *Phoradendron*; y la familia Loranthaceae o muérdagos verdaderos con 76 géneros y los de mayor importancia en México son *Psittacanthus*, *Cladocolea* y *Struthanthus*.

#### 3.1. Familia Loranthaceae

En la familia Loranthaceae las flores tiene la cualidad de ser atractivas para los insectos, ya que son aromáticas, presentan colores brillantes, néctar, formas con diseños especiales (entomófilas) y sus flores son dioicas. Cuando se desarrolla el pistilo fértil y estaminodios se denomina flores pistaladas, cuando se desarrollan estambres fértiles y pistilodio se denomina flores estaminadas, son hermafroditas morfológicamente pero uno de los sexos no es fértil, por lo tanto, son unisexuales. Tiene inflorescencias cimosas, son plantas con ciclos de vida cortos, pero la permanencia en su hospedante es perenne y son muy susceptibles a climas extremos (Kuijt, 1969; Calderon *et al.*, 1979).

La distribución geográfica de esta familia es predominante en las zonas tropicales, pero actualmente se les encuentra también en climas templados y fríos, en el norte y sur de América. Se localiza principalmente en América, Asia, África, Australia, Nueva Zelanda y Nueva Guinea (Benzing, 1990).

El origen de Loranthaceae tuvo lugar en las placas continentales de la Gondwana y son predominantes en el sur del globo terrestre, los ancestros se ubican en el cretácico medio y se propone que surgieron de una familia de angiospermas ya extinta. Estas placas fueron aisladas y distribuidas durante la separación de las placas continentales, sin embargo, no está claro cuando evoluciona el parasitismo en ellas (Benzing 1990).

Entre los géneros más representativos para esta familia se encuentra *Psittacanthus* (140 especies), *Cladocolea* (37 especies) y *Struthanthus* (218 especies) (Marchal 2009). Estos géneros se encuentran presentes en el Distrito Federal causando problemas fitosanitarios en los bosques y áreas verdes urbanas. Cházaro en 1987, reportó su distribución en todos los estados de la república, siendo Chiapas, Oaxaca y Veracruz los que presentaron el mayor número de especies, en donde se incluyen los géneros *Cladocolea* y *Struthanthus*.

Sandoval y Gutiérrez (2006), muestrearon áreas verdes y camellones en 10 delegaciones del Distrito Federal, observando a 15 Familias botánicas susceptibles al muérdago verdadero, encontrando un 17 % de árboles sanos, 29% con infestación leve, 25% con infestación media y 29% con infestación severa.

Arriola y colaboradores (2010), realizaron un monitoreo y evaluación del muérdago verdadero en áreas verdes urbanas de la ciudad de México, mencionando el desconocimiento de las especies así como su distribución, por lo que se ha limitado la implementación de planes de manejo. Del total observados, el 49.11% de los árboles presentaron nivel dos de infestación (con una mata de muérdago), 38.39% tres (con más de una mata de muérdago pero domina el follaje del hospedante) y el 12.50% cuatro (más de una mata pero domina el muérdago), el grado de infestación por muérdago se determinó con base en una variable

ordinal definida por cinco valores: 1, 2, 3, 4 y 5 modificada por Alvarado-Rosales y colaboradores (2005).

La PAOT en conjunto con la Secretaria del Medio Ambiente (SMA) en el 2011, retiraron 67 árboles de la delegación Azcapotzalco, debido a la muerte a causa del muérdago *Struthanthus* sp. Así mismo, en el 2012 realizaron un censo-diagnóstico del arbolado infestado por muérdago en los poblados de San Juan Tepeñahuac y Santa Ana Tlacotenco en la delegación de Milpa Alta, en donde realizaron recorridos para la observación de las condiciones que presenta el arbolado urbano; encontrando que una alta densidad de árboles se encontraba afectada. De acuerdo a las características físicas y fitosanitarias de cada ejemplar forestal, de los 726 ejemplares con muérdago, 158 presentaban un estado fitosanitario bueno, 351 un estado regular y 217 en mal estado.

Durante el 2012, en el parque Tezozómoc se podaron 900 árboles que presentaban algún grado de infestación por muérdago y se retiraron 600 individuos arbóreos secos, muertos o que representaban un riesgo para los visitantes, “se erradicó completamente el brote de muérdago y se implementó el cuidado de la salud de más de 5 mil 700 árboles de ese espacio recreativo”, señaló el jefe delegacional.

### **3.2 Biología de muérdagos verdaderos**

La biología básica de los muérdagos es remarcable. La infección en el hospedante se describe detalladamente en algunos géneros y en otros no, pero se considera similar en casi todos.

En general, la biología inicia con las semillas que son diseminadas, principalmente por aves. Una vez que la semilla se adhiere a la rama gracias a una sustancia mucilaginosa llamada viscina, y a continuación comienza a formarse una estructura de penetración llamada haustorio. El haustorio son raíces modificadas que desarrollan células de penetración y de fijación a la rama. Van

creciendo a través de los tejidos primarios y secundarios del hospedante, separado de la corteza externa, el córtex, el floema, hasta llegar al xilema, del que absorben hasta el 90% de los recursos que requiere. Además de absorber agua y sales minerales del xilema y algunos compuestos orgánicos del floema, los haustorios liberan hacia el árbol reguladores de crecimiento que mantienen abiertas las vías de intercambio de recursos y minimizan las reacciones de defensivas del árbol. Si la invasión resulta muy agresiva, la rama podría compartimentalizar el tejido y la infección fracasaría. Por así decirlo, el muérdago debe mantener permanentemente engañada a la rama, haciéndole creer que es parte suya, para así obtener de ella lo que necesita. Se establece una continuidad entre el xilema de la planta hospedera y el parasito. Conforme el haustorio se expande, se va convirtiendo en un estrangulador funcional de la rama. A partir del sitio de inserción del muérdago, la punta de la rama termina por ser totalmente estrangulada y segmentada (Marchal 2009).

Por otro lado, cuando el muérdago verdadero ya se ha establecido, mantiene sus estomas ampliamente abiertos, por lo que tiene un potencial de agua más negativo que el árbol, en ocasiones más del doble de volumen que requiere un área superficial equivalente del follaje del mismo. Con el tiempo, el muérdago gana área de follaje a costa del árbol (Marchal 2009).

Estudios en México sobre la biología de muérdagos verdaderos se realizaron por Cid (2006), con la especie *Cladocolea loniceroides* desde los brotes florales hasta la flor en anthesis, la estructura del fruto y su dispersión, la germinación del mismo sobre sus hospedantes. Así mismo, hizo observaciones periódicas, durante tres años consecutivos y correlacionaron los principales eventos reproductivos de *C. loniceroides* con la época del año en que sucede.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Descripción de las áreas de estudio.**

El presente estudio se llevó a cabo en el vivero Nezahualcóyotl se localiza en Avenida Leandro Valle s/n, Col. Ciénega Grande, Delegación Xochimilco, Distrito Federal, a una altitud de 2 229 msnm. La delegación Xochimilco se encuentra situada al sureste del Distrito Federal entre las siguientes coordenadas: 19°15' de latitud norte y 99°06' de longitud oeste; con una altitud de 2 240 msnm. La delegación cuenta con una extensión territorial de 12, 517.8 hectáreas de las cuales el 20% es suelo urbano y el 80% corresponde a suelo de conservación. Tiene un clima templado húmedo, la temporada de lluvias se presenta en la época de verano, principalmente en los meses de mayo a octubre, con una cantidad de 700 mm anuales y una temperatura media al año de 16.2°C, con temperaturas máximas de 31°C.

### **4.1. Laboratorio**

Con el fin de identificar las diferencias entre las semillas de *Cladocolea loniceroides* y *Struthanthus interruptu* se realizó la medición de 100 semillas de cada especie con un calibrador vernier.

Las pruebas de germinación y viabilidad se realizaron de acuerdo al manual de “Manejo para el manejo de semillas en bancos de germoplasma” (Kameswara *et al.* 2007).

### **4.2. Pruebas de viabilidad.**

- a.** Se seleccionaron 50 semillas al azar.
- b.** Se cortaron las semillas longitudinalmente a través del embrión con un bisturí.

- c. Se colocaron las mitades en una caja Petri con solución de cloruro de tetrazolio, durante 6 horas.
- d. Para evaluar la viabilidad las semillas se observaron en un microscopio estereoscópico, aquellas que presentaron un color rojizo en los tejidos eran viables y aquellas que no mostraron color eran no viables.

#### **4.3. Pruebas de germinación.**

- a. Se seleccionaron al azar 100 semillas.
- b. Se colocaron durante 2 minutos en hipoclorito de sodio al 2%.
- c. Se eliminó la testa de las semillas.
- d. Se colocaron 10 semillas por cada caja Petri, previamente se colocó una sanita estéril y se humedeció con agua destilada estéril.
- e. Se monitoreo diariamente y a los 5 días se contaron las semillas germinadas y las no germinadas.

#### **4.4. Inoculación en campo.**

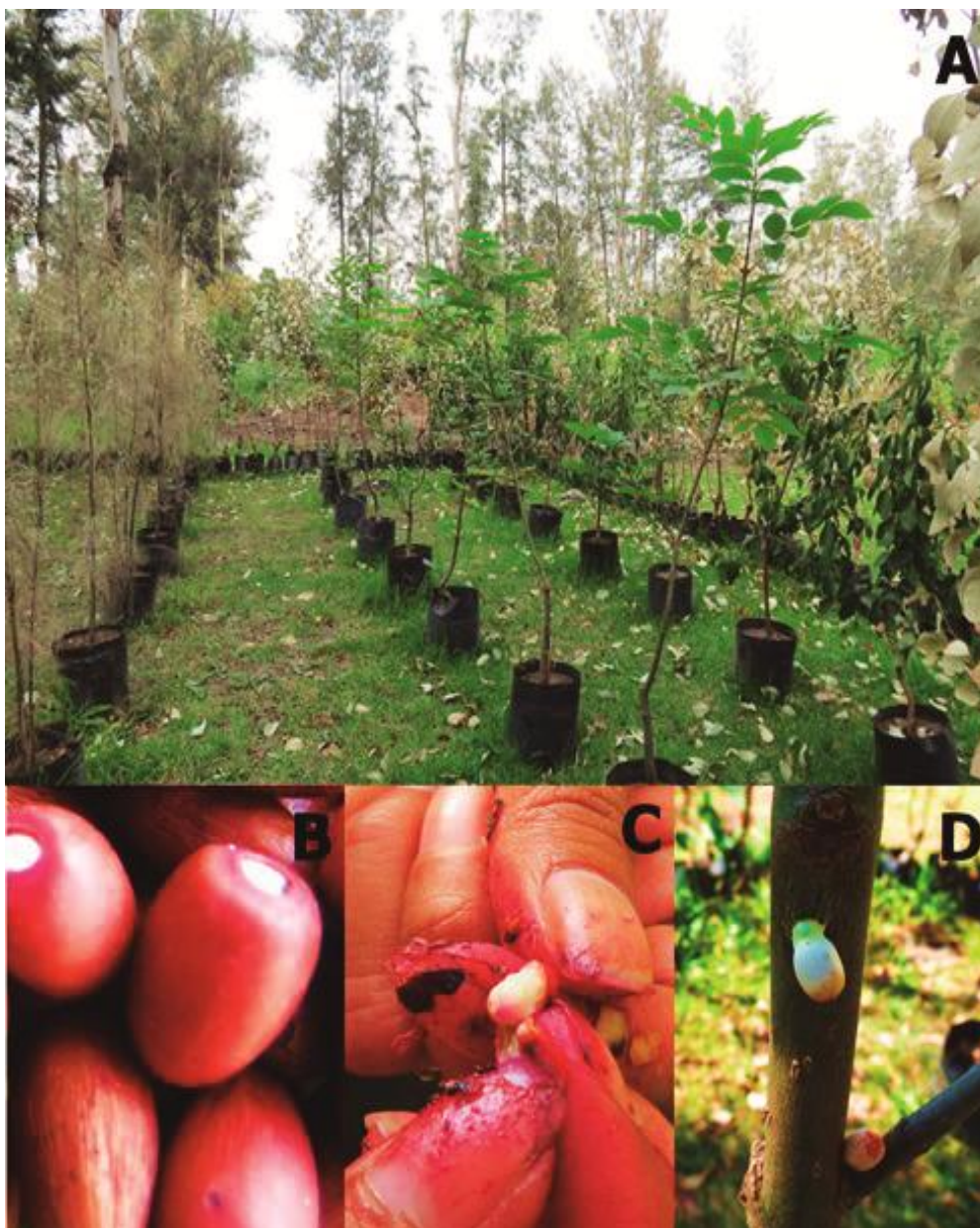
El diseño experimental fue en tres bloques al azar con tres tratamientos (árboles de *Casuarina* sp. (Casuarina), *Fraxinus* sp. (Fresno) y *Ligustrum* sp. (Trueno) con 5 repeticiones cada tratamiento y 10 semillas por repetición dando un total de 150 semillas para *Cladocolea loniceroides* y 150 semillas para *Struthanthus interruptus* (**Figura 1A**).

La colecta de semilla se realizó en la delegación Xochimilco para *Cladocolea loniceroides* en el mes septiembre del año 2012 y en la delegación Coyoacán para *Struthnathus interruptus* en el mes de enero del año 2013 (**Figura 1B**).

Para la inoculación de ambas especies se eliminó la testa (**Figura 1C**) y se colocaron las 10 semillas al azar en cada tratamiento (**Figura**



1D), se tomaron fotografías con una Cámara Canon SX50 HD de 12.1 MP, el monitoreo se realizó cada mes, en donde se colectaron datos como tiempo, medida de crecimiento y presencia de hojas verdaderas.



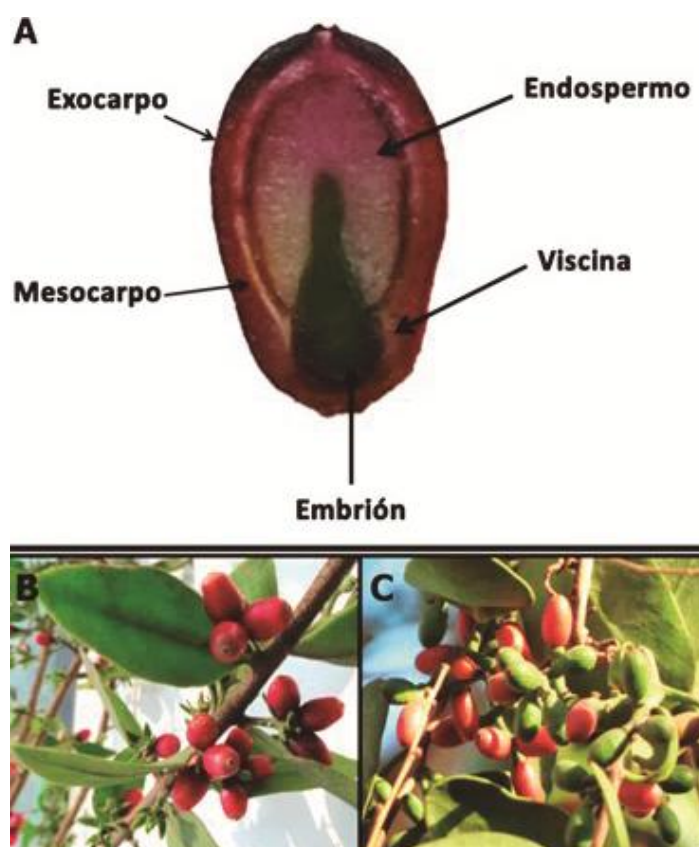
**Figura 1.** A) Tratamientos en bloques al azar; B) Semilla con testa de *Struthanthus interruptus*; C) eliminación de la testa de *S. interruptus*; y D) colocación de semillas al azar de *S. interruptus* en fresno.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Pruebas de viabilidad y germinación

Las semillas de ambas especies están compuestas por tres capas, una externa (exocarpo), una intermedia (mesocarpo) y una interna (endospermo) que protegen al embrión, también cuentan con una sustancia mucilaginosa (viscina) que ayuda a que se adhieran al hospedante (**Figura 2A**).

En promedio la semilla de *Cladocolea loniceroides* mide 6.8 cm y presenta un color rojo cuando la semilla ya está madura (**Figura 2B**); la semilla de *Struthanthus interruptus* mide 7.4 cm y presenta un color rojo-anaranjado cuando ya está madura (**Figura 2C**), en ambas especies la semilla es verde cuando aún no madura.

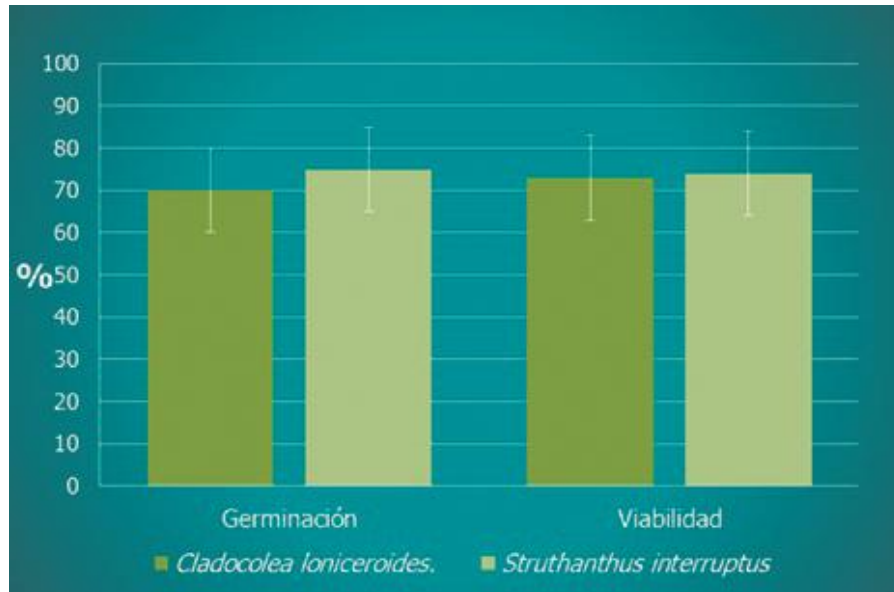


**Figura 2.** A) Capas de la semilla de *Cladocolea loniceroides*, B) semillas maduras de *C. loniceroides* y C) semillas maduras e inmaduras de *Struthanthus interruptus*.

En cuanto a las capas que presentan estas dos especies se concuerda con Cid (2006), en donde hace mención que *C. loniceroides* es una semilla desnuda que no presenta testa y que está compuesta por tres capas esenciales y la viscina. Para el caso de *S. interruptus* no hay referencia de su descripción pero en las observaciones de campo y laboratorio se pudo observar que las capas que presentan son las mismas que *C. loniceroides*. La diferencia entre estas dos semillas a simple vista es el tamaño y el color.

Los resultados obtenidos en las pruebas de viabilidad mostraron un porcentaje 73% para *C. loniceroides* y 74 % para *S. interruptus*, la prueba de viabilidad según ITSA (1999) expresa el potencial de una semilla para germinar, esto se expresa en una coloración rojiza en aquellas semillas que si son viables, esto nos indica la presencia de la actividad mitocondrial y desde el punto de vista práctico nos sirve para saber la cantidad de semillas que nos van a germinar.

Los resultados obtenidos en las pruebas de germinación mostraron el 70% para *C. loniceroides* y 75% para *S. interruptus*. En la **Figura 3** se puede observar que no hubo diferencia significativa en cuanto a la viabilidad y la germinación. La prueba de viabilidad nos va mostrar el potencial de una semilla para germinar y la prueba de germinación nos expresa cual es el grado de germinación. Es importante resaltar que las semillas pierden su viabilidad cuando estas son expuestas a temperaturas bajo -2 °C.



**Figura 3.** Porcentaje y desviación estándar de germinación y viabilidad.

No hay estudios relacionados que se hayan hecho en cuanto al porcentaje de viabilidad y germinación de estas dos especies.

## 5.2 Ciclo biológico

### *Cladocolea loniceroides*

*Cladocolea loniceroides* es una especie que durante todo el año produce fruto y la dispersión se presenta en los 12 meses, aunque disminuye en los meses de octubre a febrero, esto puede ser debido a la temperatura ya que en estos meses son más bajas, otra razón podría ser que en estos meses la lluvia escasea. Lo anterior se ve reflejado en las observaciones en campo ya que en la delegación de Xochimilco y Coyoacán la cantidad de semilla durante estos meses se mostró baja, a diferencia de la delegación Miguel Hidalgo donde en estos meses se presentó de baja a nula presencia de fruto, esto comparado con la cantidad de humedad debido a que la zona sur presenta una mayor humedad comparado con la zona norte. De acuerdo con lo registrado por Cid (2006), los frutos inician su desarrollo en el verano (junio a octubre) y su maduración y fructificación los meses de noviembre y

termina en mayo. En el presente estudio se determinó que la mayor cantidad de fruto se presentó en las tres delegaciones fue en los meses de marzo a septiembre y disminuyen en los meses de octubre a febrero. Cabe mencionar que sus registros de Cid fueron durante los años 2001 al 2003, casi después de 10 años se realiza este nuevo monitoreo, por lo que de acuerdo a las condiciones climáticas que en los últimos tiempo se han estado modificando, sumado a la contaminación y las condiciones del hospedante puede que afecte en lo resultados.







De acuerdo con Cid (2006), las semillas son dispersadas por pájaros frugívoros mediante: a) Endozoocoria, b) Exozoocoria y c) Autoria. En este trabajo no se monitorio la dispersión, pero si se registró presencia o ausencia de frutos durante 18 meses.

La geminación *In situ* que se realizó en el vivero de Nezahualcóyotl y se obtuvo que el porcentaje de sobrevivencia a los 139 días de la inoculación fue de 20% para casuarina, 13 por ciento fresno y 19% trueno. De acuerdo con Cid en el 2006, de 3 a 8 semillas que se dispersaron en los hospedantes solo de una a dos semillas lograban establecerse, por lo que los resultados obtenidos coinciden, ya que por cada tratamiento llegaron a establecerse de dos a tres semillas.

La germinación inició a los 3 días en condiciones de laboratorio y a los 5 días *in situ* después de la inoculación, se observó que el embrión va emergiendo al exterior, para el día 7 el embrión forma un cuello largo (**Cuadro 1A**). Para el día 14 se puedo observar que se adhiere a la rama formado un hinchazón circular (**Cuadro 1B**); para el día 28 se puede observar que se encuentra bien adherido y formando el haustorio, el restante del endospermo se encuentra seco y empieza a salir (**Cuadro 1C**); entre los días 42 y 49 el endospermo se habia perdido completamente y se observó la presencia de los cotiledones, así mismo como el haustorio (**Cuadro 1D**); hasta los 82 y 89 días se observó la formación y presencia de hojas verdaderas (**Cuadro 1E**); entre los días

132 y 139, se presentaban claramente 4 hojas verdaderas (**Cuadro 1F**); Cid (2006) menciona que la germinación inicia cuando se adhiere el fruto al hospedante y brota el embrión, de acuerdo con las observaciones y con Cid (2006) hasta el día 14 estaría germinado la semilla. El presente estudio no concuerda con lo reportado por Cid ya que desde el momento en que las semillas son inoculadas y empieza a ver un cambio en la morfología quiere decir que ya hay actividad mitocondrial y por lo que de acuerdo a las observaciones esta actividad se da a los 3 y 5 días. Herrera y colaboradores (2006) mencionan que la germinación inicia con la absorción de agua y termina con la elongación del eje embrionario; el proceso concluye cuando la radícula penetra y atraviesa la estructura que rodea al embrión, lo que frecuentemente se conoce como “germinación visible”.



Días	Hospedante	Foto
A 7	Casuarina a) Embrion	
B 14	Fresno a) Disco adhesivo y formación de haustorio	
C 28	Trueno a) Endospermo seco	
D 42-49	Trueno a) Cotiledones b) Haustorio	
C 82-89	Casuarina a) Hojas verdaderas	
E 132-139	Casuarina a) Hojas foliares.	

**Cuadro 1.** Proceso de germinación en días de *Cladocolea loniceroides* en diferentes hospedantes.

De acuerdo con Kuijt (1969), el éxito del establecimiento solo es posible con la humedad en la corteza, si bien cabe mencionar que para que muchas de las semillas activen su actividad mitocondrial requieren de agua.

Las observaciones del ciclo no continuaron debido a la presencia de una helada de  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$  (**Figura 4**). De acuerdo con Kuijt (1969) las especies de Loranthaceae son susceptibles a bajas temperaturas por lo que concuerda con lo reportado en este trabajo ya que destruyó todo el material que se tenía en el vivero Nezahualcóyotl, pero de acuerdo a las observaciones recabadas durante los meses que se registraron en la germinación *In situ* y los muestreos, el ciclo de vida inicial de semilla a los primeros brotes florales pudiera ser de 4 años, esto corroborado con observaciones de Cid (2006), después del primer ciclo, estos son anuales (Figura 5).



**Figura 4.** Muerte de *Cladocolea loniceroides* a  $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$





**Figura 5.** Ciclo biológico *Cladocolea loniceroides* de acuerdo a observaciones *In situ*.

### ***Struthanthus interruptus***

*Struthanthus interruptus* es una especie que marca claramente los meses de fructificación y dispersión, la semilla inicia su maduración a principios de febrero aumentado en los meses de marzo a julio, disminuyendo y escaseando en el mes agosto, ya para los meses de septiembre a enero se puede observar que no se encuentran frutos.

En las visitas a campo se pudo observar que la formación de la flor inicia a finales de septiembre y permaneció todo octubre, de noviembre a enero se pudo observar la formación del fruto y su maduración (**Figura 6**).



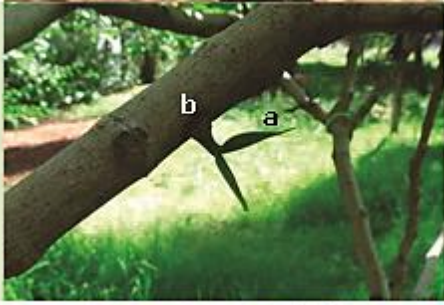

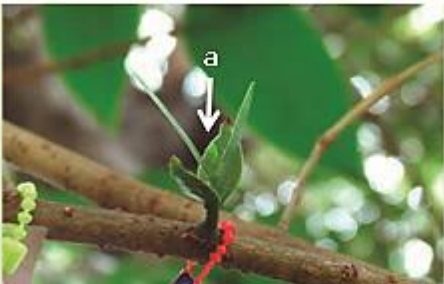
Trabajos sobre el ciclo de *S. interruptus* aún no se han presentado, en dicho estudio se pudo observar que la mayor presencia de fruto y dispersión fue en los meses de marzo a septiembre.



**Figura 6.** Semilla madurando de *Struthanthus interruptus* el día 11 de enero del 2013

En el experimento *In situ* la germinación inicia a los días 3 y 4 después de la inoculación, se observa que el embrión va saliendo al exterior, para el día 7 se observa que el embrión se formó un cuello largo y al final del cuello empieza a hacer un ligero hinchazón de color amarillo (**Cuadro 2A**). Para el día 14 se puede observar un que se adhiere a la rama formado un hinchazón circular y un color amarillo muy marcado en donde se formará el haustorio (**Cuadro 1B**); entre los días 32 y 39 el endospermo se ha perdido completamente y los cotiledones se observan claramente, lo mismo sucedió con el haustorio (**Cuadro 1C**); hasta los 62 y 69 días se observó la formación y presencia de hojas verdaderas (**Cuadro 1D**); entre los días 92 y 99 se presentaron la formación de dos nuevas hojas.

Cabe mencionar que al igual que la especie de *Cladocolea loniceroides*, se tuvo una pérdida de las especies en la zona de monitoreo por la helada que fue a  $-4^{\circ}\text{C}$ , por lo que se realizó una búsqueda de ejemplares del mismo tamaño los que se localizaron en Lecumberri Delegación Venustiano Carranza, para poder dar continuidad al trabajo. Cabe mencionar que los resultados antes descritos es una combinación de las semillas inoculadas en el vivero Nezahualcóyotl y con los monitoreados en Lecumberri.

	Días	Hospedante	Foto
A	7	Fresno a) Embrión	
B	14	Fresno a) Disco adhesivo	
C	32-39	Higuera a) Cotiledones b) Formación de haustorio	
D	62-69	Trueno a) Cotiledones b) Presencia de hojas verdaderas	
E	92-99	Trueno a) Hojas verdaderas	

**Cuadro 2.** Inicio de la germinación, día 7 hasta el día 99 de *Struthanthus interruptus* en diferentes hospedantes.

El ciclo biológico de *Struthanthus interruptus* es remarcado por la presencia y ausencia de semillas ya sea en la parte norte o sur del Distrito Federal. Las condiciones ambientales afectan significativamente el ciclo, *S. interruptus* es susceptible a temperaturas de  $-4^{\circ}\text{C}$ . Se pudo observar que la raíz epicortical inicia a partir de que *S. interruptus* se encuentra con el haustorio primario bien formado. Tomando el inicio de la germinación a la primera floración, *S. interruptus* puede tardar de 4 a 5 años, después de este ciclo el periodo del ciclo dura de 10 a 12 meses por planta (**Figura 7**). En lo que respecta a la tolerancia a las heladas *S. interruptus* mostró más resistencia con un dos ejemplares que no murieron a comparación de *C. loniceroides* que todos los ejemplares murieron.



**Figura 7.** Ciclo biológico de *Struthanthus interruptus* de acuerdo a observaciones *In situ*.

## 6. CONCLUSIONES

- La dispersión y presencia de semilla para *Cladocolea loniceroides* son los 12 meses, con una mayor cantidad en los meses de marzo a septiembre y disminuyendo en los meses de octubre a febrero.
- La dispersión y presencia de semilla para *S. interruptus* es en los meses de febrero a agosto, la formación y maduración de la semilla se da en los meses de septiembre a enero.
- El ciclo de vida de *C. loniceroides* y *S. interruptus* después de la primera floración es anual.



## 7. BIBLIOGRAFIA CITADA

- Alvarado, R. y Saavedra, R. 2005. El género *Cladocolea* (Loranthaceae) en México: muérdago verdadero o injerto. *Ciencias Forestales y del Ambiente*. 11: 5-9.
- Arriola, P., Hernández, T. Bautista, V., González, H. & Romero, S. 2010. Monitoreo y evaluación del muérdago verdadero en áreas verdes urbanas de la ciudad de México. V Reunión de Innovación Forestal Campeche. *Salud forestal*. 143.
- Benzing, D.H. 1990. *Vascular epiphytes. General biology and related biota*. Cambridge University Press, Nueva York. 359.
- Calderón, R. 1979. Loranthaceae. En: J. Rzedowski y G. Calderón de Rzedowski (Eds.). *Flora fanerogámica del valle de México*. 1: 119-124.
- Cházaro, B. & Oliva R. 1987. Loranthaceae del centro de Veracruz y zona limítrofe de Puebla I. *Cact. Suc. Mex.* 32:3: 55-60.
- Cházaro, B., Huerta, F., Lomeí, M., Patriño, E. & Sánchez, F. 1992. Los muérdagos (Loranthaceae) de Jalisco. *Ciencia y Desarrollo*. 17:102:70-85.
- Cibrian, D., Alvarado, D. y García, E. 2007. *Enfermedades Forestales en México. Forest Diseases in Mexico*. Universidad Autónoma de Chapingo, CONAFOR-SEMARNAT, U.S. Forest. Service, Canadian Forest Service & FAO, Chapingo. 587
- Cid, R. 2006. *Biología del desarrollo de Cladocolea loniceroides (Van Tieghem) Kuijt (Loranthaceae)*. Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. México. 1-175
- Geils, B. y Vázquez I. 2002. Loranthaceae and Viscaceae in North America. *In: Mistletoes of North America Conifers*. USDA. 1:1-8.  
<http://www.urbepolitica.com/?id=nota&seccion=delegaciones&ide=963>

- ITSA. 1999. <http://www.analisisdesemillas.com>.
- Kameswara, R., Hanson, J. Ehsan, D., Kakoli, G., Nowell, D. & Larinde, M. 2007. Manual para el manejo de semillas de bancos de germoplasma. Bioersity International. 8:55-85.
- Kuijt, J. 1969. The biology of parasitic flowering plants. University of California Press. Los Angeles, CA. USA. 246
- Marchal, V. 2009. El muérdago en la ciudad de México. Arbolama, Asociacion Mexicana de Arboricultura. 1:18-30.
- PAOT. 2011. Diagnóstico fitosanitario del arbolado del parque Trébol, Delegación Tlalpan. Subprocuraduria de protección ambiental, dirección de estudios, dictámenes y peritajes. IPA-06-2011.
- PAOT. 2011. Diagnóstico fitosanitario del arbolado del parque Trébol, Delegación Tlalpan. Subprocuraduria de protección ambiental, dirección de estudios, dictámenes y peritajes. IPA-06-2011.
- Rzedowski, J. y Calderón G. 2010. Flora fanerógama del Valle de México. CONABIO. Instituto de Ecología. Edición digital 2010. 44:100.
- Sandoval, L. & Gutierrez, G. 2006. Plantas parasitas del arbolado urbano. Asociación Mexicana de arboricultura. Arborea. 8:23-32.
- Shannon, J., Shamoun, E. & Punja, Z. 1999. Tissue culture of parasitic flowering plants: methods and applications in agricultura and forestry. In vitro Cell. 35:369-381.
- SMA (Secretaría del Medio Ambiente).2009. Estudio Base para el Manejo de Arbolado Urbano Infestado por Muérdago.
- Wilson, C. and Calvin, C. 2006. An origin of brach parasitism in the mistletoe family, Loranthaceae. American Journal of Botany. 93: 787-796.



## CAPITULO II

### RESUMEN

#### **Control biológico y agrohomeopático de *Cladocolea loniceroides* (Van Tiegh) Kuijt y *Struthanthus interruptus* (Kunth) Blume.**

**Colegio de Postgraduados  
Fitosanidad – Fitopatología, 2014**

**Victoria Cárdenas Solís**

En la naturaleza las plantas viven en permanente interacción con poblaciones de organismos y microorganismos, estas interacciones pueden ser beneficiosas, neutras o perjudiciales. *Cladocolea loniceroides* y *Struthanthus interruptus* (Loranthaceae), se encuentran asociados en al menos 15 especies arbóreas del Distrito Federal, donde el nivel de infestación va de ligero a severo. El presente estudio tuvo como objetivo explorar alternativas de control biológico y agrohomeopático para *C. loniceroides* y *S. interruptus*. Se identificó un total de 30 hongos aislados de las hojas de *C. loniceroides* y 28 hongos se aislaron de las hojas de *S. interruptus*. En las pruebas de patogenicidad *In vitro*, cuatro especies causaron algún síntoma de clorosis o necrosis en hojas de *C. loniceroides* (*Fusarium foae*, *F. lateritium*, *F. solani* y *Phoma longicola*) y cuatro en *S. interruptus* (*Alternaria longipes*, *A. brassicinae*, *F. equiseti* y *F. solani*). En campo *F. foae* y *F. equiseti*, mostraron efecto en el follaje del muérdago, las cuales pueden tener potencial para el uso del control biológico de *Cladocolea loniceroides* y *Struthanthus interruptus*. Para el caso de la aplicación agrohomeopática la dinamización de 2CH tanto para *C. loniceroides* y *S. interruptus* resultó eficiente con pérdida de follaje.

**Palabras Claves:** muérdago, enemigos naturales, dinamización, Ciudad de México.

## ABSTRACT

**Biological and agrohomeopátic control of *Cladocolea loniceroides* (Van Tiegh) Kuijt and *Struthanthus interruptus* (Kunth) Blume.**

**Colegio de Postgraduados  
Fitosanidad – Fitopatología, 2014**

**Victoria Cárdenas Solís**

In nature, plants live in permanent interaction with populations of organisms and microorganisms, this interaction may be beneficial, neutral or deleterious consequences. *Cladocolea loniceroides* and *Struthanthus interruptus* (Loranthaceae) are associated to at least 15 tree species in Mexico City, where infection levels vary from light to severe. The objective of this study was to explore biologic control and agrohomeopatic alternatives for *C. loniceroides* and *S. interruptus*. 30 fungi isolates of leafs *C. loniceroides* and 28 *S. interruptus* were isolated. In the pathogenicity tests *in vitro* test, four of these species produced chlorotic and necrotic symptoms on leafs of *C. loniceroides* (*Fusarium foae*, *F. lateritium*, *F. solani* y *Phoma longicola*) and four in *S. interruptus* (*Alternaria longipes*, *A. brassicinae*, *F. equiseti* and *F. solani*). In the field *F. foae* y *F. equiseti* caused some damage to the foliage of the mistletoe, these fungi may have some potential as a biologic control agentes in *Cladocolea loniceroides* and *Struthanthus interruptus*. In the case of the agrohomeopatic assay dinamization 2CH for *C. loniceroides* and *S. interruptus* caused foliage loss.

**Keywords:** mistletoe, natural enemies, dynamic, Mexico City.

## 1. INTRODUCCIÓN

Al comenzar el siglo XXI el escenario que nos aguarda, si las tendencias de transformación y degradación del paisaje natural continúan, es el de un vasto territorio moderado por el uso humano de la tierra, con intercalaciones aquí y allá, de algunas extensiones del bosque natural. Las áreas de bosque y los hábitats que persistan serán solamente aquellos que permanezcan gracias a su status actual de áreas declaradas como parques o reservas naturales. El empobrecimiento biótico se debe a la destrucción y fragmentación de algunos hábitat, la contaminación, la destrucción de animales y plantas por parte del hombre, la introducción de animales, insectos y plantas extrañas a otros hábitats (Baddi *et al.*, 2007a).

La introducción de especies a diferentes hábitats, ocasionan un desequilibrio ecológico, que puede terminar en una pérdida significativa de la diversidad biológica de un hábitat original. Generalmente, estas especies introducidas encuentran las condiciones y los hospedantes adecuados que benefician su establecimiento, llegando al punto en que se vuelven plaga o enfermedad, provocando pérdidas irremediables en los ecosistemas.

Teniendo en cuenta que la principal forma de dispersión de las plantas parásitas se realiza mediante las semillas, la mayoría de las medidas implican la prevención de la producción y diseminación de la semilla. Cuando la especie de muérdagos verdaderos ya está establecida es importante que las autoridades tomen medidas de control, por ejemplo, el cultural, químico y/o biológico. En general, las prácticas de control consisten en la eliminación física o química (uso de herbicidas como el glifosato) de las plantas parásitas antes de que se produzca semilla. Cuando los focos son pequeños, se recomienda la eliminación mediante podas de las ramas hospederas y posterior quema (Archicanoy 2001). El control biológico es una alternativa que poco se ha estudiado

para el control del muérdago, el cual consiste en la utilización de enemigos naturales para disminuir o erradicar a dichas plantas. El control agrohomoepático, no se ha estudiado para el control del muérdago sin embargo pudiese ser una alternativa interesante, consiste en utilizar curar la enfermedad con la misma enfermedad utilizando extractos de las mismas especies que causan la enfermedad.

El impacto negativo que tiene *Cladocolea loniceroides* y *Struthanthus interruptus* alterando la calidad de arbolado urbano del Distrito Federal, reduciendo su vigor y los beneficios a las ciudades, y acompañado de la escasa información del control de dichas especies, conlleva a la pérdida del arbolado urbano, la importancia de realizar investigación y a su vez la aplicación de diferentes métodos de control para disminuir o erradicar dicha enfermedad son de suma importancia para las zonas urbanas. El control biológico y el agrohomoepático, pueden ser una alternativa para erradicar o disminuir el daño causado por dichas especies ya que son naturales y no dañan el ambiente.

## **2. OBJETIVO**

- Determinar la eficacia del control biológico y agrohomoepático de *Cladocolea loniceroides* en Xochimilco y *Struthanthus interruptus* en Venustiano Carranza, Distrito Federal.

### **3. REVISIÓN DE LITERATURA**

La mayoría de las especies de muérdago de importancia económica en México son referidas a cinco géneros: *Arceuthobium*, *Phoradendron*, *Viscum*, *Psittacanthus*, *Cladocolea* y *Struthanthus* (Cibrián *et al.*, 2007). Los géneros *Psittacanthus*, *Cladocolea* y *Struthanthus* perteneciente a la familia Loranthaceae se encuentran presentes en el Distrito federal y en otras ciudades de México ocasionando pérdidas significativas en el arbolado urbano. El control biológico y/o agromehopático son una de las alternativas para poder disminuir o erradicar la enfermedad. El control agrohomeopático poco se ha estudiado, pero podría ser un control potencial.

#### **3.1. Control biológico**

En la naturaleza las plantas viven en permanente interacción con poblaciones de organismos y microorganismos. A pesar de las condiciones ambientales que se dan sobre las plantas no parecen ser las más favorables para el desarrollo de los microorganismos. Las poblaciones de microorganismos interactúan entre sí y con las plantas; estas interacciones pueden ser beneficiosas para la planta, neutras o perjudiciales (Mondino 2003).

El Control Biológico (CB) ha sido utilizado principalmente para el control de malezas, insectos y ácaros. Existe la necesidad de control biológico de nuevos tipos de plagas, como las algas marinas, estrellas de mar, mejillones y medusas pero estos son objetos no tradicionales, acerca de los cuales el potencial de supresión conocidos de los enemigos naturales es relativamente pequeño. Para las principales plagas a combatir con el control biológico, varios grupos de enemigos naturales han sido usados ampliamente. Para el CB de malezas, los enemigos naturales han sido principalmente insectos y hongos

fitopatógenos (Van *et al.*, 2007). El método biológico se sustenta en principios fundamentales: los enemigos naturales pueden limitar las poblaciones de malezas y algunos de esos enemigos naturales tienen un rango de hospedantes limitado (Baddi *et al.*, 2006).

El control biológico de malezas (CBM) es un método de control basado en sólidos principios ecológicos, que usan enemigos naturales específicos de una planta considerada maleza o parásita, para disminuir o regular, y no erradicar, la densidad de dicha planta antes de que alcance niveles de daño económico o estético (Norabuena *et al.*, 1991). Generalmente se acepta que las plantas llegan a ser malezas o parásitas debido a la ausencia de enemigos naturales eficaces, principalmente cuando plantas exóticas son introducidas en un nuevo hábitat. El verdadero papel de un agente de control biológico, como regulador de una especie, depende de sus interacciones con otros factores bióticos, así como también con los factores abióticos presentes en el hábitat (De Bach *et al.*, 1974).

En el CBM se propuso la utilización de mycoherbicidas en el desarrollo de las prácticas agrícolas. Ejemplos de mycoherbicidas incluyen: *Phytophthora palmivora* para el control de estrangulador de la vid en cítricos; *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *aeschynomene* para el control de *Aeschynomene* sp. presente en el arroz y soya y *C. gloeosporioides* f. sp. *malvae*, para el control de malva de hoja ancha en diferentes cultivos que se encuentran en el campo (Shamoun *et al.*, 2002).

La aplicación de mycoherbicidas es una propuesta potencial para disminuir la presencia de muérdagos (Solomon *et al.* 1984) y darle muerte mediante la destrucción de la parte aérea (Gill *et al.*, 1961).

Para que los hongos parásitos sean eficientes como agentes de control biológico, deben de tomarse en cuenta diferentes atributos:

1. Que parasiten solo a muérdagos y no al hospedante u otra vegetación.
2. Es importante que la actividad del hongo interfiera con el ciclo biológico del muérdago.
3. Que la producción del inóculo sea abundante y la infestación sea significativa en el muérdago objetivo.
4. Que cuente con amplitud ecológica (que habiten y se reproduzcan en lugares muy específicos) a toda gama de muérdago objetivo.
5. Que la distribución coincida con el muérdago.
6. Que presente un alto grado de infección.
7. Que presente un alto grado de virulencia.
8. Contar con un modo de acción eficaz para la disminución en el desarrollo del muérdago (Shamount *et al.*, 2002).

Estudios específicos sobre el control biológico de *Struthanthus* y *Cladocolea* son nulos; sin embargo, se han realizados estudios tanto para géneros de la familia Viscaceae como Loranthaceae.

Ramsfield y colaboradores (2005), realizaron un trabajo en donde se investigó *Colletotrichum gloeosporioides* como agente de control biológico de *Arceuthobium americanum* que se encontraba presente en *Pinus contorta* var. *latifolia*. Las colectas para aislar *C. gloeosporioides* se realizaron a lo largo de British Columbia, Canadá. El hongo fue inoculado en *A. americanum* en condiciones de campo, los resultados mostraron una reducción de la producción del fruto, lo que lleva a una disminución en la dispersión de dicho muérdago, sin embargo, la eficiencia fue muy variable y no significativa.

Rietman y colaboradores (2010), realizaron un ensayo de campo en la isla Vancouver para evaluar la eficiencia del hongo nativo *Neonectria neomacrospora* como un agente de control biológico para *Arceuthobium tsugense*, los tratamientos consistieron en la aplicación del inóculo de *N. neomacrospora* a muérdagos con presencia de algún daño y

muérdagos sanos. Después de 10 meses, la cantidad de necrosis en la corteza de los muérdagos con daño, fue significativamente mayor que en otros tratamientos. La presencia de esporodoquios fue de un 50% en el tratamiento de muérdagos con daño y de un 10 % de esporodoquios en los tratamientos de muérdago sanos. De los tratamientos que se aplicaron, se aisló el 55 % de *N. neomacrospora* en los tratamientos sanos y el 73.3% en los tratamientos con daño. Estos resultados sugieren que en muérdagos sanos se produce la infección, y por otro lado, cuando ya existe un daño en el muérdago la infección mejora significativamente.

Wilson (1969), hace mención de tres hongos parásitos que podrían ser muy prometedores para el control biológico de *Arceuthobium* sp., que son *Septogloeum gillii*, *Wallrothiella arcethobii* y *Colletotrichum gloesporoides*, ya que estos tienen una gran capacidad para parasitar muérdagos del género *Arceuthobium* sp., para crecer fácilmente en medio de cultivo y la enfermedad se desarrolla rápidamente en los muérdagos.

Vázquez y colaboradores (1986), reportaron el aislamiento de hongos de los géneros *Alternaria*, *Ceratocystis* y *Fumago* en *Psittacanthus*. La enfermedad causada por *Alternaria* en *Psittacanthus* produce marchitez foliar en las hojas más viejas y favorece la presencia de plagas en las ramas más secas. Este hongo se propaga rápidamente en tiempos de lluvias e induce lesiones necróticas concéntricas, que van propagándose extensivamente produciendo necrosis en las hojas y brotes del muérdago. Sin embargo, *Ceratocystis* causa mucho más daño y es fácilmente propagado en medio de cultivo, es potencialmente bueno como agente de control biológico. *Fumago* causa enfermedad y moho de hollín, este hongo es más común en la agricultura tropical y subtropical de todo el mundo. El resultado de la enfermedad causado por este hongo en el muérdago es la reducción de la fotosíntesis por lo tanto hay



una reducción del vigor y crecimiento de dicho muérdago (Vázquez *et al.* 2002; Horst 2008).

Existen hongos que destruyen los tallos de los muérdagos mas no el sistema endofítico, por lo que la enfermedad persiste; entre estos hongos se han identificado *Wallrothiella arcethobii*, que ataca los órganos florales femeninos evitando la dispersión de la semilla; *Colletotrichum gloeosporioides*, que causa marchitez en los tallos; *Cylindrocarpon gilli* que produce antracnosis; *Aureobasidium pullulans* y *Alternaria alternata*, que se consideran agentes de marchitez y muerte de los tallos de muérdagos (Rodríguez 1983).

### **3.2. Control agrohomeopático**

La homeopatía es una palabra de origen griego que significa “enfermedad similar” (*homoios*= similar, *phatos*= enfermedad) (Toledo *et al.*, 2011). Para entender la homeopatía y/o agrohomeopatía hay que hacer un regreso al tiempo de Hipócrates y la escuela de Cos (escuela de medicina en la que profesó Hipócrates) del siglo IV y V antes de Cristo. Hipócrates estableció por primera vez en la historia de la cultura occidental un sistema lógico de las enfermedades. Aunque sus investigaciones fueron ligadas principalmente a la salud humana, Hipócrates creó tres principios de curación válidos a todos los organismos vivos hasta la época actual. La agronomía de hoy está basada en tres teoremas de Hipócrates.

**1.- Vis medicatrix naturae:** fuerza curativa de la naturaleza que hoy se conoce como la fuerza vital, término que Hahnemann, fundador de la homeopatía transformó en la dinámica (dinamis) vital. Gracias a la traducción imperfecta, pero también debido a las inconsistencias de Hahnemann de hablar una vez de fuerza vital, y otra sobre dinamis vital, el término que se perpetuó en la

homeopatía es “fuerza vital (Hahnemann 2005)” o más recientemente “energía vital”.

**2.- Contraria contrariis curantur:** los contrarios son curados por lo contrario. Esta afirmación hoy es la base de la atención alelopática a los cultivos. La agricultura comercial que utiliza las sustancias agroquímicas y/o agrotóxicas pertenece esta categoría.

**3.- Similia similibus curantur:** lo semejante cura a lo semejante, la ley principal de la homeopatía y principio de curaciones agrohomeopáticas (Tichavsky, 2009).

Hipócrates comprobó que las dolencias tiene origen natural, es decir, no son castigo de Dios ni resulta de un embrujó o consecuencia de un enojo de un poderoso ser misterioso que habita en el cielo. Por eso es considerado Hipócrates como el padre de la medicina. Corpus Hippocratucum, esta obra maestra establece que “*las enfermedades surgen a partir de desequilibrio entre los humores*” (Ramos, 1999).

En el siglo XVII el médico inglés Thomas Sydenham fundó la corriente vitalista retomando las enseñanzas de Hipócrates y de Paracelso donde propone sanar a los organismos eliminando las sustancias causantes de la enfermedad y recurriendo a la naturaleza como una de las principales fuentes de la salud. Definió a la enfermedad como: “el esfuerzo de la naturaleza por examinar la causa patogénica”.

La filosofía de la homeopatía en seres humanos es clara, pero los resultados de su uso en plantas y animales aun no son muy claros. Sin embargo, la homeopatía es usada en la agricultura, por ejemplo: para el control de plagas y enfermedades, para incrementar la actividad de metabolitos secundarios en las plantas, desintoxicación de plantas contaminadas por metales como aluminio y cobre e influye en la fisiología de las plantas (Bonato 2007). La homeopatía o

agrohomeopatía es amistosa con el ambiente y no produce residuos al ambiente; ayuda a la autorregulación de los organismos, favoreciendo la homeostasis en el sistema, estas características hacen que la agrohomeopatía sea una opción ecológica en su uso en el campo y concuerda con los principios de la agroecología (Botano *et al.*, 2003).

Trabajos científicos sobre homeopatía en las plantas es reciente. Aunque los pioneros fueron en 1923 con Kolisko y Kolisko, estimulados por las ideas de Rudolf Steiner, a partir de los finales de los años 60 se revelan nuevos trabajos relacionados con la agrohomeopatía (Toledo *et al.* 2011). Uno de los trabajos es mencionado por Nitien *et al.* 1969 en Francia donde demuestra la acción de la agrohomeopatía en preparados de sulfato de cobre (*Cuprum sulphuricum* -15CH) en la desintoxicación de plantas de chícharo (*Pisum sativum*) previamente intoxicado con esta sal en dosis altas.

En la india, Khanna *et al.* 1976, obtuvieron resultados significativos en el control de podredumbre en tomate, causado por *Fusarium roseum*, con la aplicación de preparados agrohomeopáticos de yodo de potasio (*Kali iodatum*) a 149CH y *Cupressus* (*Thuja occidentalis*) a 87CH, antes y después de la cosecha. Estos autores evaluaron la calidad y el costo del tratamiento, concluyendo que el tratamiento agrohomeopático era práctico y económico además de tener acciones curativas.

Verma *et al.* 1989, realizaron un estudio para el control de *Tobacco mosaic virus* (TMV), evaluando la aplicación de sustancias agrohomeopáticas de *Lanchesis* y *Chimaphila* a 200CH antes y después de la inoculación del virus, obteniendo una reducción del 50% de virus en las hojas del tabaco.

Betti *et al.* 2007, dividió las obras internacionales de la agrohomeopatía en tres grupos, 1ro. los modelos de creciente y germinación, 2do. ensayos planta-patógeno y ensayos de campo, 3ro. se clasificó con respecto a los efectos positivos y negativos, así mismo

señala que la mayoría de los estudios agrohomeopáticos son muy prometedores para el uso en la agricultura.

En los últimos años han aumentado las investigaciones para el control de las enfermedades y estudios en los procesos metabólicos en las plantas con la agrohomeopatía. El control agrohomeopático actúa en los procesos biológicos de las plantas sin producir toxicidad. Rolim *et al.* 2001, demostró una reducción de mildius en tomate por medio de yodo de potasio (*Kali iodatum*) a 100CH, en invernadero, y un aumento en el número de foliolos por bioterapia a base del patógeno *Oidium lycopersici*.

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Zona de estudio.**

El Distrito Federal tiene una extensión territorial de 1 495 km<sup>2</sup> y se encuentra dividido en 16 delegaciones. En la mayor parte de su territorio se presenta clima templado subhúmedo (87%), en el resto se encuentra un clima seco y semi-seco (7%) y templado húmedo (6%). La temperatura media anual es de 16 °C, la temperatura más alta es de 25 °C presentándose en los meses de marzo hasta mayo y la más baja es de alrededor de 5 °C en el mes de enero. Las lluvias se presentan en verano, la precipitación anual es variable, en la región más seca se registran aproximadamente 600 mm y en la parte más húmeda (Ajusco) es de 1 200 mm anuales (INEGI).

La superficie del Distrito Federal forma parte del eje Neovolcánico, el relieve lo define principalmente una sierra y un valle, lo conforman rocas de origen ígneo extrusivo o volcánico, producto de la formación de los volcanes Tláloc, Cuautzin, Pelado, Teuhtli, Chichinautzin siendo el de mayor altitud el cerro de la Cruz de Márquez o Ajusco con 3 930 msnm (INEGI).

### **4.2. Fase de campo**

En cinco Delegaciones del Distrito Federal se realizaron treinta muestreos aleatorios simples. Las Delegaciones se seleccionaron por zona e incidencia de *C. loniceroides* y *S. interruptus*, para el caso de *C. loniceroides* las Delegaciones fueron Xochimilco, Coyoacán y Miguel Hidalgo; para *S. interruptus*, Coyoacán, Venustiano Carranza y Azcapotzalco. Los muestreos se realizaron en los meses de mayo, julio, septiembre, noviembre del 2012 y enero, marzo, mayo del 2013.

#### 4.2.1. Obtención de material vegetal

##### A. Control biológico

Para la colecta del material vegetal se utilizó una cortadora de ramas TRUPER de 3.60 metros. El material se seleccionó de acuerdo a la presencia de algún síntoma (necrosis o clorosis) (**Figura 1**), se colocaron en bolsas Ziploc y se trasladaron en una hielera de unicel a el Laboratorio de Patología Forestal, Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.



**Figura 1.** Necrosis en hoja de *Struthanthus interruptus*.

## **B. Agrohomeopatía**

Hojas, tronco, fruto y flores de *C. loniceroides* y *S. interruptus* se utilizó para la realización de la tintura madre, primero se colocó en una caja de cartón para su deshidratación. Ya deshidratadas, las muestras se colocaron en bolsas de papel y se etiquetaron.

### **4.3. Fase de laboratorio**

#### **A. Control biológico.**

El material se enjuagó con agua corriente y se desinfectó con una solución de cloruro de sodio al 3% durante 3min., después se enjuagó con agua destilada y se colocó sobre sanitas estériles para eliminar el exceso de agua.

#### **a. Aislamiento, purificación, identificación y preservación de los hongos.**

El material vegetal de muérdago se enjuagó con agua corriente y se desinfectó con una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 3 min., después se enjuagó con agua destilada y se colocó en sanitas estériles para eliminar el exceso de agua.

Para el aislamiento de hongos se seleccionó material que presentó algún síntoma, enseguida se cortaron con un bisturí, segmentados de aproximadamente medio centímetro (incluyendo tejido sano y enfermo), el corte se tomó cuidadosamente con unas pinzas de disección previamente esterilizadas y se sumergió en una solución de alcohol al 80%, finalmente se colocaron en una sanita estéril.

Los tejidos se sembraron en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), cada caja se selló con parafilm para evitar contaminaciones por

otros hongos o ácaros, así mismo se etiquetó con fecha de siembra y hospedante. Las cajas Petri se colocarán en una mesa expuesta a la luz y a temperatura de 25 a 27 °C.

La presencia del crecimiento micelial se observó a partir de las 24 horas, la transferencia de las cepas se realizó entre los 8 y 10 días en cajas con medio de cultivo fresco PDA, para su posterior purificación.

Para la obtención de cepas puras se realizó la técnica de punta de hifa, con un sacabocado de medio centímetro de circunferencia y una aguja de disección, se tomó material de las colonias, se colocaron en agua-agar, se dejaron incubar durante 24 hrs., posteriormente en un microscopio estereoscópico Lierder y una aguja de insulina se extrajo la hifa y se colocó en una caja Petri con medio PDA, por triplicado.

Los hongos aislados se identificaron morfológicamente con las claves de Barnett 1972, Nelson *et al.* 1983, Simmons 2007, Abad 2002, Nadal *et al.* 1999, Pons 1990, aquellos hongos que no presentaban estructuras se colocaron en cámaras húmedas, a luz constante y temperatura de 25 a 27 °C. Finalmente se conservaron en tubos de ensayo con medio de cultivo PDA inclinado, por la técnica de inmersión en aceite mineral.

#### **b. Pruebas de patogenicidad *in vitro* y selección de hongos como agentes de control biológico.**

Los hongos aislados se incrementaron en medio de cultivo PDA y se incubaron durante 10 días a temperaturas de 25 a 27 °C, las colonias se colectaron por inundación del cultivo con agua estéril y se raspó el crecimiento de 2 a 3 veces por colonia hasta completar 30 ml., se filtró a través de gasas estériles para eliminar fragmentos grandes de micelio. Este concentrado de esporas se ajustó a  $1 \times 10^5$  esporas/ml con una cámara de Neubauer.



Las hojas a evaluar de *C. loniceroides* y *S. interruptus*, fueron colectadas un día antes, se lavaron con una solución de hipoclorito de sodio a 3% durante 3 minutos y se enjuagaron con agua estéril, se colocaron en un colador para eliminar el exceso de agua.

Se utilizó un diseño completamente al azar, con 29 tratamientos para *C. loniceroides* y 28 para *S. interruptus* en tres repeticiones por cada tratamiento y 5 unidades experimentales por repetición. Los tratamientos se revisaron a las 24, 48, 72 y 96 hrs.

Los hongos que mostraron mayor agresividad fueron seleccionados y se repitieron las pruebas de patogenicidad por triplicado, las más agresivas fueron separadas para su posterior evaluación en campo.

## **B. Agrohhomeopatía**

Para la preparación de la tintura madre (TM) lo primero que se realizó fue un macerado del tronco, hojas, fruto y flor previamente secos, en un mortero de porcelana de 500 ml y se pesaron 5 gramos de *C. loniceroides* y *S. interruptus* por separado. A continuación se colocó el material vegetal macerado en un frasco ámbar que contenía 45 ml alcohol etílico al 96°, se colocó en una hilera de unicel para evitar la presencia de luz, el cambio de temperatura y el alcance de cualquier fuente electromagnética (transformadores, radios, microondas, etc.). Los frascos se agitaron dos veces al día durante 50 días consecutivos para asegurar una homogenización en la muestra. Los frascos fueron etiquetados de la siguiente manera *Cladocolea loniceroides* TM y *Struthanthus interruptus* TM, junto con la fecha de su elaboración.

Una vez obtenida la tintura madre se procedió a realizar las dinamizaciones (dilución de la tintura madre), para el caso del presente estudio se realizó la dinamización mediante el Método Hahnemanniano centesimal una de las más utilizadas en la homeopatía.

Para realizar la primera dinamización Hahnemanniana centesimal, esta consiste en diluciones sucesivas y agitación entre cada dinamización, por lo que se colocó en un frasco de vidrio color ámbar de 20 ml, 10 gotas de TM y 990 gotas de alcohol de 96°. Después se tomó el frasco con el puño cerrado de manera que este quedara bien asegurado en la mano y se prosiguió a realizar durante 10 min. golpes rítmicos contra la otra mano de forma vertical. A este primer frasco se etiquetó con la leyenda de *Cladocolea loniceroides* 1CH y *Struthanthus interruptus* 1CH, es decir primera potencia centesimal.

Después se coloca en un frasco de vidrio color ámbar de 20 ml, 10 gotas de 1CH y 990 gotas de alcohol de 96°, se realiza de nuevo durante 10 min los golpes rítmicos. El nuevo frasco se etiqueta como *Cladocolea loniceroides* 2CH y *Struthanthus interruptus* 2CH, igual a la segunda potencia centesimal, este mismo procedimiento se realizó hasta llegar a la sexta potencia centesimal 6CH.

#### 4.4 Aplicación de los tratamientos en campo.

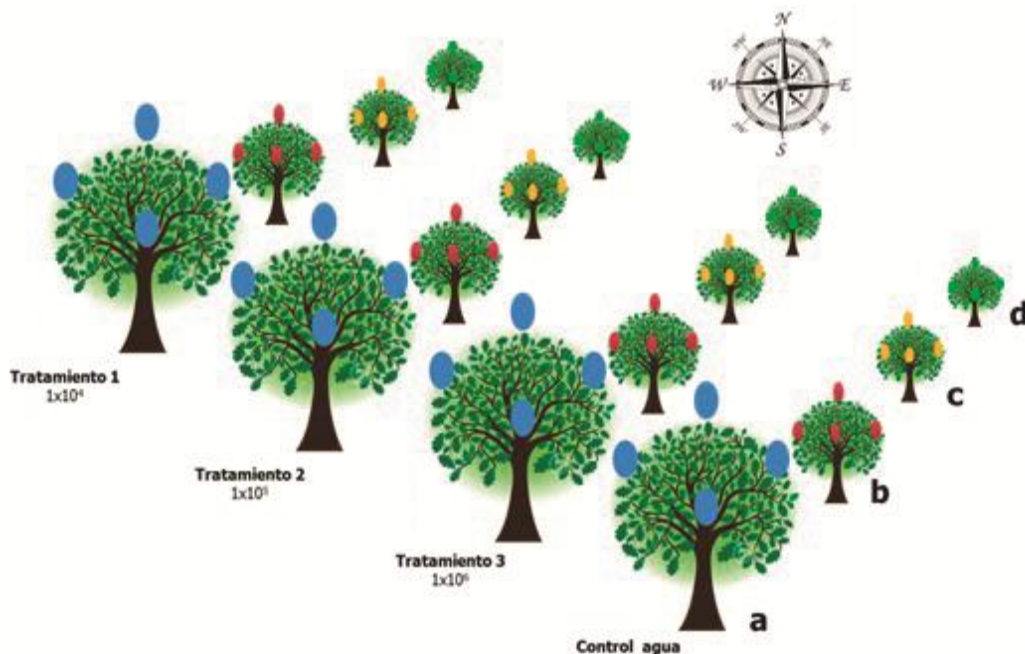
La aplicación del control biológico y agrohomeopático en campo fue en árboles de la delegación Xochimilco calzada del hueso para *C. loniceroides* y en la delegación Venustiano Carranza en el archivo general de la nación para *S. interruptus*. Se tomaron los siguientes datos para identificar el daño ocasionado después de la aplicación (Apéndice II).

No. de árbol	Nombre de la especie.	Altura del árbol (m)	Diámetro del tronco (m)	Diámetro de la copa (m)	Condición general	Nivel de infección de muérdago
--------------	-----------------------	----------------------	-------------------------	-------------------------	-------------------	--------------------------------

Tabla 1. Datos registrados por árbol.

## A. Control biológico

Se estableció un experimento al azar, con 4 tratamientos a 3 diferentes concentraciones  $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^6$ , cuatro unidades experimentales de *C. loniceroides* y *S. interruptus*, ubicado de acuerdo al eje cardinal de cada árbol (**Figura 2**). A cada unidad experimental se le asperjó 250 ml de solución de esporas y 250 ml de agua estéril al testigo. Se realizó un segundo asperjado a los 28 días después de la primera aplicación y el monitoreo se realizó cada 28 días.



**Figura 2.** Repeticiones de acuerdo al eje cardinal, tratamiento por concentración y por hongo, a) *Fusarium foae*, b) *F. lateritium*, c) *F. solani* y d) *Phoma longicola*, para el caso de *C. loniceroides* y a) *Alternaria longipes*, b) *A. brassicinae*, c) *F. equiseti* y d) *F. solani* en *S. interruptus*.

### a. Re-aislamiento de hongos.

Para el caso de los tratamientos donde se presentó algún síntoma, se tomaron hojas y se aislaron los hongos para corroborar que se trataba del mismo hongo que se asperjó y el agente causal de dicho síntoma. Se aislaron en PDA y se identificaron morfológicamente.

## B. Control agrohomeopático

Para la aplicación en campo se utilizaron las dinamizaciones de 2CH, 3CH y 4CH. Por separado se colocó en un frasco de plástico PET de 250 ml 10 gotas de cada dinamización y se colocaron 990 gotas de agua destilada estéril y se agitó rítmicamente durante 10 min., esto se repitió para cada tratamiento.

Se utilizó experimento en bloques al azar, con 3 tratamientos 2CH, 3CH y 4CH centesimal, con cinco unidades experimentales por tratamiento y su respectivo testigo. A cada unidad experimental (árbol) se hizo una perforación de aproximadamente 5cm con un taladro de pila TRUPER®, seleccionando la parte más cercana a la raíz y se inyectó con una jeringa dosificadora automática GENIA® 5 ml de la solución agrohomeopática (**Figura 3**). Se realizó una segunda inyección a los 28 días y se monitoreo cada 28.



**Figura 3.** Inyección en raíz del árbol en dirección hacia el muérdago.

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### A. Control biológico

Se obtuvo un total de 30 aislados de las hojas de *C. loniceroides* pertenecientes a seis géneros de los anamorfos *Alternaria*, *Phoma*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Rhyncophoma* y *Pestalotia*. Además, un género perteneciente a los Basidiomicetes comúnmente llamadas royas (*Uromyces*). Cabe mencionar que en donde había la presencia de dicha roya a su vez se encontraba la presencia de síntomas similares a los que ocasionan los fitoplasmas; 28 aislados de hongos de las hojas de *S. interruptus*, pertenecientes a cuatro géneros de los anamorfos *Phoma*, *Alternaria*, *Fusarium* y *Aspergillus*. En general, los síntomas que se presentaron en las pruebas de patogenicidad *in vitro*, fueron manchas necróticas y la producción de micelio.

De acuerdo con Camarena y colaboradores (2008), las plantas que presentan fitoplasmas, una de sus características son enanismo generalizado y desarreglos vegetativos entre otras. Alvarado y colaboradores (2010), en sus observaciones de campo mencionan la sintomatología de enrollamiento y aplanado de tallo de *C. loniceroides*, lo que concuerda con ambos autores. En la **Figura 4** se pudo observar dicho aplanamiento de tallo, desarrollo vegetativo y enanismo en *C. loniceroides*, por lo que sería de interés identificar a este fitoplasma, su vector y la relación con la disminución que presenta en la formación de semilla, ya que podría también ser utilizado como un agente de control biológico.

El síntoma del fitoplasma se presentó en las Delegaciones de Coyoacán y Xochimilco. Alma y colaboradores (1997), mencionan que los parásitos se pueden transmitir por uno o varios vectores, esto va a depender del grado de especificidad y en la interacción del Fitoplasma-

insecto. Por lo que si este parásito es transmitido por un vector, es posible que dicho vector no se encuentre aun presente en la Delegación Benito Juárez, debido a que las condiciones climáticas varían de acuerdo a la zona ya sea norte o sur, el INEGI (2002), hace referencia sobre la humedad relativa y la precipitación, encontrando que en la Benito Juárez la precipitación anual promedio es de 1.27 a 6.35 cm y en Xochimilco y Coyoacán la precipitación promedio anual va de los 1.27 a los 12.19 cm, por lo que la humedad relativa es más alta. En algunos insectos es importante la temperatura y la humedad, por lo que esto podría ser la causa de que el vector no se encuentre en la Delegación Benito Juárez.



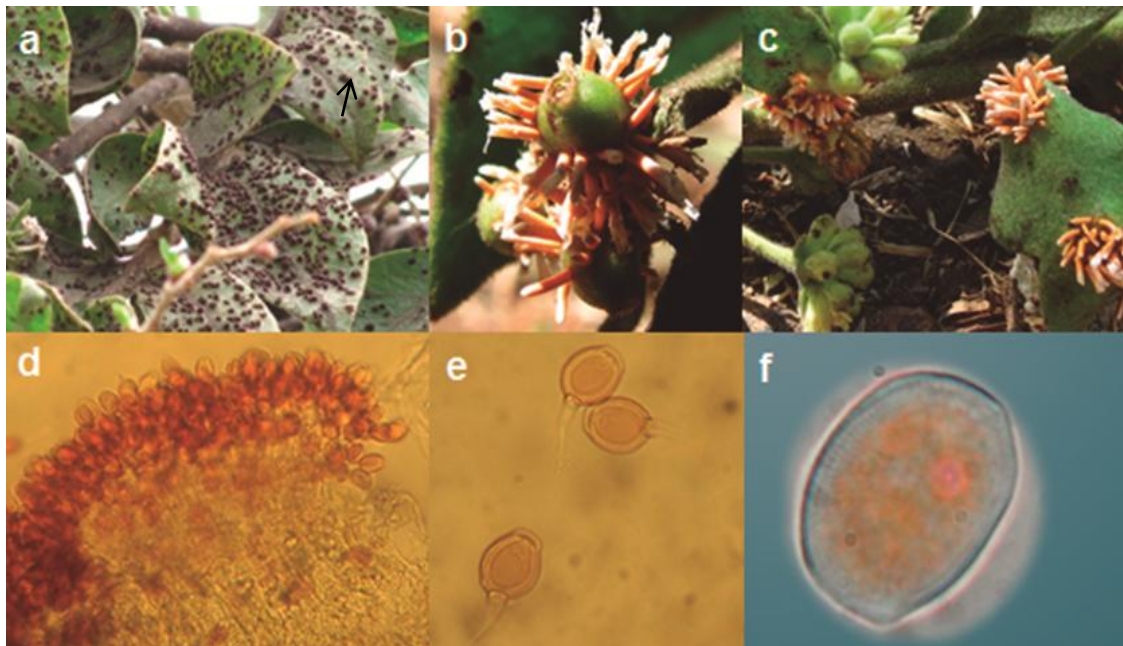
**Figura 4.** Síntomas causados por fitoplasmas a) aplanamiento de tallo y b) desarrollo vegetativo en *C. loniceroides*.

La roya identificada corresponde al género *Uromyces* (Basidiomicetos), y se presentó en las Delegaciones Coyoacán,



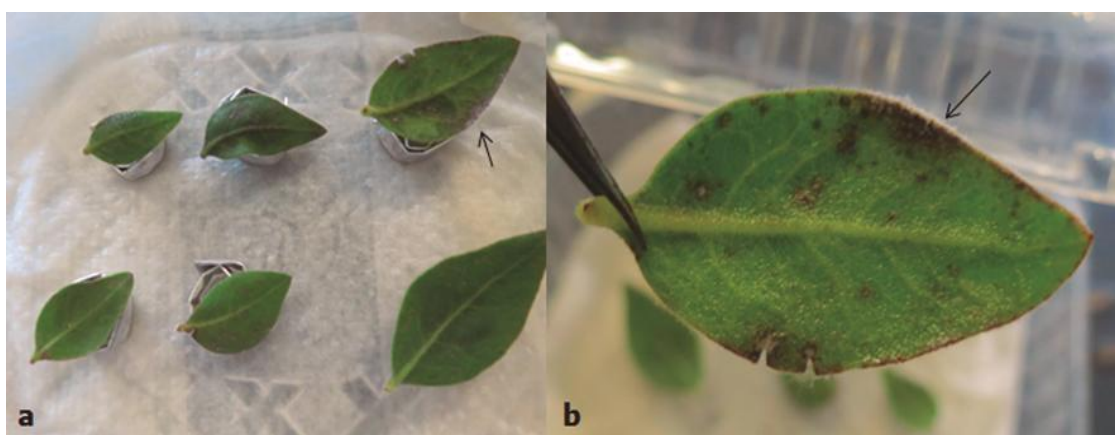
Xochimilco y Benito Juárez, con mayor presencia en Coyoacán, seguida de Xochimilco y Benito Juárez. Alvarado y colaboradores (2010), identificaron a esta roya como *Uromyces dactylidis*, aunque hacen mención que la identificación es tentativa puesto no presentan todas las fases de la roya. De acuerdo con la literatura esta especie no se encuentra reportada para México y para *C. loniceroides* en todo el mundo, lo cual sería muy interesante identificarla morfológicamente y molecularmente. En la **Figura 5a**, se observan las telias (puntos negros) invadiendo las hojas, en la **Figura 5b** y **5c** la presencia de las aecias atacando tanto la hoja como el fruto, esta roya ataca en una de sus fases al fruto.

De acuerdo con la literatura, especies de *Uromyces* se han encontrado en diferentes especies de la familia Loranthaceae, Henen y colaboradores (1967), reportan a *U. euphlebius* presente en *Phoradendron* sp. en el estado de Morelos, a *U. ornaties* en *Phygilanthus sonora* en el estado de Baja California y a *U. socius* en *Struthanthus haenkeanus* en el estado de Sonora.



**Figura 5.** Género *Uromyces* a) Síntomas y telias, b) aecias sobre fruto, c) aecias sobre hojas, d y e) teliosporas y f) aeciosporas, en *C. loniceroides*.

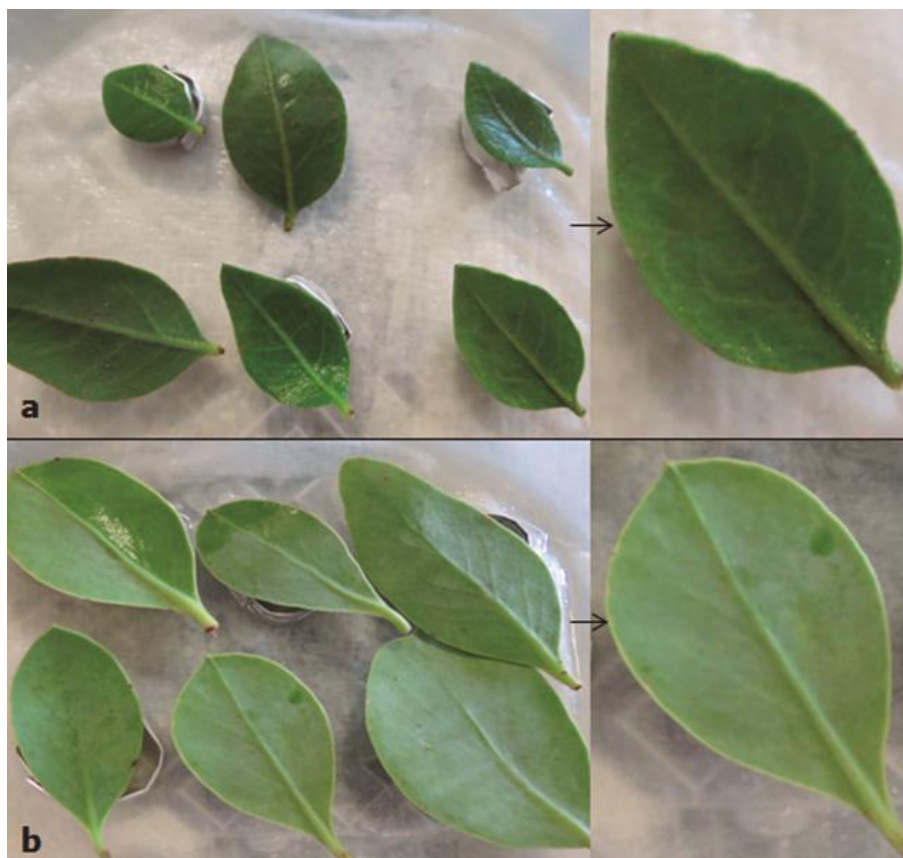
En la primera prueba de patogenicidad *In vitro*, se observó que no todas las cepas aisladas inducían algún síntoma (necrosis o clorosis), cabe mencionar que las hojas fueron colectadas 24 hrs. antes de las pruebas. En esta prueba, de las 29 especies de *C. loniceroides*, siete de ellas resultaron con un síntoma, entre estos manchas necróticas y formación de micelio; y de las 28 especies de *S. interruptus*, 13 presentaron algún tipo de síntoma a las 72 hrs ( **Figura 6**).



**Figura 6.** Síntoma de necrosis y formación de micelio a las 72 hrs en hojas de *C. loniceroides*.

En la **Figura 7** se puede observar que en hojas *C. loniceroides* y *S. interruptus* a las 92 hrs. de haberse inoculado con *Alternaria* sp. y *Phoma* sp. no presentaron ningún síntoma.



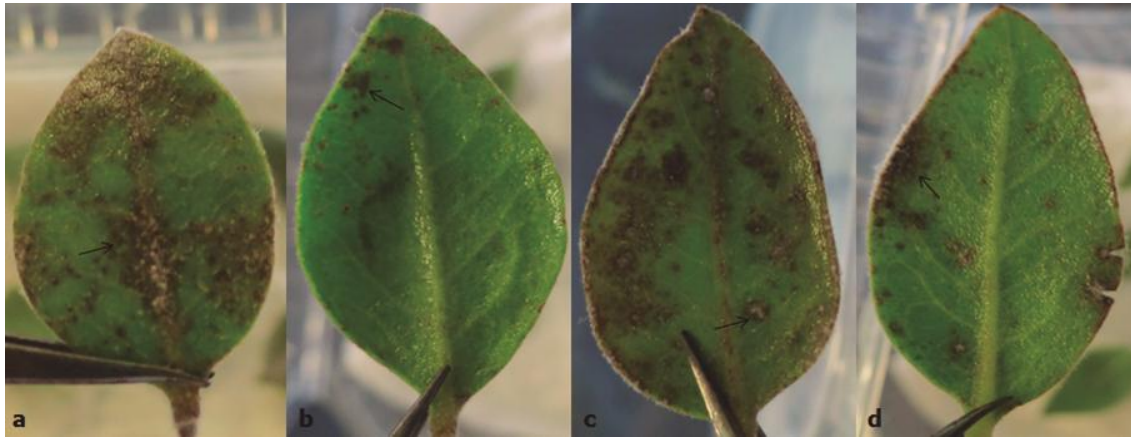


**Figura 7.** Ausencia de síntomas, 72 hrs. después de la inoculación, a) *C. loniceroides* y b) *S. interruptus*.

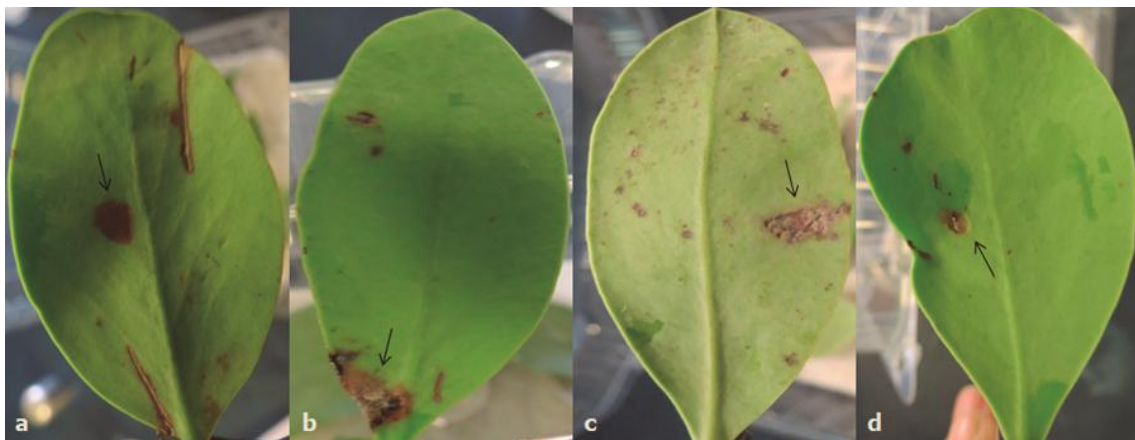
En la selección de especies con mayor agresividad, se obtuvieron cuatro especies, tres del género *Fusarium* y una de *Phoma*, para el caso de *C. loniceroides*; y tres especies, dos del género *Alternaria* y una de *Fusarium* para *S. interruptus*. A continuación se realizó la misma prueba para corroborar y confirmar que las cuatro cepas seleccionadas para *C. loniceroides* y las tres de *S. interruptus* eran posibles agentes de control biológico en campo. En esta fase se hicieron re-aislamentos en cada uno de los tratamientos y repeticiones para corroborar que la cepa que causaba dicho síntoma era la misma que se había inoculado.

Por último se realizaron las pruebas de patogenicidad *In vitro* con las siete cepas aisladas de ambas especies de muérdago, con el fin de probar si especies aisladas de *C. loniceroides* afectaban a las hojas de *S. interruptus* y viceversa; los resultados fueron que una especie de

*Fusarium* sp. aislada de *C. loniceorides* fue capaz de producir síntomas en hojas de *S. interruptus* (**Figura 8 y 9**).



**Figura 8.** Síntomas de necrosis y formación de micelio a las 48 hrs., a) *Fusarium foae*, b) *F. lateritium*, c) *Phoma longicola* y d) *F. solani*



**Figura 9.** Síntomas presentes a las 48 hrs. a) Mancha necrótica por *Alternaria longipes*, b) Mancha necrótica y micelio por *A. brassicinae*, c) mancha necrótica y clorosis por *F. equiseti* y d) mancha necrótica por *F. solani*.

Como ya se había mencionado, los síntomas se presentaron a las 48 hrs., en las cinco repeticiones y el control no presento ningún tipo de síntoma, estas pruebas se quedaron incubando hasta las 72 hrs. con el fin de corroborar que el control no fuese invadido. En la **Figura 10** se

puede observar el control limpio y las cinco repeticiones invadidas completamente por *F. solani*.



**Figura 10.** A las 72 hrs., control sano y las cinco repeticiones invadida completamente por *F. foae*, a) *C. loniceroides* y b) *S. interruptus*.

Alvarado y colaboradores (2010), en sus resultados hacen mención sobre dos especies de *Alternaria* que causaron síntomas en ambas especies de muérdago, la diferencia en esta investigación es que aunque en *C. loniceroides* se aislaron 14 especies de *Alternaria*, ninguna de ellas resultó efectiva para dicha especie de muérdago; sin embargo, para el caso de *S. interruptus* se aislaron ocho especies de *Alternaria* y dos causaron síntomas. Esto puede ser que las especies aisladas en este estudio no fueron las mismas que se aislaron en el estudio de Alvarado y colaboradores (2010), ya que solo se mencionan los géneros más no las especies, por lo que no se podría saber si fue la misma especie. Es importante señalar que las condiciones ambientales favorecen a que una especie de hongo pueda o no causar la enfermedad.

En los ensayos de campo, en *C. loniceroides* se presentaron síntomas en uno de los tratamientos a los a los 22 días de aspersión, este tratamiento fue *F. foae* a una concentración de  $1 \times 10^5$  (**Figura 11a**), los síntomas observados fueron necrosis y crecimiento del micelio, tal y

como se presentó en las pruebas de patogenicidad *In vitro* a una concentración de  $1 \times 10^5$ , a los 28 días se realizó una segunda aspersión en todos los tratamientos, esto con la finalidad de observar si en otros tratamientos el efecto fuese mejor con dos inoculaciones, el resultado fue que solo *F. foae* a una concentración de  $1 \times 10^5$  resultó con el mejor efecto, a los 42 días había un 30% de pérdida de follaje en las cuatro repeticiones (**Figura 11b**), cabe mencionar que el efecto sólo fue positivo en las hojas de *C. loniceroides*, puesto que en el fruto no causó ningún daño. Conocer el ciclo biológico *C. loniceroides* es importante, ya que las inoculaciones se realizarían antes de la floración, con esto se podría reducir la producción de semilla y por lo tanto reducir la fuente de inóculo. Para finalizar, se hizo un último monitoreo a los 109 días y se observó un 80% de pérdida de follaje (ver **Figura 11c**) de *C. loniceroides*. Los tratamientos de *F. lateritium*, *F. solani* y *Phoma* sp. no causaron ningún síntoma en campo.

En el primero, segundo y tercer monitoreo se re-aislaron hojas de *C. loniceroides* que presentaban síntomas para su identificación, para corroborar si *F. foae* era el causante de dichos síntomas, los resultados de estos re-aislamientos coincidieron con la presencia de *F. foae*. El único trabajo de control biológico en el manejo de *C. loniceroides* es el presentado por Alvarado y colaboradores (2010), quienes obtuvieron defoliación, lo que puede ser relevante puesto es posible que el muérdago no muera pero si reduce su vigor y el daño que pudiera causar a sus hospedantes.





**Figura 11.** Efecto de *F. foae* como agente de control biológico, a) 22, b) 45 y c) 109 días.

Para *S. interruptus* la cepa de hongo que resultó con efecto a los 22 días de aspersión fue *F. equiseti* a una concentración de  $1 \times 10^5$ , se puede

observar en la **Figura 12b**, la presencia del síntoma de clorosis y pequeñas manchas necróticas, tal y como se presentó en las pruebas de patogenicidad *in vitro* a una concentración de  $1 \times 10^5$ , a los 28 días se realizó una segunda aspersión en todos los tratamientos, esto con la finalidad de observar si otros tratamientos el efecto fuese mejor con dos inoculaciones, el resultado fue que solo *F. fequiseti* a una concentración de  $1 \times 10^5$  resultó con el mejor efecto, a los 45 días había ya perdido un 10% de follaje y un 30% de follaje presentaba clorosis y pequeñas manchas necróticas (**Figura 12b y c**). Se realizó un último monitoreo a los 65 días y se pudo observar un 70% de pérdida de follaje en las cuatro repeticiones, la presencia de clorosis y manchas necróticas en un 20% (**Figura 12d**).



**Figura 12.** *S. interruptus*, a) día de la inoculación, b) 22 días, síntoma de clorosis y puntos necróticos, c) 45 días pérdida de follaje y síntomas presentes y d) 65 días 80% de pérdida de follaje.

La utilización del control biológico como una alternativa de control de muérdago en la Ciudad de México puede ayudar al debilitamiento y disminución de semillas, tal y como lo menciona Ramsfiel y colaboradores (2005), en los resultados obtenidos en el manejo de control biológico de *Arceuthobium americanum*. Estos autores mencionan que la reducción de la producción del fruto es lo que ayuda a la disminución de la dispersión, cabe mencionar que en el caso de *C. loniceroides* la aplicación se realizó cuando la semilla ya estaba madura, por lo que es importante realizar las aspersiones antes de la floración o bien encontrar un agente de control biológico que ataque directamente al fruto ya maduro.

Por otro lado Rietman y colaboradores (2010) hacen mención sobre la eficiencia que hay cuando las aplicaciones se realizan en aquellos muérdagos que ya tiene un daño, pues la eficiencia del control biológico es de hasta un 50% con una sola aplicación, para el caso de esta investigación los muérdagos se encontraban muy sanos, pero cuando se realizó la segunda aplicación ya había síntomas causados por el agente biológico y después de realizar la segunda aplicación a los 45 días después, efectivamente la pérdida de follaje se observó reflejado en un 80% para *C. loniceroides* y un 70% para *S. interruptus*, esto concuerda con lo reportado por Rietman (2010).

El control biológico como alternativa de manejo de muérdagos en México es una opción que poco se ha investigado, por lo que es un campo que se debe seguir explotando.

## **B. Control agrohomeopático**

En el control agrohomeopático la dinamización baja (2CH), resultó una concentración adecuada para causar síntomas de enfermedad en ambos muérdagos, para el caso de *C. loniceroides*, los síntomas a los 22



días fueron pérdida de follaje y a los 43 días se pudo observar la pérdida de un 80 % de follaje (**Figura 13**). Este síntoma se repitió en las cinco repeticiones de la dinamización 2CH, para el caso del control, al que solo se le agregó agua estéril no se observó ningún efecto. En los tratamientos de la dinamización 3CH y 4CH no se presentó ningún síntoma.



**Figura 13.** Pérdida de follaje, a) 22 días y b) 43 días después de la inyección.

En el caso de *S. interruptus* la dinamización 2CH fue la más efectiva, la diferencia que se presentó fue que a los 22 días las hojas de dicho muérdago se empezaron a poner cloróticas y perdería de un 20% de follaje en las ramas, este síntoma solo se presentó en la repetición 3, cabe mencionar que el nivel de infestación era uno. Para el día 43, un 90% de la repetición tres se encontraba clorótico y había perdido un 50 % de follaje, en las 4 repeticiones posteriores el nivel de infección era de 4 y hasta el día 43 se observó la presencia de un 20 % de clorosis en los muérdagos. El grado de infección influye en la rapidez con la que se presenten síntomas y sea atacado el muérdago, entre más pequeño sea el muérdago menos mecanismos de defensa tiene, por lo que un muérdago más grande está más adaptado y con mayores mecanismos de defensa, esto se vio reflejado en los resultados de dicho estudio



donde aquellos muérdagos con un grado uno, la presencia de los síntomas fue más notorio y más rápido en comparación con aquellos que tenían grado cuatro.

En la **Figura 14** se puede observar claramente la clorosis en el muérdago y también que el hospedante no sufrió ningún daño o síntoma por la inyección de dicha solución agrohomeopática.



**Figura 14.** *S. interruptus*, a) sin inyección agrohomeopática, b) 22 días, c y d) a los 43 días.

## 6. CONCLUSIONES

- Se identificó un total de 30 hongos aislados de las hojas de *C. loniceroides* y 28 hongos se aislaron de las hojas de *S. interruptus*.
- En las pruebas de patogenicidad *In vitro*, cuatro especies causaron algún síntoma de clorosis o necrosis en hojas de *C. loniceroides* (*Fusarium foae*, *F. lateritium*, *F. solani* y *Phoma longicola*) y cuatro en *S. interruptus* (*Alternaria longipes*, *A. brassicinae*, *F. equiseti* y *F. solani*).
- *Fusarium foae* y *F. equiseti* son dos agentes potenciales de control biológico para el manejo de *C. loniceroides* y *S. interruptus*, respectivamente, en el Distrito Federal a una concentración de  $1 \times 10^5$
- La agrohomeopatía es una alternativa que puede ser usada para el control *C. loniceroides* y *S. interruptus*, en especial la dinamización 2CH

## 7. BIBLIOGRAFIA CITADA

- Alma, A., Daniella, A., Bertaccini, A., Vicio, M. & Arzone, A. 1997. Identification the phytoplasmas in eggs, nymphs and adults of *Scaphoideus titanus* Ball Reardon healthy plants. Insect Molecular Biology. 6:115-121.
- Almeida, M. 2003. Tratamientos homeopáticos de densidad de populacional de *Spodoptera frugiperda* Lepidoptera: Noctuidae en plantas de milho en campo. Revista Brasileira de Milho e Sorgo. 2:1-8.
- Alvarado, R., Saavedra, R., Almaraz, S. & Hernández, A. 2010. Determinación taxonómica de los hongos presentes en las diferentes especies de muérdago. CONAFOR. COLPOS. Secretaria del medio ambiente. 1-25.
- Archicanoy, L. 2001. Estrategias integradas para el control de enfermedades de las plantas. Rev. Fac. Agr. Medellin. 54:2:1251-1273.
- Badii, M. & Abreu, J. 2006. Biological control a sustainable way of pest control. Daena. International Journal of Good Conscience. 1:1:82-89.
- Badii, M., Castillo, A. y Abreu, J. 2007. Sustentabilidad y política. Daena. International Journal of Good Conscience. 2:2:274-285.
- Betti, L., Trebbi, G., Lazzarato, L., Fantino, M. & Nani, D. 2007. Effects of homeopathic dilutions on plants and potential use of homeopathy on plant diseases. Fitopatología Brasileira. 32:75-78.
- Bonato, C. & Silvia, e. 2003. Effect of the homeopathic solution *Sulphur* on the growth and productivity of radish. Acta Scientiarum Agronomy. 25:259-263.

- Bonato, C. 2007. Homeopatia na fisiologia do hospedeiro. *Fitopatologia Brasileira*. 32:78-82.
- Camarena, G. & De la Torre, R. 2008. Fitoplasmas: síntomas y características moleculares. *Revista Chapingo. Ciencias Forestales y del ambiente*. 14:2:81-87.
- Cibrián T., D., Alvarado, R. y García D. 2007. Enfermedades Forestales en México/Forest Diseases in Mexico. Universidad Autónoma Chapingo; Conafor-Semarnat, Servicio Forestal de EUA; Servicio Forestal Canadiense y Comisión Forestal de América del Norte, COFAN, FAO. Chapingo, Edo de Méx.
- DeBach, P. 1974. *Biological control by natural enemies*. Cambridge University Press. London. 323
- Gill, S. & Hawksworth, F. 1961. *The mistletoes*. United states Department of Agriculture. Washinton, D.C. 1242: 1-4
- Hanneman, R. & Riddle, M. 2005. Introduction to social network methods. <http://faculty.ucr.edu/~hanneman/nettext/> [09/12/2012].
- Hennen, J. & Cummins, G. 1967. The mexican species *Uromuces* (Uredinales). *Southwestern Naturalist*. 12:149-155.
- Horst, R. 2008. *Westcott's Plant Disease Handbook*. Springer. 7th. Edition. 367:370
- Khanna, K. & Chandra, S. 1976. Control of tomato fruit rot caused by *Fusarium roseus* with homoeopathic drugs. *Indian phytopathology*. 29:269-272.
- Mondino, P. 2003. Bases conceptos para el manejo ecológico de plagas y enfermedades. *Horticultura internacional*. 7:26:29-36.

- Nieten, G. Boiron, J. & Marin, J. 1969. Ação de doses infinitesimais de sulfato de cobre sobre plantas previamente intoxicadas por essa substância; ação da 15 centesimal hahnemanniana. Pesquisa Experimental Moderna em Homeopatia. Rio de Janeiro. Editora homeopática Brasileira. 5-36.
- Norabuena, H. & Ormeño, J. 1991. Control biológico de malezas: fundamentos y perspectivas en Chile. Agricultura Técnica. 51:3:210-219.
- Ramos, M. 1999. Lamania en el *Corpus hippocraticum*. Salud mental. 22:5:34-36.
- Ramsfiel, T., Shamoun, S. & Van der Kamp, B. 2005. Infection of *Arceuthobium americanum* by *Colletotrichum gloesporioides* and its potential for inundative biological control. Forest Pathology. 35:5:332-338.
- Rietman, L., Karp, B. & Shamoun, S. 2005. Assessment of *Neonectria neomacrospora* (anamorph *Cylindrocarpon cilindroides*) as an inundative biocontrol agent against hemlock dwarf mistletoe. Canadian Journal of Plant Pathology. 27:4:603-609.
- Rodríguez, A. 1983. Muérdago enano sobre *Abies*, *Pinus* y *Pseudotsuga* en México. Ciencia Forestal. Revista del Instituto Nacional de Investigación Forestales. 8:45:7-45.
- Rolim, P., Brignani, N. & Souza, J. 2000. Ação de productos homeopáticos sobre oídio (*oidium lycopersici*) do tomateiro. Summa phytopathologia. 1-6.
- Shamoun, F. & DeWald, L.. 2002. Mistletoes of North American conifers. Chapter 7. United States Department of Agriculture. 75-82

- Soilomon, J., Newsome, L. & Feler, T. 1984. Discovery and observations of a Stem-Boring Weevil (*Myrmex* sp.) a potentially useful biocontrol of mistletoe. *Journal of the Mississippi Academy of Sciences*. 29:1-11.
- Tichavský, R. 2009. Homeopatía para las plantas. COMENIUS. Centro universitario, Monterrey Nuevo León. 15-21.
- Toledo, M., Stangarlin, J. & Bonato, C. 2011. Homeopathy for the control of plant pathogens. *Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances*. 1063-1067.
- Van, D., Hoddle, M. & Center, T. Control de plagas y malezas por enemigos naturales. The Forest Health Technology Enterprise Team (FHTET). Sección IV. Capítulo 12. 213-229.
- Vázquez, C. & Geils, B. 2002. Mistletoes of North American conifers. Chapter 1. United States Department of Agriculture. 1-5.
- Vázquez, C., Pérez, C. & Pérez, C. 1986. Control químico del muérdago verdadero (*Psittacanthus* sp.) en la sierra purépecha (Meseta tarasca). *Rev. Ciencia y Forestal*. 59:11:106-126.
- Verma, H., Verma, G. Krishna, r. & Srivastava, K. 1989. Homeopathic and pharmacopeial drugs as inhibitors of tobacco mosaic virus. *Indian phytopathology*. 22:188-193.
- Wilson, Ch. 1969. Use of plant pathogens in weed control. *Review of Phytopathology*. 7:411-434.

## APÉNDICE I

Hongos utilizados en pruebas de patogenicidad *in vitro* en hojas de *Cladocolea loniceroides*.

Hongo	Síntoma	Hongo	Síntoma
<i>Alternaria</i> sp. 1	Sin síntoma	<i>Fusarium</i> sp. 2	Necrosis
<i>Alternaria</i> sp. 2	Sin síntoma	<i>Fusarium</i> sp. 3	Necrosis
<i>Alternaria</i> sp. 3	Sin síntoma	<i>Fusarium</i> sp. 4	Clorosis
<i>Alternaria</i> sp. 4	Sin síntoma	<i>Fusarium</i> sp. 5	Sin síntoma
<i>Alternaria</i> sp. 5	Sin síntoma	<i>Fusarium</i> sp. 6	Necrosis
<i>Alternaria</i> sp. 6	Sin síntoma	<i>Phoma</i> sp. 1	Sin síntoma
<i>Alternaria</i> sp. 7	Necrosis	<i>Phoma</i> sp. 2	Sin síntoma
<i>Alternaria</i> sp. 8	Sin síntoma	<i>Phoma</i> sp. 3	Necrosis
<i>Alternaria</i> sp. 9	Sin síntoma	<i>Phoma</i> sp. 4	Sin síntoma
<i>Alternaria</i> sp. 10	Sin síntoma	<i>Phoma</i> sp. 5	Necrosis
<i>Alternaria</i> sp. 11	Sin síntoma	<i>Rhyncophoma</i> sp. 1	Sin síntoma
<i>Alternaria</i> sp. 12	Sin síntoma	<i>Rhyncophoma</i> sp. 2	Sin síntoma
<i>Alternaria</i> sp. 13	Sin síntoma	<i>Epicocum</i> sp. 2	Sin síntoma
<i>Alternaria</i> sp. 14	Sin síntoma	<i>Aspergillus</i> sp. 1	Sin síntoma
<i>Fusarium</i> sp. 1	Sin síntoma	<i>Pestalotia</i> sp. 1	Sin síntoma

## APÉNDICE II

Hongos utilizadas en pruebas de patogenicidad *In vitro* en hojas de  
*Struthanthus interruptus*.

Hongo	Síntoma	Hongo	Síntoma
<i>Phoma</i> sp. 1	Necrosis	<i>Alternaria</i> sp. 1	Sin síntoma
<i>Phoma</i> sp. 2	Necrosis	<i>Alternaria</i> sp. 2	Sin síntoma
<i>Phoma</i> sp. 3	Necrosis	<i>Alternaria</i> sp. 3	Necrosis
<i>Phoma</i> sp. 4	Sin síntoma	<i>Alternaria</i> sp. 4	Necrosis
<i>Phoma</i> sp. 5	Necrosis	<i>Alternaria</i> sp. 5	Necrosis
<i>Phoma</i> sp. 6	Sin síntoma	<i>Alternaria</i> sp. 6	Necrosis
<i>Phoma</i> sp. 7	Sin síntoma	<i>Alternaria</i> sp. 7	Sin síntoma
<i>Phoma</i> sp. 8	Necrosis	<i>Alternaria</i> sp. 8	Sin síntoma
<i>Phoma</i> sp. 9	Sin síntoma	<i>Fusarium</i> sp. 1	Clorosis
<i>Phoma</i> sp. 10	Necrosis	<i>Fusarium</i> sp. 2	Clorosis
<i>Phoma</i> sp. 11	Sin síntoma	<i>Fusarium</i> sp. 3	Sin síntoma
<i>Phoma</i> sp. 12	Sin síntoma	<i>Fusarium</i> sp. 4	Sin síntoma
<i>Phoma</i> sp. 13	Sin síntoma	<i>Fusarium</i> sp. 5	Necrosis
<i>Phoma</i> sp. 14	Sin síntoma	<i>Aspergillus</i> sp. 1	Sin síntoma



### APÉNDICE III

Aplicaciones de agentes de control biológico en plantas de *Cladoclea loniceroides*.

No.	Especie (nombre común)	Especie (nombre científico)	Altura del árbol (m)	Diámetro del tronco (m)	Diámetro de la copa (m)	Condición general	Interferencias	Hongo	Concentración	Nivel de infección
1	Álamo	<i>Populus</i> sp.	5	20	3	Mal	Cables	<i>F. foae</i>	Alta 10 <sup>6</sup>	3
2	Álamo	<i>Populus</i> sp.	8	25	3	Mal	Cables	<i>F. foae</i>	Media 10 <sup>5</sup>	3
3	Álamo	<i>Populus</i> sp.	7	20	3	Mal	No	<i>F. foae</i>	Baja 10 <sup>4</sup>	3
4	Álamo	<i>Populus</i> sp.	6	20	2	Mal	Cables	<i>Phoma</i> sp.	Alta 10 <sup>6</sup>	4
5	Álamo	<i>Populus</i> sp.	7	20	3	Mal	No	Agua	CONTROL	4
6	Álamo	<i>Populus</i> sp.	7	20	3	Mal	No, inclinado	<i>Phoma</i> sp.	Baja 10 <sup>4</sup>	3
7	Álamo	<i>Populus</i> sp.	7	20	3	Mal	Cables	<i>Phoma</i> sp.	Media 10 <sup>5</sup>	3
8	Álamo	<i>Populus</i> sp.	7	18	3	Mal	Cables	<i>F. solani</i>	Alta 10 <sup>6</sup>	3
9	Álamo	<i>Populus</i> sp.	6	25	3	Mal	Cables	Agua	CONTROL	3
10	Álamo	<i>Populus</i> sp.	8	35	3	Mal	Cables	<i>F. lateritium</i>	Media 10 <sup>5</sup>	3
11	Álamo	<i>Populus</i> sp.	8	25	3	Mal	Cables	<i>F. lateritium</i>	Baja 10 <sup>4</sup>	3
12	Álamo	<i>Populus</i> sp.	7	20	3	Mal	Cables	<i>F. lateritium</i>	Alta 10 <sup>6</sup>	3
13	Álamo	<i>Populus</i> sp.	7	22	3	Mal	Cables	<i>F. solani</i>	Media 10 <sup>5</sup>	3
14	Álamo	<i>Populus</i> sp.	8	35	4	Mal	Cables	Agua	CONTROL	3
15	Álamo	<i>Populus</i> sp.	8	25	3	Mal	Cables	<i>F. solani</i>	Baja 10 <sup>4</sup>	3
16	Álamo	<i>Populus</i> sp.	5	20	3	Mal	Cables	Agua	CONTROL	3

## APÉNDICE IV

Aplicaciones de agentes de control biológico en plantas de *Struthanthus interruptus*.

No.	Especie (nombre común)	Especie (nombre científico)	Altura del árbol (m)	Diámetro del tronco (m)	Diámetro de la copa (m)	Condición general antes de la aplicación	Interferencias	Hongo	Concentración	Nivel de infección
1	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	7	20	2	Mal	No	<i>F. solani</i>	Alta 10 <sup>6</sup>	4
2	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	5	8	3	Mal	No	<i>F. solani</i>	Media 10 <sup>5</sup>	4
3	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	4	6	2	Mal	No	<i>F. solani</i>	Baja 10 <sup>4</sup>	3
4	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	3	10	3	Mal	No	Agua	CONTROL	4
5	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	7	35	5	Mal	No	<i>F. equiseti</i>	Alta 10 <sup>6</sup>	4
6	Trueno	<i>Ligustrum</i> sp.	4	5	3	Mal	No	<i>F. equiseti</i>	Media 10 <sup>5</sup>	4
7	Trueno	<i>Ligustrum</i> sp.	2	10	3	Mal	No	<i>F. equiseti</i>	Baja 10 <sup>4</sup>	4
8	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	4	15	3	Regular	No	Agua	CONTROL	4
9	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	5	20	2	Mal	Rama	<i>A. longipes</i>	Alta 10 <sup>6</sup>	4
10	Frutal		3	12	3	Mal	No	<i>A. longipes</i>	Media 10 <sup>5</sup>	3
11	Frutal		3	05-ene	3	Mal	No	<i>A. longipes</i>	Baja 10 <sup>4</sup>	3
12	Frutal		2,5	10-jun	3	Regular	Rama	Agua	CONTROL	2
13	Frutal		5	30	3	Mal	Rama	<i>A. brassicinae</i>	Alta 10 <sup>6</sup>	4
14	Frutal		2,5	9	3	Regular	Rama	<i>A. brassicinae</i>	Media 10 <sup>5</sup>	3
15	Frutal		2,5	12	2	Regular	Rama	<i>A. brassicinae</i>	Baja 10 <sup>4</sup>	3
16	Frutal		4	8	2	Regular	Rama	Agua	CONTROL	2

## APÉNDICE V

Aplicaciones de soluciones agrohomeopáticas para árboles infestados de *Cladocolea loniceroides*.

No.	Especie (nombre común)	Especie (nombre científico)	Altura del árbol (m)	Diámetro del tronco (m)	Diámetro de la copa (m)	Condición general	Interferencias	Agrohomeopatico	Concentración	Nivel de infección
1	Álamo	<i>Populus sp.</i>	8	35	4	Mal	Cables	2CH	Baja	4
2	Álamo	<i>Populus sp.</i>	8	20	3	Mal	Cables	2CH	Baja	4
3	Álamo	<i>Populus sp.</i>	8	20	3	Mal	No	2CH	Baja	4
4	Álamo	<i>Populus sp.</i>	8	18	3	Mal	Cables	2CH	Baja	4
5	Álamo	<i>Populus sp.</i>	8	20	2	Mal	No	2CH	Baja	4
6	Álamo	<i>Populus sp.</i>	8	20	3	Mal	No, inclinado	AGUA	CONTROL	4
7	Álamo	<i>Populus sp.</i>	8	23	3	Mal	Cables	3CH	Media	4
8	Álamo	<i>Populus sp.</i>	7	20	2	Mal	Cables	3CH	Media	4
9	Álamo	<i>Populus sp.</i>	8	30	3	Mal	Cables	3CH	Media	4
10	Álamo	<i>Populus sp.</i>	7	25	2	Mal	Cables	3CH	Media	4
11	Álamo	<i>Populus sp.</i>	7	30	3	Mal	Cables	3CH	Media	4
12	Álamo	<i>Populus sp.</i>	8	22	2	Mal	Cables	AGUA	CONTROL	4
13	Álamo	<i>Populus sp.</i>	7	20	3	Mal	Cables	4CH	Alta	4
14	Álamo	<i>Populus sp.</i>	7	25	2	Mal	Cables	4CH	Alta	4
15	Álamo	<i>Populus sp.</i>	7	20	3	Mal	Cables	4CH	Alta	4
16	Álamo	<i>Populus sp.</i>	4	16	2	Mal	Cables	4CH	Alta	4

## APÉNDICE VI

Aplicaciones de soluciones agrohomeopáticas en árboles infestados de *Struthanthus interruptus*.

No.	Especie (nombre común)	Especie (nombre científico)	Altura del árbol (m)	Diámetro del tronco (m)	Diámetro de la copa (m)	Condición general	Interferencias	Agrohomeopático	Concentración	Nivel de infección
1	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	9	35	4	Mal	No	2CH	Baja	3
2	Higuera	<i>Ficus carica</i>	6	25	6	Mal	Tumoración en tronco	2CH	Baja	4
3	Fresno	<i>Fraxinus</i> sp.	8	24	5	Regular	Rama	2CH	Baja	3
4	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	5	25	4	Regular	Rama	2CH	Baja	4
5	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	8	30	3	Mal	Rama	2CH	Baja	3
6	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	7	30	3	Mal	Desmochado	AGUA	CONTROL	3
7	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	9	50	4	Mal	Desmochado	3CH	Media	3
8	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	7	22	3	Mal	Desmochado	3CH	Media	3
9	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	9	15	3	Mal	Desmochado	3CH	Media	4
10	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	12	6	2,5	Mal	No y desmochado	3CH	Media	3
11	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	16	7	20	Mal	No	3CH	Media	3
12	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	3	6	1	Mal	No y desmochado	AGUA	CONTROL	3
13	Olmo	<i>Ulmus</i> sp.	7	35	2	Regular	No y desmochado	4CH	Alta	3
14	Frutal		3	1	13	Regular	No y desmochado	4CH	Alta	2
15	Trueno	<i>Ligustrum</i> sp.	7	15	2	Mal	Rama y desmochado	4CH	Alta	4
16	Trueno	<i>Ligustrum</i> sp.	7	35	2	Mal	Rama y desmochado	4CH	Alta	3

## CAPITULO III

### RESUMEN

#### **Alelopatía para la inhibición de *Cladocolea loniceroides* y *Struthanthus interruptus*.**

**Colegio de Postgraduados  
Fitosanidad – Fitopatología, 2014**

**Victoria Cárdenas Solís**

Las especies de la familia Loranthaceae son de gran importancia ecológica, ya que interactúan con distintas especies arbóreas, al ser plantas parásitas y hemiparásitas pueden ser nocivas para sus hospedantes y puede afectar los bosques y áreas verdes urbanas. Estudios sobre los metabolitos secundarios de las especies de *Cladocolea loniceroides* y *Struthanthus interruptus* pueden ser usados como agentes alelopáticos. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto alelopático de extractos de *C. loniceroides* y *S. interruptus* en la inhibición de la germinación de *Lactuca sativa*. En los resultados se observó que el extracto alcaloídico fue el que presentó mejor porcentaje de inhibición para *C. loniceroides* con un 87% en extracto de hoja, 80% en tallo y 62% en flor; para *S. interruptus* fue de 87% en extracto de tallo, 80% en flor y 42% en hoja. Seguido del extracto de acetato de etilo, hexánico y metanólico.

**Palabras claves.** Alelopatía, extractos, *Lactuca sativa*.

## ABSTRACT

### **Allelopathy for *Cladocora loniceroides* and *Struthanthus interruptus* inhibiting.**

**Colegio de postgraduados  
Fitosanidad – Fitopatología, 2014**

**Victoria Cárdenas Solís**

The species of the Loranthaceae family are ecologically very important as they interact with different tree species, being hemiparasites and parasitic plants and can be harmful to their hosts and can affect forests and urban green areas. Studies on the secondary metabolites of species *Cladocolea loniceroides* and *Struthanthus interruptus* can be used as allelopathic agents. The present study was carried out to evaluate the allelopathic effect of *C. loniceroides* and *S. interruptus* extracts on *Lactuca sativa* germination. In the results it was observed that the alkaloid extract showed was the higher percent inhibition of *C. loniceroides* with 87% in leaf extract, 80% in stems and 62% in flower; *S. interruptus* was 87% in stem extract, 80% and 42% flowering leaf. Followed by ethyl acetate extract, hexane and methanol.

**Keywords.** Allelopathy, abstracts, *Lactuca sativa*.

## 1 INTRODUCCIÓN

En las comunidades vegetales algunas especies regulan a otras produciendo o liberando repelentes, atrayentes o inhibidores químicos, fenómeno que se ha clasificado dentro del concepto “ecología química”. El término alelopatía (del griego *allelon* = uno al otro, del griego *pathos* = sufrir; efecto injurioso de uno sobre otro) fue utilizado por primera vez por Molisch en 1937 para referirse a los efectos perjudiciales o benéficos, describiendo las interacciones positivas (simpatético) y negativas (patético) (Willis 2007). El concepto fue retomado por Rice en 1974, y define alelopatía como el efecto de una planta con otras plantas y la relación de los compuestos químicos en el ambiente. Esta definición se acepta en gran parte porque incluye ambos compuestos, tanto el positivo como el negativo (Bhadoria, 2011). En este amplio espectro la alelopatía se ocupa de las relaciones planta-planta y planta-microorganismo (Rice, 1984).

Existen diferentes especies de plantas que producen metabolitos secundarios, aunque es frecuente encontrar en una misma planta diversas mezclas de estas sustancias. Estas combinaciones varían en su composición y abundancia en las diversas células, tejidos, órganos de la planta, y se modifican con la edad de los mismos y con las condiciones ambientales (Gómez *et al.* 2003). El efecto de las interacciones no solo se debe a una interacción competitiva, sino además, a la presencia de inhibidores. En los agroecosistemas, la colonización o distribución de las especies indeseables obedecen en muchos casos a un proceso químico que ocurre de manera amplia en comunidades naturales (Rizvi *et al.* 1992). Como cualquier otro tipo de interacción biológica, la alelopatía sufre cambios a través del tiempo. Es posible que en los organismos vegetales que han compartido una historia evolutiva larga, no se afecte uno al otro al grado de llegar a eliminarse sino que han adaptado de tal forma que puede coexistir normalmente (Moral *et al.* 1969).

Las interacciones alelopáticas han demostrado ser importantes en la naturaleza y en el ámbito forestal. Dichas interacciones son fundamentales para la determinación de la composición vegetal que crece sobre y bajo de las áreas forestales. El resultado obtenido de estas interacciones se han mostrado en casi todo tipo de plantas (angiospermas, gimnospermas, plantas inferiores como helechos y microorganismos, incluyendo micorrizas) que se encuentran presentes en las interacciones de los ecosistemas forestales alelopáticas (Waller 1987); por ejemplo, en las selvas australianas los eucaliptos conviven con una rica vegetación acompañante prueba de una larga adaptación de muchas especies a la convivencia con los eucaliptos, en cambio, en Norteamérica estas adaptaciones no existen y los bosques de eucalipto tiene escasa vegetación asociada (Moral *et al.* 1969).

Varios compuestos químicos están implicados en la alelopatía, la mayoría de estos son metabolitos secundarios y dan como productos la clasificación de cinco categorías importantes: fenoles, acetogeninas, terpenos, esteroides y alcaloides (Whittaker 1971).

La realidad visible de los efectos alelopáticos en el crecimiento y desarrollo de las plantas, incluye la inhibición o retardo de la germinación, algunas semillas las obscurece, reduce el crecimiento de la raíz o la radícula, produce diferentes tipos de necrosis y baja la capacidad de reproducción (Bhadoria, 2011).

*C. loniceroides* y *S. interruptus* alteran la calidad del arbolado urbano, reduciendo su vigor y los beneficios que proporcionan a las ciudades. Es de gran importancia realizar estudios de su actividad biológica ya que forman parte de un ecosistema y pueden ser precursores claves o fuentes potenciales de compuestos biológicamente activos para inhibir la geminación.



## 2 OBJETIVO

- Evaluar el efecto alelopático de extractos extraídos de *Cladocolea loniceroides* y *Struthanthus interruptus* en la inhibición de la germinación de *Lactuca sativa*.

### 3 REVISIÓN DE LITERATURA

#### 3.1 Alelopatía.

El fenómeno de la alelopatía ha sido plasmado en documentos que datan de unos cuantos siglos antes de cristo. Un documento del 3000 a. de c. relata que muchas plantas destruyeron malas hierbas e inhibieron el crecimiento de otras cosechas. Plineo el viejo, en el siglo I a. de c. observó que al cultivar el garbanzo, la cebolla y el chícharo juntos, presentaban problemas de cosechas. También establece que las sombra del nogal, causa dolor de cabeza al hombre y mata cualquier especie vegetal que se encuentre a su alrededor (Rice, 1984).

Desde épocas remotas los efectos alelopáticos de algunas plantas sobre otras han sido objeto de estudio por Theophrastus (siglo III) y Demócrito (siglo V) (Putman, 1985). Culpeper 1633, detalla que la albaca y la ruda no se desarrollan juntas o cercas una de otra, también hace mención que existe antipatía entre la col y la vid. Young en 1804, describió que el trébol presenta conflictos al cultivarse en terrenos con cultivos permanente de la misma especie. El suelo adquiere una enfermedad del trébol, por la presencia de alelopáticos de la misma especie. De Candolle en 1832, observó que las alubias (*Phaseolus vulgaris*) mueren o retrasan su crecimiento al ser tratadas con aguas edáficas provenientes de leguminosas o de la misma especie. Por otra parte el trigo se desarrolla bien al ser tratado con esta agua.

Se empezó a tener un mayor interés en generar nueva investigación en alelopatía pero el progreso real fue en los años sesenta con los trabajos de Muller *et al.* 1964 y Rice en 1964-1968. Más tarde, el fisiólogo alemán Hans Molisch, demuestra el efecto negativo del crecimiento de vegetales en ambientes de gas etileno generado por manzanas, este autor acuñó la palabra “alelopatía”, para describir las

acciones negativas o positivas entre las plantas, causadas en forma indirecta con compuestos químicos (Willis, 2007; Mallik, 2000).

La definición más tradicional del fenómeno de alelopatía es la que describe como, “cualquier efecto, estímulo o inhibitorio, directo o indirecto causado por una planta sobre otra a través de la producción de compuestos químicos que escapan al medio ambiente” (Rice 1984). La definición más amplia es desarrollada por la Sociedad Internacional de Alelopatía en 1996, definiéndola como: “cualquier proceso que involucre metabolitos secundarios producidos por plantas, algas, bacterias, y hongos, que influyan en el crecimiento o desarrollo de sistemas biológicos o agrícolas”.

### **3.2 Mecanismos de acción de los inhibidores**

El estudio del mecanismo de acción de los productos alelopáticos y sintéticos ha producido grandes descubrimientos para los investigadores, puesto que los mecanismos de acción de dichos compuestos químicos están relacionados.

Liebman y Ohno en 1998, indican que el efecto inhibitorio de los químicos sobre la germinación el crecimiento es debido al resultado del efecto sobre muchos procesos individuales. Según Rizvi *et al.* 1992, hay dos modos de acción de los compuestos alelopáticos: indirecto y directo.

- 1. Modo indirecto.** Incluye los efectos ocasionados por la alteración de propiedades del suelo, del estado nutricional y de la actividad de poblaciones de organismos benéficos.
- 2. Modo directo.** Comprende los efectos sobre varios procesos de crecimiento y el metabolismo de las plantas. Lovetty y Ryuntyu en 1992 los clasifica en primarios (inhibición de la división celular, inhibición de la fotosíntesis, efectos en la respiración, efectos sobre la síntesis de proteínas, cambios en la

permeabilidad de las membranas e indivisión de enzimas) y secundarios (interferencia con la germinación y el crecimiento).

### **3.3 Principales compuestos alelopáticos.**

La mayoría de los compuestos liberados por las plantas son metabolitos secundarios producidos como resultado de las rutas metabólicas primarias (Hadacek, 2002). Dependiendo de su acción fitotóxica, su concentración bioactiva, su persistencia y destino en el entorno en que son liberados, pueden actuar como compuestos alelopáticos (Inderjit *et al.*, 2003). Además, en la naturaleza, la actividad alelopática probablemente es originada por la acción conjunta de varios aleloquímicos, más que por la acción de uno solo. Hoy en día existe un gran debate con relación del papel que desempeñan los metabolitos secundarios como aleloquímicos en los ecosistemas naturales y, en concreto, durante el proceso de invasión.

La actividad biológica de los compuestos está estrictamente guiada por sus concentraciones, y estos a su vez por el efecto del estímulo, independientemente de los modelos biológicos, estos compuestos presentan un efecto estimulante en dosis bajas y un efecto inhibitorio en dosis más altas (Tharayil, 2009).

Muchos compuestos que tienen efecto sobre procesos fisiológicos de las plantas, dependiendo de sus concentraciones o de las formas en que se utilice, resultan perjudiciales para las otras especies o para las mismas que los producen; es el caso del etileno, que ha sido utilizado como hormona para favorecer algunas especies vegetales. La naturaleza química de los compuestos alelopáticos es variable y diversa; a continuación se hace referencia de los tipos de compuestos más estudiados.

- 1. Gases tóxicos.** Este tipo de compuestos se encuentran referido por Evarani en 1949, y entre ellos está el etileno, es importante mencionar que el etileno se considera como un agente alelopático, ya que se libera en cantidades significativas por los residuos vegetales en descomposición, con la capacidad de provocar retardo en la elongación de tallos y raíces (Samprieto, 2003). Especies de la familia de crucíferas emiten una serie de gases tóxicos, principalmente amoníaco e isocianato, que llegan a ser letales para microorganismos patógenos que se encuentran en el suelo (Evarani, 1949).
- 2. Cumarinas.** Pertenecen al grupo de las lactonas del ácido o-hidroxinámico con cadenas de isoprenoides, psoraleno (furano cumarina) o heterósidos de cumarinas, esculina; son potentes inhibidores de la germinación, los inhibidores de este grupo comúnmente son producidos por granos de leguminosas y cereales (Rice, 1984).
- 3. Quinonas.** Algunos de este grupo se han examinado para su actividad herbicida, y otros tienen comprobados efectos adversos sobre las plantas (Putman, 1985).
- 4. Flavonoides.** Rice en 1984, aisló flavonoides de asociaciones de vegetación clímax que resultaron fuertes inhibidores de bacterias nitrificantes y de la germinación de semillas.
- 5. Taninos.** En este grupo están incluidos tanto los taninos hidrolizables como los condensados. Los primeros están implicados en la inhibición de la germinación.
- 6. Terpenos y esteroides.** Las plantas superiores que se desarrollan en zonas áridas y semiáridas, sintetizan terpenoides. Los terpenoides y esteroides, elaborados a partir de los mismos precursores, constituyen un amplio conjunto de metabolitos secundarios de los vegetales. Son inhibidores de crecimiento de plantas superiores y malezas, siendo en este

grupo donde encontramos la mayor cantidad de inhibidores del crecimiento y germinación (Putnam, 1985),

**7. Alcaloides.** Comprenden una familia de más de 15, 000 metabolitos secundarios que contienen nitrógeno y se encuentran aproximadamente en un 20% de las especies en plantas vasculares (Taiz, 2006). Son potentes inhibidores de la germinación (Evanari, 1949).

### **3.4 *Cladocolea loniceroides* y *Struthanthus interruptus***

La famililla Loranthaceae comprenden aproximadamente 30 géneros y 100 especies, en las que se incluyen *Cladocolea loniceroides* y *Struthanthus interruptus* (Rzedowski *et al.*, 2010).

La especie *C. loniceroides* (Van Teghem) Kuijt es endémica de México. Se localiza en el estados de Jalisco, Michoacán, Guerrero, Oaxaca, Morelos, Estado México, Tlaxcala y en el Distrito Federal (Calderón & Rzedowski; Chazaro *et al.*, 2005).

*C. loniceroides* es un arbusto hemipárasita, dioico erecto, de **tallos** ramificados con pubescencia y mide de 30 a 100 cm de alto. **Hojas** firmes y rígidas pero no coriáceas, alternas u opuestas, subsésiles, ovadas a lanceoladas, de 2 a 5 cm de largo y de 0.5 a 2.5 cm de ancho, ápice agudo a acuminado, borde entero, base por lo común cuneada y venación pinnada. **Inflorescencias** en forma de capítulos axilares de 3 a 10 flores, dispuestos sobre pedúnculos de 0.3 a 2 mm de largo. Flores femeninas de color blanco, con cálculos de poco menos de 1 mm de largo, tépalos lineales de 2 a 23.5 mm de largo, caducos, estilo sigmoideo a partir de sus dos terceras partes hacia arriba, estigma capitado, algo bilobado, el ovario mide 1 mm, estigma bien diferenciado, androceo reducido. Flores masculinas de 6 a 10 por inflorescencia color blanco-amarillo, cálculo e 1 mm de largo, tépalos oblongo-lanceolados, de 3 a 3.5 mm de largo, estambres adnatos a tépalos, las anteras miden

menos de 1 mm y en su interior hay dos saco de polen dispuestos hacia arriba y dos hacia abajo, gineceo rudimentario. **Fruto** ovoide, glabro, carnosos, de color rojo oscuro, de 6 a 8 mm de largo por 4 a 5 mm de ancho, embrión verde oscuro, en forma de clava, cotiledones lineales (Kuij, 1975; Calderon & Rzedowsky, 2001).

La especie *S. interruptus* Kuijt, se localiza en los estados de Chiapas, Morelos, Michoacán, Oaxaca, Estado México, Sonora, Puebla, Veracruz y Distrito Federal (Calderón & Rzedowski; Chazaro *et al.*, 2005).

*S. interruptus* es un arbusto con tallos volubles y colgantes tipo bejuco de hasta 1.5 m de largo, parásitos de plantas leñosas principalmente del grupo de las dicotiledóneas. **Tallos** redondos sin pubescencia, sin catáfilos. **Hojas** opuestas o sub opuestas, a veces alternas por lo común pecioladas, coriáceas y penninervadas obovadas, subcarnosas, subcoriáceas, sin pubescencia, de 3 a 3.5 cm de largo y 1.5 a 2.5 cm de ancho, basinervadas. **Flores** dispuestas en fascículos de 2 a 3 estos a su vez organizados en espigas, color verde-cremoso, perianto de 6 piezas con igual número de estambres. **Fruto** una baya, verde negruzca, con verrugosidades, de 5 mm de largo y 3 mm de ancho. El daño en las ramas de su hospedante no es tumor, pero se va enredando y haciendo varias heridas por donde penetran los haustorios, mismos que estrangulan la rama como una enredadera y se desplazan por el resto de las ramas y el tronco del árbol.

Duran en el 2011, realizó un estudio de la actividad bacteriana, citotóxica e insecticida de *Cladocolea loniceroides*, así mismo presentó un estudio preliminar fitoquímico y de su actividad biológica. La actividad biológica fue probada en cuatro modelos diferentes: líneas celulares cancerígenas humanas, bacterias, *A. salina* y *Spodoptera frugiperda*, así mismo la presencia de metabolitos secundarios pertenecientes a los grupos de terpenos, esteroides, flavonoides y

alcaloides. Morales en el 2011, realizó un estudio fitoquímico de la actividad biológica de *Struthanthus interruptus*, evaluando la citotoxicidad de los extractos por medio de modelos biológicos y determinando la presencia de metabolitos secundarios como terpenos, esteroides y flavonoides.

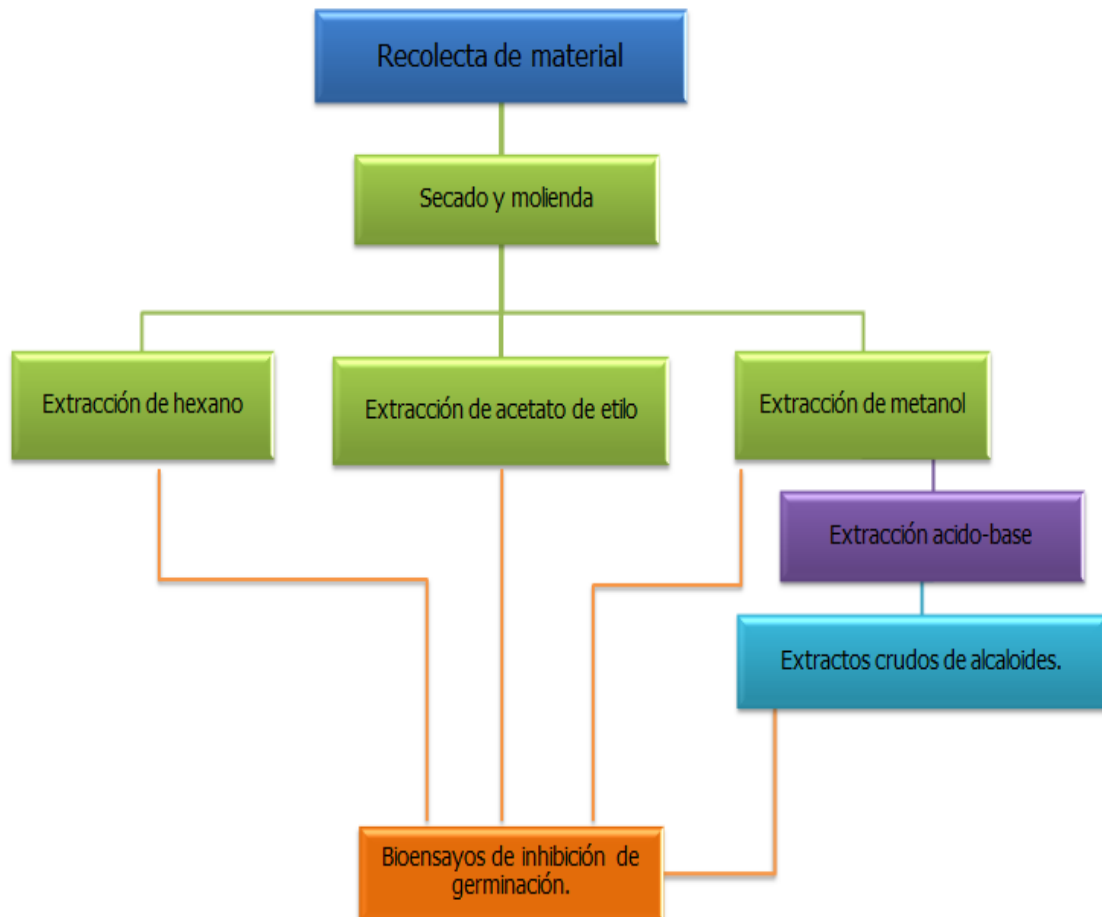
Las especies de la familia Loranthaceae son de gran importancia ecológica, ya que interactúan con distintas especies arbóreas y frutales. Estas plantas, al ser hemiparásitas son nocivas para sus hospederos y pueden afectar la salud de los bosques o plantaciones; sin embargo, su presencia es importantes ya que son recursos alimenticio para diversas especies de insectos, aves e incluso mamíferos. *C. loniceroides* y *S. interruptus* alteran la calidad de la madera, reduciendo su producción y en las zonas urbanas, disminuyen los beneficios que los arboles proporcionan en estos lugares.

La importancia de realizar diferentes estudios sobre los compuestos químicos que presentan las especies de *C. loniceroides* y *S. interruptus*, es de gran importancia ya que pueden ser usados como agentes alelopáticos debido a la presencia de los diferente grupos de metabolitos secundarios y por lo tanto utilizado para el control de dichos muérdagos.



## 4 MATERIALES Y METODOS

La recolecta y procedimiento para la extracción de los metabolitos secundarios se muestra en la figura 1.



**Figura 1.** Diseño experimental.

### 4.1 Fase de campo.

El material vegetal para las extracciones se recolectó en la Delegación Xochimilco calzada del hueso para el caso de *C. loniceroides* y en la Delegación Coyoacán en el exconvento de Churubusco para *S. interruptus*, en el mes de julio del 2012 Se tomaron muestras de hoja, tallo y flor. El secado se llevó acabo en una estufa a temperatura constante de 35 °C en el Laboratorio de Patología Forestal, Colegio de

Postgraduados. Cuando el peso del material fue constante, se colocaron en bolsas de papel estraza, se etiquetaron y guardaron.

## **4.2 Fase de laboratorio**

### **4.3 Obtención de extractos.**

El material vegetal se extrajo siguiendo la metodología propuesta por Bhat y colaboradores (2005) y consistió en las siguientes actividades

- EL material seco se molió en un molino Retsch SM 2000 (tronco, hoja y flor) por separado.
- Se realizó la extracción con hexano, acetato de etilo y metanol tres veces, macerando el primer día a 24 hrs, el segundo a las 48 y el tercero a las 24 hrs.
- Los disolventes se eliminaron por evaporación a presión reducida.
- Los extractos se liofilizaron.
- El extracto metanólico seco se mezcló con una solución acuosa de ácido clorhídrico (pH4), la solución se calentó en baño maría durante unos minutos y se filtró al vacío.
- El filtrado se alcalinizó con una disolución acuosa de hidróxido de sodio a pH 10.
- La disolución alcalina se extrajo tres veces con cloroformo en un embudo de separación. Se separó la fase orgánica y se secó con sulfato de sodio anhidrido.
- El disolvente se eliminó por evaporación a presión reducida.

#### **4.4 Pruebas biológicas.**

Los tratamientos se prepararon en tres concentraciones diferentes (10, 100 y 1000 ppm) de los 24 extractos obtenidos de las dos especies de muérdago (metanólico, acetato de etilo, hexánico y alcaloidico), dando un total de 72 tratamientos, con 5 repeticiones cada tratamiento y sus 24 grupos controles de agua destilada, 24 grupos control de solución de cafeína y 16 grupos control de cloroformo.

Debido la semilla de ambos muérdagos no era su temporada, se decidió utilizar una especie con alto grado de germinación por lo que se decidió a *Lactuca sativa*. Se contaron las semillas germinadas de *Lactuca sativa* después de 24 horas y se calculó el promedio y la desviación estándar para cada tratamiento.

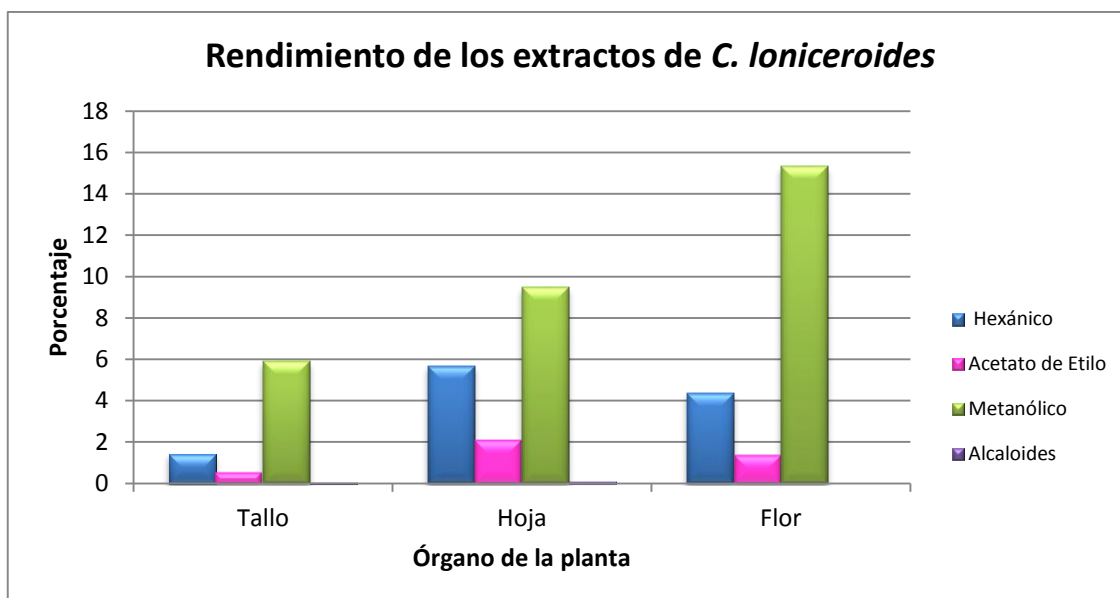
## 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 Rendimiento de los extractos.

Terminado el proceso de secado y molienda, a continuación se realizaron las extracciones de la hoja, tallo y flor. En la **figura 2** se muestran los rendimientos de *C. loniceroides*, donde se puede observar que el extracto metanólico fue el que tuvo mayor rendimiento, siendo el más abundante el de flor (15.33 %), seguido del de hoja (9.47 %) y terminando con tallo (5.91 %).

Los siguientes en abundancia fueron los extractos hexánicos, el de mayor rendimiento fue el de hoja (5.66 %), seguido del de flor (4.33 %) y finalmente el de tallo (1.42 %). Posteriormente, los extractos de acetato de etilo, el más abundante fue el de hoja (2.05%), seguido del de la flor (1.35 %) y por último el de tallo (0.55%). Finalmente, los extractos con el menor rendimiento fueron los alcalóidicos siguiendo el orden de hoja (0.077 %), tallo (0.057 %) y flor (0.013 %) (**Figura 2**).

De acuerdo con Durán en el 2011, sus rendimientos fueron mayores en el extracto metanólico, seguido del hexánico y acetato de etilo. De acuerdo a nuestros resultados, en secuencia de rendimientos concuerda con Durán, en cuanto a órgano vegetal su mayor rendimiento lo obtuvo en el tallo, seguido del Hexánico en flor y el de acetato de etilo en tallo, los resultados obtenidos en dicha investigación no concuerdan, ya que en cuanto al rendimiento en órgano vegetal, se obtuvo un mayor rendimiento en el metanólico en flor, seguido del hexánico y acetato de etilo en hoja. Durán (2011), no obtuvo el extracto alcaloídico, pero en esta investigación el mayor rendimiento se obtuvo en el órgano de la hoja seguido de tallo y flor.



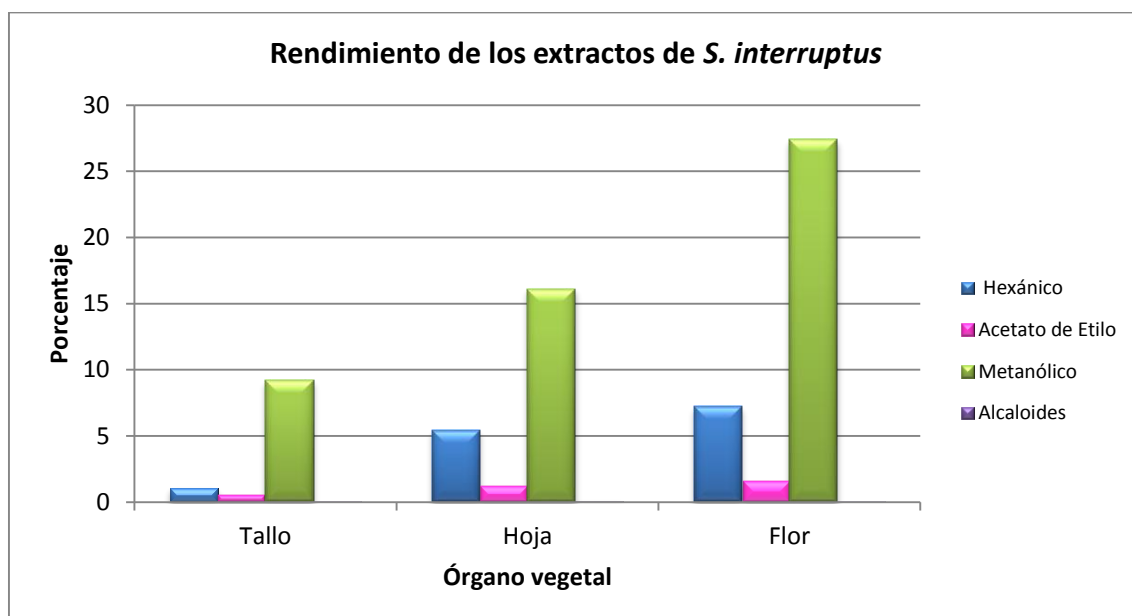
**Figura 2.** Rendimiento de los extractos de hoja y tallo de cada 100 g y de flor 45 g de material vegetal molido.

En la **figura 3** se muestran los rendimientos de *S. interruptus*, donde se puede observar que el extracto metanólico fue el que tuvo mayor rendimiento, siendo el más abundante el de flor (27.43 %), seguido del de hoja (16.1 %) y terminando con tallo (9.1 %).

Los que siguieron de abundancia fueron los extractos hexánicos, el de mayor rendimiento fue el de flor (7.24 %), seguido de la hoja (5.43 %) y finalmente del tallo (1.06 %). Posteriormente, los extractos de acetato de etilo, el más abundante fue el de flor (1.57 %), seguido del de hoja (1.18 %) y por último el de tallo (0.54%). Finalmente, los extractos con el menor rendimiento fueron los alcalóidicos en hoja (0.077 %), tallo (0.051 %) y flor (0.038 %) (**Figura 3**).

De acuerdo al rendimiento no hay estudios que den el dato en cuando a *S. interruptus*, pero si comparamos con los rendimientos de *C. loniceroides* se puede observar que en ambas especies el extracto metanólico fue el que mayor rendimiento obtuvo en la flor, hoja y tallo, respectivamente. Le siguió el extracto hexánico en donde el mayor rendimiento en ambas especies fue en el órgano de flor. Para el extracto

de acetato de etilo el mejor rendimiento se obtuvo de la flor para *S. interruptus* y para *C. loniceroides*, y por ultimo el extrato alcalóidico obtuvo el mejor el rendimiento en ambas especie en la flor.



**Figura 3.** Rendimiento de los extracto de hoja y tallo de cada 100 g y de flor 75 g de material vegetal molido

Como se puede observar cada órgano de la planta tuvo una variación en rendimiento, en función del disolvente utilizado en cada extracción. Esto se debe en gran parte a que cada órgano de la planta (hoja, tallo y flor) tiene funciones y estructura diferentes, por lo que la cantidad y el tipo de metabolito que se extrae van a variar.

Es importante señalar que las condiciones y recolectas de las plantas va a tener una variación en el rendimiento, esto debido a que la producción de metabolitos secundarios es afectado por diferentes aspectos, principalmente las condiciones en que se encuentre el hospedante, la luz que recibe y el estrés biótico o abiótico al que puede estar sometida la planta (Press *et al.* 2005), no hay estudios donde se especifique en que mes se presentan la mayor cantidad de metabolitos en el caso de *C. loniceroides* y *S. interruptus*, ya que los factores que

favorecen o estimulan la producción de metabolitos van a ser variables según la especie.

## **5.2 Bioensayos de inhibición de la germinación.**

En los bioensayos, se observó la actividad inhibitoria de los diferentes extractos de *C. loniceroides* a 10, 100 y 1000 ppm. En el **Cuadro 1**, se presentan los porcentajes de inhibición. El extracto alcaloídico de la hoja obtuvo el mejor porcentaje de inhibición con un 87%, seguido del tallo (80%) y flor (62%) a una concentración de 1000 ppm.

En el extracto de acetato de etilo en hoja se pudo observar un 58% de inhibición seguido del tallo (43%) y de flor (30%). Los extractos que obtuvieron menor porcentaje de inhibición a 1000 ppm fueron el hexánico con 32% en hoja y 14% en tallo y flor; para los extractos metanólicos presentaron 14% para la hoja y flor y el 10% en tallo.

Cabe mencionar que para el extracto alcaloídico solo se realizó el bioensayo a 1000 ppm, debido a que el rendimiento fue muy bajo y solo alcanzó para realizar un bioensayo por órgano vegetal.

Para la concentración de 100 ppm el mejor extracto fue para el acetato de etilo en hoja con un 34 % seguido del de tallo con 20%. El extracto hexánico de hoja obtuvo un 12%. Los extractos con menor inhibición fueron para el metanólico en tallo y flor con un 2%. Y por último, a una concentración de 10 ppm se observó que en acetato de etilo hubo de 26 % para hoja, 20 % para tallo y 6 % para flor. Los extractos hexánicos obtuvieron el 4% en los diferentes órganos vegetales y para el caso el extracto metanólico se obtuvo el 2% para flor y 0% en el de tallo y hoja (**Figura 2**).

Si bien cada extracto contiene compuestos diferentes, de acuerdo con Durán (2011), en el extracto hexánico se pueden encontrar terpenos y esteroides en los tres órganos; para el caso de acetato de etilo se encuentran en una cantidad mayor flavonoides acompañado de terpenos y esteroides en concentraciones más bajas; para el caso del extracto metanólico se encuentran concentraciones mínimas de flavonoides. Por último, para el caso del extracto alcaloidico, de acuerdo con el reactivo de Dragendorff, muestra una ligera presencia de alcaloides.

**Cuadro 1.** Porcentajes de inhibición de *Lactura sativa* expuestas a los extractos de *C. loniceorides* a 10, 100 y 1000 ppm

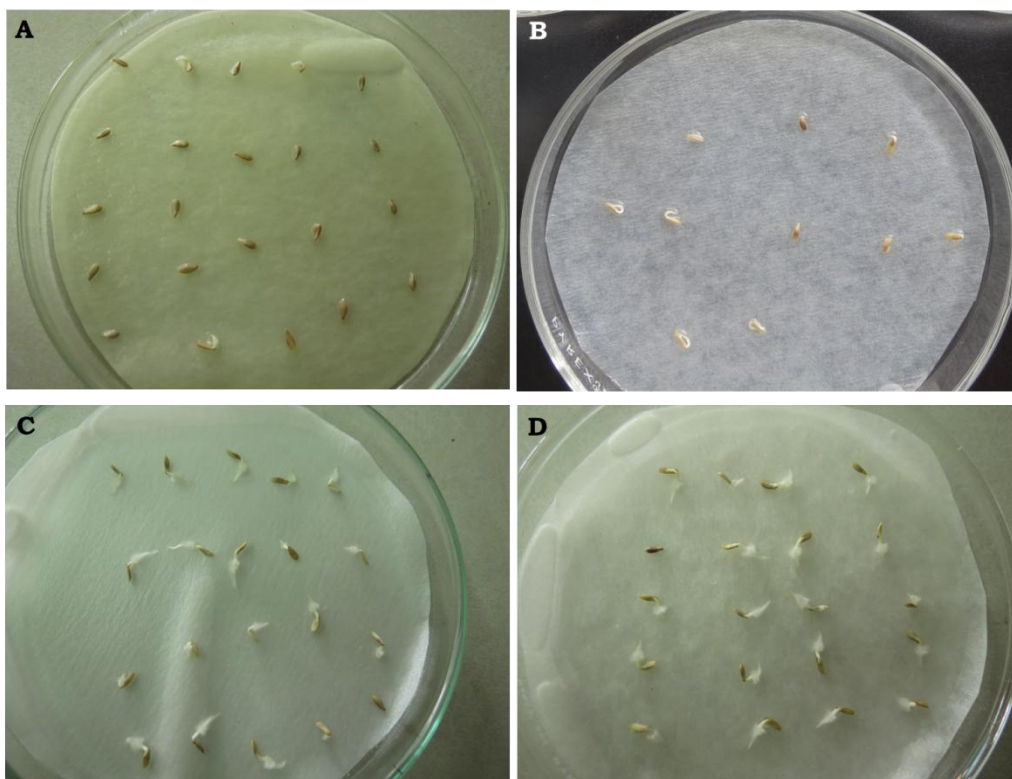
<b>EXTRACTOS</b>	<b>Concentración a ppm</b>		
	<b>10</b>	<b>100</b>	<b>1000</b>
Hexánico hoja	4	12	32
Hexánico tallo	4	6	14
Hexánico flor	4	4	14
Acetato de Etilo hoja	26	34	58
Acetato de Etilo tallo	20	20	42
Acetato de Etilo flor	6	6	30
Metanólico hoja	0	6	14
Metanólico tallo	0	2	10
Metanólico flor	2	2	14
Alcaloidico hoja			87
Alcaloidico tallo			80
Alcaloidico flor			62

El extracto alcaloidico de hoja y tallo a 1000 ppm mostraron efecto inhibitorio que comparado con el control cafeína puede ser

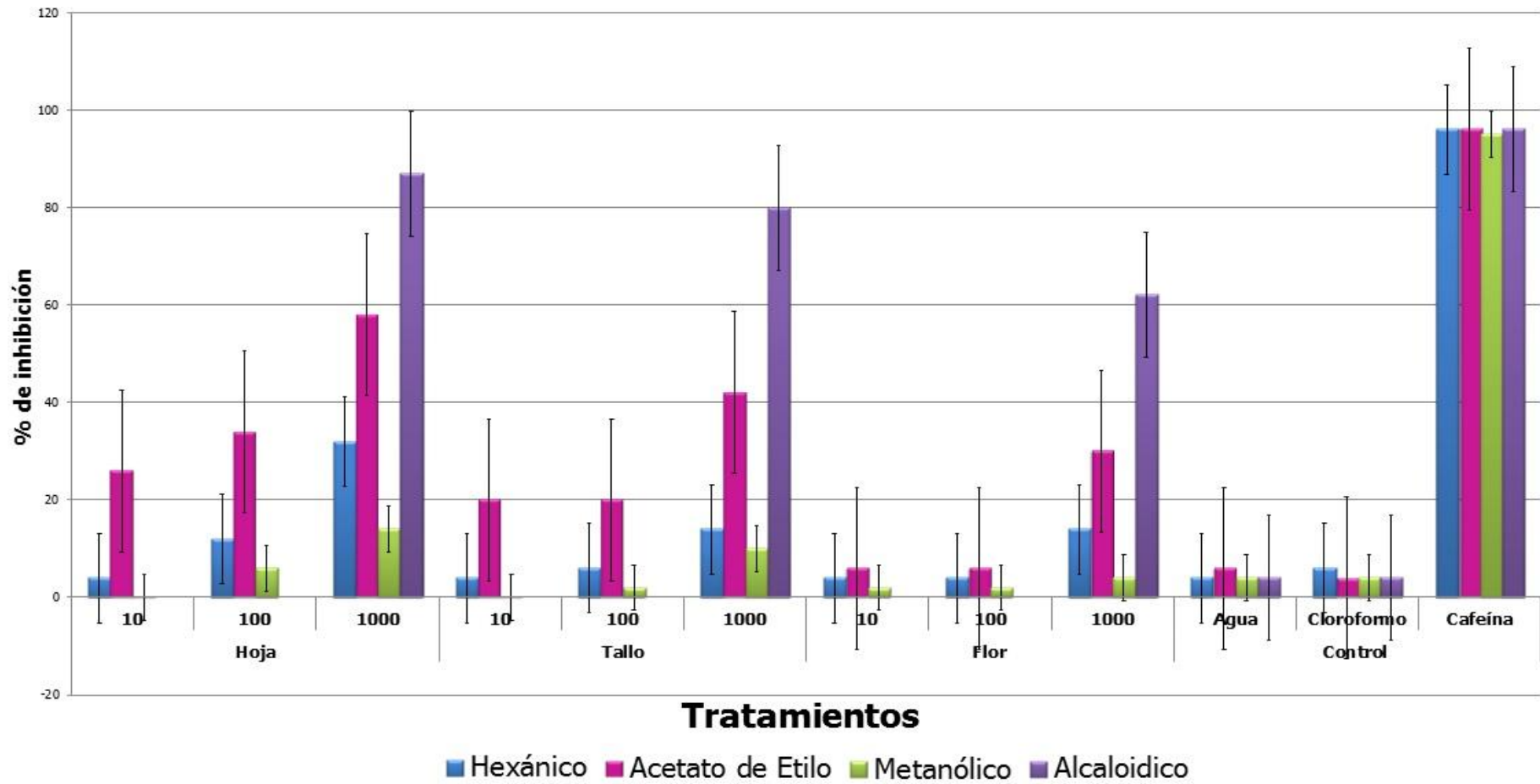


utilizado como un inhibidor de la germinación (**Figura 4**); se puede observar que la desviación estándar muestra que no hay diferencia significativa entre estos dos tratamientos y el control cafeína (**Figura 5**). El extracto de acetato de etilo no muestra diferencia significativa entre concentración y órgano vegetal, pero si lo comparamos con el extracto alcaloidico se puede observar que solo el extracto a 1000 ppm de hoja no muestra diferencia significativa con los tratamientos alcaloidicos.

En cuanto a los extractos metanólico y hexánico la desviación estándar muestra que si hay diferencia significativa entre estos dos tratamientos y el alcaloidico. En la **Figura 5** se pueden observar los extractos con potencial como agentes inhibitorios, entre ellos se observa que el extracto alcaloidico fue el mejor, cabe mencionar que debido a que las desviaciones estándar fueron muy grandes sería deseable repetir el experimento a concentraciones arriba de 1000 ppm y con un mayor número de repeticiones.



**Figura 4.** Bioensayos de inhibición A) extracto alcaloidico de *C. loniceroides* de hoja a 1000 ppm, B) cafeína, C) cloroformo y C) agua



**Figura 5.** Porcentajes de inhibición en semillas de *Lactuca sativa* con los cuatro extractos a diferentes concentraciones y su grupo control.

En los bioensayos que se realizaron para los extractos de *S. interruptus* a 10, 100 y 1000 ppm (**Cuadro 2**), el extracto alcaloidico del tallo obtuvo el mejor porcentaje de inhibición con un 87%, seguido de flor (80%) y de hoja (42%) a una concentración de 1000 ppm.

En el extracto de acetato de etilo en hoja se pudo observar un 58% de inhibición seguido de tallo (24%) y flor (20%). Los extractos que obtuvieron menor porcentaje de inhibición a 1000 ppm fueron el metanólico de tallo y flor con el 2% y hoja con el 4%; para los extractos hexánicos presentaron 4% en flor, 6% en tallo y 85% en hoja.

Cabe mencionar que para el extracto alcaloidico solo se realizó el bioensayo a 1000 ppm, debido a que el rendimiento fue muy bajo y solo alcanzó para realizar un bioensayo por órgano vegetal.

Para la concentración de 100 ppm el mejor extracto fue para el acetato de etilo en hoja con un 34 %, seguido de del tallo con 22% y flor con el 20%. Con el extracto hexánico de hoja se obtuvo un 12%. Los extractos con menor inhibición se observaron en el metanólico en hoja y tallo con un 2%, el extracto hexánico de flor con el 2%. Finalmente a una concentración de 10 ppm se pudo observar que con el acetato de etilo se obtuvo un 22 % para hoja y tallo y 6 % para flor (**Figura 5**).

Cada extracto contiene compuestos diferentes, de acuerdo con Morales en el 2011, en el extracto hexánico se pueden encontrar terpenos en los tres órganos; para el caso de acetato de etilo se encuentra una cantidad mayor de flavonoides acompañado de terpenos concentraciones más bajas; para el caso del extracto metanólico se encuentran concentraciones mínimas de flavonoides. Posteriormente, para el caso del extracto alcaloidico, de acuerdo con el reactivo de Dragendorff, muestra una ligera presencia de alcaloides.

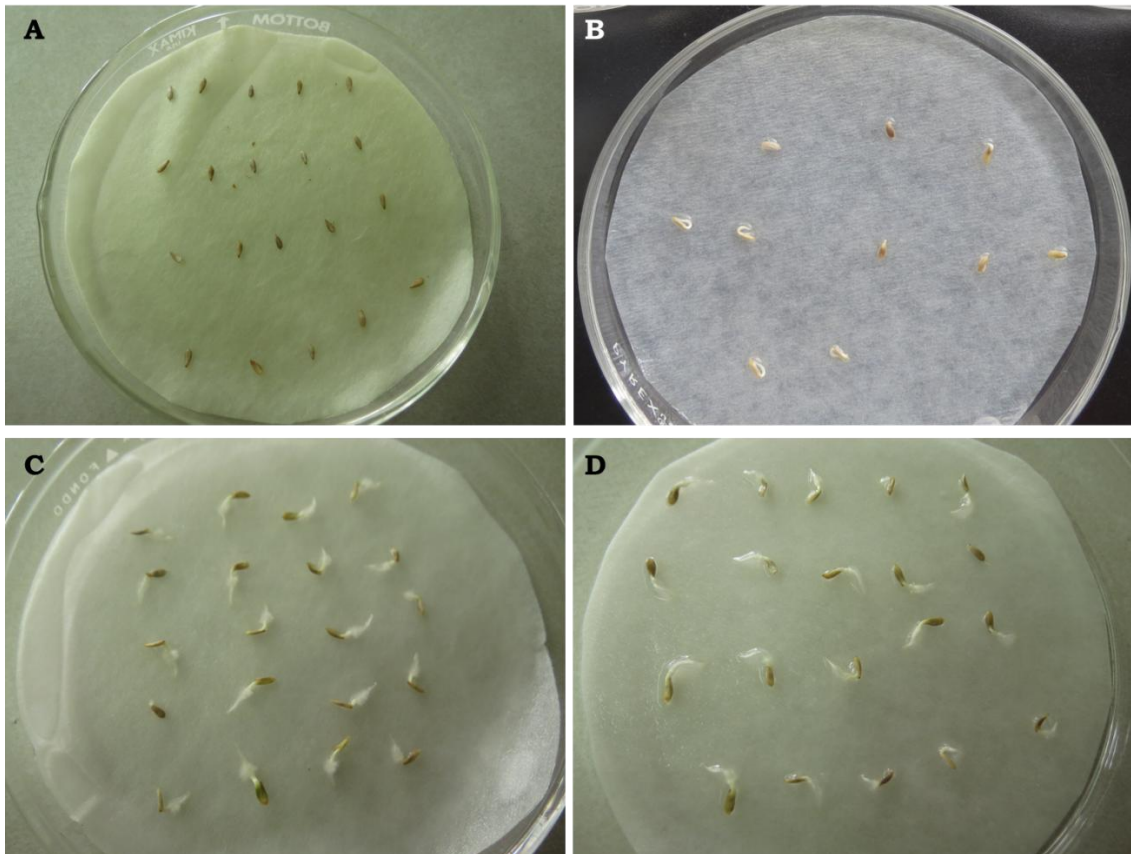
**Cuadro 2.** Porcentajes de inhibición de *Lactuca sativa* expuestas a los extractos de *Struthanthus interruptus* a 10, 100 y 1000 ppm.

EXTRACTOS	Concentración a ppm		
	10	100	1000
Hexánico hoja	2	6	8
Hexánico tallo	4	6	6
Hexánico flor	2	2	4
Acetato de Etilo hoja	22	34	58
Acetato de Etilo tallo	22	22	24
Acetato de Etilo flor	6	20	20
Metanólico hoja	1	2	2
Metanólico tallo	2	2	2
Metanólico flor	1	3	4
Alcaloidico hoja			42
Alcaloidico tallo			87
Alcaloidico flor			80

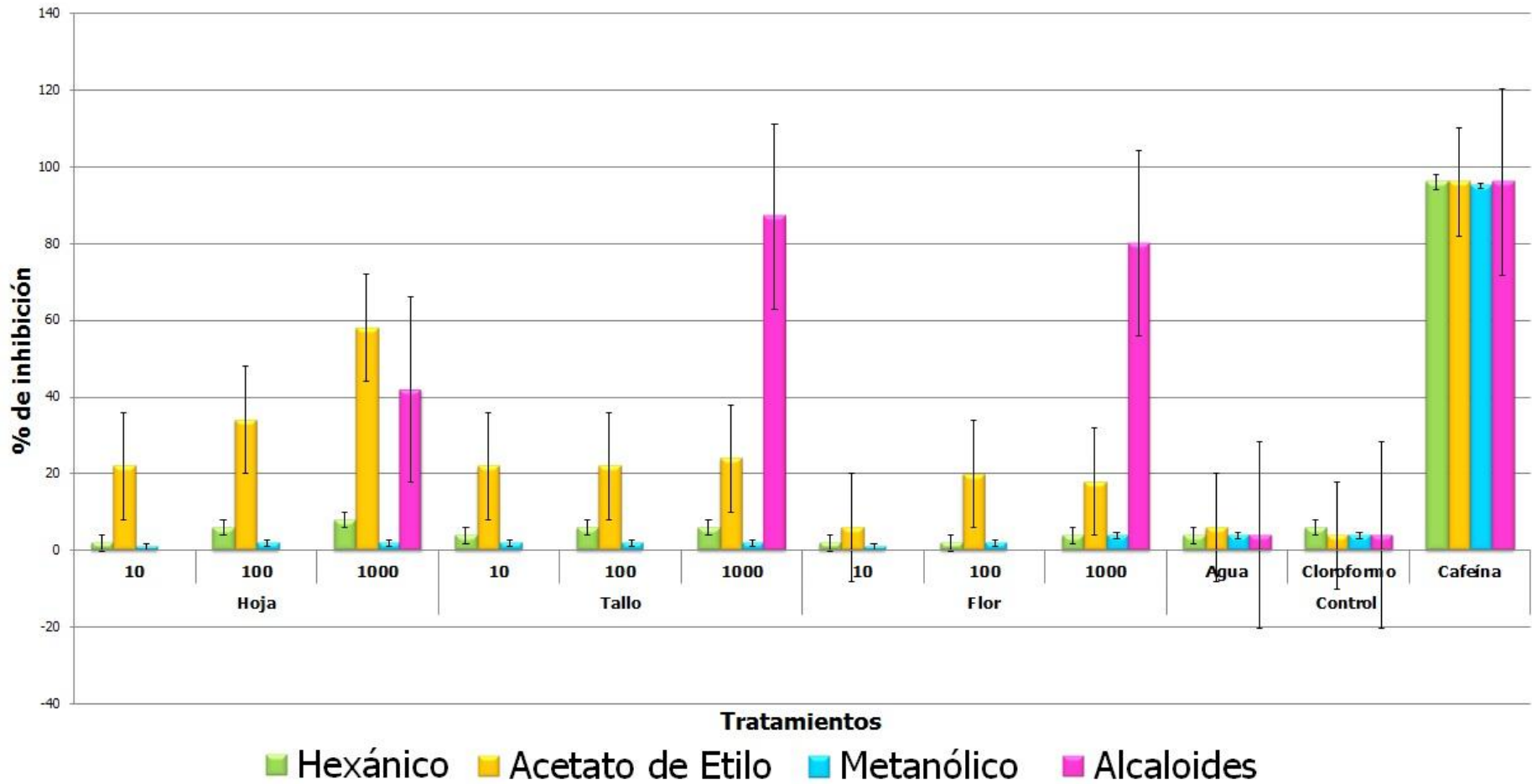
El extracto alcaloidico de tallo y flor a 1000 ppm mostró alto efecto inhibitorio que comparado con el control cafeína puede ser utilizado como un inhibidor de la germinación (**Figura 6**); se puede observar que la desviación estándar muestra que no hay diferencia significativa entre estos dos tratamientos y el control cafeína (**Figura 7**). El extracto de acetato de etilo de hoja a 1000 ppm no muestra diferencia significativa entre los extractos alcaloidicos de hoja, tallo y flor.

En cuanto a los extractos metanólico y hexánico la desviación estándar muestra que si hay diferencia significativa entre estos dos

tratamientos y el alcaloidico. En la **Figura 7** se muestran los extractos con potencial como inhibidores, los mejores porcentajes se obtuvieron con los extractos alcaloidicos, cabe mencionar que debido a que las desviaciones estándar fueron muy grandes sería deseable repetir el experimento a concentraciones arriba de 1000 ppm y con mayor cantidad de repeticiones.



**Figura 6.** Bioensayos de inhibición A) extracto alcaloidico de *S.interruptus* de tallo a 1000 ppm, B) cafeina, C) cloroformo y C) agua



**Figura 7.** Porcentajes de inhibición de *Lactuca sativa* con los cuatro extractos a diferentes concentraciones, respecto al grupo control (agua, cloroforno y cafeína)

Los extractos de ambas especies mostraron que el extracto alcaloidico es un inhibidor potencial de la germinación, seguido del acetato de etilo en concentraciones de 1000 ppm. Wink en 1983, realizó bioensayos con extractos alcaloidicos aislados de la parte aérea y semillas de *Lupinus albus*, y probaron el potencial de inhibición de semillas de *Lactuca sativa*. El porcentaje de inhibición fue del 80% para el alcaloide identificado como lupanina y un 68% para el alcaloide citisina. Se menciona que el porcentaje de inhibición tiene que ver con los grupos de compuestos alcaloidicos que se presenta en los diferentes extractos de los órganos de dichas plantas, así mismo la fecha de colecta. Por lo tanto, la diferencia de la inhibición de los alcaloides extraídos de los diferentes órganos vegetales de *C. loniceroides* y *S. interruptus* es la causa por la cual hubo diferencia en el porcentaje de germinación, sería interesante para un proyecto posterior identificar los grupo a los que pertenecen los alcaloides aislados de dichas especies, puesto que el porcentaje de inhibición resultó arriba del 80%, así mismo sería de importancia probar si hay efecto en la inhibición de las semillas de *C. loniceroides* y *S. interruptus*.

## 6 CONCLUSIONES

- Los metabolitos secundarios de *C. loniceroides* y *S. interruptus*, actuaron ser promotores de alelopatía en la inhibición de la germinación.
- Los extractos alcaloidico y acetato de etilo son compuestos con mejor respuesta alelopática de la inhibición de la germinación en *Lactuca sativa*.
- El extracto que mejor rendimiento obtuvo fue metanólico, seguido del hexánico, acetato de etilo y alcaloidico en ambas especies.
- El mejor inhibidor fue el alcaloidico de hoja de *C. loniceroides* y el alcaloidico de tallo de *S.interruptus* ambos con un 87% de inhibición.



## 7 BIBLIOGRAFIA CITADA

- Alvarado, R. y Saavedra, R. 2005. El género *Cladocolea* (Loranthaceae) en México: muérdago verdadero o injerto. *Ciencias Forestales y del Ambiente*. 11: 5-9
- Bhadoria, P. 2010. Allelopathy: A natural way towards weed management. *American Journal of Experimental Agriculture*. 1:1:7-20.
- Bhat, S., Nagasampagi, B. & Sivakumar, M. 2005. Chemistry of Natural Products. Narosa Publishing House, New Delhi. Chapter 4. Alkaloids. 237-252.
- Calderón, R. 1979. Loranthaceae. En: J. Rzedowski y G. Calderón de Rzedowski (Eds.). *Flora fanerogámica del valle de México*. 1: 119-124.
- Chacalo, A., Aldama, A. y Grabinsky, J. 1994. Street tree inventory in México City. *Journal of Arboriculture*. 4:222-226.
- Cházaro B., M. J., H. Oliva R., F. Ramón F. y J. A. Vázquez G. 2005. *Cladocolea oligantha* (Loranthaceae) un nuevo registro para Veracruz, México y datos generales sobre este taxón. *Polibotánica* 20: 1-15.
- CONAFOR 2010. [www.conafor.gob.mx/portal/index.php/temas-forestales/sanidad](http://www.conafor.gob.mx/portal/index.php/temas-forestales/sanidad)
- Culpeper, N. 1633. Culpeper's complete herbal: a comprehensive description of nearly all. *British and Foreign Herbs*. Milner & Co, London. 7-10.
- De Candolle, A. 1983. *Physiologie Vegetale*. 3:1474.

- Duran, G. 2011. Estudio de la actividad bactericida, citotóxica e insecticida de *Cladocolea loniceroides* (Van Tieghem) Kuijt (Loranthaceae). Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias, México D. F. 30-54.
- Evanari M. 1949. Germination inhibitors. *Botanical Review*. 15, 153.
- Gomez, C., Arango, R., Arévalo, L., Delgado, C., Guzmán, M., Leon, S., Marentes, D., Correa, E. & Vargas, S. 2003. Algunos estudios de alelopatía de *Rumex crispus* L. y *Polygonum segetum* HBK., en Colombia. *Revista Corpoica, estudios de alelopatía en malezas y cultivos comerciales*. 4:1:42-48.
- Hadacek, F. 2002. Secondary metabolites as plant traits: current assessment and future perspectives. *Critical Reviews in Plant Science*. 21: 273-322.
- Inderjit, D. 2003. Ecophysiological aspects of allelopathy. *Planta*. 217, 529-539.
- Krengel, F. 2013. *Tabernaemontana* alba y T. arbórea: presencia de alcaloides y su actividad biológica. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias, México, D. F. 16-20.
- Liebman, M. & Ohno, T. 1998. Crop rotation and legume residue effects on weed emergence and growth: application for weed management. *Integrated Weed and Soil Management*. 181-221.
- Liebman, M. & Ohno, T. 1998. Crop rotation and legume residue effects on weed emergence and growth: application for weed management. *Integrated Weed and Soil Management*. 181-221.
- Lovett, J. & Ryuntyu, M. 1992. Allelopathy: broadening the context. Chapman & Hall. 11-19.

- Mallik, A. 2000. Challenges and opportunities in allelopathy research: a brief overview. *Journal of Chemical Ecology*. 26:9:207-215.
- Moral, R. & Müller, C. 1969. Fog: a mechanism of toxin transport from *Eucalyptus globulus*. *Bull. Torr. Club*. 96:4:467-475
- Morales. C. 2011. Estudio fotoquímico y de la actividad biológica de *Struthanthus interruptus* (Kunth) (Loranthaceae). Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Ciencias, México, D. F. 24-34.
- Müller, C. Müller W. & Haines, B. 1964. Volatile growth inhibitors produced by shrubs. *Science* 143, 471-473.
- Putnam, A. 1985. Weed allelopathy. *Weed physiology*. 1:131-155.
- Rice, E. 1984. *Allelopathy*. Academia Press, Inc., London. Segunda edición . 1-7.
- Rice, L. 1984. *Allelopathy*. Academic Press, Inc. Second edition. 1-7
- Rizvi, S. & Rizvi, V. 1992. *Allelopathy*. Basic and applied aspects. Chapter 25, Exploitation of allelochemicals in improving crop productivity. Chapman & Hall. 243-244.
- Rzedowski, J. y Calderón G. 2010. Flora fanerógama del Valle de México. CONABIO. Instituto día. Edición digital 2010. 44:100.
- Sampietro, D. 2003. Alelopatía: conceptos, características, metodología de estudio e importancias. Sitio argentino de producción animal. 1-14.
- Tharayil, N. 2009. To survive or to slay. *Plant signaling and Behavior*. 4:7:580-583.
- Thayaril.2009  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2710547/>

- Waller, g. 1987. Allelochemicals: role in agriculture and forestry. American Chemical Soc. 328-330.
- Whittaker, R. & Feeny, P. 1971. Allelochemics: interacciones químicas entre las especies. Science. 171, 757-770.
- Willis, R. 1985. The historical bases of the concept of allelopathy. Journal the history of biology. Spring. 18:1: 71-102
- Willis, R. 2007. The history of allelopathy. Springer. Chapter 11. Approaching the Modern Era. 255-256.
- Wink, M. 1983. Inhibition of seed germination by quinolizidine alkaloids. Planta. Springer. 158: 365-368.
- Young, A. 1804. The Farmers Calendar. London.  
[www.biodiversitylibrary.org/item/67212#page/27/mode/1up](http://www.biodiversitylibrary.org/item/67212#page/27/mode/1up).

## CAPÍTULO IV

### RESUMEN

#### **Descripción del haustorio secundario de *Struthanthus interruptus*.**

**Colegio de Postgraduados  
Fitosanidad – Fitopatología, 2014**

**Victoria Cárdenas Solís**

Los muérdagos forman una estructura especializada llamada haustorio, tiene una interacción entre el muérdago y la planta hospedante, que se presenta a nivel del sistema vascular, los muérdagos que desarrollan raíz epicortical (RE), representan un 56% de los géneros aéreos de la familia Loranthaceae y se han considerado de gran importancia ecológica. Las conexiones haustoriales de RE también se conocen como haustorios secundarios, los haustorios primarios son aquellos que se adhieren directamente del meristemo apical de la raíz, los haustorios secundarios se generan de órganos laterales de la RE. El presente estudio tuvo como objetivo describir si el haustorio secundario de *Struthanthus interruptus* es una estructura de fijación y absorción. Se observó que el haustorio secundario de *Struthanthus interruptus* tiene la función de fijación y desarrolla un endófito simple localizado en el xilema de *Ulmus* sp., *Ligustrum* sp. y *Taxodium* sp.

**Palabras clave.** Raíz epicortical (RE), haustorio secundario, endófito.

## ABSTRACT

### Description of the secondary haustorium of *Struthanthus interruptus*.

Colegio de Postgraduados  
Fitosanidad – Fitopatología, 2014

Victoria Cárdenas Solís

Mistletoes are a specialized structure called the haustorium, has an interaction between mistletoe and host plant, which is presented to the vascular system, mistletoes epicortical developing root (RE), representing 56% of the aerial genera of Loranthaceae and are considered of great ecological importance. The ER haustorial connections are also known as secondary haustorium, primary haustorios are those that attach directly the root apical meristem, secondary haustoria are generated lateral organs of RE. This study aimed to describe if the secondary haustorium of *Struthanthus interruptus* is an attachment structure and absorption. It was observed that the secondary haustorium *Struthanthus interruptus* has a fixing function and develops a simple endophyte located in the xylem of *Ulmus* sp., *Ligustrum* sp. and *Taxodium* sp.

**Keywords.** Epicortical root (ER), secondary haustorium, endophyte.

## 1. INTRODUCCIÓN

Las plantas con flor son organismos autótrofos, fotosintéticos que obtienen los nutrientes minerales y agua a través de la raíz. Sin embargo, esta visión estereotipada ignora la gran diversidad de plantas heterótrofas que complementan o reemplazan el autotrofismo con carbono, fijación de nitrógeno, mico-heterotrofismo o parasitismo (Musselman y Press, 1995).

Las plantas parásitas se establecen directamente en el xilema y/o floema de su hospedante mediante raíces modificadas llamadas haustorios. El parasitismo haustorial puede ser holoparásito (las plantas parásitas no realizan fotosíntesis) o hemiparásito (las plantas parásitas son fotosintéticas). Las evidencias indican que el parasitismo haustorial involucra entre 11 y 12 distintas clases de angiospermas, 270 géneros y 4, 500 especies (Nickrent *et al.*, 1998).

Se ha estimado que alrededor del 1% de las plantas superiores son parásitas de otras plantas (Musselman *et al.*, 1995). El orden Santalales cuenta con cinco familias, cuyos representantes, comúnmente llamados muérdagos, son parásitos aéreos de árboles y arbustos. Dentro de este orden, la familia Loranthaceae (muérdagos verdaderos) es una de las más diversas y de interés particular por ser considerada como un grupo monofilético. Cuenta con parásitos de raíz y órganos aéreos, son muérdagos que abarcan un componente menor en la vegetación de los ecosistemas forestales, teniendo una riqueza desproporcionada, y se consideran un recurso clave en los ecosistemas (Wilson y Calvin, 2006).

De los 75 géneros de la familia Loranthaceae, 73 son parásitos aéreos, los cuales presentan cuatro tipos básicos de haustorios: haustorio con raíz epicortical (RE), unión solitaria, rosa de madera y hebras de corteza. El haustorio con RE se considera como el más ancestral y se propaga a lo largo de la superficie de la rama del hospedante formando otros haustorios (Kuijt, 1969).

Entre los muérdagos verdaderos con RE se presenta *Struthanthus interruptus* afectando un gran número de especies arbóreas del Distrito Federal. Estos parásitos desarrollan un haustorio primario y un haustorio secundario con RE, y tienen importancia evolutiva, ecológica y ambiental. El impacto negativo que causa en el arbolado urbano puede deberse a la presencia de un haustorio primario y varios secundarios relacionados con la fijación y/o absorción de nutrientes, por lo que estudios sobre su histología pueden proporcionar elementos sobre su función, contribuyendo así al conocimiento y comportamiento de *S. interruptus*.

## **2. OBJETICO**

- Describir si el haustorio secundario de *Struthanthus interruptus* es una estructura de fijación y absorción.



### 3. REVISIÓN DE LITERATURA

La familia Loranthaceae incluye un grupo de plantas parásitas con una amplia variedad morfológica, estrategias de vida y formas de crecimiento. Se distribuye en varias regiones del mundo, parasitando desde especies tropicales a especies que se desarrollan en zonas áridas (Bell y Adams, 2011).

Para que las plantas parásitas se desarrollen exitosamente y tengan un alto porcentaje de sobrevivencia, requieren absorber los solutos de sus hospedantes mediante el contacto íntimo con el sistema vascular, estableciendo una conexión célula-célula, y adquiriendo los recursos por la corriente de transpiración, en donde hay un aporte continuo de agua desde la raíz a la hoja. Dicha interacción beneficia a la planta parásita, ya que pueden viajar varios minerales importantes para los procesos metabólicos. Las plantas pasitas desarrollan un órgano especializado llamado haustorio (del latín, *Haurire*, beber) que penetra los tejidos del hospedante y, como se señaló anteriormente, se ligan al tejido vascular de la planta, de donde extraen agua, nutrientes, minerales y algunos fotosintatos (Kuijt, 1969). Este órgano es homólogo a las raíces (Rizzni, 1951), se considera una característica que define a las plantas parasitas, y presenta variedad de formas y conexiones que han sido relevantes en la biología de la planta, teniendo también implicaciones filogenéticas importantes que ayudan a comprender la historia evolutiva del grupo (Vidal y Nickrent, 2008).

En cuanto a las estrategias parasíticas, aproximadamente el 60% de las plantas parásitas utilizan haustorios especializados para infectar las raíces, mientras que el 40% utilizan un sistema haustorial adaptado para absorber los nutrientes a partir de los órganos aéreos (ramas y tronco) (Mathiasen *et al.*, 2008).

## 2.1 Haustorio

El haustorio tiene forma cónica o de cúpula y se une estrechamente con la superficie de la planta hospedante. La estructura que penetra los tejidos del hospedante se denomina endófito o ventosa. Al igual que otras plantas dicotiledóneas, el haustorio presenta tres tejidos básicos:

- La epidermis o peridermis.
- La corteza.
- El sistema vascular (Riopel *et al.*, 1992).

Los muérdagos forman el haustorio al establecer el primer contacto con el hospedante (**Figura 1**). La interacción entre el muérdago y la planta hospedante se presenta a nivel del sistema vascular. (Toth y Kuijt, 1977).



**Figura 1.** *Struthanthus interruptus* a 42 días después de la inoculación, a) mesocarpo, b) cuello, c) apresorio y d) hospedante Fresno (*Fraxinus* sp.).

Los haustorios secundarios son órganos generalmente laterales de la RE, su establecimiento ocurre en una interface de elementos

traqueales del hospedante. Es a través de esta conexión que ocurre el flujo de líquidos del xilema desde el hospedante a la planta parasita, de esta manera varios haustorios secundarios aumentan el flujo de nutrientes, permitiendo también una mejor fijación en el hospedante (Kuijt, 1964; Kuijt, 1969).

La familia Loranthaceae alberga el mayor número de plantas hemiparásitas aéreas con cerca de 900 especies distribuidas en 72 géneros, de los cuales tres son hemiparásitas de raíz (Mathiasen *et al.*, 2008). En las hemiparásitas aéreas de esta familia, se reconocen cuatro tipos básicos de haustorio:

1) Haustorio con raíz epicortical (RE). El haustorio crece y envuelve la superficie de la rama del hospedante. Los haustorios secundarios se van estableciendo a lo largo de la rama.

2) Haustorio con uniones “*Clasping*” (abrazando). El haustorio crece envolviendo parcialmente la rama del hospedante.

3) Haustorio palo de rosa. El hospedante prolifera alrededor del haustorio, dando como resultado una estructura similar a una rosa.

4) Haustorio con hebras corticales. El haustorio se propaga en la corteza del hospedante y envía proyecciones de absorción que llegan hasta el xilema (Calvin y Wilson, 2006)

Las plantas hemiparásitas que desarrollan raíz epicortical (RE), representan un 56% de los géneros aéreos de la familia Loranthaceae y se han considerado de gran importancia ecológica. Estas plantas forman conexiones múltiples y son visibles en los hospedantes, en comparación con otros que solo forman uniones solitarias. Las conexiones haustoriales de RE también se conocen como haustorios secundarios, los haustorios primarios son aquellos que se adhieren directamente del meristemo apical de la raíz, los haustorios secundarios

se generan de órganos laterales de especies con RE (Kuijt 1969). La reproducción vegetativa en las hemiparásitas con RE aumenta su capacidad competitiva por la luz, ya que les permite posicionarse en la copa del hospedante para poder captar la luz (Atwell *et al.*, 1999).

En México, Cid (2006) estudió el establecimiento del haustorio de *Cladocolea loniceroides*. Observó que el haustorio consta de un eje central que penetra y atraviesa la corteza ejerciendo presión. Así mismo, señala que cerca del haustorio se observaron células muertas, paredes celulares y material líquido; y que el haustorio avanzó hasta establecerse en el xilema.

Alvarado y Saavedra (2009), realizaron un estudio sobre la anatomía de la interacción de *C. loniceroides* infectando *Salix bonplandiana*. El haustorio, primario, adquiere una forma de cuña conforme va penetrando, su desplazamiento es mecánico, y atraviesa la corteza y el floema.

Venturelli (1980), publicaron la anatomía del desarrollo inicial del haustorio primario de *S. vulgaris* sobre ramas de *Psidium guajava*. Menciona que cuando *S. vulgaris* establece contacto con el hospedante, las células epidérmicas de la planta hospedante presentan modificaciones que probablemente jueguen un papel importante en la fijación, así mismo describen la formación de una o varias cavidades lisígenas en la región meristemática próxima a la epidermis modificada.

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Descripción del área de estudio.**

La recolecta del material vegetal se llevó a cabo en la delegación Azcapotzalco, Distrito Federal, que cuenta con un extensión territorial de 3, 330 hectáreas. El clima es templado subhúmedo con promedio anual de 15 °C. La temperatura más alta es de 25 °C, presentándose en los meses de marzo a mayo, y la más baja es de aproximadamente 5 °C en el mes de enero. Las lluvias se presentan en verano, la precipitación anual es variable. El territorio de la delegación es plano y no cuenta con importantes elevaciones, está totalmente urbanizado y la vegetación que existe está representada por las áreas verdes de parques y jardines (INEGI, 2010).

#### **3.2 Fase de campo**

Se seleccionaron los géneros *Ulmus* sp., *Ligustrum* sp. y *Taxodium* sp. infectados con *S. interruptus*. En septiembre del 2013 se seleccionaron tres árboles de cada género y se cortaron las ramas con haustorios secundarios con una cortadora TRUPER de 3.60 metros.

##### **Fase de laboratorio**

#### **3.2.1 Fijación, deshidratación e inclusión.**

De cada árbol se removieron los haustorios de las ramas con un bisturí, se seccionaron a la mitad y se fijaron en F.A.A. (Formaldehído-ácido acético-alcohol). Después de 24 h de fijación, se lavaron con agua corriente de 15 a 20 minutos, se deshidrataron e incluyeron en Paraplast® Sigma.

Las muestras se deshidrataron gradualmente en etanol al 20, 30, 50, 70, 85, 96 y 100%, durante 5 horas en cada cambio. Posteriormente se colocaron en una mezcla de xilol: etanol al 100% (1:1) y en xilol

absoluto durante 5 y 4 h, respectivamente. Finalmente, las muestras se colocaron en paraplast durante 48 hrs en una estufa marca Ríos Rocha, Modelos EC (127 Volt) a 56-58 °C.

Las muestras incluidas se colocaron en el fondo de cubos de papel, previamente llenos con paraplast líquido. Las muestras se orientaron inmediatamente después de haberlas introducido con una aguja de disección caliente.

### **3.2.2 Corte y tinción.**

Las muestras se cortaron transversalmente a 15 µm de grosor en un micrótopo manual American Optical modelo Spencer 820. Las secciones obtenidas se colocaron con un pincel del No. 1 en un baño de flotación a 64 °C; una vez que se extendieron se montaron en portaobjetos de vidrio previamente etiquetados con un lápiz con punta de diamante. Las secciones de cada muestra se tiñeron con safranina-verde rápido según el protocolo de López-Curto *et al.* (2005). Brevemente, se colocaron los portaobjetos en una caja coplin horizontal y se metieron a una estufa marca Rios Rocha (56-58 °C) durante 20 minutos. Se realizaron tres cambios en xilol y un cambio en una mezcla de xilol-etanol al 100% (1:1) durante 3 min en cada uno. A continuación, las secciones se hidrataron hasta etanol al 96% y se colocaron en safranina. Después de 24 hrs, se lavó el exceso de colorante con agua de la llave, y se diferenció y deshidrató simultáneamente con etanol al 96% más ácido pírico. Se lavó con etanol al 96% más amoniaco durante 10 s, se deshidrató con etanol al 100% por 5 a 10 s y se aplicó verde rápido durante 10 s. El exceso de verde rápido se eliminó con aceite de clavo, se realizó una aclaración en una mezcla de aceite de clavo: etanol absoluto: xilol 50:25:25, se colocaron en xilol puro y se montaron en resina sintética.

Para las pruebas histoquímicas, otro grupo de muestras se desparafinaron como se indicó anteriormente y se hidrataron

gradualmente (etanol al 100, 96, 85, 70, 50, 30%) hasta agua destilada por 3 min en cada cambio.

Las observaciones se hicieron en un microscopio óptico marca Nikon Eclipse Ci.

#### **Tinción con azul de anilina.**

Sobre cada una de las secciones hidratadas se colocó una gota de azul de anilina, se montó en el mismo colorante con un cubreobjetos de vidrio y se observaron en un microscopio de fluorescencia marca Zeiss, Axio LaB

El azul de anilina identifica calosa en una reacción de color verde fluorescente.

#### **Tinción con yodo-yoduro de potasio (lugol)**

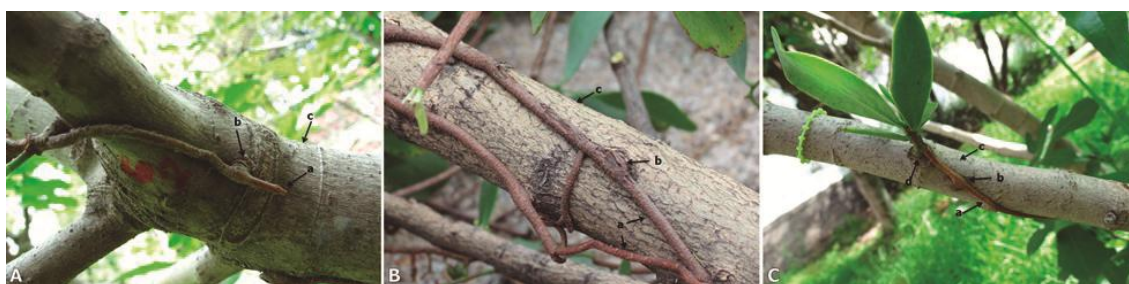
Sobre el material deshidratado se colocaron unas gotas de lugol, después de 10 a 15 min las preparaciones se montaron en el mismo colorante.

La reacción positiva a esta prueba se identificó por la reacción de color morado oscuro, lo que indica la presencia de almidón, las observaciones y fotografías se realizaron en un microscopio Nikon Eclipse Ci.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 Anatomía del haustorio secundario

La raíz epicortical (RE) de *S. interruptus* es de textura fibrosa, café, cilíndrica y suave cuando joven (Figura 2); su crecimiento es paralelo al hospedante y por lo general va envolviendo la rama sin llegar a ahorcarla. La RE mantiene un contacto muy estrecho con la peridermis del hospedante y los haustorios secundarios se desarrollan a distancias irregulares, evidenciándose solo por una pequeña región hinchada (Figura 2).



**Figura 2.** Raíz epicortical de *Struthanthus interruptus* en *Ligustrum* sp., a) Raíz epicortical (RE) joven, b) haustorio secundario, c) hospedante y d) haustorio primario.

Respecto a la penetración y desarrollo haustorial secundario, se ha reportado que estos eventos están relacionados con las características de las ramas (Sargent 1995; Cazetta y Galetti 2007). Según Sargent (1995), el espesor de la corteza del hospedante puede promover la penetración del haustorio secundario. Sus observaciones en campo ratifican que la invasión de ramas delgadas es muy notable. Tubeuf (1930), afirma que en la familia Loranthaceae la penetración puede ocurrir en fisuras o lenticelas del hospedante,

En secciones transversales se observó que el haustorio secundario desplazó el tejido epidérmico, cambium y floema del hospedante (Figura 3). La región central de la base del haustorio se caracterizó por presentar células meristemáticas con núcleos muy evidentes y en aparente actividad mitótica, así como elementos traqueales y esclereidas. Dicha región podría corresponder al cuerpo

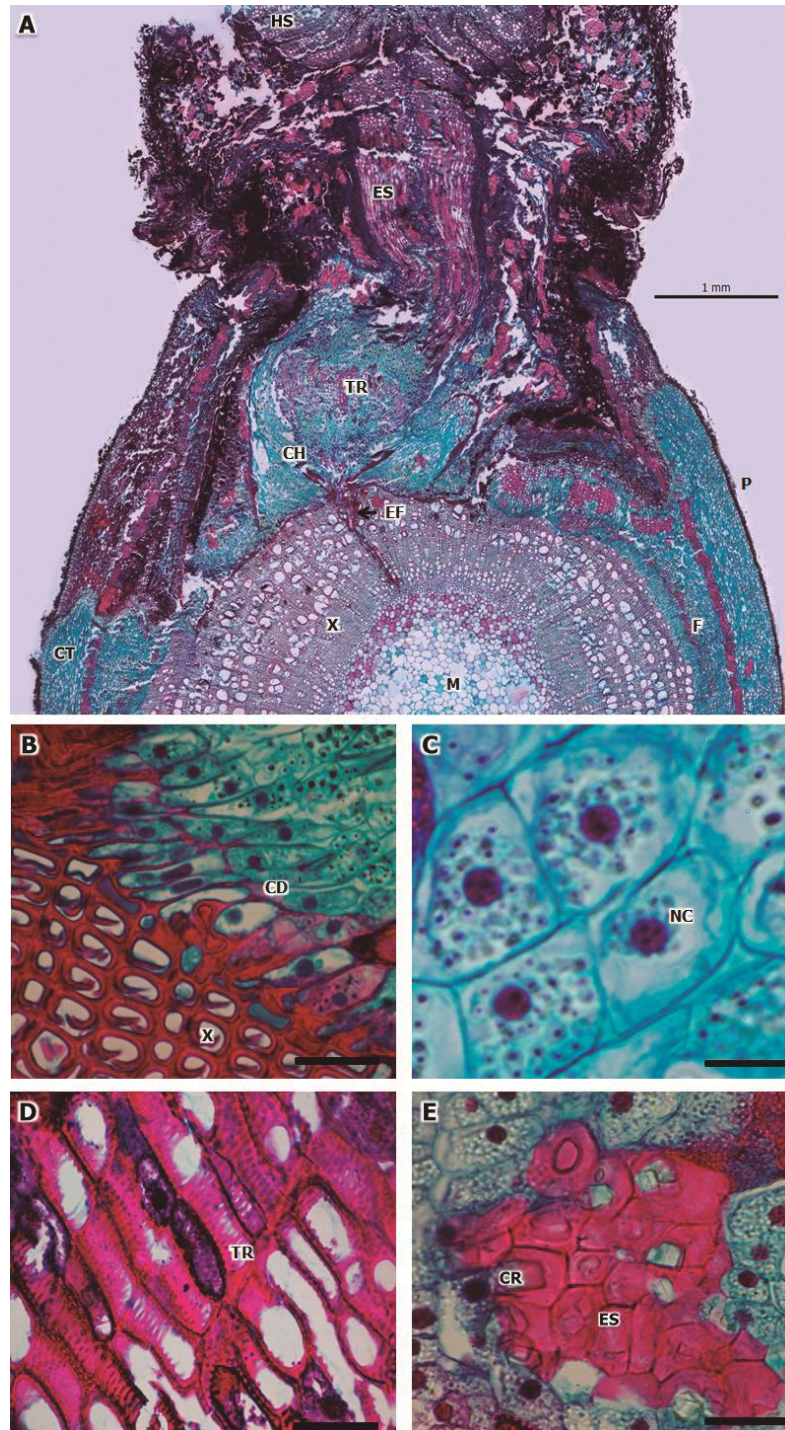


hialino (Figura 3). De acuerdo con Rizzini (1951), el haustorio primario de *S. marginatus* presenta células alargadas con citoplasma denso y núcleo grande, lo que indica alta actividad metabólica, y se desarrollan cuando ocurre la penetración a los tejidos del xilema del hospedante.

De la base del cuerpo hialino se diferencia y desarrolla un canal formado por células cuya pared aparentemente es más gruesa y en donde se deposita algún compuesto de posible naturaleza fenólica dada la coloración rojiza que adquiere con la safranina (Figuras 3 y 4). Este canal, denominado endófito, se proyecta hacia la planta hospedante atravesando todo el xilema. De acuerdo con Cid (2006), esta serie de modificaciones se asocian con un sistema de absorción de agua y sales minerales del hospedante y también se presentan en el haustorio primario de *Cladocolea loniceroides*

Kuijt (1965), sugiere que después del establecimiento de la conexión haustorial, las células parenquimatosas del endófito pueden favorecer el mecanismo intrusivo central del parásito.

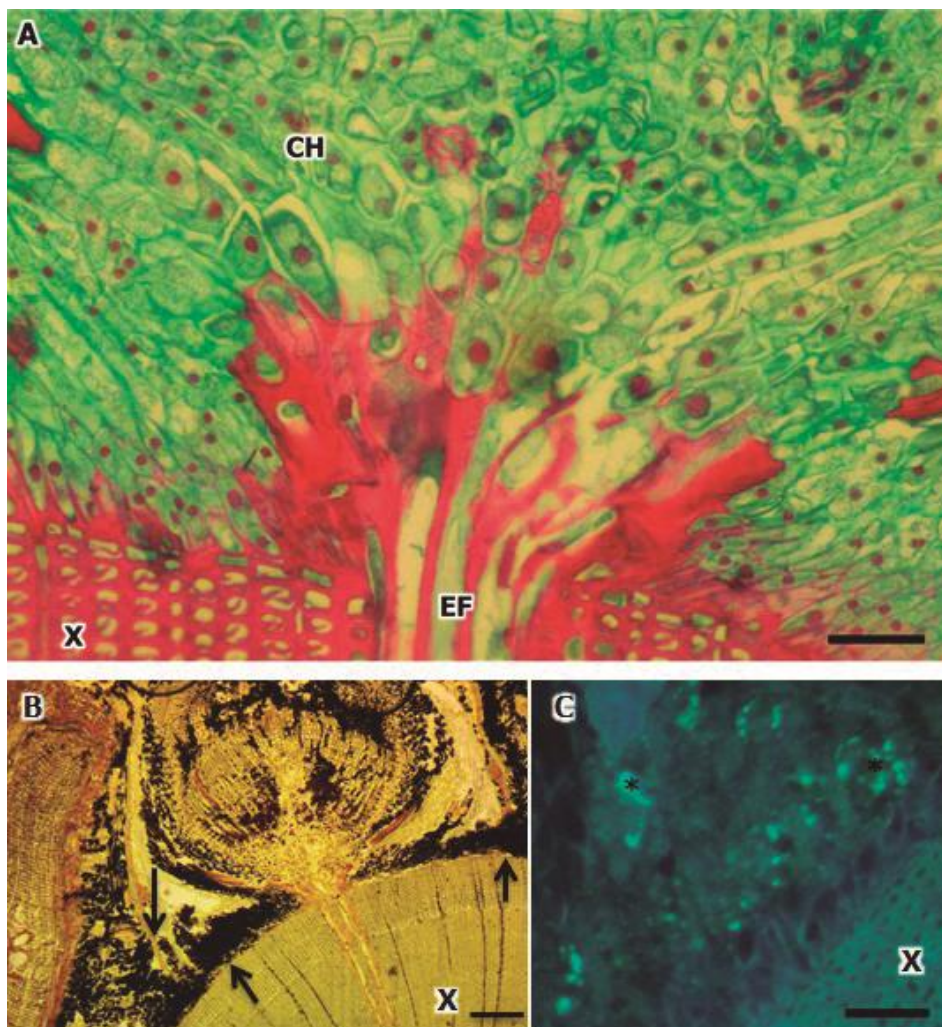
En la presente investigación, se observó el endófito en el xilema de las tres especies evaluadas. Aparentemente este endófito es simple a diferencia del que desarrolla *Phthirusa ovata*, el cual llega a formar hasta tres canales en el tejido vascular de su hospedante (Saraiva, 2012).



**Figura 3.** Fotomicrografía de sección transversal del haustorio secundario de *Struthanthus interruptus* en *Ulmus* sp. A. Vista general del haustorio secundario en donde se observa el desplazamiento de la corteza y endófito en el xilema del hospedante. B-E. Detalles de la interacción entre la planta parásita y su hospedante. B. Células de la base del haustorio secundario caracterizadas por presentar núcleos grandes. C-E. Tejidos del cuerpo hialino, constituido por células meristemáticas, elementos traqueales y esclereidas. P: peridermis; M: medula; X: xilema; CT: corteza;

EF: endófito; CC; células colapsadas; TR: traqueidas; ES: esclereidas; CR: cristales.  
Barras A: 1mm, B-D: 1000 $\mu$ m

Las pruebas histoquímicas que se realizaron indicaron la presencia de almidón en la base y en el cuerpo hialino del haustorio secundario de las especies evaluadas, siendo aparentemente más abundante en *Taxodium* sp. (Figura 4). De igual forma, en las tres especies se presentó calosa en la base del haustorio (Figura 4).



**Figura 4.** Fotomicrografía de sección transversal del haustorio secundario de *Struthanthus interruptus*. A. Detalle de la interfase parásito-hospedante en donde se observan las células asociadas al endófito penetrando el tejido vascular del hospedante. B. Haustorio secundario en *Taxodium* sp. con acumulación de almidón (Flechas). C. Haustorio secundario en *Taxodium* sp. en donde se aprecia pequeñas áreas con depósitos de calosa (\*). BHS: base del haustorio secundario, CH: cuerpo hialino, X: xilema. A y C: 100  $\mu$ m; B: 1mm.

## 5. CONCLUSIONES

- El haustorio secundario de *Struthanthus interruptus* tiene la función de fijación.
- El haustorio secundario de *S. interruptus* desarrolla un endófito (que vive dentro de la planta) simple localizado en el xilema de *Ulmus* sp., *Ligustrum* sp. y *Taxodium* sp.

## 6. LITERATURA CITADA

- Alvarado, D., Saavedra, L. y Cárdenas, E. 2009. Anatomía de la interacción *Cladocolea loniceroides* (Van Tieghem) Kuijt- *Salix bonplandiana* Kunth. Ciencias forestales en México. 34:106: 191-202.
- Atwell, B., Kriedemann, P. and Turnbull, C. 1999. Plants in Action: Adaptation in Nature, Performance in Cultivation. MacMilan Education Australia. 664-666.
- Bell, T. and Adams, M. 2011. Attack on all fronts: functional relationship between aerial and root parasitic plants and their woody hosts and consequences for ecosystems. Tree Physiology 31: 3-15.
- Calvin & Wilson. 2006. Comparative morphology of epicortical roots in Old and New. Science Direct. Flora. 201: 51-64.
- Cazetta E, M Galetti 2007 Frugivoria e especificidade por hospedeiros na erva-depassarinho *Phoradendron rubrum* (L.) Griseb. (Viscaceae). Rev bras Bot 30:345-351.
- Cid, R. 2006. Biología del desarrollo de *Cladocolea loniceroides* (Van Tieghem) Kuijt (Loranthaceae). Tesis de Doctorado. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. México. 1-175
- Kuijt, J. 1965. On the nature and action of the Santalalean haustorium, as exemplified by *Phthirusa purifolia* and *Antidaphne* (Loranthaceae). Acta bot. Neerl. 14:278-307.
- Kuijt, J. 1969. The haustorium. In: The Biology of Parasitic Flowering Plants. University of California. 158-190.
- Kuijt, J. 1964. The anatomy of haustoria and related organs of *Gaia Dendron* (Loranthaceae). Canadian Journal of Botany. 43: 687-694.



- López, C., Márquez, G. y Murguía, S. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Editorial Las Prensas de Ciencias. Facultad de Ciencias UNAM. 178
- Mathiasen, R., Nickrent, D., Shaw, D. and Watson, D. 2008. Mistletoes: pathology, systematics, ecology, and management. *Plant Dis* 92:988–1006.
- Musselman, L. y Press, M. 1995. Introduction to parasitic plants. *In: Parasitic Plants* Press, M. y Graves, J. Quinta edición 1995. Editorial CHAPMAN & HALL. 1:11.
- Nickrent, D., Duff, R., Colwell, A., Wolfe, A., Young, N., Steiner, K. and Pamphilis, C. 1997. Molecular phylogenetic and evolutionary studies of parasitic plants. *Molecular Systematics of Plants II*. Boston Kluwer Academic Publishers. 211-241.
- Riopel, J. & Tmko, M. 1992. Signals and regulation in the development of *Striga* an other parasitic angiosperms, in *Molecular Signals in Plant-Microbe Communications*. Ed. Verma. CRC Press, Boca Raton. 493-507.
- Rizzini, T. 1951. O parasitismo de “Loranthaceae” sobre monocotiledôneos. *Revista Brasileira de Biologia* 11: 289–302.
- Saraiva, I. 2012. Anatomia do haustório secundário da hemiparasita *Phthirusa ovata* (Pohl ex DC.) Eichler, respostas fisiológicas e seus efeitos em distintas hospedeiras. Universidade de Brasília. 1-48.
- Sargent S 1995 Seed fate in a tropical mistletoe: the importance of host twig size. *Funct Ecol* 9:197–204.
- Toth, R. & Kuijt, J. 1976 Anatomy and ultrastructure of the haustorium in *Comandra* (Santalaceae). *Can J Bot* 55:455–469.

- Veturelli, M. 1980. Anatomical development of the primary haustorium of *Struthnathus vulgaris* Mart. *Botanica, Univ. S. Paulo.* 8: 47-64.
- Vidal & Nickrent. 2008. The first mistletoes: Origins of aerial parasitism in Santalales. *Molecular phylogenetics and evolution.* Science Direct. 47: 523-537.
- Wilson & Calvin, C. 2006. An origin of aerial branch parasitism in the mistletoe family, Loranthaceae. *American Journal of Botany.* 93:5: 787-796.