

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN DE CARRERAS AGRONÓMICAS**



Aislamiento y evaluación *in vitro* del efecto de *Trichoderma harzianum* sobre cepas de *Fusarium* spp. aisladas de plantas de tomate en el Municipio de Yacapixtla, Morelos

Por:

David Fernando Carmona Luna

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título del:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Torreón, Coahuila, México
Diciembre 2019

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRÓNOMICAS

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Aislamiento y evaluación *in vitro* del efecto de *Trichoderma harzianum* sobre cepas de *Fusarium* spp. aisladas de plantas de tomate en el Municipio de Yacapixtla, Morelos.

POR:

David Fernando Carmona Luna

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por:




Dr. José Abraham Obrador Sánchez
Presidente



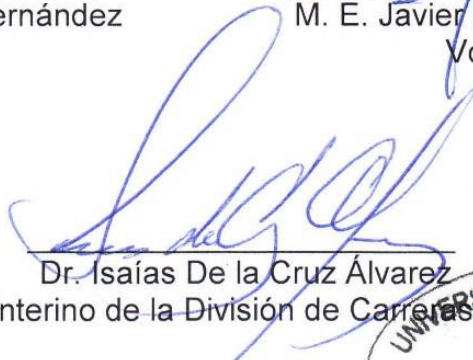
M. C. Sergio Hernández Rodríguez
Vocal



Dr. Vicente Hernández Hernández
Vocal



M. E. Javier López Hernández
Vocal suplente



Dr. Isaías De la Cruz Álvarez
Coordinador Interino de la División de Carreras Agronómicas.

Torreón, Coahuila, México.
Diciembre 2019.



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN DE CARRERAS AGRÓNOMICAS

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Aislamiento y evaluación *in vitro* del efecto de *Trichoderma harzianum* sobre cepas de *Fusarium* spp. aisladas de plantas de tomate en el Municipio de Yacapixtla, Morelos.

POR:


David Fernando Carmona Luna

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por:



Dr. José Abraham Obrador Sánchez
Presidente



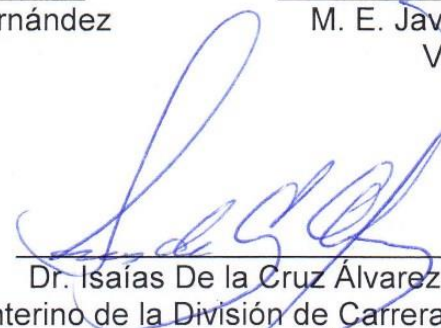
M. C. Sergio Hernández Rodríguez
Vocal



Dr. Vicente Hernández Hernández
Vocal



M. E. Javier López Hernández
Vocal suplente



Dr. Isaías De la Cruz Álvarez
Coordinador Interino de la División de Carreras Agronómicas.

Torreón, Coahuila, México.
Diciembre 2019.



AGRADECIMIENTOS

A **Dios** por permitirme llegar hasta este momento de la vida y gracias por los regalos de la vida.

A mi Alma Mater, la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro**, una universidad ¡tan generosa como una madre!, gracias por la dicha de haberme formado académicamente en tus aulas y la dicha de ser ¡Buitre de la Narro!

Al departamento de **Parasitología** por abogar en benéfico de los alumnos de parasitología.

A mis asesores de tesis:

Al **Dr. José Abraham Obrador Sánchez**, gracias por permitirme ser parte de este proyecto e impartirme su conocimiento, además de ser buen maestro es un buen amigo.

Al **Dr. Vicente Hernández Hernández**, gracias por trasmitirme parte de su conocimiento y estar disponible para alguna duda, y muchas gracias por ser mi tutor y amigo durante la carrera.

Al **M.C. Sergio Hernández Rodríguez** y al **Ing. Javier López Hernández** por ser parte del comité de asesores y el tomarse el tiempo de hacer las revisiones, observaciones, sugerencias y correcciones correspondientes.

A la **Ing. Gabriela Muñoz Dávila** por su ayuda en el desarrollo del presente trabajo de investigación como encargada de los laboratorios de parasitología, así como por su amabilidad y buen trato.

A la **Ing. Bertha Alicia Cisneros Flores**, muchas gracias por compartirme sus conocimientos, sus consejos, sus regaños, su confianza y sobre todo su amistad.

Al **M.E. Javier López Hernández** y al **M.C. Fabián García Espinoza** por sus enseñanzas, consejos, muchos regaños, y momentos agradables los cuales contribuyeron en mi formación académica.

A todos mis profesores del departamento de parasitología: gracias por sus enseñanzas, consejos y el interés por impartir sus conocimientos en cada clase: Ing. Bertha Alicia Cisneros Flores, M.E. Javier López Hernández, M.C. Fabián García Espinoza, Dr. Vicente Hernández Hernández, Dr. José Abraham Obrador Sánchez, Dr. Francisco Javier Sánchez Ramos, M.C. Sergio Hernández Rodríguez, Ing. José Alonso Escobedo, Dr. Ma. Teresa Valdés Perezgasga, Dr. Aldo I. Ortega, Dr. Teodoro Herrera Pérez y el M.C. Claudio Ibarra Rubio.

A la **Sra. Graciela Armijo Yerena** por ser muy atenta y brindar un buen servicio como secretaria del departamento de parasitología.

A mis amigos, José Enrique Nicio Ventura, Juan Jesús Castro Xochitla, Lilia Esmeralda Martínez López, Alexis Gabriel Pivaral Chaves, Yajaira Ramírez Rodríguez y Oscar Leonardo Galindo Soto, por el apoyo brindado en los buenos y malos momentos pasados a lo largo de 4 años.

A todos mis ex compañeros por hacerme pasar una grata experiencia durante la carrera.

DEDICATORIAS

Si he visto más lejos es porque estoy sentado sobre los hombros de gigantes

A mis padres Leticia Luna Mena y Leonel Carmona Portillo por brindarme su apoyo incondicional, tanto emocional como económico y por haberme forjado hasta este momento.

A mis abuelitos:

Efrén Carmona Ramírez †, a quien falleció cuando yo tenía una corta edad y los recuerdos son nulos, pero lo admiro por el padre que me heredó y el amor por la agricultura que me ha transmitido.

Ma. Elena Portillo Vidal, es como una segunda madre para mí.

Raúl Luna García, un señor trabajador que no ha dejado vencer por la edad.

Salustia Mena Baldovinos, por su amor incondicional y generosidad.

A mis hermanos Carlos y Leonel Carmona Luna por darme ese amor de hermanos que es único e incomparable.

A mis tíos:

Alejandro, Efrén y Marcos Carmona Portillo por contribuir a mis enseñanzas, gracias por sus consejos y regaños a lo largo de mi vida.

A la M.C. Pilar Arellano Clement por darme ánimos de seguir con mis estudios en la universidad, gracias por los regaños y los consejos.

A Sofía Ramos Trinidad, por su amistad y apoyo incondicional.

El camino se hace más cómodo, más amplio y sencillo cuando caminamos a hombros de gigantes

Resumen

Entre los agentes causantes de enfermedades del tomate se encuentran los hongos del género *Fusarium*. La especie *Fusarium oxysporum*, con sus formas especiales ocasiona la enfermedad denominada marchitamiento vascular, siendo uno de los problemas fitosanitarios más importantes en las zonas de producción intensiva de tomate en el mundo. En el ejido del Llano de Xalpa, Municipio de Yecapixtla, Morelos, se ha vuelto un problema grave por las altas infestaciones de este fitopatógeno, reduciendo considerablemente la producción. Es por ello que en el presente trabajo se colectaron plantas de tomate con síntomas de fusariosis en el ejido del Llano de Xalpa, las cuales fueron analizadas en el laboratorio de parasitología de UAAAN-UL en el periodo enero-septiembre del 2019; de las mismas, se aislaron en medio PDA cepas aparentemente del género *Fusarium* que luego se pusieron a crecer medio CLA para el desarrollo y observación de estructuras típicas del fitopatógeno. Mediante la observación y descripción, se concluyó que las cepas correspondían al género *Fusarium*. Posteriormente, se realizó su identificación molecular, para determinar la especie, dando como resultado del análisis de secuencias que eran pertenecientes a *Fusarium solani*. A estas cepas se les realizaron ensayos de antagonismo con el hongo *Trichoderma harzianum*, obteniendo como resultado un efecto antagónico negativo sobre las cepas de *F. solani*.

Palabras clave: *Fusarium solani*, Pruebas de antagonismo, Aislamiento de hongos

Índice

AGRADECIMIENTOS.....	I
DEDICATORIAS	III
Resumen.....	IV
Índice.....	V
Índice de cuadros.....	VIII
Índice de figuras.....	IX
I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivo.....	2
1.2. Hipótesis.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Tomate.....	3
2.2. Requerimientos climáticos del tomate.....	4
2.3. Importancia económica del tomate en el mundo.....	4
2.4. Importancia económica en México.....	5
2.4.1. Importancia económica en el estado de Morelos.....	7
2.5. Plagas y enfermedades en tomate	8
2.5.1. Insectos plaga.....	8
2.5.1.1. Polilla del tomate (<i>Tuta absoluta</i> Meyrick).....	8
2.5.1.2. Mosca blanca (<i>Trialeurodes vaporariorum</i> Westwood, <i>Bemisia tabaci</i> Gennadius y <i>B. argentifolii</i> Bellows y Perring).....	9
2.5.1.3. Trips de las flores (<i>Franklinella occidentalis</i> Pergande).....	9
2.5.1.4. Pulgón del tomate (<i>Myzus persicae</i> Sulzer y <i>Aphis gossypii</i> Glover).....	10
2.5.1.5. Minador de la hoja (<i>Liriomyza trifolii</i> Burgees).....	10
2.5.2. Ácaros plaga	10
2.5.2.1. Ácaro de 2 manchas o Araña roja (<i>Tetranychus urticae</i> C. L. Koch).....	10
2.5.2.2. Ácaro del bronceado del tomate (<i>Aculops lycopersici</i> Masee).....	11
2.5.3. Virus	11
2.5.3.1. <i>Virus mosaico del tomate</i> (ToMV).....	12
2.5.3.2. <i>Virus del rizado amarillo del tomate</i> o <i>Virus de la cuchara</i> [<i>Tomato Yellow Leaf Curl Virus</i> (ToYLCV)].....	12
2.5.3.3. <i>Virus rugoso café del tomate</i> [<i>Tomato Brown Rugose Fruit Virus</i> (ToBRFV)].....	12

2.5.4.	Bacterias.....	13
2.5.4.1.	Cáncer bacteriano [<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> (Smith) Davis et al].....	13
2.5.4.2.	Mancha bacteriana (<i>Xanthomonas</i> spp.).....	13
2.5.4.3.	Peca bacteriana (<i>Pseudomonas syringae</i> Van Hall).....	14
2.5.4.4.	Marchitamiento bacteriano o marchitez bacteriana (<i>Ralstonia solanacearum</i> (Smith) Yabuuchi et al.).....	14
2.5.5.	Nematodos	15
2.5.5.1.	Nematodos formadores de nódulos de la raíz: <i>Meloidogyne</i> spp.	15
2.5.6.	Oomycetes.....	16
2.5.6.1.	Tizón tardío del tomate (<i>Phytophthora infestans</i> (Mont.) de Bary).....	16
2.5.6.2.	Complejo de enfermedades de la semilla y la plántula o ahogamiento (<i>Pythium</i> spp.).....	16
2.5.7.	Hongos.....	16
2.5.7.1.	Podredumbre gris [<i>Botryotinia fuckeliana</i> (De Bary) Whetrel. Anamorfo: <i>Botrytis cinerea</i> Pers.].....	17
2.5.7.2.	Tizón temprano (<i>Alternaria solani</i> (Cooke) Wint).....	17
2.5.7.3.	Pudrición de la raíz (<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn).....	17
2.5.7.4.	Cenicilla (<i>Leveillula taurica</i> (Lev.) Arnaud).....	18
2.5.8.	Hongos causantes de marchitez vascular	18
2.6.	<i>Fusarium</i> spp.....	19
2.6.1.	Sintomatología	20
2.7.	<i>Fusarium oxysporum</i>	21
2.8.	<i>Fusarium solani</i>	22
2.9.	Métodos de control de <i>Fusarium</i> spp.....	23
2.9.1.	Control por exclusión	23
2.9.2.	Uso de variedades resistentes.....	23
2.9.3.	Monitoreo.....	23
2.9.4.	Control cultural.....	23
2.9.5.	Control físico.....	24
2.9.6.	Control químico	24
2.9.7.	Control biológico de <i>Fusarium</i>	25
2.9.7.1.	<i>Trichoderma</i> spp.....	25
III.	MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1.	Colecta de plantas enfermas.....	27

3.2.	Análisis de plantas enfermas	29
3.3.	Aislamiento de los hongos.....	32
3.4.	Extracción de ADN.....	33
3.5.	Amplificación por PCR de fragmentos de ITS.....	34
3.6.	Evaluación de crecimiento de micelio e inhibición.....	34
IV.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
4.1.	Crecimiento del micelio	41
4.2.	Evaluación del antagonismo de la cepa de <i>Trichoderma harzianum</i>	43
V.	CONCLUSIÓN	45
VI.	LITERATURA CITADA.....	46

Índice de cuadros

Cuadro 1. Principales países productores de tomate. 2017.	5
Cuadro 2. Producción estatal de tomate en México en el año 2018.	7

Índice de figuras

Figura 1. Principales productos agrícolas producidos en México.	6
Figura 2. Toneladas producidas de los principales productos agrícolas producidos en Yecapixtla, Morelos. Fuente (SIAP, 2019).....	8
Figura 3. Ubicación de los predios localizados en el ejido Llano de Xalpa, Municipio de Yecapixtla, Morelos.	27
Figura 4. Inicio de los síntomas de fusariosis.	28
Figura 5. Muerte de la planta por fusariosis.	29
Figura 6. Procesamiento de las muestras en laboratorio.....	30
Figura 7. Detección de micelio con microscopio estereoscópico.	31
Figura 8. Micelio generado a partir del crecimiento en cajas húmedas, mismo que se encuentra colonizando una raíz de las plantas tomate.	32
Figura 9. Presencia de clamidospora (observada a 40X).	36
Figura 10. Enrollamientos típicos de <i>Fusarium</i> (observados a 40X).....	37
Figura 11. Microconidios en el esporodoroquio (observado a 40X).	37
Figura 12. Macroconidios en el esporodoroquio (observado a 40X).	38
Figura 13. Conidios de <i>Alternaria</i> sp. (observados a 40X).	38
Figura 14. Micelio de <i>Rhizoctonia</i> sp. (observado a 40X).....	39
Figura 15. Cepas de <i>Fusarium</i> crecidas en PDA para su observación macroscópica.	39
Figura 16. Electroferograma de la secuencia de una cepa de <i>Fusarium</i> spp.	40
Figura 17. Resultado del análisis de secuencia en BLASTn.	40
Figura 18. Crecimiento de micelio de <i>F. solani</i> en medio de cultivo CLA a partir del punto de inoculación.....	41
Figura 19. Crecimiento de micelio de <i>F. solani</i> en medio de cultivo CLA a partir del punto de inoculación.....	41
Figura 20. Crecimiento de micelio de <i>T. harzianum</i> en medio de cultivo CLA a partir del punto de inoculación.....	42
Figura 21. Crecimiento micelial promedio por día en (cm).	42
Figura 22. Ensayos de antagonismo entre <i>F. solani</i> y <i>T. harzianum</i>	43
Figura 23. Ensayos de antagonismo entre <i>F. solani</i> y <i>T. harzianum</i>	43

Figura 24. Crecimiento micelial promedio por día, por competencia entre *F. solani* (Fs 1, Fs 2, Fs 3, Fs 4 y Fs 5) y *T. harzianum* (Th1). 44

I. INTRODUCCIÓN

El tomate se considera la hortaliza número uno, es una baya muy coloreada, con tonos que van del amarillento al rojo, debido a la presencia de los pigmentos licopeno y caroteno (SAGARPA, 2017). En el 2018 la producción de tomate en México fue de 3,780,950.01 toneladas (SIAP, 2019). En el Estado de Morelos produjo 146,058.14 ton representando un 3.863% de la producción nacional (SIAP, 2019). En 2018 la producción de tomate en el Municipio de Yecapixtla fue de 12,532.50 toneladas las cuales se dividen en 4,777.50 ton. tomate saladette (invernadero), 4,748.00 ton. tomate saladette (campo abierto) y 3,007.00 ton. tomate cherry (invernadero) (SIAP, 2019).

Sin embargo, este cultivo no está exento de plagas y enfermedades. Dentro de las plagas se encuentran insectos como la polilla del tomate, mosca blanca, trips de las flores, pulgón del tomate, minador de la hoja, arácnidos como ácaro de 2 manchas o araña roja, ácaro del bronceado. Las enfermedades pueden ser ocasionadas por virus (*Virus del Mosaico del Tomate*, *Virus del Rizado Amarillo del Tomate*, *Virus Rugoso Café del Tomate*, etc.), bacterias (Cáncer bacteriano, Mancha bacteriana, etc.), nematodos (*Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp.) y hongos. Éstos últimos causan enfermedades como tizón tardío, ahogamiento, podredumbre gris, tizón temprano, cenicilla, marchitez vascular, siendo esta última la más grave en el sector tomatero. La marchitez vascular es ocasionada por hongos del género *Fusarium*. En el Municipio de Yecapixtla, esta enfermedad ha generado mermas en la producción.

Este trabajo se realizó con el propósito de aislar e identificar el agente causal de esta enfermedad mediante la observación de estructuras del hongo. Posteriormente, se realizó la extracción de ADN y se amplificaron los ITS para su secuenciación. Las secuencias fueron analizadas en BLASTn, para determinar el porcentaje de identidad con *Fusarium*. Posteriormente se realizaron pruebas de antagonismo con el hongo *Trichoderma harzianum*.

1.1. Objetivo

Identificar las especies de *Fusarium*, agente causal del marchitamiento vascular de las plantas de tomate en el ejido Llano de Xalpa, Municipio de Yecapixtla, Morelos.

Evaluar *in vitro* el efecto de *Trichoderma harzianum* sobre cepas de *Fusarium* aisladas de plantas de tomate en el ejido Llano de Xalpa, Municipio de Yecapixtla, Morelos.

1.2. Hipótesis

Fusarium oxysporum es el agente causal del marchitamiento vascular de las plantas de tomate en el ejido Llano de Xalpa, Municipio de Yecapixtla, Morelos.

Trichoderma harzianum tendrá un efecto como antagonista con las cepas de *Fusarium* en ensayos *in vitro*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Tomate

El origen del género *Solanum* se localiza en la región andina que se extiende desde el sur de Colombia hasta el norte de Chile. La planta fue llevada por los distintos pobladores de un extremo a otro, y se extendió por todo el continente. Se considera que el centro de domesticación fue México, ya que existe mayor similitud entre los cultivares europeos y los silvestres de México que con los de la zona andina (Esquinas-Alcazar *et al.*, 1995).

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) se considera la hortaliza número uno, es una baya muy coloreada, con tonos que van del amarillento al rojo, debido a la presencia de los pigmentos licopeno y caroteno. Es cultivado en zonas templadas y cálidas. El clima húmedo con temperaturas altas y humedad relativa superior a 75% es poco apropiado. La temperatura óptima es de 20 a 24 °C (SAGARPA, 2017).

A nivel mundial existen varios tipos de tomate, Tomate Cherry, Kumato (Tomate Negro), Tomate Pera, Tomate Raf, Tomate Redondo Liso, Tomate de Colgar o Mallorquín, Tomate Corazón de Buey, Tomate De Rama, Tomates De Montserrat, cada uno de los tipos de tomate tienen un uso diferente en la cocina (Larrazabal, 2019).

En México se cultivan tres tipos principales, tomate cherry, tomate bola y tomate Roma o Saladette (Seminis, 2018).

Principalmente es usado en para el consumo en fresco en ensaladas y en jugo; además de ser procesado por la industria alimentaria en infinidad de formas, desde zumos, purés, conservas de tomates enteros y pelados, fritos, en componentes de diversas salsas picantes o dulces mermeladas, esencia para la elaboración de alimentos, saborizantes y otros productos (SAGARPA, 2017).

2.2. Requerimientos climáticos del tomate

Es una planta de clima relativamente cálido, para el tomate, las temperaturas óptimas según el ciclo de vida son: temperaturas nocturnas entre 15 y 18 °C, temperaturas diurnas 24 a 25 °C, con temperatura ideal en la floración de 21 °C (Valadez, 1993).

La alta intensidad luminosa mejora el desarrollo de la planta de tomate. La exigencia del tomate en cuanto a la humedad del suelo es media, el exceso de humedad provoca el ataque de diferentes fitopatógenos, además influye en el crecimiento de los tejidos, transpiración, fecundación de las flores y desarrollo de enfermedades. Por otro lado, humedad relativa inferior al 60–65 % causa la desecación del polen (Rodríguez-Rodríguez y Tabares-Rodríguez, 2001).

2.3. Importancia económica del tomate en el mundo

En 2017 la producción mundial de tomate fue de 182,301,395 toneladas, de las cuales el 75.218% de la producción se concentró en 10 países, en donde México ocupó el noveno lugar produciendo 4,243,058 ton. representando 2.327% de la producción mundial (FAO, 2019) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Principales países productores de tomate. 2017.

País	Producción (toneladas)	Porcentaje de la producción mundial
China	59,626,900	32.708
India	20,708,000	11.359
Turquía	12,750,000	6.994
Estados Unidos de América	10,910,990	5.985
Egipto	7,297,108	4.003
Irán	6,177,290	3.389
Italia	6,015,868	3.300
España	5,163,466	2.832
México	4,243,058	2.327
Brasil	4,230,150	2.320

Fuente: (FAO, 2019).

2.4. Importancia económica en México

En el 2017 la producción de tomate (Figura 1) se situó en la sexta posición de productos producidos en México.

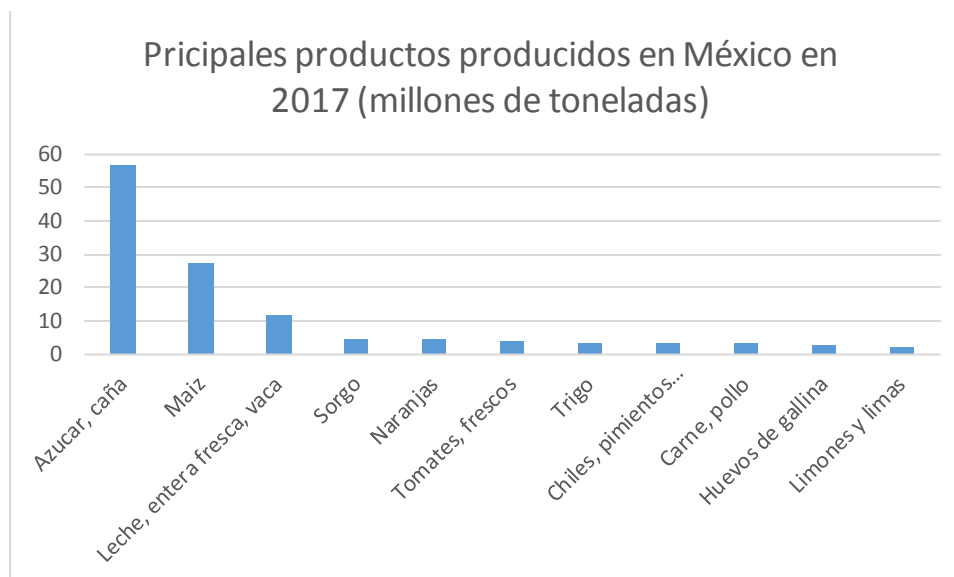


Figura 1. Principales productos agrícolas producidos en México.

México es el principal proveedor de tomate a nivel mundial con una participación en el mercado internacional de 25.11% del valor de las exportaciones mundiales (SAGARPA, 2017).

En el mercado internacional, durante el 2016 el tomate mexicano cubrió las importaciones de Estados Unidos y Canadá en un 90.67% y 65% respectivamente (SAGARPA, 2017).

En México, la producción de tomate creció a una tasa promedio anual de 4.8 por ciento entre 2006 y 2016, para ubicarse en un máximo histórico de 3.3 millones de toneladas (FIRA, 2017).

En 2016, el 56.3 por ciento de la producción nacional de tomate se concentró en cinco entidades: Sinaloa (27.6 por ciento), San Luis Potosí (9.2 por ciento), Michoacán (7.0 por ciento), Baja California (6.7 por ciento), y Zacatecas (5.7 por ciento) (FIRA, 2017).

En el 2018 la producción de tomate en México (Cuadro 2) fue de 3,780,950.01 toneladas (SIAP, 2019).

Cuadro 2. Producción estatal de tomate en México en el año 2018.

Estado	Producción (toneladas)	Porcentaje (%) de la producción nacional
Sinaloa	1,088,251.51	28.782
San Luis Potosí	393,581.64	10.409
Michoacán	281,847.89	7.454
Jalisco	189,847.96	5.021
Zacatecas	182,773.48	4.834
Baja California Sur	157,879.03	4.175
Puebla	149,456.10	3.952
Morelos	146,058.14	3.863
Baja California	139,311.57	3.684
Sonora	119,269.01	3.154
Coahuila	110,894.24	2.932
Guanajuato	109,360.92	2.892
Oaxaca	108,415.70	2.867
México	107,078.95	2.832
Querétaro	105,499.65	2.790

Fuente: (SIAP, 2019).

2.4.1. Importancia económica en el estado de Morelos

En el Estado de Morelos produjo 146,058.14 ton representando un 3.863% de la producción nacional (SIAP, 2019).

En 2018 la producción de tomate en el Municipio de Yecapixtla (Figura 2) fue de 12,532.50 toneladas las cuales se dividen en 4,777.50 ton. tomate saladette (invernadero), 4,748.00 ton. tomate saladette (campo abierto) y 3,007.00 ton. tomate cherry (invernadero) (SIAP, 2019).

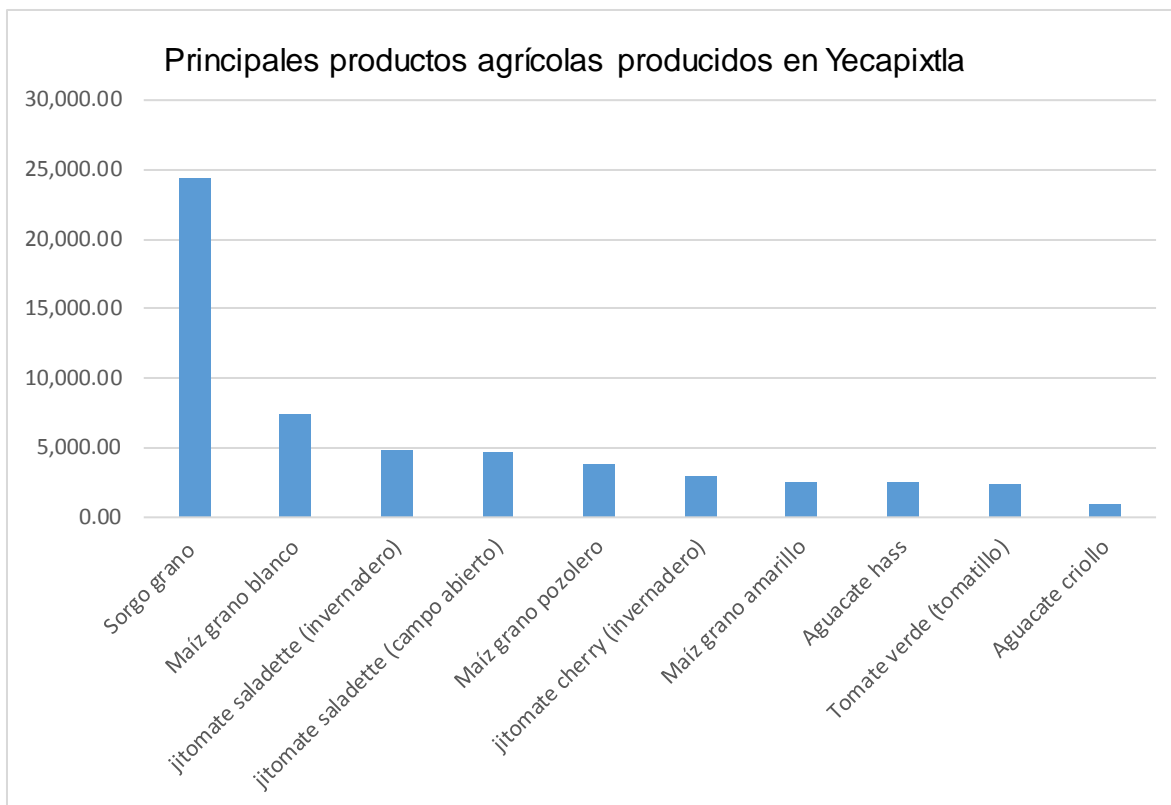


Figura 2. Toneladas producidas de los principales productos agrícolas producidos en Yecapixtla, Morelos. Fuente (SIAP, 2019).

2.5. Plagas y enfermedades en tomate

2.5.1. Insectos plaga

2.5.1.1. Polilla del tomate (*Tuta absoluta* Meyrick)

La polilla del tomate, palomilla del tomate, son nombres comunes de la plaga *Tuta absoluta* (Lepidóptera: Gelechiidae) (López, 2003).

El daño por este lepidóptero es producido en la etapa larval en la cual se alimenta de brotes, flores y frutos, pero prefiere las hojas en formación y los racimos florales (Jiménez-Borjas, 2016).

2.5.1.2. Mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum* Westwood, *Bemisia tabaci* Gennadius y *B. argentifolii* Bellows y Perring)

A nivel mundial se reconocen varias especies de mosca blanca en cultivos hortícolas; sin embargo, hay dos especies de gran importancia económica en invernaderos, *T. vaporariorum* y *B. tabaci* (FAO, 2013).

En estas especies los estados de ninfa y adulto se alimentan de la savia causando dos tipos de daño. El daño directo corresponde al debilitamiento de la planta (causando amarillamiento y marchitez de la planta) debido al hábito alimenticio chupador del insecto, que succiona los jugos celulares. El daño indirecto se asocia a reducción del área fotosintética de la hoja debido el establecimiento y desarrollo de un complejo de hongos denominado fumagina (*Capnodium* spp. y *Cladosporium* spp.), que afecta la fotosíntesis y los frutos. Sin embargo, el daño indirecto más importante causado por las moscas blancas es su capacidad de transmitir enfermedades virales a las plantas (FAO, 2013).

2.5.1.3. Trips de las flores (*Franklinella occidentalis* Pergande)

Es un insecto que en muchos casos puede ser una plaga de suma importancia en los cultivos de: pimiento, berenjena, pepino, calabaza, sandía, melón y tomate en invernadero (Jiménes-Borjas, 2016)

Franklinella occidentalis o trips de las flores se ha vuelto en una de las especies más predominantes en los cultivos protegidos, se alimenta de cualquier planta que produzca flores. El daño indirecto es que actúa como vector de virosis como el *Virus de la Marchitez Manchada del Tomate* (TSWV) (Jiménez Borjas, 2016).

2.5.1.4. Pulgón del tomate (*Myzus persicae* Sulzer y *Aphis gossypii* Glover)

Los estados que ocasionan daños al cultivo son las ninfas y los adultos, que presentan coloración verde claro amarillentos y de color verde claro amarillentos (pulgón del duraznero) y color marrón a negro (pulgón del algodón) respectivamente. Los daños que ocasionan pueden ser directos e indirectos (FAO, 2013).

En los daños indirectos es similar a las que produce la mosca blanca. El principal daño indirecto es que actúan como vectores de virosis como el *Virus del Mosaico de las Cucurbitáceas* (CMV) y el *Virus de la Papa* (PVY) (FAO, 2013).

2.5.1.5. Minador de la hoja (*Liriomyza trifolii* Burgees)

El minador americano (*Liriomyza trifolii*) es originario del norte de América; es un insecto polífago, teniendo muchas plantas hospedantes, tales como crisantemo (*Chrysanthemum* L.), gerbera (*Gerbera* L.), gypsophila (*Gypsophila* L.), apio (*Apium graveolens* L.), pimiento (*Capsicum annuum* L.), chícharo (*Pisum sativum* L.), frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) y papa (*Solanum tuberosum* L.). En invernaderos, la mayoría se encuentra en gerbera y crisantemo y hoy en día el insecto está ampliamente distribuido en todo el mundo (Koppert Biological Systems, 2019).

El responsable del daño es el estado larval, minando junto a las nervaduras basales del limbo del folíolo. Las galerías son rectilíneas y se localizan próximas a la epidermis del envés de los folíolos (FAO, 2013).

2.5.2. Ácaros plaga

2.5.2.1. Ácaro de 2 manchas o Araña roja (*Tetranychus urticae* C. L. Koch)

El ácaro de 2 manchas o araña roja, *T. urticae* constituye una plaga de importancia económica en diferentes especies de plantas ornamentales, hortalizas y frutales a nivel mundial (Bolland *et al.*, 1998), plagas limitantes en los cultivos de tomate y de fresa (*Fragaria* L.), respectivamente, ocasionando pérdidas hasta del 80% de la producción, debido principalmente a su alto potencial reproductivo (Morales y Flechtmann, 2008).

2.5.2.2. Ácaro del bronceado del tomate (*Aculops lycopersici* Masee)

Los ácaros son extremadamente pequeños en todos los estadios de su desarrollo y son difíciles de observar. Son largos, suaves, segmentados y en forma de torpedo (Koppert Biological Systems, 2019).

Los daños que provocan los ácaros se deben a que succionan el contenido de las células vegetales. Las hojas afectadas se enrollan levemente y su envés adquiere un brillo plateado (Koppert Biological Systems, 2019), las células al contacto con el oxígeno del aire toman un aspecto parduzco “bronceado” antes de desecarse (FAO, 2013).

2.5.3. Virus

Los virus son nucleoproteínas demasiado pequeñas como para ser observadas en el microscopio óptico, sólo se propagan en el interior de células vivas y que tienen la capacidad de producir una enfermedad. Todos los virus son parásitos de las células y producen una multitud de enfermedades a todas las formas vivientes (AGRIOS, 2005).

Los virus causan enfermedades importantes de las plantas y son responsables de grandes pérdidas en la producción y calidad de los cultivos en todas partes del mundo. Las plantas infectadas pueden mostrar una variedad de síntomas dependiendo de la enfermedad, pero a menudo hay amarillamiento de la hoja (ya sea de toda la hoja

o en un patrón de rayas o manchas), distorsión de la hoja (por ejemplo, rizado) y / u otras distorsiones del crecimiento (por ejemplo, retraso del crecimiento de la hoja), anomalías en la formación de flores o frutos (Adams, 2007).

2.5.3.1. *Virus mosaico del tomate (ToMV)*

El virus del mosaico del tomate pertenece al género *Tobamovirus*. Se encuentra distribuido ampliamente por el mundo y causa daño en cultivos de tomate, tanto como en campo abierto como en agricultura protegida (Aguado *et al.*, 2014).

Los síntomas se manifiestan en los folíolos en forma de mosaico (zonas alternantes entre el verde claro y oscuro), ampollado y hojas enroscadas. En los frutos se produce un pardeamiento difuso pudiéndose necrosar. La distribución de la enfermedad en el cultivo es al azar (FAO, 2013).

2.5.3.2. *Virus del rizado amarillo del tomate o Virus de la cuchara [Tomato Yellow Leaf Curl Virus (ToYLCV)]*

El Virus de la cuchara pertenece al género *Begomovirus*, transmitido por la mosca blanca de la hoja plateada de la calabaza *Bemisia argentifolii* Bellows & Puring (FAO, 2013; Guerrero *et al.*, 2016). Una planta infectada con el virus (TYLCV) pudiera mostrar los síntomas de 2 a 4 semanas después de haber sido infectada. Los síntomas en plantas de tomate son más severos cuando son atacadas en etapas tempranas. Las plantas de tomate tienden ser achaparradas aparentando ser plantas arbustivas debido a entrenudos cortos con hojas marcadamente pequeñas de color amarillo entre las venas, arrugadas y curvadas de las márgenes hacia arriba de color amarillo aparentando la forma de una cuchara (Guerrero *et al.*, 2016).

2.5.3.3. *Virus rugoso café del tomate [Tomato Brown Rugose Fruit Virus (ToBRFV)]*

Es un virus del genero *Tobamovirus*, *Virus Rugoso Café del Tomate* que afecta cualquier etapa del cultivo. La manifestación del virus comienza principalmente en las hojas jóvenes, donde comienza la formación de manchado o mosaicos de coloración amarilla, alternadas con áreas muy verdes, que están arrugadas, además de que la yema apical y brotes nuevos presentan marchitamiento (Intagri, 2019).

2.5.4. Bacterias

2.5.4.1. Cáncer bacteriano [*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (Smith) Davis *et al*].

El cáncer bacteriano también conocido como "ojo de pájaro", "mancha ocular" y "marchitez bacteriana" es causado por la bacteria *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*. En la actualidad se ha convertido en una de las enfermedades más devastadoras del cultivo de tomate en México y en el mundo, causando pérdidas de hasta un 70% en la producción si no es tratada adecuadamente, y en cultivos protegidos las perdidas pueden ser totales (Intagri, 2016).

La bacteria es transmitida por semilla infestada y posteriormente penetra a los tejidos vasculares a través de heridas, estomas, tricomas e hidátodos de la hoja (Gleason *et al.*, 1991)

Es una enfermedad que ataca el sistema vascular y al tejido parenquimatoso, sus síntomas dependerán de distintos factores como: prácticas culturales, nutrición del cultivo, edad de la planta, así como de las condiciones climáticas y el grado de colonización de la bacteria (Intagri, 2016).

2.5.4.2. Mancha bacteriana (*Xanthomonas* spp.)

La mancha bacteriana es causada por varias especies de bacterias del género *Xanthomonas*: *X. euvesicatoria* (Jones *et al*), *X. perforans* (Jones *et al*) y *X. gardneri* [(Šutič) Jones *et al.*]. El tomate y el pimiento son los principales hospedantes de ésta bacteria. Algunas cepas solo son virulentas a pimiento, otras solo a tomate y otras a los dos cultivos (Schult *et al.*, 2011)

Los síntomas se manifiestan en tallos, hojas jóvenes, pedúnculos y sépalos forales a través de manchas acuosas de coloración parda oscura, angulosas y generalmente sin halo amarillento o si lo tiene es muy discreto. En los frutos las manchas son superficiales, lignificadas con apariencia de costra rodeada de amplios halos oleosos verde oscuro cuando el fruto está inmaduro y sin halo cuando madura el fruto (FAO, 2013).

2.5.4.3. Peca bacteriana (*Pseudomonas syringae* Van Hall)

Es una enfermedad muy importante en el cultivo de tomate, pudiendo causar graves pérdidas de rendimiento y calidad de los frutos. La sintomatología se manifiesta en las hojas a través de manchas acuosas, angulosas bien definidas de color verde a castaño oscuro, rodeadas de un halo amarillento notorio. Las manchas en el limbo pueden observarse solitarias o confluentes en estados más avanzados, siendo más afectados los bordes y los ápices de los folíolos (FAO, 2013).

2.5.4.4. Marchitamiento bacteriano o marchitez bacteriana (*Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.*)

La marchitez bacteriana es causada por *R. solanacearum*, es una enfermedad que se encuentra ampliamente distribuida a nivel mundial y afectando a cientos de especies de plantas pertenecientes por lo menos a 54 familias (Cellier y Prior, 2010).

Los síntomas se manifiestan a través de marchitamientos repentinos de la planta sin amarillamiento aparente y se observa como las hojas penden del tallo que

mantienen la coloración verde. Si se realiza un corte longitudinal del tallo se observa primero el oscurecimiento del xilema (FAO, 2013).

2.5.5. Nematodos

Los nematodos fitoparásitos constituyen uno de los principales factores limitantes en la producción de tomate. Estos organismos generan pérdidas que han sido estimadas en 20% (Sasser, 1989). Los principales géneros de nematodos asociados al cultivo del tomate son *Meloidogyne* spp. (Tzortzakakis, 2000), *Pratylenchus* spp. (Blancard, 2011), *Tylenchorhynchus* spp. y *Helicotylenchus* spp., (Shurtleff y Averre III, 2000).

2.5.5.1. Nematodos formadores de nódulos de la raíz: *Meloidogyne* spp.

Los nematodos formadores de nódulos de la raíz se encuentran en todo el mundo, pero con mayor frecuencia y abundancia en regiones con clima cálido y tórrido e inviernos cortos y moderados. Atacando a más de 2 000 especies de plantas, incluida la mayoría de las plantas cultivadas (AGRIOS, 2005). Las especies del género *Meloidogyne* son unas de las más importantes a nivel mundial, presentando una distribución cosmopolita (Meza, 2017).

Los nematodos formadores de nódulos de la raíz dañan a las plantas al debilitar las puntas de la raíz y al inhibir su desarrollo o estimular una formación radical excesiva, pero principalmente al inducir la formación de hinchamientos en las raíces, a las cuales privan de nutrientes. Las infecciones que sufren plantas adultas pueden tener sólo efectos ligeros sobre la producción o pueden disminuir en forma considerable la producción (AGRIOS, 2005).

2.5.6. Oomycetes

2.5.6.1. Tizón tardío del tomate (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary)

Phytophthora es un fitopatógeno del suelo, propagado a través del agua, causando serios problemas en las producciones de tomate, chile y pimiento, entre otras hortalizas (Seminis, 2017).

Los síntomas pueden observarse como grandes manchas café en las hojas, con una apariencia húmeda y un tono verde pálido alrededor de la mancha. Cuando la humedad relativa es alta, crecen las lesiones en los tallos, provocando la muerte de la planta; los peciolos se doblan y surgen en los frutos lesiones circulares de color café. Cuando la infección ocurre en las bandejas de germinación (o semilleros) aparecen lesiones en las hojas y pueden morir las plántulas (Seminis, 2017).

2.5.6.2. Complejo de enfermedades de la semilla y la plántula o ahogamiento (*Pythium* spp.)

Varias especies del genero *Pythium* pueden atacar a las plantas de tomate durante sus primeras etapas de crecimiento, causando pudrición de la semilla, damping-off previo a la emergencia o pudrición del tallo. El ataque puede causar pérdidas de soporte y crecimiento desigual. Se producen pérdidas tanto en plantaciones de invernadero como de campo (Jones *et al.*, 1991).

2.5.7. Hongos

2.5.7.1. Podredumbre gris [*Botryotinia fuckeliana* (De Bary) Whetrel. Anamorfo: *Botrytis cinerea* Pers.]

Causa graves pérdidas en más de 200 especies de cultivos en todo el mundo. En tejidos maduros o senescentes de hospedantes dicotiledóneos es más destructivo, por lo general tiene entrada a estos tejidos en una etapa temprana, en el desarrollo del cultivo permaneciendo inactivo durante un periodo considerable antes de que los tejidos se pudran rápidamente cuando las condiciones ambientales son propicias y la fisiología del hospedante cambia (Staats *et al.*, 2007). La enfermedad causada por dicho hongo, es una de las enfermedades más severas, afecta a tallos, flores y frutos. En la mayoría de los casos es uno de los principales fitopatógenos que afectan a los frutos en postcosecha (Williamson *et al.*, 2007).

2.5.7.2. Tizón temprano (*Alternaria solani* (Cooke) Wint)

Tizón temprano se encuentra dentro de los principales fitopatógenos que afectan el tomate. La severidad de este patógeno es capaz de disminuir los rendimientos entre un 20-30% (Martínez *et al.*, 2002).

Este fitopatógeno afecta principalmente a las hojas, como también a tallos y frutos. Se observan lesiones necróticas oscuras y anilladas. En los folíolos se aprecian estas lesiones rodeadas de un halo clorótico. En ataques severos se puede producir una defoliación de la planta afectada (Soto, 2017).

2.5.7.3. Pudrición de la raíz (*Rhizoctonia solani* Kühn)

Las enfermedades causadas por *Rhizoctonia* ocurren en todo el mundo. Causando pérdidas en casi todas las verduras y flores, varios cultivos de campo, céspedes e incluso plantas ornamentales perennes, arbustos y árboles (AGRIOS, 2005).

Los síntomas varían un poco en los diferentes cultivos, dependiendo la etapa de crecimiento en la que la planta se infecta y con las condiciones ambientales predominantes. Los síntomas más comunes en la mayoría de las plantas son la amortiguación de las plántulas y la pudrición de la raíz (AGRIOS, 2005).

2.5.7.4. Cenicilla (*Leveillula taurica* (Lev.) Arnaud)

La enfermedad conocida como cenicilla es causada por el hongo fitopatógeno *Leveillula taurica*, la cual tiene más de 700 hospedantes, en los cuales destaca (*Solanum lycopersicum* L.) (Guigón-López y González-González, 2001)

2.5.8. Hongos causantes de marchitez vascular

Los marchitamientos vasculares son generalizados, muy destructivos, espectaculares y aterradoras enfermedades de las plantas. Aparecen más o menos rápido como marchitamiento, pardeamiento, muerte de las hojas y brotes suculentos de la planta, seguidas, de la muerte de toda la planta. Los marchitamientos ocurren como resultado de la presencia y actividad de patógenos en los vasos del xilema de la planta. En cuestión de semanas pueden morir plantas enteras, aunque en plantas perennes, la muerte puede no ocurrir hasta en varios meses o años después de la infección. Mientras la planta infectada está viva, los hongos causantes del marchitamiento permanecen en los tejidos vasculares (xilema) y en algunas células circundantes. Solo cuando la planta infectada muere por la enfermedad estos hongos se mueven hacia otros tejidos y esporulan en o cerca de la superficie de la planta (Agrios, 2005).

De los hongos causantes de marchitamientos vasculares en las plantas, *Fusarium* es un hongo que habita en el suelo, mientras que *Verticillium* es, sobre todo, un hongo que invade ese sustrato. Ambos patógenos infectan a las plantas a través de sus raíces, en las que penetran directamente o a través de heridas. Muchos nematodos parásitos que viven en el suelo, habitualmente incrementan la incidencia

de los marchitamientos por *Fusarium* y *Verticillium*. Tan pronto como llega a la raíz de la planta, el micelio del hongo se extiende hasta los vasos xilemáticos, donde forma microconidios (en el caso de *Fusarium*) o conidios (en el caso de *Verticillium*), y subsecuentemente el micelio y las esporas del hongo ascienden en la planta a través de sus vasos xilemáticos. (AGRIOS, 2005).

2.6. *Fusarium* spp.

Los hongos del género *Fusarium* son ampliamente conocidos alrededor del mundo, y se han convertido en un problema serio ya que producen metabolitos tóxicos que ponen en peligro la salud de los seres humanos y de los animales. Además, incluye muchos fitopatógenos que ocasionan enfermedades caracterizadas por marchitez, tizones, pudriciones en cultivos ornamentales y forestales en ecosistemas agrícolas y naturales (Ma *et al.*, 2013).

El marchitamiento causado por *Fusarium* es una de las enfermedades más prevalentes y dañinas del tomate en donde se cultiva intensamente. La enfermedad es más destructiva en climas cálidos y suelos cálidos y arenosos de regiones templadas (AGRIOS, 2005).

La enfermedad causa grandes pérdidas, especialmente en variedades susceptibles y cuando las temperaturas del suelo y del aire son suficientemente altas durante gran parte de la temporada. Las plantas infectadas se atrofian y pronto se marchitan y finalmente mueren. Ocasionalmente, campos enteros de tomates mueren o se dañan severamente antes de la cosecha (AGRIOS, 2005).

Fusarium causa marchitamiento vascular de vegetales y flores, plantas ornamentales herbáceas perennes, cultivos de plantación y el árbol de la mimosa [árbol de la seda (*Albizia julibrissin* Durazz)]. La mayoría de los hongos causantes de marchitamiento vascular pertenecen a la especie *Fusarium oxysporum*. Las diferentes plantas hospedantes son atacadas por formas especiales o razas del hongo. El hongo que ataca al tomate se designa como *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*; cucurbitáceas,

F. oxysporum f. sp. *conglutinans*; plátano, *F. oxysporum* f.sp. *cubense*; algodón, *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*; clavel, *F. oxysporum* f. sp. *dianthii* (Agris, 2005).

2.6.1. Sintomatología

Las especies de *Fusarium* causantes de marchitez vascular siguen un patrón similar de infección; penetran por la raíz y colonizan el sistema vascular de las plantas (Turlier *et al.*, 1994).

Los exudados de las raíces de las plantas desencadenan la germinación de las estructuras fúngicas en reposo que se encuentran en el suelo, penetrando las puntas de las raíces de la planta hospedante, las heridas de la raíz primaria o las raíces secundarias. Luego, los hongos colonizan las células corticales y migran intercelularmente hacia el parénquima vascular e invaden los vasos del xilema (Yadeta y Thomma, 2013).

El hongo penetra en la planta por las raíces, luego invade algunos vasos del xilema, causando taponamiento en todo el sistema vascular. El primer síntoma es un amarillamiento, más adelante se observa la marchitez de las hojas por falta de nutrientes y por último, la defoliación de la planta (Castellanos *et al.*, 2011).

Cuando el hongo invade y deteriora el sistema vascular causa la marchitez y por último la muerte de la planta (Garcés-de-Granada *et al.*, 2001).

Una o varias ramas pueden mostrar síntomas; en ocasiones, las hojas presentan marchitez en los folíolos de un lado del pecíolo, mientras que los del lado opuesto se ven sanos. La marchitez del follaje es más notable después de la floración y cuaje de frutos y durante los períodos más calurosos del día. Los síntomas son exacerbados por temperaturas altas, alrededor de 28°C, por pH bajo del suelo y uso de fertilizantes amoniacales (McGovern y Datnoff, 1992).

2.7. *Fusarium oxysporum*

Dominio: Eucaria

Reino: Fungi

Subreino: Dikarya

División: Ascomycota

Subdivisión: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes

Subclase: Hypocreomycetidae

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium* (anamorfo)

Especie: *F. oxysporum* Schldl (anamorfo)

Uno de los principales problemas que enfrenta el cultivo de tomate, el daño por enfermedades; entre ellas se encuentra el marchitamiento, causado por *Fusarium oxysporum* Schldl (Álvarez-Hernández, 2012).

F. oxysporum produce clamidosporas, microconidios y macroconidios. Los macroconidios se han relacionado con la diseminación aérea, lo que sugiere una fase policíclica, no común en patógenos habitantes del suelo (Katan *et al.*, 1997).

El micelio sobrevive en residuos vegetales, como saprobio y en hospedantes alternos. Las clamidosporas permiten al hongo sobrevivir por largo tiempo; se producen a partir de la modificación de hifas o células conidiales. La formación de clamidosporas está relacionada con factores de estrés, como la ausencia del hospedante, agotamiento de nutrientes y ambientes adversos (Smith, 2007).

Las clamidosporas germinan en condiciones favorables, incluyendo la presencia de exudados radicales; se ha demostrado que las clamidosporas resisten temperaturas altas y sobreviven más tiempo en el suelo que los conidios (McGovern, 2015).

2.8. *Fusarium solani*

Dominio: Eucaria

Reino: Fungi

Subreino: Dikarya

División: Ascomycota

Subdivisión: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes

Subclase: Hypocreomycetidae

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Nectria*

Especie: *N. haematococca* Berk. & Br.

El anamorfo es *F. solani* (Martius) Appel y Wollenweber

F. solani, causa pudriciones de raíces y tallos y pudriciones de semillas que se acompañan de la producción de micotoxinas (AGRIOS, 2005).

F. solani, se reproduce tanto sexual como asexualmente, mientras que *F. oxysporum* se reproduce solo asexualmente. La reproducción sexual, que conduce a la formación de un heterocarion, está controlada por un conjunto de het loci (Agrios, 2005).

2.9. Métodos de control de *Fusarium* spp.

2.9.1. Control por exclusión

Es considerado el paso más importante para el control de *Fusarium* en el cual se recomienda, no sembrar en suelo donde la enfermedad haya presentado una alta incidencia y sembrar material vegetal libre de la enfermedad (Smith y Mesa, 2005).

2.9.2. Uso de variedades resistentes

El método más práctico y efectivo en campo para controlar los marchitamientos vasculares causados por *Fusarium* ha sido el uso de variedades resistentes (Agiros, 2005). Existen variedades resistentes como Elisa F1 tipo redondo, Brabante (213806) tipo Asurcado (Marmande), HTL1206179 tipo Cocktail, Marnax HTL1205377 tipo Corazón de Buey, Sahel tipo Pera; sin embargo, la resistencia tiende a variar dependiendo las cepas del fitopatógeno (Agrovademecum, 2019).

2.9.3. Monitoreo

Si la enfermedad es detectada a tiempo, será más fácil controlar su diseminación. En base al monitoreo se hará la evaluación y toma de decisiones, cuándo y en dónde aplicar medidas de control, desde "ninguna acción hasta la aplicación del control químico (Smith y Mesa, 2005).

2.9.4. Control cultural

Las prácticas culturales tales como el barbecho profundo, la rotación de cultivos, el dejar el suelo sin cultivar o la inundación de los terrenos de cultivo, han sido útiles

para disminuir las poblaciones del patógeno en el suelo, pero no lo eliminan totalmente (AGRIOS, 2005).

2.9.5. Control físico

El control físico incluye todas aquellas barreras o tratamientos no químicos que reducen, previenen o eliminan la enfermedad, en las que destacan, solarización y tratamientos con vapor siendo una excelente opción y es económicamente viable si es baja la incidencia de enfermedad (Smith y Mesa, 2005).

2.9.6. Control químico

El control de los organismos fitopatógenos del suelo es de los más difíciles de lograr; para ello se han desarrollado prácticas culturales, control biológico y control químico, siendo este último el más utilizado por ser económico y eficaz, en comparación con otras medidas (Rubio *et al.*, 2008).

Los marchitamientos vasculares están entre las enfermedades de las plantas más difíciles de controlar. El hecho de que la infección de una planta por una espora es suficiente para introducir al patógeno en ella (en la que se desarrolla y propaga internamente), hace que la prevención de la infección y su posterior control con fungicidas de contacto sea prácticamente imposible. Asimismo, el hecho de que *Fusarium* y *Verticillium* puedan sobrevivir como saprobios en el suelo casi por tiempo indefinido, hace que su control mediante rotación de cultivos y otras prácticas de cultivo sean imprácticos o ineficaces (AGRIOS, 2005).

La fumigación de los suelos ha tenido éxito en algunos casos, pero es costosa y su efecto poco duradero haciéndola inadecuada. En los invernaderos, la esterilización del suelo proporciona un control eficaz de ambas enfermedades (AGRIOS, 2005).

2.9.7. Control biológico de *Fusarium*

A nivel mundial, las pérdidas económicas en los cultivos, debido al daño causado por fitopatógenos, son considerables. De los métodos de control, el que ha demostrado mayor eficiencia es el químico, pero sus efectos secundarios han sido cuestionados por su impacto ambiental, a la salud humana y la resistencia que desarrollan los microorganismos, lo cual ha generado una creciente y justificada preocupación por la contaminación, el deterioro ambiental y el desequilibrio de los ecosistemas (Torres y Capote, 2004).

El control biológico tiene potencial para el manejo de estas enfermedades. Una variedad de microorganismos del suelo ha demostrado actividad en el control de varios fitopatógenos de suelo, incluidos los patógenos de marchitez por *Fusarium*. Se sabe que los suelos supresores de la marchitez por *Fusarium* se producen en muchas regiones del mundo, y la supresión generalmente ha demostrado ser de origen biológico. Los antagonistas recuperados de suelos supresores de marchitez de *Fusarium*, especialmente cepas de *F. oxysporum* no patógena, se han utilizado para reducir las enfermedades de marchitez de *Fusarium* de varios cultivos diferentes (Alabouvette *et al.*, 1993).

Cepas rizobacterianas de *Pseudomonas*, *Burkholderia* y *Bacillus* spp. También se han utilizado para reducir la enfermedad causada por una variedad de patógenos transmitidos por el suelo (Weller, 1988), incluyendo *Fusarium* spp. (Hebbar *et al.*, 1992).

2.9.7.1. *Trichoderma* spp.

Trichoderma spp., se utiliza como agente de control biológico contra hongos fitopatógenos como *Rhizoctonia* spp., *Botrytis cinerea* y *Fusarium* spp., entre otros (Zeilinger y Omann, 2007).

Trichoderma es un hongo anaeróbico habitante del suelo, caracterizado por un comportamiento saprobio o parásito. Entre las especies más destacadas están *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii* y *T. hamatum* (Intagri, 2016).

Antagonismo, antibiosis, inactivación de las enzimas del patógeno y competencia por espacio o nutrientes son los mecanismos por los cuales las cepas de *T. harzianum* son funcionales como control biológico (Harman, 2000).

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Subdivisión: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Hypocrea*

Especie: *H. lixii* Pat.

El anamorfo es *T. harzianum* Rifai, (1969)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Colecta de plantas enfermas

Se colectaron plantas de tomate con sintomatología de fusariosis en 2 predios localizados en el ejido Llano de Xalpa Municipio de Yecapixtla (Figura 3) se encuentra en la región oriente del Estado de Morelos, el Municipio de Yecapixtla se ubica geográficamente en los paralelos 18° 53' de latitud norte y a los 98° 52' de latitud oeste del meridiano de Greenwich, a una altura de 1,580 metros sobre el nivel del mar (Google Maps, 2019).

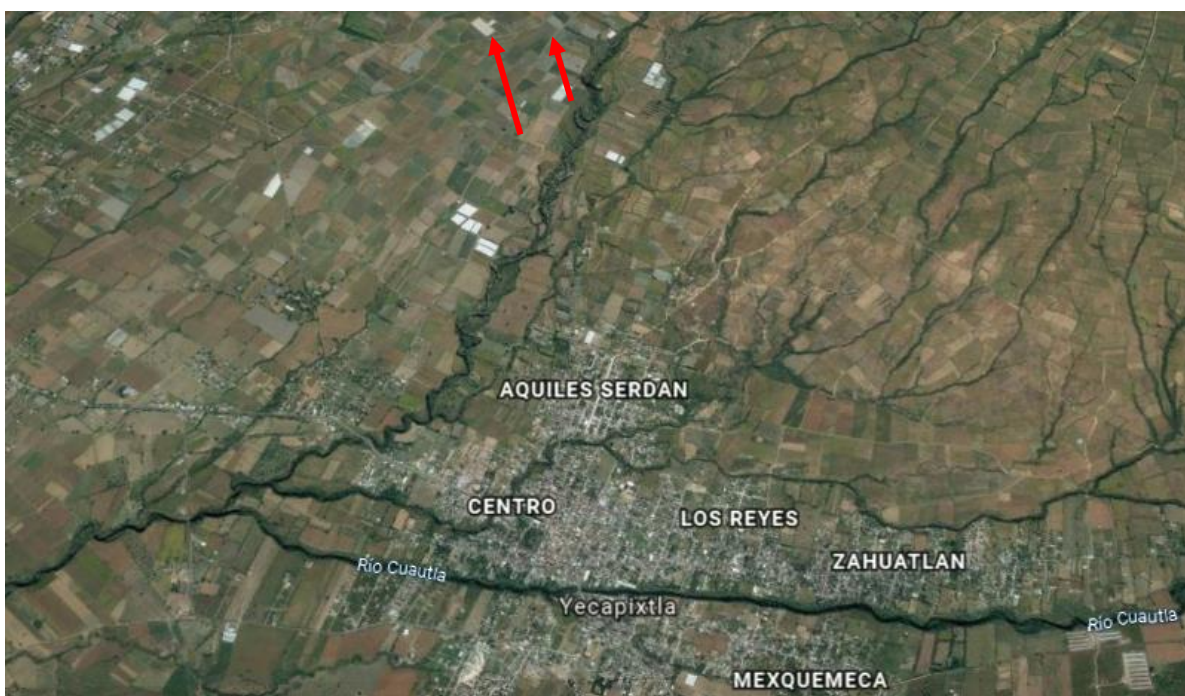


Figura 3. Ubicación de los predios localizados en el ejido Llano de Xalpa, Municipio de Yecapixtla, Morelos.

La primera colecta se llevó a cabo el día 14 de enero del 2019 en la cual se colectaron cuatro plantas y la segunda colecta se llevó a cabo el 29 de abril del 2019 en la cual se colectaron cuatro plantas con las siguientes sintomatologías:

- Amarillamiento de las hojas
- Pérdida de turgencia de las hojas
- Marchitamiento de la planta (Figura 4) (mejor apreciado en las horas de calor)
- Desecación de las hojas comenzando de abajo hacia arriba y muerte de la planta (Figura 5)



Figura 4. Inicio de los síntomas de fusariosis.



Figura 5. Muerte de la planta por fusariosis.

Cada planta colectada se colocó en una bolsa de plástico, posteriormente fueron colocadas en una hielera para transporte y análisis en el laboratorio de parasitología de la UAAAN-UL.

3.2. Análisis de plantas enfermas

Las plantas fueron procesadas (Figura 6) y analizadas en el laboratorio de parasitología ubicado en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna. Periférico y carretera Santa Fe s/n. Torreón Coahuila.



Figura 6. Procesamiento de las muestras en laboratorio.

Cada planta fue cortada en partes específicas como: Raíz, Corona y Tallo. A cada parte, se le realizó cuatro lavados en recipientes, de los cuales el primero de ellos contenía cloro al 10%, el segundo contenía alcohol al 70% y los dos restantes contenían agua destilada, cada parte vegetativa se sumergió por un tiempo de 5 min en cada recipiente.

Una vez ya desinfectadas las partes vegetativas fueron colocadas en cajas húmedas (cajas Petri en las que se colocó sanitas húmedas) y se sellaron con plástico auto-adherible, posterior a 72 hr se observaron a microscopio estereoscópico (Carl Zeiss Mod. 2004014686) para detectar micelio (Figura 7). Mismo que se inoculó con aguja de disección en cajas petri con medio PDA (agar papa-dextrosa) (SIGMA-ALDRICH) con ampicilina. Las cajas se colocaron a temperatura ambiente y fueron observadas cada 24 hr posterior a la inoculación.



Figura 7. Detección de micelio con microscopio estereoscópico.



Figura 8. Micelio generado a partir del crecimiento en cajas húmedas, mismo que se encuentra colonizando una raíz de las plantas tomate.

3.3. Aislamiento de los hongos

Se prepararon 2 tipos de medio de cultivo PDA, como indica el fabricante, y CLA (Carnation Leaf-piece Agar), el cual se preparó con 10 gr de hoja de clavel cortada en fragmentos, 39 gr de Agar (MCD LAB) en un litro de agua destilada y se esterilizó por medio de autoclave (All American), en un ciclo de esterilizado.

Posterior a las 24 hr, las cajas de PDA con crecimiento de micelio fueron observadas en microscopio estereoscópico. El micelio se re-inoculo en cajas Petri con medio CLA para el crecimiento y formación de estructuras del genero *Fusarium*, posteriormente fueron colocadas a temperatura ambiente y en oscuridad por 7 días.

Se cortaron fragmentos de medio con micelio, los cuales se tiñeron con las tinciones de Rojo Congo y Azul de algodón. Mismas que se observadas en microscopio compuesto (IVYMEN Mod. 1032086), con aumento de 40X, y se procedió a buscar estructuras de reproducción (micelio, microconidios, macroconidios y clamidosporas) en microscopio compuesto a partir del micelio del hongo.

3.4. Extracción de ADN

Se cortó un cubo de 1 cm³ de PDA con micelio de cada cepa aislada y se colocó en medio PDB (SIGMA-ALDRICH) durante 168 h a 180 rpm para el crecimiento del micelio; posteriormente, se pasó el contenido por papel filtro estéril para obtener el micelio. El micelio obtenido se colocó en a – 20°C por un periodo de 24 h, transcurrido el lapso de tiempo se procedió a macerar en tubo Eppendorf de 2 mL y se añadió 1 mL de buffer CTAB, y se agito con vórtex durante 30 seg. Posteriormente los tubos se congelaron a – 20°C por 10 min y luego se incubaron a 65°C a baño María por 20 min. Se dejaron enfriar a temperatura ambiente por 1 min y se centrifugaron a 20,871 g. Se recuperó el sobrenadante y se vertió en tubo Eppendorf, adicionando 500 µL de fenol:cloroformo:isoamílico (25:24:1), agitando por 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente se centrifugaron 5 minutos a 20,817 g. Se colectó la fase acuosa y se le agregó un volumen de etanol absoluto frio (-20°C). Se mezcló con vórtex por 5 segundos y después se colocó en incubación a -20°C durante 1 h. Se centrifugó 10 min a 20,817 g y se decantó el sobrenadante. La pastilla se lavó con 500 µL de etanol al 70% y se centrifugó a 20,871 g por 1 min y se realizó el lavado 2 veces. Posteriormente se decantó el etanol y la pastilla de ADN se dejó secar 30 min en campana de flujo laminar; al final se resuspendió en 20 µL de agua destilada ultrapura. La pureza del ADN se determinó por espectrofotometría a 260nm/280nm y la integridad se determinó mediante electroforesis en gel de agarosa (Sambrook y Russell, 2001).

3.5. Amplificación por PCR de fragmentos de ITS

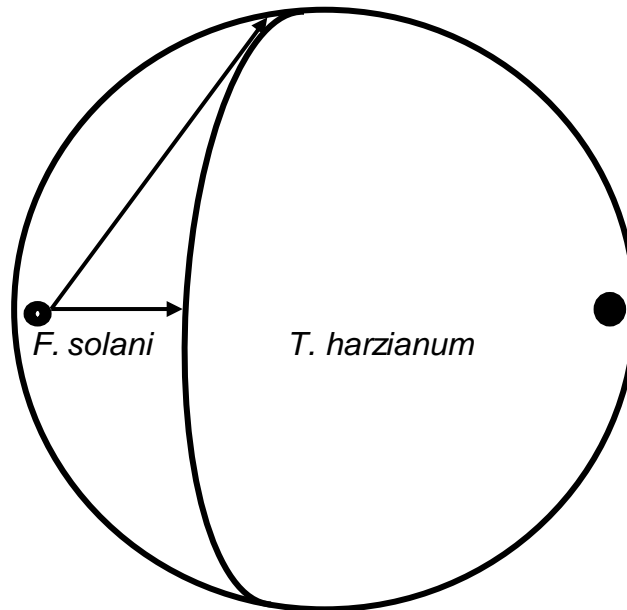
A partir del ADN genómico de cepa se procedió a amplificar la región ITS (Internal Transcribed Spacer) por medio de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) para identificación taxonómica. Las reacciones de amplificación se realizaron en un termociclador ATC401 (CLP, Tools for Molecular Biology). Para amplificar la región del espaciador transcrito interno (ITS, por sus siglas en inglés "Internal Transcribed Spacer") del ARN ribosomal que incluye las regiones ITS1, 5.8S e ITS2 de aproximadamente 560 pb, se utilizaron los cebadores ITS4 e ITS5 (White *et al.*, 1990). Para las reacciones PCR se utilizó 1 µL de la suspensión de ADN (20 ng), 0.1 µM de cada cebador, 1 U de Taq ADN polimerasa recombinante (Sigma), 200 µM de cada dNTP, 1X de Buffer de enzima y 1.5 mM MgCl₂; la reacción se llevó a cabo en 25µL. Las condiciones de la reacción de PCR fueron: una etapa de precalentamiento de 2 minutos a 94 °C, y 35 ciclos de: desnaturalización 1 minuto a 94 °C, alineación 1 minuto a 58 °C, seguido de una extensión a 72 °C por 1:30 minutos y por último una extensión final de 10 minutos a 72 °C.

Los amplicones fueron purificados del gel, utilizando el kit de extracción por columna de genómica extracción de ADN de la marca ThermoFisher, ajustados a 25ng/µl y enviados para secuenciación a la empresa EatonSystems (San Diego, EUA). Las secuencias fueron editadas mediante el programa UGENE (Okonechnikov *et al.*, 2012).

3.6. Evaluación de crecimiento de micelio e inhibición

Una vez obtenidas las cepas de *Fusarium solani* y *Trichoderma harzianum* se procedió a sembrarlas por triplicado en (CLA) cada uno por separado en una caja Petri, para medir el diámetro de crecimiento a partir del punto del inóculo inicial, y en otras cajas puestas en competencia *F. solani* vs *T. harzianum*.

Posterior a la siembra se realizaron mediciones del micelio cada 24 hr en ambas pruebas para obtener el promedio de crecimiento del micelio (Bell *et al.*, 1982).



IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las plantas de tomate colectadas fueron aisladas cepas fúngicas en medio de cultivo (CLA), para la observación de estructuras del genero *Fusarium*. De las cepas aisladas correspondieron a los géneros *Fusarium* spp. (Figura 9, 10, 11 y 12), *Alternaria* sp. (Figura 13) y *Rhizoctonia* sp. (Figura 14). La identificación de estructuras de *Fusarium* fue con base al “the *Fusarium* Laboratory Manual” (Leslie y Summerell, 2008), sin embargo, las estructuras de las especies *F. oxysporum* y *F. solani* son semejantes, por lo que se hace necesario realizar una identificación molecular.



Figura 9. Presencia de clamidospora (observada a 40X).



Figura 10. Enrollamientos típicos de *Fusarium* (observados a 40X).



Figura 11. Microconidios en el esporoquio (observado a 40X).



Figura 12. Macroconidios en el esporoquio (observado a 40X).

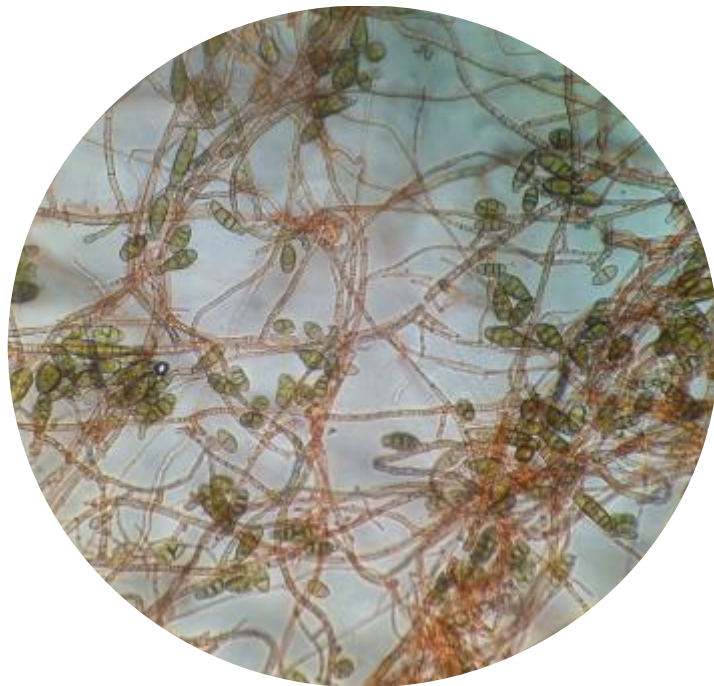


Figura 13. Conidios de *Alternaria* sp. (observados a 40X).



Figura 14. Micelio de *Rhizoctonia* sp. (observado a 40X).

Una vez obtenidas las cepas de *Fusarium* spp. (Figura 15) fueron mandadas al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE) para su identificación molecular.

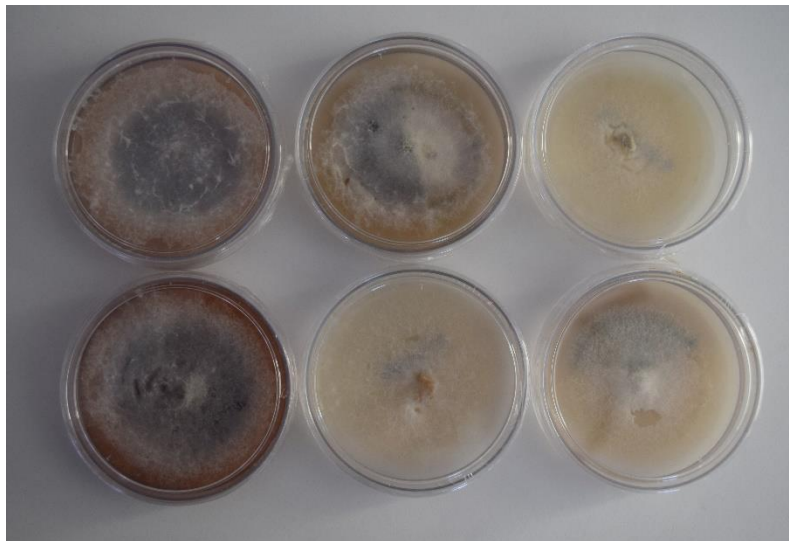


Figura 15. Cepas de *Fusarium* crecidas en PDA para su observación macroscópica.

A partir de las secuencias de ADN se determinó la calidad de las mismas a través del electroferograma de las muestras enviadas a secuenciar (Figura 16).

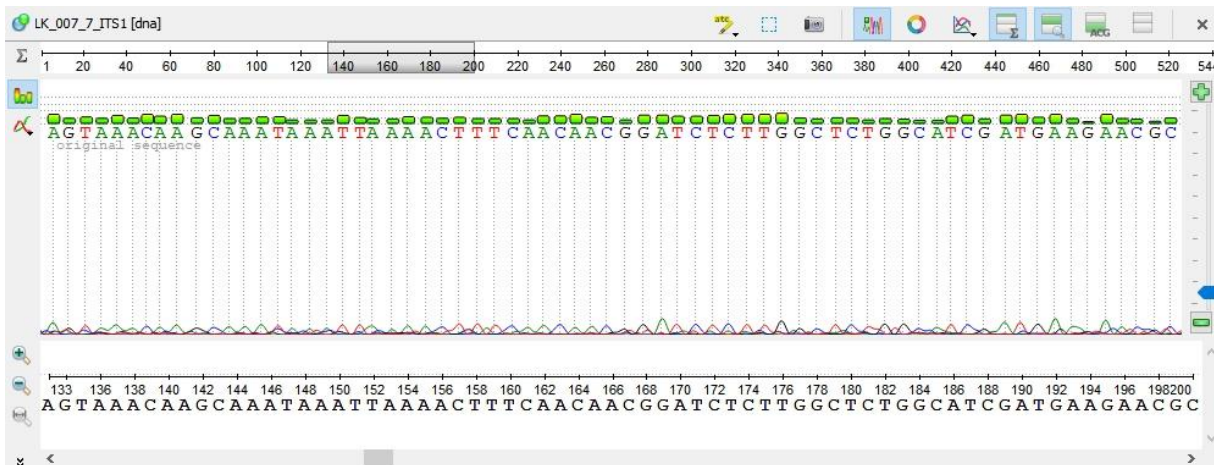


Figura 16. Electroferograma de la secuencia de una cepa de *Fusarium* spp.

Posteriormente se realizó la identificación con el uso de la herramienta bioinformática BLASTn, todas las secuencias analizadas arrojaron porcentaje de identidad de entre el 78.8 y 96.7 % de identidad con *Fusarium solani* (Figura 17), indicando a esta especie como el agente causal de marchitamiento vascular de tomate en el Municipio de Yecapixtla, Morelos. En el Estado de Morelos se ha reportado la presencia de *F. oxysporum* f.sp *lycopersici* raza 2 y 3 y *F. solani* (Ortega, 2010).

Sequences producing significant alignments		Download	Manage Columns	Show			
				100			
select all 100 sequences selected					GenBank	Graphics	Distance tree of results
	Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
<input checked="" type="checkbox"/>	Fusarium cf. solani CBS 2012 strain CBS 115659 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal trans	867	867	99%	0.0	96.56%	JX435206.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Fusarium striatum strain NID13/JXT312 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, i	865	865	99%	0.0	96.56%	KC202944.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Fusarium sp. strain CBS 115659 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2,	861	861	94%	0.0	97.98%	MH582405.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Fusarium cf. solani CBS 2012 strain CBS 115658 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal trans	861	861	99%	0.0	96.38%	JX435213.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Ascomycota sp. isolate LTS64 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, co	857	857	99%	0.0	96.19%	MH430703.1
<input checked="" type="checkbox"/>	Fusarium cf. solani CBS 2012 strain CBS 115660 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal trans	856	856	99%	0.0	96.19%	JX435212.1

Figura 17. Resultado del análisis de secuencia en BLASTn.

4.1. Crecimiento del micelio

El crecimiento micelial de las cepas *F. solani* fue medido cada 24 hr por 5 días (Figura 18 y 19), ya que *T. harzianum* en 5 días logró colonizar la caja Petri en su totalidad (Figura 20).

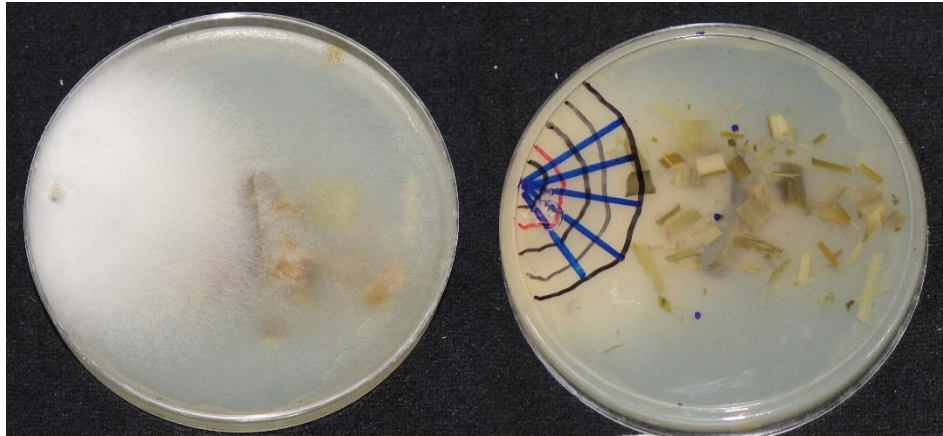


Figura 18. Crecimiento de micelio de *F. solani* en medio de cultivo CLA a partir del punto de inoculación.

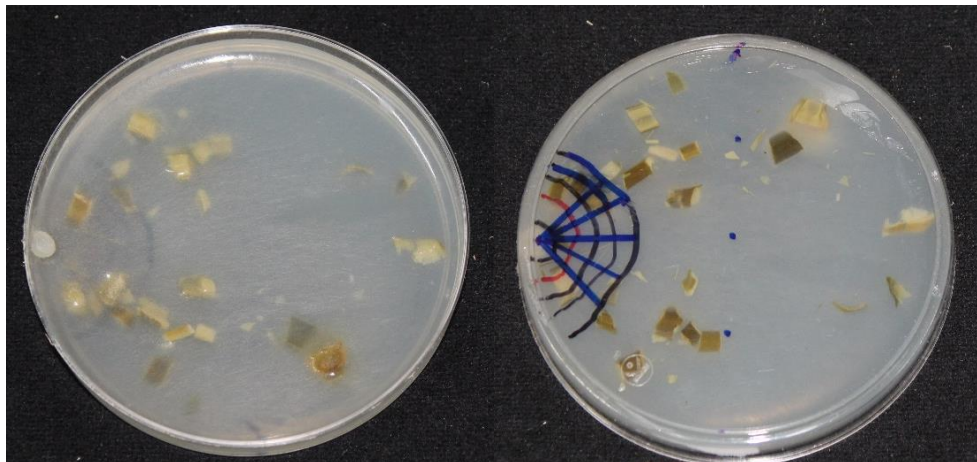


Figura 19. Crecimiento de micelio de *F. solani* en medio de cultivo CLA a partir del punto de inoculación.

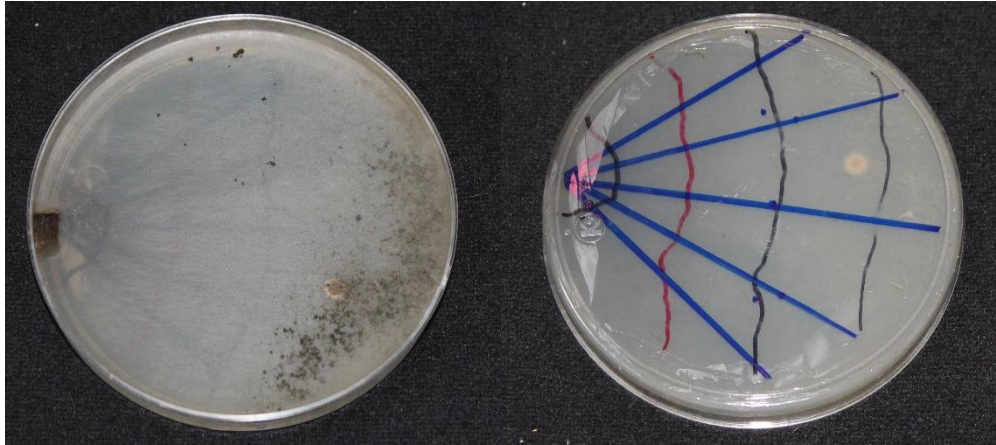


Figura 20. Crecimiento de micelio de *T. harzianum* en medio de cultivo CLA a partir del punto de inoculación.

El crecimiento micelial promedio de las cepas de *F. solani* (Fs 1, Fs 2, Fs 3, Fs 4 y Fs 5) y *T. harzianum* (Th 1) fue 0.507 cm y 1.573 cm por día respectivamente (Figura 21).

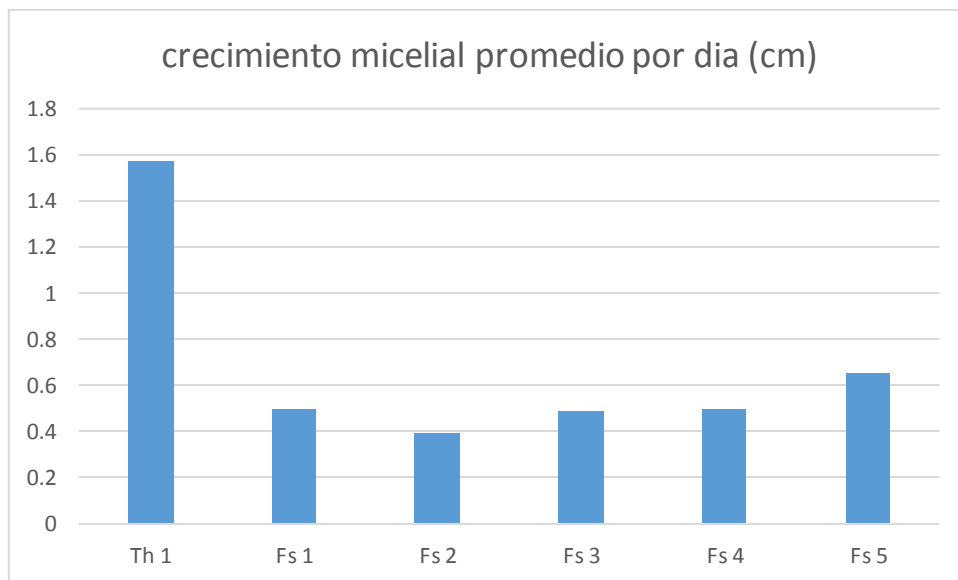


Figura 21. Crecimiento micelial promedio por día en (cm).

4.2. Evaluación del antagonismo de la cepa de *Trichoderma harzianum*

La evaluación del antagonismo de la cepa de *T. harzianum* (Th 1) ante las cepas *F. solani* (Fs 1, Fs 2, Fs 3, Fs 4 y Fs 5) fue medido cada 24 hr hasta que se intersectaron los hongos (Figura 22 y 23).



Figura 22. Ensayos de antagonismo entre *F. solani* y *T. harzianum*.



Figura 23. Ensayos de antagonismo entre *F. solani* y *T. harzianum*.

El crecimiento micelial promedio en las evaluaciones de antagonismo de la cepa *T. harzianum* (Th 1) sobre las cepas de *F. solani* (Fs 1, Fs 2, Fs 3, Fs 4 y Fs 5) 1.3451 cm y 0.5506 cm respectivamente (Figura 24).

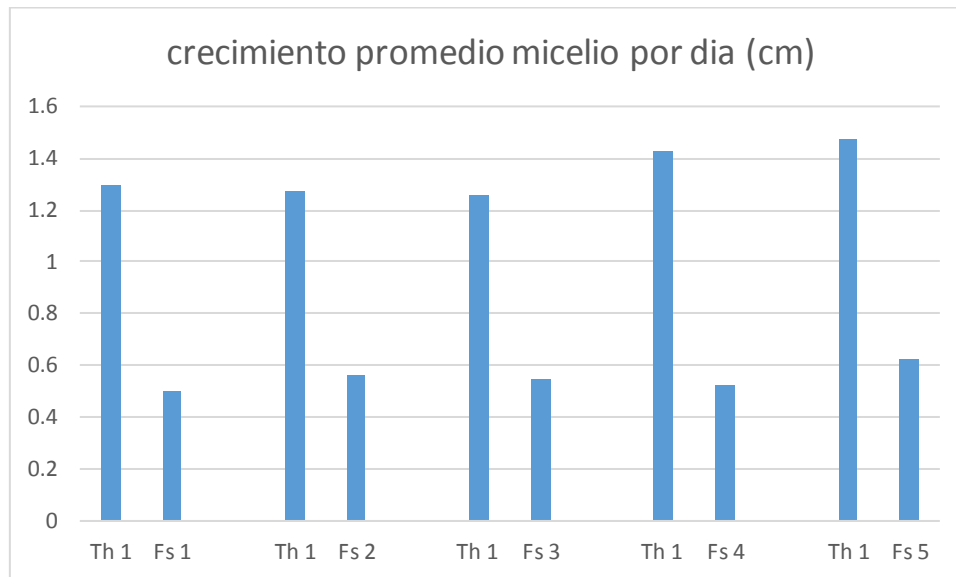


Figura 24. Crecimiento micelial promedio por día, por competencia entre *F. solani* (Fs 1, Fs 2, Fs 3, Fs 4 y Fs 5) y *T. harzianum* (Th1).

Las zonas de intersección fueron analizadas bajo microscopio óptico con objetivo de 40X, para observar si existían daños por *Trichoderma* (destrucción de células, enrollamientos, falta de micelio). Sin embargo, las observaciones analizadas no se detectó ningún indicativo de antagonismo por parte de *T. harzianum*.

T. harzianum presentó un radio de crecimiento superior al de las cepas del fitopatógeno *F. solani* de acuerdo con los resultados consignados por (Meza *et al.*, 2008). El efecto antagonista del género *Trichoderma* es muy variado entre las especies, inclusive entre cepas, Repalle y Krishna (2015) mencionan que *T. Viridæ* tiene un mayor porcentaje de inhibición frente a *Fusarium* a comparación de *T. harzianum*.

V. CONCLUSIÓN

Se rechaza la hipótesis, de que *Fusarium oxysporum* es el agente causal del marchitamiento vascular de las plantas de tomate en el ejido Llano de Xalpa, Municipio de Yecapixtla, Morelos. Se identificó como agente causal al hongo *Fusarium solani*.

Se rechaza la hipótesis, de que *Trichoderma harzianum* tendría un efecto positivo como antagonista sobre las cepas de *Fusarium* spp. *in vitro*.

En base a los resultados obtenidos del efecto de *T. harzianum* sobre cepas de *F. solani* aisladas de plantas de tomate en el Municipio de Yecapixtla, Morelos, *T. harzianum* tienen un mayor crecimiento del micelio a comparación de *F. solani*.

A partir de los resultados de las pruebas de antagonismo *in vitro*, se determinó que la cepa utilizada de *T. harzianum* no tuvo efecto sobre las cepas de *F. solani* aisladas de plantas de tomate en el Municipio de Yecapixtla, Morelos.

Es posible que *Rhizoctonia* sp. y *Alternaria* sp. estén asociados a la enfermedad del marchitamiento vascular. Sin embargo, es necesario realizar más investigaciones.

VI. LITERATURA CITADA

- Adams, M. 2007. Descriptions of Plant Viruses. [En línea]. <http://www.dpvweb.net/intro/index.php> [Fecha de consulta: 10/11/2019].
- Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. 5th ed. Academic Press. 922 pp.
- Agrovademecum.com. 2019. Variedades de semillas de tomate resistentes a *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (For). [En línea]. <https://www.agrovademecum.com/variedades/fusarium-oxysporum-f-sp-radicis-lycopersici?cultivos=tomate> [Fecha de consulta: 01/12/2019].
- Aguado, A., Sonsoles, M., Escriu, F., y Aritaga, S. 2014. *El Virus del Mosaico del Tomate*. Centro de Sanidad y Certificación Vegetal. [En línea]. https://www.aragon.es/documents/20127/674325/ToMv_1_1.pdf/2c118a13-3cdd-3855-5fde-41294bf8e194 [Fecha de consulta: 10/11/2019].
- Alabouvette, C., P. Lemanceau, y C. Steinberg. 1993. Recent advances in the biological control of *Fusarium* wilts. *Pesticide Science*, 37(4), 365–373 pp.
- Álvarez-Hernández, J. C. 2012. Comportamiento agronómico e incidencia de enfermedades en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) injertadas. *Acta Agronómica*, 61(2), 9 pp.
- Bell D.K., Wells, H.D. y Markham C.R. 1982. *In Vitro* Antagonism of *Trichoderma* species Against Six Fungal Plant Pathogens. *Phytopathology*. 72: 379-82 pp.
- Blancard, D. (2011). Enfermedades del tomate. Mundi-Prensa Libros. 679 pp.
- Bolland, H. R., Gutierrez, J., y Flechtmann, C. H. W. (1998). World catalogue of the spider mite family (Acari: Tetranychidae). Brill.
- Castellanos, G., C. Jara, y G. Mosquera. 2011. Guías prácticas de laboratorio para el manejo de patógenos del frijol. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT). 108-138 pp.

- Cellier, G., y P. Prior. 2010. Deciphering phenotypic diversity of *Ralstonia solanacearum* strains pathogenic to potato. *Phytopathology*, 100(11), 1250–1261 pp.
- Esquinas-Alcazar, J., F. Nuez-Viñals, A. Rodriguez-del-Rincon, J. Tello, J. Cuartero, y B. Segura. 1995. Situación taxonómica, domesticación y difusión del tomate. *El cultivo del tomate*. F. Nuez. Mundi Prensa. España 13-42 pp.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2013. El cultivo de tomate con buenas prácticas agrícolas en la agricultura urbana y periurbana. *Agricultura para el desarrollo*. 72 p.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO). 2019. [En línea]. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> [Fecha de consulta: 01/11/2019].
- Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura (FIRA). 2017. Panorama Agroalimentario Tomate Rojo 2017. Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial, 25 p.
- Garcés-de-Granada, E., M. Orozco-de-Amézquita, G. R. Bautista, y H. Valencia. 2001. *Fusarium oxysporum*: el hongo que nos falta conocer. *Acta Biológica Colombiana* 6: 7-25 pp.
- Gleason, M. L., E. J. Braun, W. M. Carlton, y R. H. Peterson. 1991. Survival and dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomatoes. *Phytopathology*, 81(12), 1519–1523 pp.
- Google. 2019. [Mapa de Yecapixtla, México en Google maps]. [En línea]. <https://www.google.com.mx/maps/place/Yecapixtla,+Mor./@18.8798121,-98.8683604,15z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x85ce6a0fbd3e2567:0xf9bbb1a723d9196!8m2!3d18.8782827!4d-98.8610882> [Fecha de consulta: 10/12/2019].
- Guerrero, J. C., E. Fernández, y E. Zamora. 2016. *Virus Del Rizado Amarillo De La Hoja Del Tomate (TYLCV) O Virus De La Cuchara Bajo Casas Sombra*. Enfermedades de las plantas (cultivos protegidos). Universidad de Sonora, Departamento de Agricultura y Ganadería, Hermosillo, Sonora, México. [En línea]. [http://www.dagus.uson.mx/Zamora/TYLCV_VIRUS_TOMATE\(ENFPL-CP-001\).pdf](http://www.dagus.uson.mx/Zamora/TYLCV_VIRUS_TOMATE(ENFPL-CP-001).pdf) [Fecha de consulta: 10/24/2019].

- Guigón-López, C., y P. A. González-González. 2001. Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annuum*, L.) y su comportamiento temporal en el sur de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 19(1), 9 p.
- Harman, G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. The American Phytopathological Society. *Plant Disease*, 84(4), 377–393 pp.
- Hebbar, K. P., D. Atkinson, W. Tucker, y P. J. Dart. 1992. Suppression of *Fusarium moniliforme* by maize root-associated *Pseudomonas cepacia*. *Soil Biology and Biochemistry*, 24(10), 1009–1020 pp.
- Instituto para la innovación tecnológica en la agricultura (Intagri). 2016. Control de Cáncer Bacteriano (*Clavibacter michiganensis*) en el Cultivo de Tomate. [En línea]. <https://www.intagri.com/articulos/horticultura-prottegida/control-de-cancer-bacteriano-en-el-cultivo-de-tomate> [Fecha de consulta: 10/24/2019].
- Instituto para la innovación tecnológica en la agricultura (Intagri). 2016. *Trichoderma* Control de Hongos Fitopatógenos. [En línea]. <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/trichoderma-control-de-hongos-fitopatogenos> [Fecha de consulta: 10/24/2019].
- Instituto para la innovación tecnológica en la agricultura (Intagri). 2019. *El Virus Rugoso del Tomate (Tomato Brown Rugose Fruit Virus “ToBRFV”)*. [En línea]. <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/tomato-brown-rugose-fruit-virus> [Fecha de consulta: 10/24/2019].
- Jones J. B., Jones J. P., Stall R. E. y Zitter T. A. 1991. *Compendium of Tomato Diseases*. St. Paul Minnesota 55121, USA: The American Phytopathological Society. 9-21 pp.
- Jiménez-Borjas, J. L. 2016. *Guía técnica de: Plagas y Enfermedades: Solanáceas y Cucurbitáceas*. Culiacán, Sinaloa, México: Primera Edición 1-140 pp.
- Katan, T., E. Shlevin, y J. Katan. 1997. Sporulation of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* on stem surfaces of tomato plants and aerial dissemination of inoculum. *Phytopathology*, 87(7), 712–719 pp.

- Koppert Biological Systems. 2019. Ácaro del bronceado del tomate. [En línea]. <https://www.koppert.mx/retos/aranas-rojas-y-otras-aranas/acaro-del-bronceado-del-tomate/> [Fecha de consulta: 10/20/2019].
- Koppert Biological Systems. 2019. Minador americano *Liriomyza trifolii*. [En línea]. <https://www.koppert.mx/retos/minadores-de-hoja/minador-americano> [Fecha de consulta: 10/20/2019].
- Larrazabal, M. 2019. Tipos de Tomate. Clases y Variedades. Lista de los Mejores Tomates del Mundo. Agromarketing. [En línea]. <https://www.bialarblog.com/tomate-tipos-clases-y-variedades/> [Fecha de consulta: 10/24/2019].
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. 2008. The *Fusarium* laboratory manual. John Wiley y Sons. 387 p.
- López, P. 2003. “Manejo integrado de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) asociado al cultivo de tomate en Chile”, Departamento de Agricultura del Desierto, Universidad Arturo Prat, Seminario. Ing. Ejec. Agrícola. Iquique, Chile. 77 p.
- Ma, L.-J., Geiser, D. M., Proctor, R. H., Rooney, A. P., O'Donnell, K., Trail, F., Kazan, K. 2013. *Fusarium* pathogenomics. Annual Review of Microbiology, 67, 399–416 pp.
- Martínez, B., A. Bernal, S. Pérez, y Y. Muñiz, 2002. Variabilidad patogénica de aislamientos de *Alternaria solani* Sor. Rev Protección Veg, 17(1), 45–53 pp.
- McGovern, R. J., y L. E. Datnoff. 1992. *Fusarium* crown and root rot of tomato: reevaluation of management strategies. Fla. Tom. Instit. Proc., Vegetable Crops Special Series, SS HOS1 University of Florida-IFAS, 75–82 pp.
- McGovern, R. J. 2015. Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. Crop Protection, 73, 78–92 pp.
- Meza, D. P. 2017. Nemátodo agallador. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) [En línea]. http://www.inia.cl/wp-content/uploads/FichasTécnicasSanidadVegetal/Ficha_06_Nematodo_agallador.pdf [Fecha de consulta: 10/10/2019].

- Meza, C. L. S., R. J. F. Barbosa, N. V. Valero, R. M. G. Carrillo, y A. R. P. Redondo, (2008). Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 10(2), 35–43 pp.
- Moraes, G. J. y Flechtmann, C. H. W. 2008. Manual de acarología: acarología básica e ácaros de plantas cultivadas no Brasil. Ribeirão Preto: Holos. Brasil. 288 p.
- Okonechnikov, K., Golosova, O., Fursov, M. y Team, T. U. 2012. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*, 28, 1166-1167 pp.
- Ortega, G. J. G. 2010. Diagnóstico de hongos fitopatógenos de jitomate y efecto de *Trichoderma asperelum* Tc74 sobre *Fusarium* spp. Tesis de Maestría en Ciencias en Manejo Agroecológico de Plagas y Enfermedades. Instituto Politécnico Nacional. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos (CEPROBI). Yautepec, Morelos, México. 82 p.
- Rodríguez, R. R., J. M. Tabares R., y J. A. Medina S. J. 2001. Cultivo moderno del tomate. 2ª Edición. Editorial Mundi-Prensa Libros, SA. 255 p.
- Rubio, R. G., S. F. Baltodano, C. L. Abanto, K. J. Wilson, y R. M. Muñoz. 2008. Resistencia *in vitro* de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* a los fungicidas Benzomil 500, Rhizolex-T y Homai-WP. *Revista Biológica de La Universidad de Trujillo, Perú*, 28(2), 34–46 pp.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). 2017. Jitomate mexicano. Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. [En línea]. <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257077/Potencial-Jitomate.pdf> [Fecha de consulta: 10/10/2019].
- Sambrook, J. y D. W. Russell. 2001. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, the Third edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York, 1.124-1.125, A1.27.
- Sasser, J. N. 1989. Plant-parasitic nematodes: the farmer's hidden enemy. Department of Plant Pathology, North Carolina State University. Raleigh, USA. 115 P.

- Sayers, E. W., Barrett, T., Benson, D. A., Bryant, S. H., Canese, K., Chetverin, V., Church, D. M., Dicuccio, M., Edgar, R., Federhen, S., Feolo, M., Geer, L. Y., Helmberg, W., Kapustin, Y., Landsman, D., Lipman, D. J., Madden, T. L., Maglott, D. R., Miller, V., Mizrachi, I., Ostell, J., Pruitt, K. D., Schuler, G. D., Sequeira, E., Sherry, S. T., Shumway, M., Sirotkin, K., Souvorov, A., Starchenko, G., Tatusova, T. A., Wagner, L., Yaschenko, E. y Ye, J. 2009. Database resources of the National Center for Biotechnology Information. *Nucleic Acids Research*, 37, D5-D15.
- Schultz, D., French-Monar, R. D., y Serrato-Diaz, L. M. 2011. Mancha Bacteriana del Tomate y el Pimiento, 2–3 pp.
- Seminis. 2017. ¿Cómo ataca la *Phytophthora*? [En línea]. <https://www.seminis.mx/blog-como-ataca-la-phytophthora/> [Fecha de consulta: 24/11/2019].
- Seminis. 2018. Los tres principales tipos de tomate en México y sus diferencias. [En línea]. <https://www.seminis.mx/los-tres-principales-tipos-de-tomate-en-mexico-y-sus-diferencias/> [Fecha de consulta: 24/11/2019].
- Shurtleff, M. C., y C. W. Averre III. 2000. Diagnosing Plant Diseases Caused by Nematodes. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota USA. 187 p.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2019. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. [En línea]. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/> [Fecha de consulta: 10/10/2019].
- Smith, A., y P. Mesa. 2005. Métodos de control de *Fusarium*, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, (Corpoica) 23–26 pp. [En línea]. https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/12447/44965_60387.pdf?sequence=1#page=23 [Fecha de consulta: 24/11/2019].
- Smith, S. N. 2007. An overview of ecological and habitat aspects in the genus *Fusarium* with special emphasis on the soil-borne pathogenic forms. *Plant Pathology Bulletin*, 16: 97–120 pp.
- Soto, S. 2017. *Alternaria* en tomate. INIA La Platina. [En línea]. <http://www.inia.cl/wp-content/uploads/FichasTecnicasSanidadVegetal/Ficha%2038%20Alternaria%20en%20tomate.pdf>. [Fecha de consulta: 24/11/2019].

- Staats, M., P. van Baarlen, A. Schouten, J. A. van Kan, y F. T. Bakker, 2007. Positive selection in phytotoxic protein-encoding genes of *Botrytis* species. *Fungal Genetics and Biology*, 44(1), 52–63 pp.
- Torres, D., y T. Capote. 2004. Agroquímicos un problema ambiental global: uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental. *Revista Ecosistemas*, 13(3), 5 p.
- Turlier, M.-F., A. Eparvier, y C. Alabouvette. 1994. Early dynamic interactions between *Fusarium oxysporum* f. sp. *lini* and the roots of *Linum usitatissimum* as revealed by transgenic GUS-marked hyphae. *Canadian Journal of Botany*, 72(11), 1605–1612 pp. doi: <https://doi.org/10.1139/b94-198>
- Tzortzakakis, E. A. 2000. The effect of *verticillium chlamydosporium* and oxamyl on the control of *Meloidogyne javanica* on tomatoes grown in a plastic house in Crete, Greece. *Nematologia Mediterranea*, 28(2), 6 p.
- Valadez López, A. 1993. Producción de hortalizas. Editorial LIMUSA. SA. 200 p
- Weller, D. M. 1988. Biological control of soilborne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 26(1):379–407 pp.
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee, y J. W. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Pp. 315-322 in: *PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications*. Innis M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, y T. J. White, eds. Academic Press, Inc., New York. 10 p.
- Williamson, B., B. Tudzynski, P. Tudzynski, y J. A. L. van Kan. 2007. *Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*, 8(5), 561–580 pp. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x>
- Yadeta, K., y B. Thomma. 2013. The xylem as battleground for plant hosts and vascular wilt pathogens. *Frontiers in Plant Science*, 4:97. doi: 10.3389/fpls.2013.00097
- Zeilinger, S., y M. Omann. 2007. *Trichoderma* biocontrol: signal transduction pathways involved in host sensing and mycoparasitism. *Gene Regulation and Systems Biology*, 1, GRSB-S397. 8 p.