

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Efecto de Biofungicidas en el Control de Enfermedades Radiculares de la  
Espinaca (*Spinacea oleracea*)

Por

**OBED ISAI HERNÁNDEZ PÉREZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de

**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

Saltillo, Coahuila, México

Mayo, 2013

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Efecto de Biofungicidas en el Control de Enfermedades Radiculares de la  
Espinaca (*Spinacea oleracea*)

Por:

**OBED ISAI HERNÁNDEZ PÉREZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de

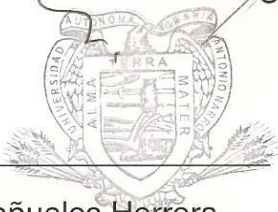
**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

Aprobada:

Dr. Marcelino Cabrera de la Fuente  
Asesor Principal

Dra. Rosalinda Mendoza Villarreal  
Coasesor

Dr. Alberto Sandoval Rangel  
Coasesor



Dr. Leobardo Bañuelos Herrera  
Coordinador de la División de Agronomía  
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México  
Mayo del 2013

## **DEDICATORIA**

**A DIOS:** Por cuidarme, ayudarme y por guiar mi vida por un buen camino.

### **Con mucho amor a mis padres**

Abenamar Hernández López y María Antonieta Pérez Vázquez

Por qué no hay palabras ni basta para decir todo lo que hicieron por mí, por los pensamientos que les robé día a día, por enseñarme a ser fuerte en la vida, por sus consejos, motivación, apoyo e inculcaron en mí los buenos valores morales y sentimientos, me dieron fuerzas de seguir, luchar y alcanzar este grande propósito. Por qué solo la superación de mis ideales me han permitido comprender cada día la más difícil posición de ser padres, mis conceptos, mis buenos valores y mi superación se los debo a ustedes, esto será la mejor de las herencias, lo reconozco y les estaré agradecido toda mi vida. Papito y mamita, este logro es de ustedes, gracias por darme tanto amor “Dios los bendiga siempre”.

### **A Mis Hermanos**

Joel Avidam y Merli Karina

Por estar siempre conmigo, por apoyarme, aconsejarme y por ser mi motivación. A pesar de todos los obstáculos que nos enfrentamos, juntos salimos adelante y desde hoy gozamos de esta satisfacción tan grande para nosotros y para nuestros padres.

### **A mis abuelitos**

Alejandro y Mercedes: Por su grande amor y cariño, por cuidarme desde que era niño, por enseñarme a ser fuerte en la vida, por su apoyo incondicional y sobre todo sus consejos que guiaron siempre mi camino. Gracias abuelitos por ser como mis padres.

Flavio y Feliza: Por su comprensión, por brindarme cariño, por apoyarme siempre, y por sus consejos que han estado presentes en todo momento de mi vida.

### **A mis tíos**

A mi tío Olivio, por su apoyo incondicional, por ayudarme a cumplir este gran sueño, por motivarme a seguir adelante y por quererme como a un hijo.

A todos mis tíos y tías gracias por su apoyo, por su motivación y por sus consejos que me ayudaron en este grande recorrido.

### **A mi esposa**

María Lilia Campos Ramírez: Por ser el amor de mi vida, la mujer que me lleno de felicidad desde el primer día que estuvo a mi lado, por ser mi mayor motivación para superarme, por tus consejos, por tu apoyo y por estar siempre conmigo hicieron posible alcanzar este propósito tan grande en mi vida. Pero sobre todo “Gracias amor por darme la felicidad eterna, de ser papa me regalaste al hijo más hermoso, te amo y te amare siempre con todas las fuerzas de mi corazón “Dios te bendiga siempre”.

### **A mi hijo**

Jonathan Hernández Campos: Por ser mi mayor fuerza y motivación diaria de salir adelante, por llenar mi vida de felicidad con cada sonrisa, eres lo mejor y lo más valioso que tengo en mi vida. Te amo con todas las fuerzas de mi corazón que “Dios te bendiga siempre”.

### **A mis amigos**

Juan Antonio y Yessi: Por su apoyo incondicional en esta etapa de mi vida, por estar siempre conmigo, por su motivación y por sus consejos que me ayudaron a ser mejor persona.

A Víctor, Rodrigo, Martín y Lupita. Gracias por brindarme su amistad, por estar conmigo, por apoyarme y motivarme a seguir adelante.

## AGRADECIMIENTO

A **Dios:** gracias por darme la vida, por guiarme y acompañarme en esta etapa de mi vida. Por darme sabiduría e inteligencia, llenarme de alegría y colmarme de bendiciones en mi vida, porque sin su ayuda esto no sería posible.

A la **Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro:** por brindarme la gran oportunidad para alcanzar el gran sueño de mi vida, realizando mis estudios.

Al **Departamento de Horticultura:** por darme la oportunidad de desarrollar y poner en práctica mis conocimientos para la formación de mi carrera profesional.

Al **Dr. Marcelino Cabrera De la Fuente:** gracias por su paciencia, por brindarme su apoyo, por compartir sus conocimientos y experiencias, pero sobre todo gracias por su comprensión y confianza en el desarrollo de esta investigación.

A la **Dra. Rosalinda Mendoza Villareal:** por su comprensión, por su apoyo para terminar en buena forma este trabajo pero sobre todo por su amabilidad y confianza.

Al **Dr. Alberto Sandoval Rangel:** gracias por sus consejos, que me ayudaron a superarme, por sus conocimientos y experiencias compartidas, por su confianza, por motivarme siempre y por apoyarme a concluir este trabajo.

A **mis profesores:** quienes me dieron fortaleza día a día, para lograr este gran propósito brindándome su apoyo, conocimientos y experiencia.

A la **Empresa Rancho Medio Kilo S. de P.R de R.L:** por brindarme la oportunidad de realizar esta investigación en sus instalaciones y por el apoyo que me dieron durante el desarrollo de esta investigación.

Al **Ing. Juan Pablo Mora Mora** gerente del área de investigación y desarrollo: por confiar en mi persona para realizar esta investigación, por compartir sus conocimientos y experiencias.

Al **Ing. Roberto Javier Farfán Torres** gerente del área de producción de tomates hidropónicos: por, apoyarme, motivarme, por compartir sus conocimientos, experiencias y sobre todo por permitirme formar parte de su equipo de trabajo.

## RESUMEN

El presente trabajo se realizó en el ciclo agosto-noviembre del 2012 en el área de investigación y desarrollo de la empresa Rancho Medio Kilo S. de P. R. de R. L. ubicado en Aguascalientes, Aguascalientes con el objetivo de observar el efecto biofungicida de productos orgánicos, para mantener libre de enfermedades radiculares al cultivo de espinaca (*Spinacea oleracea*) en condiciones de campo abierto. Se evaluaron productos que tienen como ingrediente activo a *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis*, acetato de quitosano, te de composta, extracto de *Yucca schidigera* y extracto de Quillay. Estos productos fueron aplicados a las dosis recomendadas en la etiqueta, en forma de drench, con intervalo entre aplicaciones de 7 a 28 días. Se utilizó la variedad de espinaca Spiros v-886 de la casa comercial BEJO LTD. Se evaluó: plantas sanas por m<sup>2</sup> (pts·m<sup>2</sup>) y rendimiento por corte por hectárea (rendimiento·corte·ha<sup>-1</sup>). Los resultados mostraron que si hay diferencias altamente significativas en la variable rendimiento por corte por hectárea, el tratamiento de los productos PHC T22 + PHC Yuccah, dio el mayor rendimiento con 25.89 ton·corte·ha<sup>-1</sup>, seguido del tratamiento con el producto Serenade con un rendimiento de 24.81 ton·corte·ha<sup>-1</sup> quedando el testigo con rendimiento más bajo. Estos resultados indican que el uso de biofungicidas en el manejo agronómico del cultivo de espinaca es favorable debido a que incrementa la supervivencia de las plantas.

**Palabras clave:** Biofungicida, enfermedades radiculares, *Spinacea oleracea*.

## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Pág.</b>
Cuadro 1. Producción y rendimiento del cultivo de espinaca de los estados más importantes.....	13
Cuadro 2. Rangos de temperatura óptimos y críticos para el desarrollo del cultivo de la espinaca.....	16
Cuadro 3A. Fertilización·ha <sup>-1</sup> en el cultivo de espinaca.....	54
Cuadro 4. Aplicación de insecticida orgánico.....	39
Cuadro 5. Descripción de tratamientos estudiados.....	40
Cuadro 6A. Frecuencia de aplicación de los tratamientos estudiados.....	55
Cuadro 7A. Plantas sanas por m <sup>2</sup> de superficie.....	55
Cuadro 8A. Rendimiento por corte·ha <sup>-1</sup> . ....	56
Cuadro 9A. Comparación de valores medios plantas sanas por m <sup>2</sup> .....	56
Cuadro 10A. Comparación de valores medios rendimiento por corte·ha <sup>-1</sup> .....	57

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Número de plantas sanas por m <sup>2</sup> de superficie.....	34
Figura 2. Rendimiento·corte·ha <sup>-1</sup> .....	35

## ÍNDICE DE TEXTO

	Pág.
<b>DEDICATORIA</b> .....	i
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	iii
<b>RESUMEN</b> .....	iv
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	v
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	v
<b>ÍNDICE DE TEXTO</b> .....	vi
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	10
1.1. OBJETIVO GENERAL .....	11
1.1.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	11
1.2 HIPÓTESIS.....	11
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	12
2.1. Antecedentes del cultivo .....	12
2.1.1. Origen.....	12
2.1.2. Clasificación taxonómica .....	12
2.1.3. Producción mundial .....	12
2.1.4. Producción nacional .....	12
2.1.5. Variedades botánicas .....	13
2.2. Características botánicas.....	14
2.2.1. Planta .....	14
2.2.2. Raíz .....	14
2.2.3. Tallo.....	14
2.2.4. Hojas .....	14
2.2.5. Pecíolo.....	15
2.2.6. Flores.....	15
2.2.7. Semilla.....	15
2.3. Manejo agronómico del cultivo.....	15
2.3.1. Temperatura .....	15
2.3.2. Condiciones edafológicas.....	16



2.3.3. Nivel de pH requerido .....	17
2.3.4. Preparación del suelo .....	17
2.3.5. Densidad de siembra.....	17
2.3.6. Aclareo .....	17
2.3.7. Aporcado .....	18
2.3.8. Malezas .....	18
2.3.9. Riegos .....	18
2.3.10. Fertilización .....	19
2.3.11. Cosecha .....	20
2.4. Principales enfermedades radiculares del cultivo de espinaca .....	20
2.4.1. Marchitamiento del cuello causada por <i>Pythium</i> sp.....	20
2.4.1.1. Síntomas .....	20
2.4.1.2. Etiología y Epidemiología .....	21
2.4.1.3. Control químico.....	21
2.4.1.4. Control biológico .....	21
2.4.2 Marchitez causada por <i>fusarium</i> .....	22
2.4.2.1. Síntomas .....	22
2.4.2.2. Etiología y Epidemiología .....	22
2.4.2.3. Control químico.....	22
2.4.2.4. Control biológico .....	22
2.4.3. Pudrición radicular causada por <i>Rhizoctonia</i> .....	23
2.4.3.1. Síntomas .....	23
2.4.3.2. Etiología y Epidemiología .....	23
2.4.3.3. Control químico.....	24
2.4.3.4. Control biológico .....	24
2.5. Mecanismos de defensa de las plantas a patógenos .....	24
2.5.1. Defensas preformadas .....	24
2.5.2. Defensas inducidas .....	25
2.5.2.1. Resistencia Sistémica Inducida .....	26
2.5.2.2. Resistencia sistémica adquirida.....	26
2.5.3. Genes de resistencia y la respuesta de hipersensibilidad (RH).....	27

2.5.4. Proteínas relacionadas con patogénesis (PR).....	28
2.5.5. Mecanismos basales de defensa en plantas .....	28
2.5.6. Mecanismo de resistencia dependiente del ácido salicílico .....	29
2.5.7. Mecanismo de resistencia dependiente del ácido jasmónico .....	30
2.5.8. Mecanismo de resistencia dependiente del etileno .....	30
2.6. Biofungicidas.....	31
2.6.1. Quitosano .....	31
2.6.2. <i>Trichoderma harzianum</i> .....	32
2.6.3. <i>Bacillus subtilis</i> .....	33
2.6.4. Extracto de quillay .....	34
2.6.5. Extracto de <i>Yucca schidigera</i> .....	35
2.6.6. Té de composta.....	36
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>37</b>
3.1. Descripción del sitio experimental.....	37
3.2. Descripción del material vegetal empleado .....	37
3.3. Procedimiento Experimental .....	37
3.3.1. Preparación de suelo.....	37
3.3.2. Trazado de camas .....	37
3.3.3. Siembra .....	38
3.3.4. Instalación de cintillas.....	38
3.3.5. Fertilización del cultivo.....	38
3.3.6. Deshierbe .....	38
3.3.7. Control de plagas.....	38
3.3.8. Rasurado .....	39
3.3.9. Cosecha .....	39
3.4. Tratamientos estudiados.....	39
3.5. Frecuencia de aplicaciones de los tratamientos .....	40
3.6. Variables Evaluadas .....	41
3.6.1. Número de plantas sanas por m <sup>2</sup> . .....	41
3.6.2. Rendimiento·corte·ha .....	41
3.7. Diseño estadístico.....	41

<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	42
4.1. Plantas sanas por m <sup>2</sup> .....	42
4.2. Rendimiento·corte·ha <sup>-1</sup> .....	43
<b>V. CONCLUSIONES</b> .....	45
<b>VI. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	46
<b>VII. APÉNDICE</b> .....	54

## I. INTRODUCCIÓN

La espinaca es una hortaliza muy importante ya que presenta un elevado valor nutritivo, por su riqueza vitamínica y elementos minerales. Tiene una elevada actividad antioxidante, por su contenido en ácido ascórbico, tocoferol, carotenoides y diversos compuestos fenólicos (Cao *et al.*, 1996).

En la producción de espinaca como otras hortalizas, el principal limitante es el manejo de enfermedades y plagas. En los cultivos se observa una serie de daños que generan los productores al realizar hasta seis aplicaciones de mezclas de pesticidas en un ciclo de cultivo de solo 60 días. El uso de productos químicos ha tenido efectos negativos sobre el ambiente, incluso sobre aspectos relacionados con la calidad de vida de la población humana. Además, se ha demostrado que su eficacia puede ser de corta duración, algunas plagas y patógenos pueden hacerse resistentes a ellos (López *et al.*, 2005). Ante esta problemática se han buscado opciones de producción de alimentos que garanticen la obtención de productos inocuos, saludables y de calidad que satisfagan las necesidades de los consumidores. Una opción para cumplir estos objetivos es la producción de alimentos certificados como orgánicos, la otra es usar las herramientas de la biotecnología para mejorar las cosechas (Johnson *et al.*, 2007).

Los estudios para la detección y el control de enfermedades que mejoren la producción y calidad de las cosechas es una actividad que en los últimos años ha tomado una creciente importancia, una alternativa que se tienen son el uso de biofungicidas, su acción es específica contra las enfermedades que atacan, no son perjudiciales para el entorno; generalmente son eficaces aun en pequeñas concentraciones y se descomponen rápidamente sin que permanezcan residuos dañinos en las plantas, a diferencia de los pesticidas químicos (Tamez *et al.*, 2001).

## **1.1. OBJETIVO GENERAL**

Conocer el efecto de los diferentes biofungicidas comerciales en la supervivencia y producción de la espinaca.

### **1.1.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Identificar el efecto biocontrolador de los productos sobre el volumen total de producción en el cultivo de espinaca.

Detectar los efectos positivos en la aplicación de los productos combinados o solos en cuanto al control de enfermedades radiculares en el cultivo de espinaca.

Identificar el tratamiento que presenta mejores resultados para la supervivencia de plantas en el cultivo de la espinaca.

## **1.2 HIPÓTESIS**

La aplicación de biofungicidas tendrá un efecto positivo en el control de enfermedades radiculares, mayor supervivencia de plantas y un mayor rendimiento.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Antecedentes del cultivo

#### 2.1.1. Origen

La forma original o silvestre de espinaca no es conocida; sin embargo, existe consenso en que la especie es originaria de la región del Cáucaso, cerca de Irán, Afganistán y Turkestán (Krarup y Moreira, 1998).

La espinaca fue introducida en Europa por España (invasión de los Moros) alrededor del año 1000 procedente de regiones asiáticas, probablemente de Persia, pero únicamente a partir del siglo XVIII comenzó a difundirse por Europa y se establecieron cultivos para su explotación, principalmente en Holanda, Inglaterra y Francia; se cultivó después en otros países y más tarde pasó a América (Dechile, 2001).

#### 2.1.2. Clasificación taxonómica

De acuerdo a Díaz, (2002) el cultivo de la espinaca se clasifica como:

Familia: *Chenopodiaceae*

Género: *Spinacea*

Especie: *Spinacea Oleracea L.*

#### 2.1.3. Producción mundial

La mayor producción se encuentra en China, con una participación del 85% al 90% del total producido a nivel mundial, le siguen Estados Unidos (7%) y Japón (3%) (Lucier *et al.*, 2004).

#### 2.1.4. Producción nacional

Producción agrícola por estado en el ciclo otoño-invierno del 2011, modalidad de riego en el cultivo de espinaca.

**Cuadro 1.** Producción y rendimiento del cultivo de espinaca de los estados más importantes.

<b>Estado</b>	<b>Producción (Ha)</b>	<b>Rendimiento (Ton/Ha)</b>
Aguascalientes	382	19.1
Baja california	2,033.30	15.17
Distrito federal	322.2	9.26
Guanajuato	1,542.50	8.16
Michoacán	15.6	1.3
Puebla	575.32	10.44
Sonora	397	14.18
Tlaxcala	405	27
Veracruz	40	5
Zacatecas	450	15
Total	6,162.92	11.72

Fuente: <http://www.siap.gob.mx>

#### **2.1.5. Variedades botánicas**

***Spinacia oleracea* L. var. *Spinosa*.** De hoja rizada. Variedad ancestral y su nombre deriva del hecho de presentar aquenios con pericarpio con puntas; presenta hojas puntiagudas. Se suele comercializar fresca e incluye la gran mayoría de los cultivos usados hoy en día. Resiste muy bien el transporte y está adaptada para crecer en invierno (Krarup y Moreira, 1998).

***Spinacia oleracea* L. var. *Inermis*.** De hoja lisa. Variedad que se habría derivado de *S. oleracea* var *Spinosa*; presenta aquenios lisos y redondeados, hojas de diversas formas. En general, predominan los cultivares lisos que son los únicos usados para la agroindustria de congelados. El cultivo de esta variedad es poco utilizado en la actualidad y se comercializa congelada o enlatada (Krarup y Moreira, 1998).

## **2.2. Características botánicas**

### **2.2.1. Planta**

Planta hortense, anual, de la familia Chenopodiaceae, su uso hortícola tiene lugar al comienzo del ciclo vegetativo ya que después emite su tallo floral perdiendo valor como producto. El órgano de consumo de esta hortaliza lo constituyen sus hojas. La espinaca es una planta dioica; no es raro que prevalezcan formas sexuales masculinas y femeninas o incluso flores hermafroditas, por lo que el aspecto morfológico de las plantas puede presentar notables diferencias (Maroto, 1989).

Esta situación reviste importancia ya que la planta macho produce muy pocas hojas y son precoces en florecer y por lo mismo, son poco deseables en el cultivo. Respecto al sexo y productividad de la espinaca, señalan que las plantas de mayor interés agrícola son las hembras y las macho vegetativos debido a que poseen similares características en cuanto a un buen desarrollo de follaje y que presentan floración tardía (Rubatzky y Yamaguchi, 1997).

### **2.2.2. Raíz**

La Raíz es pivotante, levemente engrosada, poco ramificada y de arraigamiento superficial, pudiendo medir entre 30 y 180 cm de ancho y alcanzando hasta 1 m de profundidad (Díaz, 2002).

### **2.2.3. Tallo**

El tallo de las hojas de espinaca es firme puede tener una longitud desde el eje axial hasta la raíz de 10 cm hasta 1 m, dependiendo de la variedad de espinaca (Krarup y Moreira, 1998).

### **2.2.4. Hojas**

Las hojas son caulíferas, más o menos alternas, pecioladas, de forma y de consistencia muy variable; dependiendo del cultivar pueden ser ovales o



triangulares. Su color de hoja es verde oscuro; el pecíolo es cóncavo y a menudo rojo en su base, disminuye hacia las hojas más nuevas y va desapareciendo en las hojas que se sitúan en la parte más alta del tallo (Díaz, 2002).

#### **2.2.5. Pecíolo**

El pecíolo es largo (entre uno a dos tercios del largo total de la hoja), delgado (menos de 1 cm), con ahuecamiento progresivo al avanzar el desarrollo, y de color verdoso hacia la lámina, en contraste con la coloración rosada que presenta en el punto de inserción con el tallo (Krarup y Moreira, 1998).

#### **2.2.6. Flores**

Las flores masculinas, agrupadas en número de 6-12 en las espigas terminales o axilares presentan color verde. Están formadas por un perianto con 4-5 pétalos y 4 estambres. Las flores femeninas se reúnen en glomérulos axilares y están formados por un periantio bi o tetradentado, con ovarios uniovulares, estilo único y estigma dividido en 3-5 segmentos (Díaz, 2002).

#### **2.2.7. Semilla**

La semilla es orbicular, erguida, rodeada del pericarpio membranoso que puede ser liso o espinoso y de color café claro (Díaz, 2002).

### **2.3. Manejo agronómico del cultivo**

#### **2.3.1. Temperatura**

La espinaca es una planta de clima templado, cuyo cero vegetativo es de 5°C, no soporta temperaturas demasiado altas y en términos generales resiste temperaturas bajas extremas. Los óptimos térmicos para el desarrollo de esta especie fluctúan entre los 15 y 18°C (Le Strange *et al.*, 2001).

Serrano (1985), señala que para un desarrollo normal de la especie, se requiere un mínimo de temperatura promedio mensual de 6 °C. Al respecto, se presentan en el Cuadro 2.

**Cuadro 2.** Rangos de temperatura óptimos y críticos para el desarrollo del cultivo de la espinaca.

<b>Fenómeno</b>		<b>Rango/punto crítico</b>
Daño por congelamiento		-5 °C
Detiene su desarrollo		5 °C
Germinación	Mínimo	5 °C
	Óptimo	15-25 °C
	Máximo	25-30 °C
Desarrollo vegetativo	Mínimo	5-7 °C
	Óptimo	15-18 °C
	Máximo	25-30 °C
Humedad Relativa		60-70 %

Fuente: Adaptado de Serrano (1985).

### **2.3.2. Condiciones edafológicas**

La espinaca se puede cultivar en una gran variedad de suelos, prefiriéndolos franco-arenosos, fértiles y bien drenados. Para las producciones invernales son más adecuados los suelos que tengan un buen drenaje, por lo cual suelos demasiado arcillosos no son recomendables para su cultivo (Rubatzky y Yamaguchi, 1997).

La espinaca es sensible a la acidez, disminuyendo el porcentaje de germinación cuando se le cultiva en suelos muy ácidos, observándose durante el cultivo una coloración amarillo-café en el borde de las hojas (Giacconi y Escaff, 1998).

### **2.3.3. Nivel de pH requerido**

Respecto al nivel adecuado de acidez en espinaca, el pH óptimo para el cultivo se encuentra entre valores de 6.0 a 7.0, debiéndose aplicar cal en suelos más ácidos. Problemas de acidez en los suelos originan en la planta un enrojecimiento peciolar y amarillamiento en hojas (Krarup y Moreira, 1998).

### **2.3.4. Preparación del suelo**

El suelo debe labrarse profundamente en la mayoría de los casos se hace convencionalmente, esto es con el uso de arados de discos y rastra (Sánchez *et al.*, 2004).

### **2.3.5. Densidad de siembra.**

La siembra debe realizarse en terrenos ligeramente húmedos y de preferencia con sembradoras de precisión, siendo la dosis de semilla aproximadamente entre 8 a 10 kg-ha<sup>-1</sup>, con una distancia entre hileras que varía de acuerdo al cultivar, maquinaria utilizada y modalidad de cosecha. Las hileras tendrán una distancia entre hilera e hilera de 20 a 35 cm, se puede utilizar sembradoras de precisión. Estas distancias son variables, dependiendo de las exigencias de la variedad, maquinaria utilizada, modalidades de recolección (Giacconi y Escaff, 1998).

### **2.3.6. Aclareo**

Las plantas van distanciándose como consecuencia de aclaramientos sucesivos. Algunos prefieren practicar el aclareo precozmente, cuando las plantas son aun pequeñas porque tienden a formar la roseta basal (planta formada por 4-5 hojas), distanciándolas unos 5-8 cm. Más tarde, y por aclaramientos sucesivos, las plantas se distancian unos 10-12 cm. En este caso se arrancan las plantas más

gruesas, lo que persigue un doble fin: venta precoz del producto y posibilidad de permitir que engorden las plantas no extirpadas, que dispondrán de mayor espacio para su desarrollo (Díaz, 2002).

### **2.3.7. Aporcado**

El aporcado es indispensable en el cultivo primaveral, siendo muy raro que se realice en los cultivos invernales, puesto que el terreno difícilmente adquiere una estructura que exija tal tratamiento. Terminando el periodo de heladas conviene dar una labor de escava en torno a la planta para ahuecar la tierra. El aporcado puede realizarse manualmente o mecánicamente con labor bastante superficial, dado que estas plantas poseen raíces poco profundas, este laboreo se repite hasta que el tamaño de las plantas recubre casi completamente los espacios vacíos de las hileras sembradas (Maroto, 1989).

### **2.3.8. Malezas**

El efecto negativo, además de la competencia que éstas ejercen, produce en las hojas una disminución de su calidad industrial. Para evitar este problema, el control de las malezas debe iniciarse antes de que éstas adquieran gran desarrollo, el cual puede ser manual, mecánico o químico, siendo este último de preemergencia o de postemergencia, es decir antes o después que el cultivo y las malezas emerjan, respectivamente (Serrano, 1985).

### **2.3.9. Riegos**

La espinaca se beneficia muchísimo de la frescura del terreno, especialmente cuando se inicia el calor, regándola repetidamente se pueden obtener buenos rendimientos y plantas ricas en hojas carnosas. La irrigación, en especial en los cultivos que se recolectan tardíamente en primavera deben, realizarse con gran regularidad; los periodos de irrigación y sequedad alternantes favorecen la eclosión del tallo. El riego por aspersion es el más recomendado, es importante

adoptar aquellos modelos que suministren cantidades pequeñas de agua por hora (6-4 mm<sup>3</sup>·hr), para evitar la formación de costra con las pérdidas consiguientes de agua (Maroto, 1989).

### **2.3.10. Fertilización**

Diversos autores señalan que la fertilización con nitrógeno debe ser preferentemente en forma de nitrato o fertilización orgánica (estiércoles y otros). El fósforo y el potasio se aplican durante la preparación del terreno, mientras que el nitrógeno debe adicionarse parcializando un 30% a la siembra y el restante se completa en cobertera cuando la planta se encuentre en estado de roseta. La fertilización del cultivo deberá realizarse de acuerdo a la siguiente proporción: N-P-K 3-1-3. La utilización de estos fertilizantes ayudan a mejorar los cultivos, así tenemos el caso de los macronutrientes como el potasio que contribuye a dar carnosidad a las hojas y a mantenerlas turgidas durante un largo periodo. El fósforo actúa reduciendo la concentración de ácido oxálico y favorece a la rápida elevación de la roseta. El nitrógeno aumenta la concentración de la vitamina C (Rubatzky y Yamaguchi, 1997; Giaconi y Escaff, 1998).

Por parte de los microelementos como el calcio, constituyente de cada célula, como pectato de calcio, estos depósitos concentrados de calcio engrosan, fortalecen hojas y tallos. Las funciones del azufre dentro de la planta son: Estructurales, formando parte de las proteínas, estableciendo puentes disulfuro para estabilizar la estructura de las proteínas y metabólicas, ligándose a aminoácidos libres, aminoácidos unidos a proteínas y a vitaminas sulfatadas. El boro forma complejos borato-azúcar que están asociados con la translocación de azúcares y es importante en la formación de proteínas. El zinc ayuda a la síntesis de sustancias que permiten el crecimiento de la planta y la síntesis de varios sistemas enzimáticos. Es esencial para promover ciertas reacciones metabólicas y además es necesario para la producción de clorofila y carbohidratos (Inpofos, 1997).

### **2.3.11. Cosecha**

La cosecha se inicia en las variedades precoces a los 40-50 días tras la siembra y a los 60 días después de la siembra con raíz incluida. La recolección nunca se realiza después de un riego ya que las hojas se ponen turgentes y son más susceptibles a romperse. Pueden efectuarse de dos formas manual o mecanizada. La recolección manual consiste en cortar las hojas más desarrolladas de la espinaca, dando aproximadamente 5 o 6 pasadas a un cultivo. Si se pretenden comercializar plantas enteras, se corta cada planta por debajo de la roseta de hojas a 1 cm bajo la tierra. Si la espinaca se destina a industria la recolección será mecanizada empleando cosechadoras autopropulsadas, esta consta de una barra regulable y anchura variable (1-3 m), una cinta transportadora de producto y una tolva (Díaz, 2002).

## **2.4. Principales enfermedades radiculares del cultivo de espinaca**

### **2.4.1. Marchitamiento del cuello causada por *Pythium* sp.**

#### **2.4.1.1. Síntomas**

El tallo se colapsa, las plantas de toda edad se marchitan o toman un color amarillento, y a veces las hojas tienden a enrollarse hacia abajo. Las plantas tendrán un crecimiento pobre y el rendimiento se reduce; hasta se puede llegar a una pérdida de toda la cosecha. La infección comienza en la punta de la raíz y lentamente desintegra las raicillas capilares y las finas raíces laterales, que son esenciales para la absorción de nutrientes. Las raíces blancas y relucientes se tornan de color marrón claro, luego marrón oscuro y finalmente negro. Cuando la infección es severa, la parte más baja del tallo se torna fina y negra. La porción suave y delgada de la raíz que sufre putrefacción se puede separar con facilidad del resto de la raíz (Mendoza, 1996; Agrios, 1996).

#### **2.4.1.2. Etiología y Epidemiología**

Esta enfermedad es causada por *Pythium sp.* es un hongo que tiene los oogonios generalmente intercalares, subglobosos, de 14-27  $\mu\text{m}$ , a menudo en cadenas. Tiene hifas sin tabiques, también dispone de anteridios en número de 1-2 por oogonio, monoclinos o diclinos y oosporas appleróticas, de pared lisa. Su reproducción sexual es mediante la unión de los núcleos del anteridio y del oogonio para formar un cigoto. La reproducción asexual es a través de esporas móviles que se denominan zoosporas. Las zoosporas se enquistan en los sitios potenciales de infección y forma un tubo de germinación hifal que infecta los tejidos del hospedante. La enfermedad puede ocurrir durante los períodos de tiempo fresco (13 - 18°C) y húmedo, pero la enfermedad es más dañina durante los períodos de tiempo cálido (30-35°C) y húmedo, nublado o lluvioso. (Noucetta, 2003).

#### **2.4.1.3. Control químico**

Los fungicidas de las clases siguientes son eficaces para el control de *Pythium sp.* hidrocarburos aromáticos, carbamatos, ditiocarbamatos, fenilamidas, fosfonatos, etc. También se usa bromuro de metilo, captan, metam, metalaxil, carbendazim + tiram, propamocarb clorhidrato y fludioxinil. El uso repetido de algún fungicida específico para *Pythium sp.* particularmente del metalaxil o mefenoxam (fenilamidas), puede seleccionar poblaciones resistentes (Smith *et al.*, 1992).

#### **2.4.1.4. Control biológico**

Utilizar bacterias (*Enterobacter cloacae* y *Pseudomonas sp.*) y hongos (*Trichoderma hamatum* y otras *Trichoderma sp.*) para suprimir el ataque de *Pythium sp.* Actualmente hay productos biológico que contienen *Trichoderma harzianum*, como agente para el control de *Pythium sp.* (Gohel *et al.*, 2006).

## **2.4.2 Marchitez causada por *Fusarium***

### **2.4.2.1. Síntomas**

La infección ocurre en las raíces e hipocótilo, generalmente donde hay heridas. El sistema vascular de la raíz, hipocótilo, tallo y pecíolo se puede decolorar a medida que el tejido se torna café rojizo. El hongo puede ocasionar el taponamiento del sistema vascular, lo cual produce un leve amarillamiento y envejecimiento prematuro de las hojas inferiores. Posteriormente, este amarillamiento se hace más pronunciado y afecta las hojas más jóvenes, sin que la planta llegue, por lo general, a marchitarse (Agrios, 1996; Escaff, 2001).

### **2.4.2.2. Etiología y Epidemiología**

El patógeno causante de la enfermedad es el hongo *Fusarium oxysporum*. El hongo es un Deuteromycete que produce 3 tipos de esporas asexuales; las microconidias, las macroconidias y las clamidosporas. Sus clamidosporas germinan y penetran a las raíces de la planta por heridas. El patógeno se puede diseminar en la semilla, en el suelo, adherido a implementos agrícolas, en partes de plantas infectadas y en el agua de riego. La enfermedad es favorecida por temperaturas entre 25 y 32° C y humedad alta del suelo. El patógeno produce principalmente 3 toxinas, el ácido fusárico, la licomarasmina, y la vasinfuscarina, las cuales son responsables del amarillamiento del follaje, necrosis vascular y muerte de la planta (Agrios, 1996; Escaff, 2001).

### **2.4.2.3. Control químico**

Cuando se presenten plantas afectadas se pueden aplicar, juntos o separados, cualquiera de los siguientes agroquímicos: Fosetil-Al y Captan en dosis de 1.250 gramos de ingrediente activo por hectárea de cada uno de los productos (Escaff, 2001).

### **2.4.2.4. Control biológico**

Los controladores biológicos se visualizan como una buena alternativa, existen productos de biocontrol de patógenos, los que han sido formulados a base de



hongos, tales como *Gliocladium* y *Trichoderma*, o bacterias como *Pseudomonas* y *Bacillus* (Paulitz y Belanger, 2001).

### **2.4.3. Pudrición radicular causada por *Rhizoctonia***

#### **2.4.3.1. Síntomas**

Este hongo provoca consecuencia del estrangulamiento y necrosis del tallo a nivel de cuello en plantas recién emergidas. En plantas adultas los síntomas se caracterizan por presentar manchas secas bien delimitadas en raíces. Sobre las pudriciones comúnmente se caracteriza un collar de color café-rojizo a café sobre plantas jóvenes. Estas pudriciones inhiben el crecimiento normal y causan la detención del crecimiento o bien dan como resultado de la invasión de éste patógeno a plantas con bajo vigor (Mendoza, 1996).

#### **2.4.3.2. Etiología y Epidemiología**

Esta enfermedad es causada por el hongo *Rhizoctonia solani* habitualmente el inóculo consiste de hifas, esclerocios y basidiosporas, estas últimas corresponden al estado sexual. El reconocimiento de la especie depende de una combinación de varias características, las que corresponden a que este, posee células multinucleadas, ramificaciones cerca del septum distal de una célula, constricción de la rama y formación de un septum cerca del punto de origen de la rama. Los mecanismos patogénicos son la habilidad de producir enzimas que degradan la pared celular, maceran los tejidos, y metabolitos fitotóxicos. El patógeno se transporta en suelos infestados, a través del movimiento de plántulas infestadas, semillas enfermas y las basidiosporas son transportadas por el viento. Las temperaturas para el hongo son un óptimo de 25 a 30° C, un mínimo de 7.7° C y un máximo de 31 a 35 ° C. Indican que los esclerocios germinan de 7.7 a 30 ° C con el óptimo a 23 ° C, y el óptimo para la germinación de basidiosporas fluctúa entre 21 a 25° C (Banville *et al.*, 1996).

#### **2.4.3.3. Control químico**

Tratamiento al suelo esterilización de presiembra o pretransplante con: Bromuro de metilo (60-100 g·m<sup>2</sup>) Dazomet (30-60 g·m<sup>2</sup>) Metam sódio (30-40 g·m<sup>2</sup>). Localizado al suelo la aplicación de Mancozeb, Thiram, etc (Banville *et al.*, 1996).

#### **2.4.3.4. Control biológico**

El control biológico se menciona como alternativa considerando a *Bacillus subtilis*, *Trichoderma harzianum*, utilizando aislamientos no patogénicos de *R. solani*, especialmente *Rhizoctonia* binucleada, ya que son depredadores en la microfauna del suelo (Banville *et al.*, 1996).

### **2.5. Mecanismos de defensa de las plantas a patógenos**

En la naturaleza, las plantas están constantemente desafiando a los patógenos mediante un amplio repertorio de respuestas que les permite de manera temprana reconocer, detener y contrarrestar la infección. La mayoría de las plantas toman sus nutrientes a partir del suelo; utilizan los recursos de su ambiente para crecer, reproducirse y reaccionar ante condiciones desfavorables. Su defensa ante microorganismos patógenos, tales como virus, bacterias, nematodos y hongos, está dada por un gran número de reacciones bioquímicas. Esta protección puede ser propia de la planta o se puede inducir a la planta para que se incremente su autoprotección (Colleen *et al.*, 2009).

#### **2.5.1. Defensas preformadas**

Este tipo de defensa se divide en dos, defensas morfológicas preformadas y defensas químicas preformadas también llamadas constitutivas que son estructuras o sustancias químicas presentes en la planta antes de la infección del patógeno, las cuales se describen a continuación:

Las defensas morfológicas preformadas son las ceras de la cutícula; el espesor y firmeza de las células de la epidermis; el tamaño, localización y forma de estomas y lenticelas que actúan como barreras que dificultan la penetración de algunos patógenos. La abundancia de tricomas en la superficie de la planta puede ejercer un efecto repelente al agua y por lo tanto reducir la posibilidad de colonización de la superficie por parte del patógeno. Algunas características morfológicas de las plantas como color, forma, tipo de cutícula, ceras y vellosoidad de tallos y hojas pueden interferir o modificar el comportamiento del patógeno (Madriz, 2002).

Las defensas químicas preformadas, presentes en la planta antes de que se lleve a cabo el reconocimiento, son de origen diverso con alta actividad biológica. Las plantas secretan una amplia variedad de sustancias con propiedades tóxicas o inhibitoras como fenoles, lignina, taninos, saponinas, antocianinas, flavonoides, glucocinatos, lectinas, glucanasas y quitinasas, entre otros (Kliebeinstein, 2004). En plantas resistentes a insectos se han identificado metabolitos como alcaloides, flavonoides y terpenos que pueden contrarrestar el crecimiento, desarrollo y fertilidad de insectos (Cuartero *et al.*, 2002).

### **2.5.2. Defensas inducidas**

La inducción de resistencia, es la activación de mecanismos de defensa que se expresa cuando la planta es desafiada por algún patógeno. La resistencia inducida por agentes bióticos es un mecanismo activo de defensa que involucra cambios en el metabolismo de la planta (Madriz, 2002).

En la literatura se indica que existen dos formas de resistencia inducida: la Resistencia Sistémica Adquirida (SAR) y la Resistencia Sistémica Inducida (ISR), las cuales se distinguen considerando la naturaleza del elicitador y las rutas de activación que las envuelven (Vallad y Goodman, 2004).

### **2.5.2.1. Resistencia Sistémica Inducida**

La Resistencia Sistémica Inducida (RSI), es potencializada por bacterias rizógenas promotoras del crecimiento (PGPR), no involucra la síntesis de proteínas PR y la ruta de señalización la realiza a través de jasmonatos y etileno (Vallad y Goodman, 2004).

La resistencia sistémica inducida en plantas se parece al RSA en la activación de protección a partes distantes de la planta. Varias investigaciones de RSI se han realizado en plantas de *Arabidopsis* con la bacteria inductora de resistencia *Pseudomonas fluorescens* WCS417r. En *Arabidopsis*, la resistencia puede ser inducida en contra de *P. syringae* pv *tomato* DC3000, *Xanthomonas campestris* pv. *amoracia*, el hongo *Fusarium oxysporum* y *Alternaria brassisicola*. En el campo, cepas bacterianas como *Bacillus pumilus* INR-7 resultó muy efectiva para la protección de plantas de chile hacia la enfermedad de mancha angular de la hoja y antracnosis activando la RSI. La RSI puede ser distinguida de RSA en que la RSI es independiente de AS pero requiere de la señalización de AJ/ET. Se ha encontrado que RSI parece ser un reforzamiento de la resistencia basal dependiente del JA/ET (Custers, 2007).

### **2.5.2.2. Resistencia sistémica adquirida**

La resistencia sistémica adquirida (RSA) es inducida por un amplio de elicitores bióticos o abióticos, induce proteínas PR, utiliza rutas de señalización que pueden involucrar al SA y su señal viaja sistémicamente a sitios distales de donde ocurrió la infección (Van Loon *et al.* 1998).

En 1960, Ross demostró que las plantas de tabaco inoculadas con el virus causante del mosaico del tabaco (TMV) desarrollaban resistencia a una infección secundaria en tejidos distantes del punto de infección. A la diseminación de la resistencia a través de los tejidos de la planta se le llamó “Resistencia Sistémica Adquirida” (RSA), misma que brinda protección a la planta contra la variante o especie de virus, además de hongos, bacterias y oomicetos es decir contra un

amplio espectro de microorganismos fitopatógenos. Dicha resistencia puede ser activada en muchas especies de plantas por algunos patógenos así como activadores sintéticos donde se presume que se genera una señal móvil a larga distancia. La resistencia conferida puede ser de larga duración y algunas veces por toda la vida de la planta, dependiendo de las condiciones nutrimentales y ambientales. Además de desarrollarse de manera local como en sitios alejados al punto inicial de infección (Durrant y Dong, 2004).

La RSA es caracterizada por una acumulación de ácido salicílico (AS) y por la expresión de proteínas relacionadas con la patogénesis (PRs). Para entender RSA es necesario reconocer varios procesos durante su desarrollo (Van Loon *et al.* 1998).

- a) Percepción de elicitores en el sitio de la infección.
- b) Respuesta de hipersensibilidad y reconocimiento a la invasión.
- c) Generación de señales metabólicas transmisibles.
- d) Movimiento de la señal a través del sistema vascular.
- e) Percepción y amplificación de la señal a distancia con un mayor estado de resistencia.
- f) Reprogramación transcripcional que promueve la síntesis *de novo* de SA.
- g) Expresión de genes de SAR.

### **2.5.3. Genes de resistencia y la respuesta de hipersensibilidad (RH)**

La reacción o respuesta de hipersensibilidad, es el sistema de defensa más poderoso que tienen las plantas. Es una respuesta compleja de defensa altamente concentrada (temporal y espacialmente) que genera muerte de células, alta acumulación local de compuestos fenólicos y reforzamiento de la pared celular en células que están alrededor de las células muertas. Además de la inducción de defensa general lo cual previene una futura infección en partes distales de la planta. Aunque la respuesta de defensa ha sido exitosa y puede parar la infección por virus, nematodos, bacterias y hongos, es limitada, pues normalmente se

desencadena por el alto reconocimiento específico, a través de gen de resistencia de una molécula inductora (asociado al patógeno) (Custers, 2007).

#### **2.5.4. Proteínas relacionadas con patogénesis (PR)**

Las proteínas relacionadas con patogénesis (PR), se les ha definido como proteínas que son inducidas en respuesta a la infección por oomicetos, hongos, bacterias, virus o ataque de insecto en una gran cantidad de cultivos. Debido a que las PR's se acumulan en el punto de infección como en los tejidos distales al sitio primario, se denominan proteínas SAR. Aunque las PR's son expresadas en plantas enfermas, su síntesis puede ser inducida por reguladores de crecimiento como etileno, ácido abscísico, ácido indol acético; varios productos biológicos como toxinas y enzimas; factores ambientales tales como: temperatura, luz y ozono, así como daño mecánico como heridas (Vidhyasekaran, 2008).

Se han clasificado en 17 familias de PR's y su localización se ha determinado en espacios intra y extracelulares. Las PR's poseen actividad antimicrobiana y están involucradas en la señalización de defensa. Algunas PR's son reconocidas con actividad de glucanasas, quitinasas, peroxidasas, ribonucleasas, oxalato-oxidasas, inhibidoras de proteínas, así como en la transferencia de lípidos (Van Loon *et al.*, 2006).

#### **2.5.5. Mecanismos basales de defensa en plantas**

Muchas plantas son hospederas de varios patógenos presentes en la naturaleza. La resistencia de estas es el resultado de muchos factores incluyendo preformados y defensas pasivas, tales como barreras físicas a la infección y expresión de compuestos antimicrobiales. Las defensas de las plantas no hospederas también incluyen la inducción de defensa, las cuales son iniciadas por el reconocimiento de señalizaciones de bacterias y hongos desafiantes, la percepción de flagelina (FLS2) o por débil reconocimiento de la proteína avirulentas. Este reconocimiento activa mecanismos de señalización, lo cual conduce a la expresión de inducción de compuestos antimicrobiales,

reforzamiento local de la pared celular y muerte celular programada en algunas plantas. Estas defensas juntas, representan la defensa basal que limita la enfermedad. En general, las defensas basales son activadas más lentamente que la defensa basada en la RH (Abramovitch y Martin, 2004).

#### **2.5.6. Mecanismo de resistencia dependiente del ácido salicílico**

El ácido salicílico (SA) es un metabolito producido en SAR, éste no es una señal que se mueve a larga distancia. El SA es un compuesto que interviene en distintos procesos biológicos además de ser sintetizado por la planta cuando es atacada por patógenos biótropos. El SA puede ser generado por dos vías enzimáticas distintas dependientes del corismato. En la primera ruta, el corismato es transformado a fenilalanina que a su vez es convertido a ácido cinámico mediante la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL). Seguido a esta reacción, se forma el ácido benzoico para terminar en SA. En la segunda ruta, el corismato es convertido a isocorismato mediante la participación enzimática de isocorismato sintasa (ICS) y este último a SA mediante la enzima isocorismato piruvato liasa (IPL). La mayoría del SA inducido por patógenos es sintetizado por la ruta del isocorismato que se localiza en el cloroplasto (Vlot *et al.*, 2009).

El SA y sus derivados biológicos activos como el 0- $\beta$ - Glucósido de SA (SAG), el metil salicilato (MeSA) y el 2.5 dihidróxido benzoico (ácido gentísico) son sintetizados por la infección de patógenos o son capaces de inducir la expresión de proteínas PR así como también actuar como señal móvil a larga distancia en SAR. El SA es esencial en la ruta de transducción de señales que conducen a la activación de genes que codifican PR's. Por el contrario, la inhibición de su síntesis o acumulación mediante mutantes, resulta en el bloqueo de la respuesta de defensa. De esta manera se constató que la acumulación de SA sirve como una señal natural que media diferente respuesta de defensa en las plantas. Uno de los principales componentes que regulan la vía de señalización de SA es el gen *NPR1* que codifica la proteína NPR1 cuya función modula SAR (Mou *et al.*, 2003).

### **2.5.7. Mecanismo de resistencia dependiente del ácido jasmónico**

El ácido jasmónico (JA) es un importante regulador en defensa a patógenos necrótrofos e insectos herbívoros ampliamente estudiado (Makandar *et al.*, 2010). La señalización dependiente de JA se debe al incremento de su síntesis en respuesta al ataque de patógenos y consecuentemente a la alta expresión de genes de defensa como *PDF1.2*. El gen *PDF1.2* de *Arabidopsis* es comúnmente usado como marcador para caracterizar la respuesta de defensa dependiente de JA. En algunos casos el incremento de JA puede ser acompañada por el incremento de etileno (ET) (Glazebrook *et al.*, 2005; Bari y Jones, 2009).

El JA es un metabolito lipídico derivado del ácido linoleico, altamente distribuido en el reino vegetal que interviene en una gran cantidad de procesos como el crecimiento de la raíz, maduración de frutos, desarrollo del polen, enrollamiento de zarcillos, respuesta a estrés abiótico y heridas, así como defensa a insectos y patógenos (Turner *et al.*, 2002).

### **2.5.8. Mecanismo de resistencia dependiente del etileno**

El etileno es una hormona gaseosa sintetizada como consecuencia del ataque de patógenos en interacciones compatibles e incompatibles. El etileno en las plantas activa genes como *EIN2* que codifica una proteína integral de membrana que interacciona con la proteína CTR1 cuya función es de regulación negativa. La desrepresión de *EIN2* por parte de CTR1 induce la activación a su vez de factores de transcripción presentes en el núcleo que inducen la expresión de genes dependientes de ET como *PDF1.2* (Zhu y Guo, 2008).

Mediante el uso de mutantes se sabe que *CEV1* actúa como un regulador negativo de JA y ET en la señalización en *Arabidopsis*, mientras que el factor de transcripción ERF1 funciona como un regulador positivo en la señalización de JA y ET en esta misma especie. El factor de transcripción MYC2 también regula las interacciones entre JA y ET en las respuestas de defensa a heridas y no a



patógenos mostrando una respuesta diferencial según el tipo de daño (Bari y Jones, 2009).

## **2.6. Biofungicidas**

Su principio activo está constituido por derivados de plantas, animales o microorganismos (principalmente bacterias y hongos), (Wheeler, 2002). Su mecanismo de acción hace énfasis al conjunto de reacciones metabólicas, bioquímicas, mecánicas y/o físicas que de manera natural se desarrollan articulada o individualmente y desencadenan la inhibición de la expresión de un microorganismo patógeno por parte de otro en un ambiente determinado con el fin de lograr la eliminación parcial o total de este sin emplear agentes químicos que causen efectos adversos (Tamez *et al.*, 2001).

### **2.6.1. Quitosano**

Polímero constituido fundamentalmente por unidades de glucosamina (2-amino-2-desoxi-D-glucosa) con uniones  $\beta$  (1-4). El quitosano se comporta como un polielectrolito lineal a pH ácido, posee una alta densidad de cargas, tiene la capacidad de quelar iones metálicos (Fe, metales pesados, *etc.*) y de adherirse fácilmente a superficies cargadas negativamente. Este compuesto natural es biodegradable y no tóxico, sus cargas positivas le confieren propiedades biológicas y fisiológicas únicas (Sandford, 1989).

La actividad fungicida del quitosano se ha asociado desde hace mucho a su carácter catiónico. La interacción de los grupos amino libres, cargados positivamente en medio ácido, con los residuos negativos de las macromoléculas expuestas en la pared de los hongos, cambian la permeabilidad de la membrana plasmática, con la consecuente alteración de sus principales funciones (Benhamou, 1992). Otras posibles explicaciones de la actividad fungicida del quitosano se relacionan con la inhibición de la síntesis de algunas enzimas presentes en los hongos o alteraciones citológicas, como se ha reportado en el

caso de *B. cinerea*, donde se ha observado al microscopio la aparición de vesículas y/o células vacías carentes de citoplasma, después del tratamiento con soluciones acuosas al 1,75% de quitosano (Barka et al., 2004).

Desde hace tiempo se ha comprobado que el quitosano induce reacciones de defensa en algunas plantas sensibilizándolas para responder más rápidamente al ataque de patógenos mediante la estimulación de mecanismos de defensa ya conocidos como por ejemplo la producción de quitinasas y glucanasas (Pearce y Ride, 1982).

La aplicación de quitosano ha mostrado efectos positivos en el crecimiento de las plantas, tanto en la estimulación de la germinación de semillas como en el crecimiento de partes de la planta como raíces, retoños y hojas (Bhaskara et al., 1999).

### **2.6.2. *Trichoderma harzianum***

Es un hongo que posee estructuras del tipo de conidias halianas uniceluladas, ovoide en conidióforo haliano largo no verticiliado, nace en centros pequeños. Tiene la capacidad de reproducir clamidosporas en sustratos naturales, estructuras de vital importancia para la supervivencia del género en el suelo bajo condiciones adversas. Este hongo se encuentra de manera natural en muchos suelos agrícolas, participa en la biotransformación de celulosa, en la transformación de hemicelulosa, en la mineralización de nitrógeno, en la degradación, descomposición de la lignina y humus (Villegas, 2008). Estimula el crecimiento de los cultivos porque posee metabolitos que promueven los procesos de desarrollo en las plantas. Promueve el crecimiento de raíces y pelos absorbentes. Está comprobada la capacidad de solubilización de algunos nutrientes minerales como zinc y fosforo insolubles del suelo, facilitando su asimilación por los cultivos (Eposito y Da Silva, 1998).

Durán et al. (2003), indica que se han estudiado cuatro modos de efecto biocontrolador de esta especie de hongo contra fitopatógenos los cuales son: la

competencia por nutrientes, la antibiosis, el micoparasitismo y la estimulación de defensas de la planta.

- a) La competencia por nutrientes: El *Trichoderma harzianum* al poseer un comportamiento saprofito, compete y coloniza de una forma acelerada los desechos vegetales, generando elementos nutritivos que son utilizados por el mismo, lo cual evita la instalación de otro hongo.
- b) La antibiosis: Los antibióticos volátiles tienen un efecto esencialmente fungistático debilitando al agente patógeno y haciéndolo más sensible a los antibióticos solubles. El *Trichoderma harzianum* produce numerosos antibióticos como son: la trichodermina, la suzukacilina, la alameticina, la dermadina, la penicilina, los trichotecenos, las trichorzianinas, entre otros.
- c) El micoparasitismo: El *Trichoderma harzianum* manifiesta propiedades parasitarias contra diversos hongos, produciendo alteraciones en las hifas del parásito. Inicialmente realiza un reconocimiento y adherencia sobre la pared del patógeno, luego promueve la hidrólisis de las hifas y esclerocios del patógeno por medio de las enzimas producidas (xilanasas, quitinasas, pectinasas, glucanasas y glucosidasas, entre otras).
- d) La estimulación de defensas de la planta: Este hongo induce a la planta, por medio de sustancias secretadas por el microorganismo a producir altos niveles de fitoalexinas, de tal forma que el nivel tóxico alcanzado evita que otros hongos patógenos se puedan establecer. Las fitoalexinas son producidas en forma natural por la planta como respuesta a heridas.

### **2.6.3. *Bacillus subtilis***

El género pertenece a la división firmicutes, son bacilos aerobios y anaerobios facultativos, gram positivos, producen endosporas con morfología oval o cilíndrica que le permite resistir condiciones desfavorables en el ambiente, son móviles por la presencia de flagelos laterales, son catalasa positiva, presentando hemólisis variable y un crecimiento activo en un rango de pH entre 5.5 - 8.5 (Ibosa 2009).

Esta bacteria benéfica es enemiga natural de muchas enfermedades y nematodos entre ellas las que pertenecen a los géneros *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Rhizopus*, *Mucor*, *Oidium*, *Botrytis*, *Colletotrichum*, *Erwinia*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* y muchos géneros más. La actividad fungicida según Angeloni (2004) es:

- a) Producción de sideróforos: que son compuestos extracelulares de bajo peso molecular con una elevada afinidad por el ión hierro con lo que previene la germinación de las esporas de los hongos patógenos.
- b) La competencia frente a otros microorganismos patógenos, se da mediante la secreción de diversas sustancias que se producen cuando la bacteria recibe los nutrientes presentes en la superficie de las raíces de las plantas que induce la elaboración de metabolitos secundarios con capacidad de suprimir el crecimiento de hongos, oomicetos y bacterias fitopatógenos.
- c) La actividad biocontroladora la ejerce mediante la producción de lipopéptidos cíclicos antibióticos (CLPS) entre los cuales se destacan el surfactin y el Iturin A; sustancias que han demostrado amplio espectro de acción sobre patógenos de plantas.
- d) Promotor de crecimiento: La bacteria al establecerse en el sistema radical lo protege y estimula la absorción de nutrientes.
- e) Inducción a resistencia: Al instalarse en las raíces y hojas induce a la planta a producir fitoalexinas, que le dan resistencia a las plantas al ataque de hongos, bacterias y nematodos patógenos.

Además *Bacillus subtilis* tiene la capacidad de solubilizar el fosfato, así como en la promoción del crecimiento de las plantas e induciendo mayor rendimiento de cultivos (Clements *et al.*, 2002).

#### **2.6.4. Extracto de quillay**

La estructura básica de las saponinas de quillay, es el triterpeno ácido quilláico sustituido en la posición C-3 con un trisacárido y en la posición C-28 con un

oligosacárido, el cual a su vez, se encuentra unido a uno o dos grupos acil (Copaja *et al.*, 2003; Nord y Kenne., 2000).

Además de saponinas, en extractos de quillay se han identificado algunos compuestos fenólicos, taninos, azúcares, proteínas y oxalato de calcio (San Martín y Briones, 2000).

El principal mecanismo de acción que explicaría la acción fungicida de las saponinas se basa en la habilidad de estos compuestos de formar complejos con los esteroides de la membrana plasmática y provocar la formación de poros transmembrana. De acuerdo a esto, se ha reportado que algunos glicoalcaloides esteroidales interfieren con la integridad de la membrana plasmática de hongos mediante la extracción de esteroides (Keukens *et al.*, 1992).

El Extracto de quillay también es un surfactante que favorece la absorción de nutrientes por parte de la planta y el desarrollo de microfauna benigna, en especial las micorrizas, que son gran aporte de nutrientes. Además la saponina es un estimulante natural para el crecimiento de la planta y concentraciones de esta saponina, son capaces de inhibir el crecimiento de los hongos *Fusarium culmorum*, *Fusarium solani*, *Cladosporium herbarum*, *Alternaria alternata* y *Botrytis cinérea* (Pavlik *et al.*, 2000).

#### **2.6.5. Extracto de *Yucca schidigera***

La planta de *Yucca schidigera* contiene dos compuestos químicos, saponinas y glicocomponentes, los cuales tiene aplicaciones agrícolas que son relativamente fáciles de extraer (Aguirre, 2008).

El extracto de *Yucca schidigera* posee un alto contenido de saponinas esteroidales (tensioactivos naturales), y al ser adicionado al suelo son capaces de inhibir el crecimiento de hongos patógenos, tiene la capacidad de actuar sobre las células de las raíces, incrementando la absorción de agua y nutrientes. Asimismo también interactúa con la microflora circundante, creando una rizósfera más favorable para

la planta. Mejora la penetración del agua y fertilizantes especialmente en suelos compactos o alcalinos, además de estimular el desarrollo de los microorganismos de la rizósfera, aumentando así la descomposición de la materia orgánica, modificando la estructura del suelo y dando a la planta mayor disponibilidad de humedad y nutrientes y, en consecuencia, un mejor desarrollo de la misma (Kaneda *et al.*, 1987).

#### **2.6.6. Té de composta**

El té de composta es un extracto acuoso de alta actividad biológica que se consigue por una fermentación aeróbica del compost o humus, el no oxigenar, no permitirá el desarrollo de microorganismos benéficos, e incluso una condición anaeróbica, puede producir ciertas sustancias nocivas para los microorganismos del suelo o las plantas. Además, para estimular y favorecer el crecimiento de los microorganismos en el té, se agregan fuentes de nutrientes, como melaza, harina de pescado, extractos de algas marinas, polvo de roca, ácidos húmicos, entre otros. Estos microorganismos realizan una serie de funciones beneficiosas para el desarrollo de las plantas, consumen los alimentos que las plantas exudan, no dejando sustrato para el desarrollo de patógenos, ocupan los sitios de infección, incluso si hay presencia de microorganismos fitopatógenos estos no logran penetrar los tejidos, consumen microorganismos fitopatógenos suprimiéndolos a niveles que no causan enfermedades, producen componentes metabolitos que inhiben la actividad y crecimiento de los microorganismos fitopatógenos. Los nutrientes solubles en el té son alimento para los microorganismos, permitiendo que crezcan más rápido, sean más saludables y puedan suprimir enfermedades más rápidamente. Los nutrientes solubles del té alimentan a las plantas, disminuye la lixiviación de nutrientes, permite la desinfección del suelo y el agua, haciendo más fácil el crecimiento de las plantas (Ingham 2003).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Descripción del sitio experimental

El presente trabajo se realizó en Aguascalientes, Aguascalientes durante el ciclo otoño-invierno del año 2012 en el campo agrícola del rancho medio kilo S. de P.R de R.L en la tabla 222, destinada a investigación y desarrollo ubicado bajo las siguientes coordenadas geográficas 21° 59' 48.28" norte 102° 15' 49.85" oeste con una altitud de 1893 msnm, el cual se estableció a campo abierto con un sistema de riego por cintilla (Google Earth, 2013).

#### 3.2. Descripción del material vegetal empleado

Para la realización de este trabajo se utilizó la variedad spiros v-886 de Madurez relativa precoz, forma ovalada, color verde oscuro, cosecha otoño-invierno, DM 1, 2, 3,4 y 5. Muy vigorosa (*Spinacea oleracea*) del lote 701726 de la casa comercial BEJO LTD, con un porcentaje de germinación del 90%. Esta variedad es una planta vigorosa que alcanza hasta los 40 cm de altura y aproximadamente 150 - 250 hojas a lo largo de todo el ciclo ([www.bejo.com .mx](http://www.bejo.com.mx)).

#### 3.3. Procedimiento Experimental

##### 3.3.1. Preparación de suelo

Se preparó la superficie experimental con área total de 1200 m<sup>2</sup>, se realizaron dos pasos rastra (con el fin de incorporar los residuos de la cosecha anterior de coliflor) seguido de la eliminación de terrones de forma manual.

##### 3.3.2. Trazado de camas

Se trazaron a una separación de 50 cm entre camas, con 50 cm de ancho. Se prosiguió a incorporar pollinaza pelletizada a una cantidad de 30 gr·m<sup>2</sup> sumando un total de 36 kg en toda la superficie experimental, esto se realizó abriendo el

surco y colocándola de forma manual, después se cerró el surco. Finalmente se realizó una nivelación de las camas.

### **3.3.3. Siembra**

La siembra fue directa y se realizó el día 14 de agosto, a una densidad de un millón de semillas por hectárea (100·m<sup>2</sup>) por medio de una sembradora de precisión marca John Deere con capacidad de 1kg/contenedor, permitiendo sembrar 4 surcos simultáneamente.

### **3.3.4. Instalación de cintillas**

La instalación del sistema de riego se realizó el día 15 de agosto, colocando una cintilla en la parte superior de cada cama, con goteros a 20 cm de distancia uno de otro y con un gasto de agua de 1 Litro por hora a una presión de 9 PSI.

### **3.3.5. Fertilización del cultivo**

La fertilización se realizó a través del sistema de riego cada 6 días. Dependiendo en la etapa que se encontrara el cultivo se utilizaron las cantidades y el elemento necesario de cada fertilizante (Cuadro 3A).

### **3.3.6. Deshierbe**

Esta práctica se realizó de forma manual cada 15 días.

### **3.3.7. Control de plagas**

A los 50 DDS se mostró presencia de pulgón y diabrotica. Para esto se aplica pestil out de forma foliar utilizando una mochila de ultra bajo volumen con las dosis recomendadas (cuadro 4).



**Cuadro 4.** Aplicación de insecticida orgánico

<b>Producto</b>	<b>Dosis·ha</b>	<b>Ingredientes activos</b>	<b>Insecto</b>	<b>Fecha de aplicación</b>
PESTIL OUT	2 l/ha	Aceite de neem, Extractos frescos de Allium spp, Ácidos grasos del tipo Omega 3, Terpenos cítricos (D-limoneno): Extracto de Yucca schidigera.	Áfidos, Mosca blanca, Ácaros, picudo, Larva, Diabrotica, Trips y Minadores.	2 de octubre del 2012

### **3.3.8. Rasurado**

Se realizó inmediatamente de cada corte, esta labor consta en la eliminación lateral de hojas y pecioloos restantes por medio de un azadón. Esta actividad se realizó para tener una mejor uniformidad en los cortes posteriores.

### **3.3.9. Cosecha**

El día 18 de octubre se realizó la primera cosecha, el 2 de noviembre se realizó la segunda y el 21 de noviembre se realizó la tercera cosecha. Todos los cortes fueron de forma manual (2-3 personas·corte). Los materiales que se utilizaron para cosechas fueron: cajas de plástico de 20 kg, remolque para transportar, hoz para cortar la espinaca, bascula para medir rendimiento, esta actividad consto de 6 horas·corte.

### **3.4. Tratamientos estudiados**

Se utilizaron 10 tratamientos incluyendo al testigo, cada uno de ellos con tres repeticiones (bloques) los tratamientos se muestran en el cuadro 5.

**Cuadro 5.** Descripción de tratamientos evaluados

<b>Tratamiento</b>	<b>Nombre del producto</b>	<b>Ingrediente activo</b>	<b>Dosis-ha</b>
T-1	Testigo		
T-2	Bactiva	<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	1.5 Kg
T-3	Biorend	Acetato de quitosano	5 L
T-4	QL Agri	Extracto de quillay	25 L
T-5	Serenade	<i>Bacillus subtilis</i>	5 L
T-6	Biorend +	Acetato de quitosano	5 L
	Bactiva	<i>Trichoderma harzianum</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	1.5 Kg
T-7	Te de composta	Algas marinas, <i>Beauveria bassiana</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> .	80 L
T-8	Biorend +	Acetato de quitosano	5 L
	Serenade	<i>Bacillus subtilis</i>	5 L
T-9	PHC T-22 +	<i>Trichoderma harzianum</i>	0.5 Kg
	PHC Yuccah	Extracto de <i>Yucca schidigera</i>	2 L
T-10	Natucontrol	<i>Trichoderma harzianum</i>	0.5 KG

### 3.5. Frecuencia de aplicaciones de los tratamientos

La frecuencia de las aplicaciones fue variable, dependiendo de las recomendaciones de los proveedores con respecto al producto a manejar. Dichas aplicaciones se hicieron al drench, con sus respectivas dosis en intervalos de 8 días hasta 27 días en algunos casos (Cuadro 6A).

### **3.6. Variables Evaluadas**

#### **3.6.1. Número de plantas sanas por m<sup>2</sup>.**

Esta variable es una de las más importantes en la investigación, se utilizó un contador manual marca felco, ya que nuestro principal objetivo es ver la supervivencia de las plantas desde la siembra hasta la última cosecha para medir la efectividad de los productos.

Los conteos se realizaron 15 DDS, 30 DDS, después del primer corte, después del segundo corte y finalmente se realizó un quinto conteo después del tercer corte.

#### **3.6.2. Rendimiento-corte-ha**

Esta variable se midió en cada corte, a lo largo del ciclo del cultivo se realizaron tres cortes y estos datos se sumaron para obtener los rendimientos totales por hectárea. Para pesar se utilizó una báscula colgante marca Tor Rey con capacidad de 30 kg, con abrazaderas para cajas plásticas de 20 kg (mismo que se utilizó para cosecha).

### **3.7. Diseño estadístico**

El diseño estadístico utilizado para realizar los análisis y resultados del experimento fue bloques al azar con la prueba comparación de medias de Tukey al 0.05.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

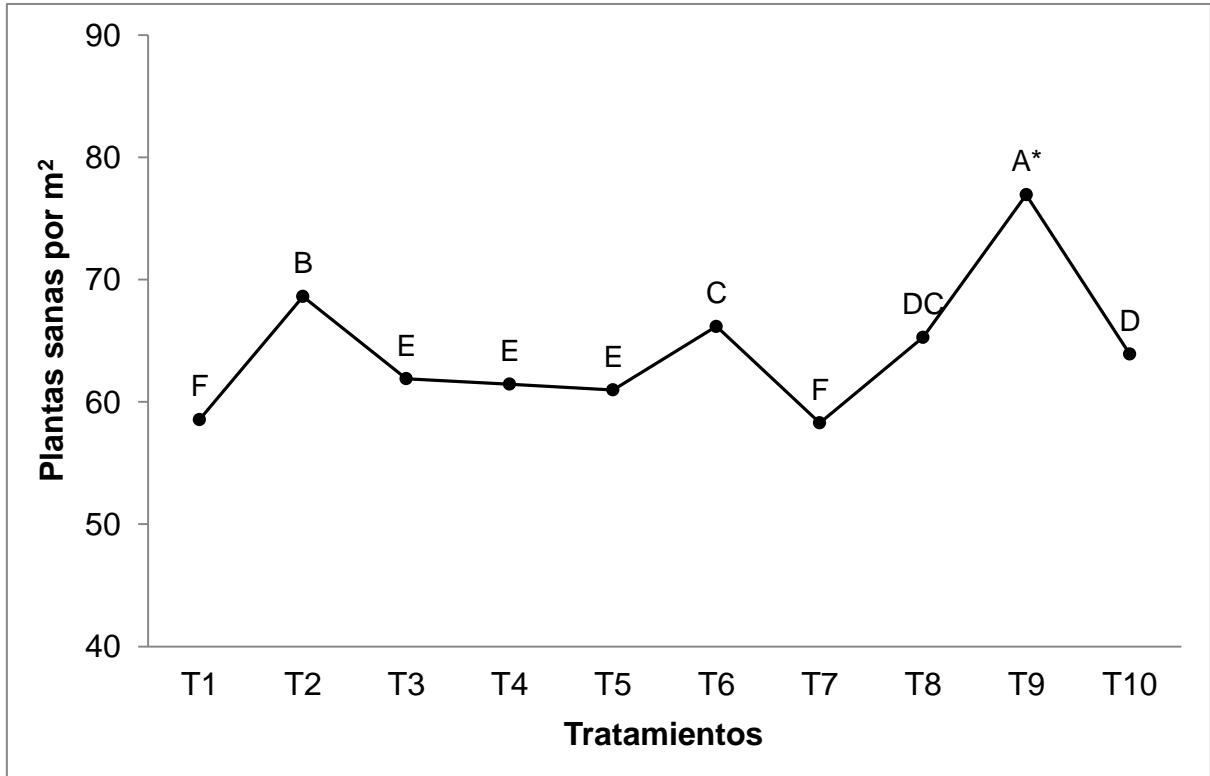
Para cumplir los objetivos planteados en este trabajo de investigación y la comprobación de la hipótesis, este apartado incluye todos los resultados y así mismo la discusión del análisis de varianza (ANVA) de las diferentes variables evaluadas.

### 4.1. Plantas sanas por m<sup>2</sup>

El análisis estadístico de esta variable evaluada mostro diferencia altamente significativa para tratamientos ( $Pr>F=0.0001$ ), ya que para bloques no existe diferencia significativa ( $Pr>F=0.5925$ ). Por lo que para tratamientos se realizó una prueba de Tukey al 0.05 en la cual el T9 fue el mejor tratamiento (figura1), donde se obtuvo un promedio de 76.9 pts·m<sup>2</sup> correspondiente a la aplicación de los productos PHC T-22 + PHC Yuccah, podemos afirmar que la combinación de estos dos productos, tuvo una mejor respuesta en el control de enfermedades radiculares ya que las propiedades de la *Yucca schidigera* además de contener saponinas esteroidales, que estas son capaces de inhibir el crecimiento de hongos patógenos (Armah *et al.*, 1999) funciona como descompactador y al mantener el suelo siempre con disponibilidad de humedad (Aguirre, 2008) tuvieron un efecto positivo, dando a *Trichoderma harzianum* una mayor oxigenación y las condiciones necesarias para su reproducción, de esta manera tener una rápida acción y desplazamiento para contrarrestar a los hongos fitopatogenos mediante antibiosis, micoparasitismo y estimulando las defensas de las plantas mediante la producción de fitoalexinas (Durán *et al.* 2003).

El T7 fue uno de los tratamientos que tuvo una menor cantidad de plantas sanas con un promedio de 58.3 pts·m<sup>2</sup>, este tratamiento corresponde a la aplicación del té de composta, estadísticamente es igual al T1 que corresponde al testigo con un promedio 58.5 pts·m<sup>2</sup>, esto se debe principalmente porque al traslado del té de composta se taparon los contenedores y así se mantuvieron hasta su aplicación, ya que el té de compost se obtiene por una fermentación aeróbica el no

oxigenar, no permitirá el desarrollo de microorganismos benéficos e incluso una condición anaeróbica, puede producir ciertas sustancias nocivas para los microorganismos del suelo o las planta (Ingham, 2003).



**Figura 1.-** Número de plantas sanas por m<sup>2</sup> de superficie.

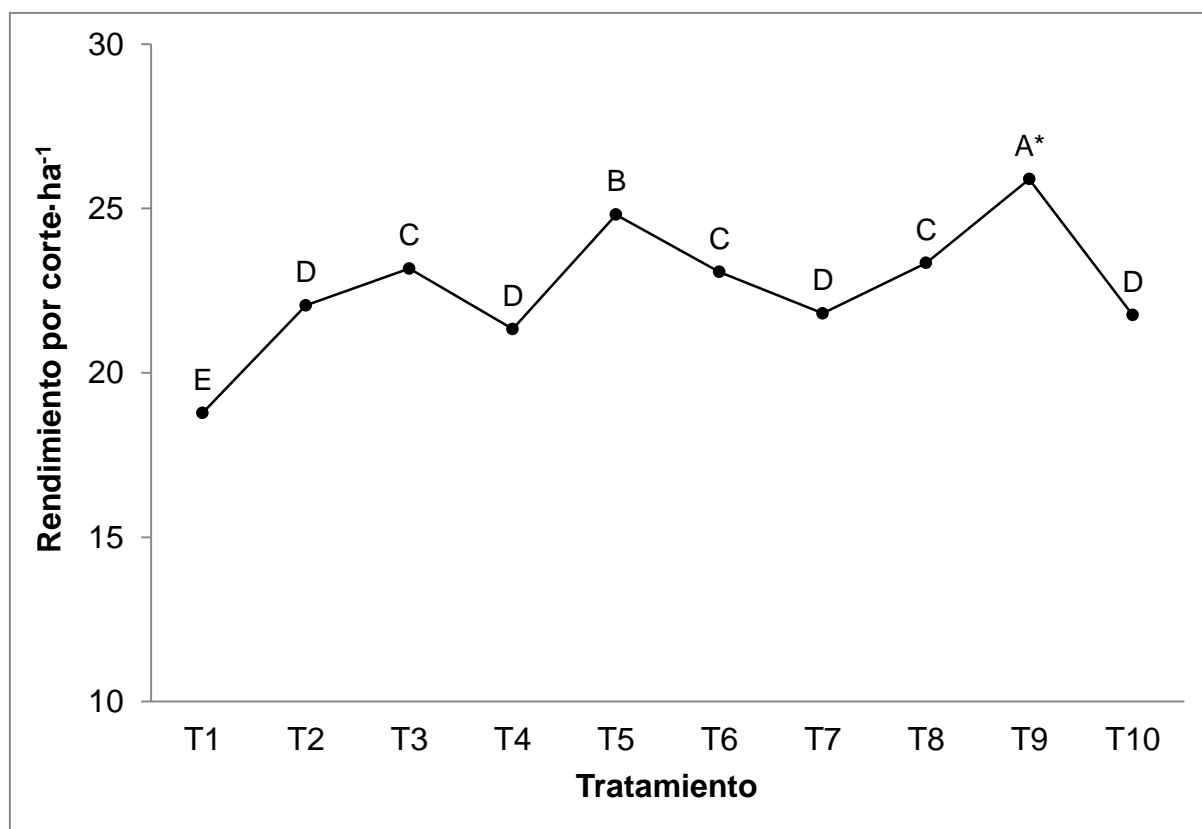
\*Medias con letra distinta, son estadísticamente diferentes, de acuerdo a la prueba de Tukey (P<0.05).

#### 4.2. Rendimiento-corte-ha<sup>-1</sup>

El análisis estadístico de esta variable evaluada mostro diferencia altamente significativa para tratamientos (Pr>F=0.0001), ya que para bloques no existe diferencia significativa (Pr>F=0.3846). Por lo que para tratamientos se realizó una prueba de Tukey al 0.05 en la cual el T9 que es el mejor tratamiento (figura 2) con un rendimiento promedio de 25.89 t-corte-ha<sup>-1</sup> corresponde a la combinación de los productos PHC T-22 + PHC Yuca, esto demuestra el sinergismo de los ingredientes activos ya que *Trichoderma harzianum* estimula el crecimiento y desarrollo de las plantas, también tiene la capacidad de solubilizar algunos nutrientes minerales como zinc y fosforo facilitando su asimilación (Eposito y Da

Silva, 1998), trabajando conjuntamente con *Yucca schidigera* que tiene la función de incrementar la absorción de agua y de nutrientes (Aguirre, 2008), fue factor para que este tratamiento tuviera un mejor rendimiento, dejando al testigo con rendimientos más bajos con un promedio de 18.78 t-corte-ha<sup>-1</sup> y una diferencia de 27.47% entre estos dos tratamientos.

El T5 es el segundo mejor tratamiento con un rendimiento promedio de 24.81 t-corte-ha<sup>-1</sup>. Corresponde a la aplicación del producto Serenade el cual tiene como ingrediente activo a *Bacillus subtilis*, esta bacteria en el control de plantas sanas no fue el mejor tratamiento pero para esta variable muestra diferencia altamente significativa respecto al testigo con un 24.31% de diferencia, esto se debe principalmente a las funciones de solubilizar el fosfato, así como ayudando en la promoción del crecimiento de las plantas e induciendo mayor rendimiento de cultivos (Clements *et al.*, 2002).



**Figura 2.-** Rendimiento de espinaca por corte-ha<sup>-1</sup>.

\*Medias con letra distinta, son estadísticamente diferentes, de acuerdo a la prueba de Tukey (P<0.05).

## V. CONCLUSIONES

Mediante la realización de esta investigación se concluye que la utilización de biofungicidas a base de microorganismos benéficos, extractos de plantas, te de composta y quitosan afecta en diferentes medios a contrarrestar la propagación de hongos patógenos que provocan enfermedades radiculares en el cultivo de espinaca.

La aplicación de hongos del género *Trichoderma* y de bacterias del género *Bacillus* además de tener un efecto biofungicida se pudo observar que también proporciona algunos beneficios en cuanto a la fertilización, ya que se vio reflejada en el rendimiento del cultivo de espinaca. Obteniendo un aumento de 7.11 t-corte-ha<sup>-1</sup> con respecto al testigo.

La combinación de los productos PHC T-22 + PHC Yuccah, los cuales contienen como ingrediente activo a *Trichoderma harzianum* y *Yucca schidigera* respectivamente, se obtuvo un mayor número de plantas sanas y produjo el mayor rendimiento de espinaca.

## VI. BIBLIOGRAFÍA

- Abramovitch**, R.B. y G.B. Martin. 2004. Strategies used by bacterial pathogens to suppress plant defenses. *Current Opinion in Plant Biology*, 7: pp. 356-36.
- Agrios**, G. 1996. *Fitopatología*. 2ª ed. México. Limusa. 838 p.
- Aguirre** A, A. La útil *Yucca*, en revista Ideas para el cambio, noviembre 2008, pp. 46-49.
- Angeloni**, M., 2004. Bacteria *Bacillus subtilis* nativas del departamento comandante Fernández como factor de control biológico frente al hongo patógeno *Rhizoctonia solani* en el cultivo del algodón, [http://www.inta.gov.ar/saenzpe/fitopatología/tesis\\_de\\_licenciatura.pdf](http://www.inta.gov.ar/saenzpe/fitopatología/tesis_de_licenciatura.pdf), consultado el 25 de febrero del 2013.
- Banville**, G, Carling, D. y Otrysko, B.1996. The initial steps of the infection process in *Rhizoctonia solani* In: Sneh B, Jabaji-Hare, S, Neate, S, Dijst, G (eds) *Rhizoctonia* species: Taxonomy, Molecular, Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Kluwer Dordrecht, Netherlands. Academic Publishers. 578 p.
- Bari**, R. and Jones J. D. G. 2009. Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecular Biology* 69: pp. 473-488.
- Barka**, E. A.; P. Eullaffroy, C. Climent and G. Vernet. 2004. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. *Plant Cell Reports* 22: 608-614.



- Bhaskara**, M. V.; J. Arul, P. Angers and L. Couture. 1999. Chitosan Treatment of Wheat Seeds Induces Resistance to *Fusarium graminearum* and Improves Seed Quality. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 47: 208–1216.
- Cao**, G., Sofic E., Prior R. L. 1996. Antioxidant capacity of tea and common vegetables. *J Agric. Food Chem.*, 44, 3426–3431.
- Clements**, L., Miller, B. and Streips, U. 2002. Comparative growth analysis of the facultative anaerobes *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis* and *Escherichiacoli*. *Syst. Appl. Microbiol.* 25:284-286.
- Colleen**, K., Salus M. S., Thomas G., Thomas E., “The Synthetic Elicitor 3,5-Dichloroanthranilic Acid Induces NPR1-Dependent and NPR1-Independent Mechanisms of Disease Resistance in Arabidopsis” *Plant Physiology*, 2009, 150, pp.333-347.
- Copaja**, S.V., Blackburn, C., Carmona, R. 2003. Variation of saponin contents in *Quillaja saponica* Molina. *Wood Sci. Technol.* 37: 103-108.
- Cuartero**, J., Laterrot, H., Van Lenteren, J. C. 2002. Host Plant resistance to pathogens and arthropods pest. In: *Integrated pest and disease management in greenhouse crops.* 124-138pp. eds. Albajes R, Gullino M L, Van Lenteren J C and Elad Y. Kluwer. Academic Publishers. 545p.
- Custers**, J H. H. V. 2007a. General introduction: engineering disease resistance in plants. En: *Engineering disease resistance in plants:* 145-156.
- Dechile**. 2001. Etimología de la espinaca. En línea: <http://etimologias.dechile.net/?espinaca>. Consultado el 12 diciembre del 2012.

- Díaz**, E. 2002. Manual Agropecuario. Quebecor Word Bogota, S.A. bogota Colombia. pp. 669-724.
- Durán**, E., Robles, F., Martínez, J. y Brito, M., 2003. Trichoderma un Hongo Combatiente de Patógenos, <http://www.teorema.com.mx/cienciaytecnologia/trichoderma-un-hongo-combatiente-de-patogenos>. Consultado el 15 de diciembre del 2012.
- Durrant**, W. E., and Dong, X. 2004. Systemic Acquired Resistance. Annual Review Phytopathology 42: 185-209.
- Escaff**. 2001. Fusariosis o pudrición basal (*Fusarium oxisporum*). INIA, La Platina. (On line). <<http://www.inia.cl/enfermedades.htm>>. Consultado el 28 de marzo del 2013.
- Esposito E.**, Da Silva M., 1998. Systematics and enviromentai application of the genus *Trichoderma*. Critical review in microbiology pp. 24,89-98.
- Giaconi**, V y Escaff, M. 1998. Cultivo de Hortalizas. 15<sup>a</sup> ed. Santiag. Editorial Universitaria. 336 p.
- Glazebrook**, J., 2005. Constrating mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. Annual Review Phytopathology 43: 205-227.
- Gohel**, V., A. Singh, M. Vimal, P. Ashwini y H.S. Chhatpar. 2006. Bioprospecting and antifungal potential of chitinolytic microorganisms. African Journal of Biotechnology 5: 54–72.
- Ibosa**, 2009, “HAB”, <http://www.ibosa.org/productos/agricultura/hab.html>. Consultado el 25 de febrero del 2013.

- Inpofos.** 1997, Manual Internacional de fertilidad de Suelos, Versión en Español. Orlando, USA. Publicado por Research Education. pp. 2-10.
- Ingham, E.** 2003. The compost Tea brewing Manual, 88 p, 4th. Ed, Soil Foodweb Incorporated, Oregon, USA.
- Johnson E. T., Berhow M. A., Dowd P. F.,** “Expression of a Maize Myb Transcription Factor Driven by a Putative Silk-Specific Promoter Significantly Enhances Resistance to *Helicoverpa zea* in Transgenic Maize” *J. Agric. Food Chem.*, 2007, 55 (8) pp. 298-303.
- Kaneda, N., Nadanishi, H., Staba, J.** 1987. Steroidal constituents of *Yucca shidigera* plants and tissue cultures. *Phytochemistry*, Vol. 26, No. 5. pp. 1425-1429.
- Keukens, E.A., De Vrije, T., Fabrie, C.H., Demel, R.A., Jongen, W.M. and De Kruijff, B.** 1992. Dual specificity of sterol-mediated glycoalkaloid induced membrane disruption. *Biochim. Biophys. Acta* 1110: 127–136.
- Kliebenstein, D. J.** 2004. Secondary metabolites and plant environmental interactions: A view through *Arabidopsis thaliana* tinged glasses. *Plant Cell Environmental* 27: 675-684.
- Krarp, C. Y Moreira, I.** 1998. Hortalizas de estación fría. Biología y diversidad cultural. Pontificia Universidad Católica de Chile. Facultad de Agronomía e Ingeniería Forestal. Santiago. pp. 130–133.
- Le Strange, M.; Koike, S.; Valencia, J. y Chaney, W.** 2001. Spinach production in California. (on line). University of California. Division of Agriculture and Natural Resources. <http://anrcatalog.ucdavis.edu/pdf/7212.pdf>. Consultado 15 diciembre del 2012

- López B. A., López B. S. R., Vázquez B. M. E., Rodríguez H. S. A., Mendoza E. M., Padrón E.,** “Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxisporum* Schlechtend f. sp *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Verticillium dahliae* Kleb. Mediante extractos vegetales acuosos” *Revista Mexicana de Fitopatología*, 2005, 23 (2) pp. 183-190.
- Lucier, G., J. Allshouse y B. Lin.** 2004. Factors affecting spinach consumption in the United States. Electronic outlook report from the economic research service. United States Department of Agricultura. 15 p. VGS-300. En: <http://ers.usda.gov>. Consultado el 12 de diciembre del 2012.
- Madriz, O. K.** 2002. Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. *Manejo Integrado de Plantas* 63:23-32.
- Makandar, R., Nalam, V., Chaturvedi, R., Jeannotte, R., Sparks, A. A., and Shah, J.** 2010. Involvement of salicylate and jasmonate signaling pathways in *Arabidopsis* interaction with *Fusarium graminearum*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 23: 861-870.
- Maroto, J.V.**1989. *Horticultura herbácea especial*. Tercera edición. Editorial Mundi-Prensa, S.A., Madrid, España.
- Mendoza, Z.C.** 1996. *Enfermedades fungosas de hortalizas*. Universidad Autónoma Chapingo. 88 p.
- Mou, Z., Fan, W., and Dong, X.** 2003. Inducers of plant systemic Acquired Resistance regulate NPR1 function through redox changes. *Cell* 113: 935-944.

- Nord**, L. and Kenne, L. 2000. Novel acetylated triterpenoid saponins in a chromatographic fraction from *Quillaja saponaria* Molina. *Carbohydrate Res.* 329(4): 817-829.
- Noucetta**, K. 2003. Hongos parásitos de las raíces. [http://www.eurohydro.com/pdf/articles/sp\\_pythium.pdf](http://www.eurohydro.com/pdf/articles/sp_pythium.pdf). Consultado el 28 de marzo del 2013.
- Paulitz**, T. y Belanger, R. 2001. Biological control in greenhouse systems. *Annual Review of Phytopathology (USA)* 39: 103 – 133.
- Pavlik**, M., Vanova, M., Laudova, V. and Harmatha, J. 2000. Digitonin as a model biologically active saponin forming specific quality of *Digitalis* sp in bioassays in vitro. *Rostlinna Vyroba*, 46(8), 343-347.
- Pearce**, R. B. and J. P. Ride. 1982. Chitin and related compounds as elicitors of the lignification response in wounded wheat leaves. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 20: 119–123.
- Rubatzky**, V. y Yamaguchi, M. 1997. *World Vegetables. Principles, production and nutritive values.* 2<sup>nd</sup> Ed. New York. Chapman and Hall. 843 p.
- San Martín**, R y Briones, R. 2000. Quality control of commercial quillaja (*Quillaja saponaria* Molina) extracts by reverse phase HPLC. *J. Sci. Food Agri.* 80: 2063-2068.
- Sahota**, A. 2004. Overview of the global market for organic food and drink. En: *The world of organic agriculture. Statistics and emerging trends 2004.* IFOAM, FIBL, SÖL, Germany, pp. 21-26.

- Sandford**, P. 1989. Chitosan: Commercial uses and potential applications. pp. 51-69. In: G. Skjak-Braek, T. Anthosen, and P. Standford (eds.). Chitin and Chitosan. Sources, Chemistry, Biochemistry. Physical Properties and Applications. Elsevier Applied Science. New York, USA. 835 p.
- Serrano**, Z.1985. Prontuario del horticultor. Almería, España. Aedos pp. 75-184.
- Smith**, I., Dunez, J., Phillips, D., Elliott, R. Y Archer, S. 1992. Manual de enfermedades de las plantas. Madrid. Mundi-Prensa. pp. 334, 262-263.
- Tamez** G. P., Galan W. L. J., Medrano R. H., García G. C., Rodríguez P. C., Gómez F. R. A., Tamez G. R. S., "Bioinsecticidas: su empleo, producción y comercialización en México" Ciencia UANL, 2001, 4(2) pp 143-152.
- Turner**, G. J., Ellis, C., Devoto, A. 2002. The Jasmonate Signal Pathway. The Plant Cell. (supplement) 14: 153-164.
- Vallad**, G., and Goodman, R. 2004. Induced resistance in conventional agriculture. Crop Science 44: 1920-1934.
- Van Loon**, L. C., Bakker P. A. H., and Pieterse, C. M J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. Annual Review Phytopathology 36:453-483.
- Van Loon**, L. C., Rep, M., and Pieterse C. M. J. 2006. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. Annual Review Phytopathology 44: 135-62.
- Vidhyasekaran**, P. 2008. Fungal pathogenesis in plants and crops. Molecular Biology and host defense mechanisms. Second Edition. CRC Press. 509 p.

- Villegas**, A., 2008, "características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible," <http://www.woribusbiotecnologia.com/site/index.php?id>. Consultado el 25 de febrero del 2013.
- Vlot**, A .C. Dempsey, D.A., and Klessig D.F. 2009. Salicylic acid, a multifaceted hormone to combat disease. *Annual Review of Phytopathology* 47: 177–206.
- Wheeler** W. B., "Role of Research and Regulation in 50 Years of Pest Management in Agriculture Prepared for the 50th Anniversary of the Journal of Agricultural and Food Chemistry" *J. Agric. Food Chem.*, 2002, 50 (15) pp 151-155.
- Zhu**, Z and Guo, H. 2008. Genetic basis of ethylene perception and signal transduction in Arabidopsis. *Journal of Integrative Plant Biology* 50: 808-815.

## VII. APÉNDICE

**Cuadro 3A.** Fertilización·ha<sup>-1</sup> en el cultivo de espinaca.

DD S	Sulfonitrato kg	Sulfato de Mg kg	0-52-34 kg	Cloruro de potasio kg	Sulfato de potasio kg	Nitrato de Calcio kg	Regen soil kg	Tradecorp Az kg	Tradecorp Zn kg	RutterAA kg
0										
1	0		8				0.7			
6	10	10						0.5		2
12	20	10							0.5	
18	40	20			10		0.7			
24	40	20			10			1	0.5	
30	50	20			10	10				
36	50	20			10	10			0.5	
42	60	30		10		10				
48	60	30		10		10	0.7			
54	60	30		10		20			1	
60	60	30		10		20				
	Después de 1 <sup>er</sup> y 2 <sup>do</sup> corte									
66	30	10	5		10			1	1	2
72	40	10			10					
78	40	10			10	10	0.7			
84	50	20			10	10				
90	50	20		10		10				



**Cuadro 6A.** Frecuencia de aplicación de los tratamientos estudiados.

Tratamiento	Nombre comercial	Dosis-ha	Días de intervalo	Forma de aplicación
T-1	Testigo			
T-2	Bactiva	1.5 kg	21	drench
T-3	Biorend	5 l	21	drench
T-4	Qlagri	25 l	21	drench
T-5	Serenade	5 l	21	drench
T-6	Biorend + Bactiva	5 l + 1.5 kg	27 21	drench
T-7	Te de composta	80 l	8	drench
T-8	Biorend + Serenade	5 l + 5 l	21 21	drench
T-9	PHC T-22 + PHC Yuccah	0.5 kg + 2 l	25 15	drench
T-10	Natucontrol	0.5 kg	25	drench

**Cuadro 7A.** Análisis de varianza plantas sanas por m<sup>2</sup>.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor F	Pr>F
TRATAMIENTO	9	831.6610533	92.4067837	260.64	<.0001
REPT	2	0.3821267	0.1910633	0.54	0.5925
ERROR	18	6.3816067	0.3545337		
TOTAL	29	838.4247867			

CV 0.9 %

**Cuadro 8A.** Análisis de varianza rendimiento por corte·ha<sup>-1</sup>.

Fuente	GL	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor F	Pr>F
TRATAMIENTO	9	103.9296300	11.5477367	98.76	<.0001
REPT	2	0.2357267	0.1178633	1.01	0.3846
ERROR	18	2.1047400	0.1169300		
TOTAL	29	106.2700967			

CV 1.5 %

**Cuadro 9A.** Comparación de valores medios plantas sanas por m<sup>2</sup>.

Tratamientos	pts·m <sup>2</sup>	Nivel de significancia
T1	58.5567	F
T2	68.6233	B
T3	61.8900	E
T4	61.4467	E
T5	60.9767	E
T6	66.1800	C
T7	58.2900	F
T8	65.2900	DC
T9	76.9433	A
T10	63.9300	D

CV 0.9 %

**Cuadro 10A.** Comparación de valores medios rendimiento por corte·ha<sup>-1</sup>.

Tratamiento	t·corte·ha <sup>-1</sup>	Nivel de significancia
T1	18.7800	E
T2	22.0533	D
T3	23.1700	C
T4	21.3300	D
T5	24.8100	B
T6	23.0667	C
T7	21.8067	D
T8	23.3400	C
T9	25.8900	A
T10	21.7567	D
CV	1.5 %	