

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Efecto del Silicio en la Micromorfología de Plantas de Tomate

(*Solanum lycopersicum* L.) Inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Por:

**LAURA CASTRO ROSALEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA**

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Efecto del Silicio en la Micromorfología de Plantas de Tomate  
(*Solanum lycopersicum* L.) Inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Por:

**LAURA CASTRO ROSALEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO EN AGROBIOLOGIA**

Aprobada por el Comité de Asesoría:

Dr. Antonio Juárez Maldonado

Asesor Principal

Dra. Francisca Ramírez Godina

Coasesor

Dra. Susana González Morales

Coasesor

Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación  
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Noviembre 2017

## **AGRADECIMIENTOS**

*A Dios Por cuidarme siempre en todo momento y permitirme culminar esta etapa en mi vida.*

*A mis padres, por brindarme su apoyo durante toda mi trayectoria de vida y estar conmigo en los momentos buenos y malos, por impulsarme a seguir adelante y por ser un gran ejemplo de vida.*

*A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por darme la oportunidad de formarme profesionalmente y por todo el apoyo brindado durante mi trayectoria académica.*

*A todos los profesores por compartir sus conocimientos y consejos, por colaborar en nuestra formación académica, en especial a la M.C Sofía Comparán Sánchez y la Dra. Silvia Yudith Martínez Amador que siempre confiaron en mí y me brindaron su apoyo durante mi estancia en la UAAAN.*

*Al Dr. Antonio Juárez Maldonado por compartir sus conocimientos y consejos en clases, por dedicar tiempo para el desarrollo de este trabajo y motivarme a seguir aprendiendo.*

*A la M.C. Mari Carmen López Pérez por permitirme formar parte de este proyecto, por su valioso tiempo dedicado en la revisión, sus consejos y observaciones, por compartir su experiencia y conocimiento conmigo.*

*A la Dra. Francisca Ramírez Godina por aceptar ser parte de este trabajo y dedicar parte de su tiempo a su revisión, por su confianza y apoyo en el trabajo de laboratorio.*

*A la Dra. Susana González Morales por su valiosa colaboración en la revisión de este trabajo.*

*A las laboratoristas Norma Leticia Portos Gaona y Mariela Villela Orejon por su asesoría, paciencia y apoyo brindados en los procesos de laboratorio.*

*A todos mis compañeros, paisanos y amigos por brindarme su amistad y por todos los momentos compartidos.*

## DEDICATORIAS

A mis *padres* y mis *hermanos* que siempre han estado conmigo, sacrificando gran parte de su vida en cuidarme y educarme, el fruto de todo su esfuerzo se ve reflejado en la culminación de este trabajo, el cual se los dedico con todo mi amor y cariño, como un pequeño símbolo de recompensa por todo lo que me han dado.

A mis sobrinos *Felipe, Estefanía y Sofía* por regalarme tantas sonrisas con sus travesuras y así darle un destello de alegría a mi vida. Los quiero mucho pequeños.

A mis amigos *Hilary, Mayra, Lorenzo y Fernando*, que siempre estuvieron conmigo en los momentos de felicidad y tristeza, quienes siempre me impulsaron a dar lo mejor de mí, los que con sus risas y picardías me sacaban una sonrisa cuando estaba triste, mi manada favorita, les dedico este trabajo con el más sincero cariño que se merecen por compartir conmigo una pequeña parte de su vida, y espero que a pesar de la distancia, siempre sigamos unidos como hasta ahora, los quiero mucho amigos.

A mis amigos (*José, Karen, Rosy, Diana, Silvia, Edwin, Max, Polet y Jesy*) que siempre me han apoyado con su amistad; a mis amigas del internado (*Cristi, Reyna, Ana Rosa, Xóchitl, Esther, Rocío, Aidé, Yane, y Anita*) por ser como una segunda familia para mí, por tantas risas y locuras compartidas.

A mi primo *Francisco Castro Herrera* con quien he compartido gran parte de mi vida, quien siempre me ha brindado su apoyo y sus consejos motivándome a seguir adelante, por ser como un hermano para mí.

A mi cuñada *Guille* que siempre me ha brindado su apoyo durante mi trayectoria en la universidad.

A *Karla y Arantxa*, que me brindaron su amistad y apoyo durante mi estancia de movilidad, convirtiéndola en una de las mejores experiencias de mi vida.

A *G.F.N*, por los momentos y experiencias compartidas, por darle alegría y color a una parte de mi vida, por compartirme conmigo. Siempre vas a estar en mi corazón.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>v</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>vi</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>ix</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>3</b>
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b> .....	<b>3</b>
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>3</b>
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	<b>4</b>
Cultivo del tomate e importancia económica.....	4
Enfermedades del cultivo de tomate .....	5
Marchitez vascular del tomate causada por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> ....	5
Alternativas para el manejo de la marchitez vascular .....	8
Mecanismos de defensa contra patógenos en plantas .....	8
Generalidades y morfología de microestructuras asociadas con la defensa en plantas .....	13
Agentes inductores de resistencia al estrés .....	15
Silicio como inductor de tolerancia el estrés .....	16
Mecanismo de acción del silicio en la inducción de tolerancia al estrés .....	17
Aplicaciones de silicio en cultivos para control de enfermedades causadas por patógenos .....	21
Aplicaciones de silicio en cultivo de tomate para contrarrestar el ataque de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> . .....	22
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>23</b>
Descripción del sitio .....	23
Siembra y desarrollo del cultivo .....	23
Preparación del inóculo de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> raza 3.....	24
Inoculación de plantas .....	24
Aplicaciones de silicio .....	24
Densidad, índice y tamaño de estomas .....	24
Análisis de micromorfología .....	26
Análisis de imágenes .....	27

Determinación de la incidencia y severidad de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> .....	27
VARIABLES EVALUADAS.....	27
Tratamientos: .....	28
Diseño experimental .....	28
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	29
Incidencia y severidad de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> .....	29
Índice y densidad estomática .....	31
Tamaño de estomas .....	34
Epidermis en tallo.....	37
Epidermis en hoja .....	39
Parénquima cortical en raíz y tallo .....	40
Número de vasos de xilema mm <sup>-2</sup> en raíz y tallo.....	43
Número de vasos de xilema mm <sup>-2</sup> en hoja .....	46
Área de vasos de xilema en raíz y tallo.....	48
<b>CONCLUSIONES</b> .....	51
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	52

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tablas</b>		<b>Página</b>
1	Índice y densidad estomática de plantas de tomate inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> bajo aplicaciones de Si a 89 ddt.....	32
2	Tamaño de estomas de plantas de tomate inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> bajo aplicaciones de Si a 89 ddt.....	35

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Dinámica de la severidad (%) de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en plantas de tomate bajo aplicaciones de Si.....	29
2	Incidencia (%) de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en plantas de tomate bajo aplicaciones de Si.....	31
3	Microfotografías de las mediciones de estomas de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt. A) Fol +Si Adaxial, B) Fol + Si Abaxial; C) Si Adaxial, D) Si Abaxial; E) Fol Adaxial, F) Fol Abaxial; G) To Adaxial, H) To Abaxial.....	36
4	Grosor de la epidermis ( $\mu\text{m}$ ) en tallo de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt.....	38
5	Microfotografías de la epidermis en tallo de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) To; D) Fol; e: epidermis,p: parénquima.....	38
6	Grosor de la epidermis ( $\mu\text{m}$ ) en hoja de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt.....	39



7	Microfotografías de la epidermis en hoja de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; ea: epidermis adaxial, eb:epidermis abaxial, pe: parénquima en empalizada, po: parénquima esponjoso.....	40
8	Grosor del parénquima (µm) en raíz y tallo de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt.....	41
9	Microfotografías del parénquima cortical en raíz de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; pc: parénquima cortical.....	42
10	Microfotografías del parénquima cortical en tallo de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; pc: parénquima cortical.....	43
11	Número de vasos de xilema mm <sup>2</sup> en raíz y tallo de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt.....	44
12	Microfotografías de los vasos de xilema en raíz de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; vx: vaso de xilema.....	45

13	Microfotografías de los vasos de xilema en tallo de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; vx: vaso de xilema.....	46
14	Número de vasos de xilema mm <sup>-2</sup> en hojas de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt.....	47
15	Microfotografías de los vasos de xilema mm <sup>-2</sup> en hojas de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; vx: vaso de xilema.....	47
16	Área de vasos de xilema (µm <sup>2</sup> ) de raíz y tallo en plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt.....	48
17	Microfotografías del área de vasos de xilema en raíz de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; vx: vaso de xilema.....	49
18	Microfotografías del área de vasos de xilema en tallo de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> a los 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; vx: vaso de xilema.....	50

## RESUMEN

La marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* es una de las enfermedades más destructivas y de difícil control en el cultivo de tomate, una de las alternativas que se propone es el empleo de silicio. Por lo que el objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del silicio en la defensa estructural de plantas de tomate infectadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. El desarrollo de este trabajo se llevó a cabo en las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro bajo condiciones de invernadero y análisis de laboratorio. Las plantas de tomate se inocularon con una solución de  $1 \times 10^4$  esporas  $\text{mL}^{-1}$  de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, se realizaron 10 aplicaciones foliares de silicio empleando el producto comercial Fungicel® de COSMOCEL la concentración utilizada fue de  $1 \text{ L ha}^{-1}$ . Se determinó el índice y la severidad de la enfermedad, así como la micromorfología epidérmica y vascular en hoja, tallo y raíz. Se emplearon cuatro tratamientos: *Fusarium oxysporum*+silicio (Fol+Si), *Fusarium oxysporum* (Fol), silicio (Si), y testigo absoluto (To). Los resultados obtenidos mostraron que la aplicación de silicio disminuyó 13.2 % la severidad de los síntomas causados por el hongo. El índice estomático adaxial fue mayor con Si, el índice estomático y largo del estoma abaxial fue incrementado por el tratamiento Fol+Si. La aplicación de silicio disminuyó el grosor de la epidermis y del parénquima así como el área de vaso de xilema, pero favoreció el número de vasos de xilema  $\text{mm}^{-2}$  en raíz y tallo. Los resultados de esta investigación sugieren que el silicio induce cambios en la micromorfología epidérmica y vascular de raíz, tallo y hoja, ayudando a reforzar las estructuras de defensa en las plantas y reduciendo el estrés causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

**Palabras clave:** defensa, epidermis, xilema, estomas, *Fusarium oxysporum*, silicio.

## INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una de las hortalizas más importantes a nivel mundial debido a su alta demanda en el consumo humano, a su nivel de producción y superficie sembrada (Ascencio-Álvarez *et al.*, 2008). México se encuentra entre los principales países exportadores de esta hortaliza, por lo que su producción es considerada una actividad relevante en la economía del país (SAGARPA, 2016). Sin embargo es afectado por diferentes factores que limitan su producción y por ende su rentabilidad. Entre los factores más importantes que afectan el desarrollo normal de este cultivo se encuentran las enfermedades de tipo infeccioso provocadas por hongos, las cuales se presentan en la mayoría de las zonas tomateras de México (Hernández *et al.*, 2014). La enfermedad de mayor impacto del tomate es la marchitez vascular producida por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, que puede disminuir hasta en un 60% el rendimiento de la producción (Ascencio-Álvarez *et al.*, 2008). Si bien, las plantas cuentan con mecanismos de defensa (pasivos o activos siendo conformados por características estructurales y bioquímicas) que les ayudan a detener o contrarrestar la infección causada por organismos patógenos (Agrios, 2005; Madriz, 2002). Generalmente el tratamiento de esta enfermedad se da por medio de fungicidas sistémicos, sin embargo es probable que estos puedan incrementar el grado de resistencia de los patógenos ante su efecto, además de causar daños al medio ambiente y a la salud humana (Agrios, 2005). En ese sentido, las nuevas alternativas de control constituyen una de las prioridades actuales para el manejo de la enfermedad, entre las que destacan el uso de productos naturales y de algunas sustancias inductoras de tolerancia que activan y/o refuerzan los sistemas de defensa de las plantas (Rodríguez y Montilla, 2002). Un ejemplo de lo anterior es el silicio (Si), que reduce la susceptibilidad de las plantas a enfermedades causadas por patógenos (Belángier *et al.*, 1995). La resistencia incrementada por el Si es asociada con mecanismos físicos, bioquímicos y moleculares que inducen cambios en la estructura anatómica de los tejidos vegetales, estimulan la síntesis de compuestos antimicrobianos y activan la expresión de genes implicados en la respuesta de defensa (Epstein, 2009; Savvas y Ntatsi, 2015, Wang *et al.*, 2017).

El Si ha sido evaluado en diferentes cultivos, en el caso del tomatillo (*Physalis isocarpa*) se demostró que al aplicar Si soluble vía foliar, las plantas presentaron mayor resistencia a la marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum*, disminuyendo hasta un 80 % la severidad, concluyendo que esta resistencia podría deberse a los cristales de Si acumulados en las paredes del xilema de las hojas (Gómez *et al.*, 2006). De igual manera Huang *et al.*, (2011) determinaron que el Si en la solución nutritiva disminuyó la pudrición de la raíz causada por *Fusarium oxysporum* hasta un 82.1%.

Del mismo modo varios estudios han demostrado que la adición de Si mejora las características morfológicas, anatómicas y fisiológicas de las plantas al proteger la estabilidad estructural de las células, lo cual favorece la resistencia vegetal a las tensiones causadas por estrés (Sivanesan y Park, 2014). Asmar *et al.*, (2013) reportaron que la presencia de silicato de calcio ( $\text{CaSiO}_3$ ) favoreció un mayor espesor en la epidermis, mesófilo y parénquima en empalizada así como un aumento en la densidad estomática en hojas de banano. Otro ejemplo es el estudio realizado por Soares *et al.*, (2012), en el que evaluaron las características anatómicas de orquídeas micropropagadas con silicato de calcio ( $\text{CaSiO}_3$ ), el mesófilo de las hojas con  $\text{CaSiO}_3$  fue 15.8% más grueso que el testigo, de igual manera la epidermis adaxial y abaxial resultaron más gruesas 40.7 % y 26.4 % respectivamente, además las hojas sin suministro de  $\text{CaSiO}_3$  mostraron deformaciones en las células de clorénquima y en la epidermis. Este hallazgo indica que el Si contribuye a la estabilidad estructural de las hojas (He *et al.*, 2013) volviéndolas menos susceptibles al ataque de organismos patógenos.

En el caso particular del cultivo de tomate las aplicaciones de Si vía foliar propiciaron una mayor rigidez en las células de los tejidos de los frutos, lo cual ayuda a evitar la proliferación de agentes patógenos (Aguilar, 2012).

Por esta razón se pretende estudiar el papel del Si en la defensa estructural de plantas de tomate para contrarrestar el ataque de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, mediante la observación de los cambios morfohistológicos.

## **OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto del silicio en la defensa estructural de plantas de tomate contra el ataque de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- 1.- Evaluar el efecto del silicio sobre la incidencia y severidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en plantas de tomate.
- 2.- Analizar el efecto del silicio en la micromorfología epidérmica de las hojas de plantas de tomate inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.
- 3.- Evaluar el efecto del silicio en la micromorfología vascular de raíz, tallo y hoja en plantas de tomate inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

## **HIPÓTESIS**

El silicio reforzará la defensa estructural contra el ataque de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en plantas de tomate.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### **Cultivo del tomate e importancia económica**

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una planta herbácea de la familia de las solanáceas con hojas alternas y flores en forma de estrellas de color amarillo, el fruto es una baya ovalada o redondeada de color rojo; la especie es originaria de Sudamérica, pero fue domesticada en México. Su nombre proviene del náhuatl xictlitomatl que significa “tomate de ombligo”, también es conocido como jitomate, coatomate o tomate bola (CONABIO, 2017; SAGARPA 2010).

El tomate es considerado una de las hortalizas más importantes en el mundo, debido a la alta demanda en el consumo humano, a su nivel de producción y a que ocupa la mayor superficie sembrada. Los principales países productores son China, Estados Unidos, India, Turquía, y Egipto (SAGARPA, 2010), México se encuentra en el décimo lugar con casi tres millones de toneladas anuales, siendo Sinaloa, Baja California, San Luis Potosí y Michoacán los principales estados productores (SAGARPA, 2017). En cuanto al comercio exterior, el tomate ocupa el segundo lugar en importancia en el ámbito agroalimentario, y el primero en el rubro agropecuario, SAGARPA (2016) reportó que las exportaciones de esta hortaliza alcanzaron los 1,773 millones de dólares, representando un aumento del 16.9 % en comparación con el año 2015. El tomate es exportado principalmente a Estados Unidos, Canadá y Japón, mientras que en México el consumo per cápita es de 13.8 kilogramos; además en el año 2015 el valor de la producción se estimó en 20,640 millones de pesos. Por lo anterior, el cultivo del tomate es considerado una de las actividades más relevantes para la economía de México, al generar una gran cantidad de ingresos y de empleos (SAGARPA, 2017).

## **Enfermedades del cultivo de tomate**

Existen alrededor de 58 enfermedades de causas y etiologías distintas que afectan al cultivo del tomate. Dentro de las enfermedades de tipo infeccioso, destacan por su importancia las que son causadas por hongos, los cuales presentan una gran variación morfológica, patogénica y de adaptación a diversas condiciones climáticas. Algunas especies como *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* son patógenos causantes de pérdidas severas en el rendimiento del cultivo, estos hongos se encuentran de forma natural en suelos agrícolas ocasionando pudriciones de cuello y raíz en las plantas de tomate (Fernández-Herrera *et al.*, 2013).

### **Marchitez vascular del tomate causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici***

#### *Características de F. oxysporum f. sp. lycopersici*

*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* es un hongo imperfecto del cual se desconoce su forma sexual o perfecta, se encuentra clasificado dentro de la clase *Sordariomycetes*, Orden *Hypocreales* en la familia *Nectriaceae*, y es considerado como un hongo saprofito del suelo (Leslie, 2008; González-Morales, 2015). Presenta un micelio que puede ser de color crema o adquirir una tonalidad rosa pálido o púrpura. Produce tres tipos de esporas asexuales: **microconidios** (constituidos por 1-2 células), son las que el hongo produce con mayor frecuencia y abundancia, principalmente en el interior de los vasos de las plantas hospedantes; **macroconidios** (constituidos por 3-5 células), son las esporas típicas de *Fusarium*, de pared delgada y encorvadas hacia los extremos, aparecen sobre la superficie de las plantas destruidas, generalmente en grupos similares a los esporoquios y **clamidosporas** (constituidas por 1-2 células), son redondas de pared gruesa y se forman en el micelio más viejo o en los macroconidios del hongo (Agrios, 2005).

Hasta ahora se han reportado tres razas fisiológicas de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, las cuales difieren entre sí en cuanto a su virulencia y agresividad.



La diversidad entre razas es atribuida a los cambios ocurridos en la población del patógeno ya sea por causas naturales o por la presión de selección debido al uso intensivo de cultivares resistentes. Como el caso de las razas 1 y 2 desplazadas por la raza 3 de elevada agresividad, que ataca cultivares resistentes a las razas 1 y 2, razón por la cual es considerada una amenaza importante para la producción de tomate en México, al existir pocas variedades resistentes a este grupo (Ascencio-Álvarez, 2008).

#### *Daños ocasionados por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el cultivo de tomate*

El marchitamiento causado por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* es una de las enfermedades más prevalentes y dañinas del tomate, la cual puede ocasionar pérdidas considerables del 60% en el rendimiento del cultivo y afectar la calidad del fruto, especialmente en variedades susceptibles y bajo condiciones climáticas favorables (Agrios, 2005; Ascencio-Álvarez *et al.*, 2008).

Para ingresar a la planta, el hongo penetra directamente a las puntas de las raíces o a través de heridas, una vez dentro, el micelio se propaga a través de las células de la raíz y del córtex, posteriormente avanza hacia los vasos de xilema en sentido ascendente hacia el tallo, en ocasiones llega a los frutos de las plantas pudiendo infectar así las semillas, aunque generalmente los frutos infectados se pudren y se caen (Agrios, 2005).

Los síntomas generales se manifiestan en achaparramiento, amarillamiento y encorvamiento de las hojas, posteriormente se marchitan dando lugar a la defoliación y finalmente la muerte de la planta, por lo general los síntomas se presentan solo en uno de los lados del tallo y avanzan hacia la parte superior de la planta; en cuanto a los síntomas internos es posible observar el oscurecimiento vascular en los tallos y peciolo infectados de las hojas más viejas (Agrios, 2005).

#### **Manejo de la marchitez vascular**

La enfermedad no cuenta con un control eficaz, por lo que es muy importante desarrollar medidas preventivas basadas en un manejo integral, combinando los

métodos de control disponibles para impedir su desarrollo o mejorar la tolerancia de las plantas a la enfermedad, sin llegar a perjudicar la producción.

### *Control químico*

Para el tratamiento de esta enfermedad generalmente se utilizan fungicidas sistémicos como los benzimidazoles, sin embargo es probable que estos fungicidas puedan incrementar el grado de resistencia de los patógenos ante su efecto, ya que los agricultores aplican un gran número de productos químicos sin tener un control adecuado sobre la cantidad y el momento de las aplicaciones, además su uso implica una fuerte inversión económica y contaminación al medio ambiente (Agrios, 2005; Ascencio – Álvarez, 2008).

### *Control cultural*

Se recomienda realizar labores de saneamiento que implican la eliminación de los residuos de plantas o de cosecha infectados que pueden ser fuente de inóculo del patógeno, también se sugiere el lavado y desinfección de la maquinaria agrícola empleada en el proceso de producción, esto con la finalidad de eliminar los propágulos presentes en los residuos y tejido vegetal para evitar la diseminación de la enfermedad (Rivera, 1999).

### *Control biológico*

En lo que respecta al control biológico, se ha reportado el uso de microorganismos que ejercen un efecto antagónico sobre *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Ejemplo de estos organismos es *Trichoderma koningii*, al inducir mayor porcentaje de inhibición de crecimiento (22.50%) y esporulación (59.64%) del patógeno bajo condiciones *in vitro* (Paez y Sanabria, 2007). Otro caso es *Trichoderma koningiopsis* ya que redujo un 35% la incidencia de la pudrición del cuello y raíces causada por *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* en plantas de tomate, derivado a la inducción de respuestas de defensa sistémica del hospedero (Jaimes *et al.*, 2009).

### *Control Genético*

El uso de variedades resistentes es considerada una de las opciones más viables para el control de la marchitez vascular (Agrios, 2005; Ascencio-Álvarez, 2008), no obstante son pocas las existentes en el mercado.

### **Alternativas para el manejo de la marchitez vascular**

Ante las implicaciones negativas relacionadas con el uso inapropiado de los agroquímicos y sus efectos secundarios, como el incremento de la resistencia en los organismos patógenos, la contaminación ambiental y el peligro a la salud humana, se vuelve necesario desarrollar nuevos sistemas de tratamiento para el manejo de las enfermedades, con la finalidad de reducir la dependencia de los productos químicos (Villa-Martínez *et al.*, 2015). En ese sentido, el uso de productos naturales y de algunas sustancias inductoras de tolerancia al estrés es una de las medidas en las que se está haciendo énfasis, ya que permiten el control de la enfermedad disminuyendo el uso de productos químicos causando daños mínimos al ambiente (Rodríguez y Montilla, 2002). Además de ello, el empleo de estas sustancias potencializan los mecanismos intrínsecos de defensa, incrementando el éxito contra organismos patógenos (Madriz, 2002), algunos mecanismos esenciales de las plantas se enlistan a continuación.

### **Mecanismos de defensa contra patógenos en plantas**

El ataque de organismos patógenos es una condición desfavorable para las plantas debido a que causan enfermedades que afectan su desarrollo y fisiología, para ello las plantas cuentan con una serie de mecanismos de defensa cuya finalidad es evitar, aminorar o contrarrestar la infección (Madriz, 2002), estos mecanismos se pueden dividir en defensa pasiva o preformada y defensa activa o inducida.

## **Defensa pasiva o preformada**

Determinada por propiedades ya existentes antes del intento de infección del patógeno, también denominados factores constitutivos, estos actúan de forma constante en las plantas y proveen de forma pasiva resistencia contra los patógenos mediante barreras estructurales y bioquímicas preformadas (Almenar *et al.*, 2013).

### *Defensa estructural preformada*

Las barreras estructurales preformadas incluyen la cantidad y calidad de la cera de la cutícula que cubre a las células epidérmicas, además del grosor de la pared celular, la presencia de tricomas, también la localización, tamaño, forma y número de estomas, así como la presencia de amplias zonas de células esclerenquimatosas; estas estructuras pueden bloquear eficazmente la propagación de agentes infecciosos impidiendo o retrasando la entrada hacia el interior de la planta. El grosor y dureza de la pared externa de las células epidérmicas, son factores importantes en la resistencia, hace que la penetración directa de los hongos patógenos sea difícil o imposible. En el caso de los estomas, la presencia de un orificio bastante estrecho y de amplias células oclusivas pronunciadas, pueden conferir resistencia contra la invasión de algunos patógenos que penetran a través de ellos.

Estos mecanismos se han evaluado en distintos trabajos, Hernández *et al.*, (2006) descubrieron una menor densidad estomática en las hojas de plátano resistentes a *Mycosphaerella fijensis* causante de la “sigatoka negra”, reduciendo con ello la probabilidad de penetración del hongo. De igual forma Salas *et al.*, (2009) encontraron una modificación en el espesor de la pared externa de las células epidérmicas de la superficie abaxial y adaxial, así como el índice y densidad estomática en papa bajo la presencia de *Phytophthora infestans*, pudiendo funcionar como una barrera física, ya que el escaso desarrollo de las cutículas en las paredes celulares engrosadas de la epidermis es compensado fisiológicamente con la formación de cubiertas pilosas y un mayor número de estomas en la superficie abaxial.

### *Defensa bioquímica preformada*

La defensa bioquímica preformada o constitutiva responde a una información genética propia del cultivar, que se expresa normalmente en la planta sin la mediación de un inductor mediante la producción de una gran diversidad de compuestos tóxicos para los organismos patógenos, tales como péptidos, proteínas (PR), alcaloides, fenoles, polifenoles, aceites esenciales y terpenos, estos compuestos se encuentran almacenados en las vacuolas de las células, tricomas y pelos glandulares (Osbourn, 1996; Riveros, 2001).

Algunos ejemplos de compuestos antimicrobianos preformados son el ácido protocatéquico y el catecol presente en las cebollas resistentes a *Colletotrichum circinans*, el ácido clorogénico que se encuentra en altas cantidades en las ramas jóvenes del cafeto, relacionado con la resistencia de estos tejidos a *Ceratocystis fimbriata*, las saponinas que incluyen a las avenacinas que protegen a la avena contra el ataque del hongo *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* y las tomatinas que participan en la resistencia del tomate a *Cladosporium fulvum* (Arauz, 1998; Osbourn, 1996).

### **Defensa activa o inducida**

Los mecanismos de defensa activa se producen después de la infección, estos incluyen cambios temporales o permanentes en la estructura de las células y los tejidos así como la producción de sustancias tóxicas para los organismos patógenos, la mayoría de los mecanismos activos intentan limitar el daño al menor número posible de células utilizando moléculas señal específicas que activan una serie de respuestas en áreas alejadas de la zona de infección (Peña, 2011). Estos mecanismos se clasifican en defensas estructurales y bioquímicas inducidas.

### *Defensas estructurales inducidas*

Corresponde a estructuras formadas en respuesta a las infecciones una vez que el patógeno ha conseguido superar las estructuras de defensa preformada y penetra al hospedante. Este tipo de defensa comprende:

### *Estructuras histológicas de defensa*

Formación de capas de corcho. Es la formación de una capa de células suberizadas más allá del punto de infección, con la finalidad de bloquear el flujo de nutrientes y agua del área sana a la infectada privando al patógeno de nutrientes. Formación de capas de abscisión. Constituyen una banda circular de células que rodean al punto de infección, posteriormente se dividen y forman células de paredes delgadas en las que se disuelve la lámina media separando el área infectada del resto, gradualmente esta área muere y se separa llevándose consigo al patógeno que no puede continuar la infección.

Tíldes. Se producen en respuesta a la infección en tejidos vasculares donde ocurre un sobrecrecimiento de las células parenquimatosas adyacentes, prolongándose dentro de los vasos de xilema. Estas estructuras ayudan a evitar el avance del patógeno debido a la composición celulósica de su pared, cantidad y tamaño causando la obstrucción de los vasos.

Depósito de sustancias gomosas. Estas sustancias contienen compuestos fungitóxicos como polifenoles, se localizan en los espacios intercelulares o dentro de las células alrededor de las lesiones formando una barrera impenetrable para el parásito limitando la infección, en ausencia de tilosas pueden presentarse en el tejido vascular.

### *Estructuras citológicas de defensa*

Los mecanismos citológicos incluyen cambios en la pared celular que pueden ser deposición de sustancias como la sílice, formación de papilas de calosa y la envainación de la hifa penetrante cuando las células son invadidas por el patógeno.

### *Estructuras citoplasmicas de defensa*

Cuando el parasito ha logrado penetrar, el contenido citoplasmático de la célula puede actuar como línea de defensa, se ha visto que después de la penetración el

citoplasma se vuelve más denso y granular, en el cual se separa el micelio del hongo en cuerpos granulares pequeños deteniendo el avance del patógeno.

#### *Reacción de hipersensibilidad*

Es el mecanismo que provoca la muerte de las células contaminadas, también produce la inducción en células vecinas de importantes modificaciones metabólicas como la oxidación de polifenoles en quinonas, transformaciones en la pared celular, depósito de ligninas en el parénquima cortical, y la formación de gomas o tilosas en los vasos de xilema (Cruz *et al.*, 2006). Andrade-Hoyos *et al.*, (2015) reportaron que la formación de tilosas y la deposición de compuestos fenólicos en variedades de portainjertos de aguacate contribuyeron en la defensa ante la infección causada por *Phytophthora cinnamomi*.

#### *Defensa bioquímica inducida*

Se refiere a la producción de sustancias tóxicas para los organismos patógenos mediante una serie de reacciones bioquímicas estimuladas por la presencia de una infección, dichas sustancias incluyen a la mayoría de los compuestos fenólicos comunes, así como a los productos de la oxidación de los compuestos fenólicos y a las fitoalexinas (Agrios, 2005).

Se ha observado que ciertos compuestos fenólicos comunes se producen y acumulan a un ritmo mucho mayor después de haber ocurrido una infección, algunos de esos compuestos son el ácido clorogénico, el ácido caféico y la escopoletina. De manera similar la mayoría de las enzimas que oxidan a los compuestos fenólicos tales como la polifenoloxidasa y la peroxidasa incrementan su actividad en los tejidos infectados. La importancia de la actividad de estas enzimas en la resistencia a enfermedades se debe a la propiedad de oxidar los compuestos fenólicos hasta quinonas, las cuales son más tóxicas a los microorganismos que los fenoles originales (Cruz *et al.*, 2006).

En lo que respecta a las fitoalexinas, son producidas por las células sanas adyacentes a las necróticas y dañadas en respuesta a sustancias difundidas por las

células infectadas, algunas de las fitoalexinas más estudiadas son la faseolina del frijol, la pisatina del chicharo, la gliceolina en la soya y el capsidiol en el chile (Agrios, 2005).

## **Generalidades y morfología de microestructuras asociadas con la defensa en plantas**

### *Epidermis*

Es la capa superficial de células que cubre todas las partes del cuerpo de la planta (tallos, raíces hojas, flores, frutos y semillas). Es un tejido complejo constituido por varios tipos de células, entre los que destaca la célula epidérmica general que compone la mayor parte de la superficie de la epidermis, y otras denominadas células especiales tales como células buliformes, silíceas y suberosas, dispersas entre las células epidérmicas generales (Peña, 2011).

Generalmente la epidermis se encuentra formada por una única capa de células (monoestratificada), sin embargo también puede ser pluriestratificada cuando presenta más de una capa de células. Una característica típica de la epidermis es que sus células no dejan espacios intercelulares constituyendo una capa continua, interrumpida solamente por los estomas (Peña, 2011).

Funciones:

- Protección mecánica contra agentes externos físicos, químicos y biológicos.
- Limitación de la transpiración
- Regula el intercambio gaseoso
- Secreción de sustancias a través de células glandulares y tricomas.

### *Estomas*

Los estomas son aberturas en la epidermis rodeadas por dos células oclusivas y células anexas, estas estructuras permiten el intercambio gaseoso entre el interior de la planta y el medio externo, son muy frecuentes en la partes verdes aéreas de las



plantas particularmente en las hojas (Esau, 1985). La presencia de los estomas es esencial para el mantenimiento de la homeostasis en la planta, por tanto en el plano cuantitativo representan un valor diagnóstico en la interacción de las plantas con el ambiente (Vargas, 2011).

El índice estomático analiza el número de estomas en relación con el número de células epidérmicas de una superficie dada (Salisbury, 1928):

$$IE = \frac{\text{Número de estomas}}{\text{Células epidérmicas} + \text{número de estomas}} \times 100 .$$

La densidad estomática corresponde al número de estomas por unidad de superficie foliar y representa un valor diagnóstico para fragmentos de láminas foliares (Croxdale, 2000).

El conocimiento del índice y la densidad estomática es de gran utilidad para determinar las condiciones ambientales en que se desarrollan las plantas, puesto que el número de estomas está relacionado con las condiciones de luz, temperatura y humedad, además están implicados en la resistencia contra el ataque de organismos patógenos (Hernández *et al.*, 2006; Vargas, 2011).

### *Parénquima cortical*

Es un tejido constituido por células vivas de un único tipo celular con el mínimo grado de diferenciación, su distribución es muy amplia ya que se encuentra presente en todas las estructuras de la planta, en el córtex y médula de raíz y tallo, en el mesófilo de la hoja y en la pulpa de los frutos carnosos, su abundancia depende del tamaño del órgano. Las funciones del parénquima dependen del lugar de la planta donde se encuentre, las cuales pueden ser realización de la fotosíntesis y respiración, reservorio de agua, sustancias orgánicas o minerales y como relleno estructural de la planta (Peña, 2011).

Las células parenquimatosas tienen una gran elasticidad, por lo que ante lesiones o cambios ambientales pueden desdiferenciarse a meristemo, interviniendo en los

procesos de cicatrización de heridas y regeneración (Esau, 1985), por lo que en conjunto con su capacidad para almacenar sustancias puede ser de gran utilidad para limitar y disminuir el grado de infección causado por agentes patógenos.

### *Xilema*

El xilema es el principal tejido conductor del agua y minerales además del sostén de las plantas. Las principales células conductoras del xilema son los elementos traqueales y los elementos de vaso, ambos tipos de células tienen paredes secundarias lignificadas (Esau, 1985). Algunos patógenos se desarrollan en el xilema de las plantas afectando su integridad y funcionamiento. Los vasos afectados pueden llenarse con estructuras y/o sustancias secretadas por el patógeno, o por la planta en respuesta a la infección, en consecuencia los vasos se obstruyen y se vuelven menos eficientes para el transporte del agua en la planta. La alteración más típica y notable del xilema se observa en los marchitamientos vasculares causados por hongos del género *Ceratocystis*, *Verticillium* y *Fusarium*, los cuales pueden reducir el tamaño de los vasos infectados, debido a la acción de enzimas que degradan la pared celular y a la baja tensión del agua en los vasos (Agrios, 2005).

### **Agentes inductores de resistencia al estrés**

Los inductores de resistencia son sustancias que estimulan las defensas naturales de las plantas para evitar o retrasar la entrada de microorganismos patógenos (Gómez y Reis, 2011). Estas sustancias hacen referencia a un amplio ámbito de compuestos, los cuales pueden ser de origen biótico (extractos vegetales, fragmentos de pared celular de bacterias y hongos, entre otros) o abiótico (glucanos sintéticos, quitosán, silicio, fosfitos), otro ejemplo de inductores son las fitohormonas como el etileno, ácido salicílico y el jasmonato (Riveros, 2001; Gómez y Reis, 2011). Estas sustancias inducen varias reacciones de defensa, tales como la producción de fitoalexinas, proteínas antimicrobianas, reacciones de oxidación y cambios estructurales a nivel de la pared celular, entre otras (Riveros, 2001).

Estas moléculas se pueden aplicar de manera exógena sobre las plantas mediante aspersión al follaje, o a través de la solución nutritiva (fosfatos de potasio, sodio o magnesio, fosfitos de potasio o calcio, silicio, silicatos de calcio, magnesio, potasio, aluminio o hierro) su uso se ha reportado en varias investigaciones tanto en invernadero como en campo (Gómez y Reis, 2011).

Ejemplo de ello fue lo realizado por Eshraghi *et al.*, (2011) al determinar el efecto del fosfito en la inducción de respuestas de defensa en plantas de *Arabidopsis thaliana* contra el ataque de *Phytophthora cinnamomi*. Los resultados mostraron que las células de las hojas tratadas con fosfito respondieron al ataque del hongo con un rápido aumento en la deposición de calosa y la producción de peróxido de hidrogeno ( $H_2O_2$ ), así como una disminución de las lesiones.

Bautista (2005) evaluó la aplicación de inductores de tolerancia como el ácido salicílico (AS) y Complejo Poliácido Acrílico – Quitosán (PAA-Q) sobre el efecto en la anatomía epidérmica en plantas de tomate. Se encontraron modificaciones en la densidad estomática y densidad de células tabloides en el haz, de igual manera en el tamaño del parénquima medular del córtex y vasos del xilema.

Otro ejemplo es la investigación efectuada por González-Morales *et al.*, (2015) en la que evaluaron el extracto de *Heliopsis longipes* (300 ppm de afinina) como inductor de tolerancia a estrés biótico causado por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, encontrándose que la aplicación del extracto disminuyó un 70% la severidad de los síntomas, igualmente cambios histológicos como el incremento del área relativa del córtex y la disminución del área de médula en raíz y tallo.

## **Silicio como inductor de tolerancia el estrés**

### *Generalidades del silicio*

El silicio (Si) es el elemento más abundante en la litosfera después del oxígeno, los compuestos del silicio constituyen más del 60% de la estructura del suelo, el cual contiene 50-400 g  $Kg^{-1}$  y su concentración en forma soluble como ácido silícico es de 35-40 mg  $L^{-1}$  (Fauteux *et al.*, 2005; Aguirre *et al.*, 2007; Balakhnina y Borkowska,

2013). Se encuentra en rocas, arenas y arcillas en forma de dióxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ) y asociado con algunos elementos como el aluminio, magnesio, calcio, sodio, fierro y potasio (Alcántar y Trejo, 2006; Castellanos *et al.*, 2015).

### *Absorción y transporte de silicio en plantas*

La absorción de Si por las plantas puede ser pasiva o activa. La absorción pasiva se lleva a cabo de manera similar a la del agua, en donde es transportado mediante el flujo transpiratorio hacia las terminales de transpiración, sin embargo en plantas como el arroz se ha demostrado que la asimilación del silicio no es afectada por la transpiración, sugiriendo que la absorción es mediada por dos transportadores, uno de ellos localizado en la membrana plasmática de las células corticales de la raíz (SIT1: transportador de silicio 1), el cual transporta este elemento desde la solución externa hasta las células corticales de la raíz, el otro se localiza en la membrana plasmática de las células parenquimatosas del xilema (SIT2: transportador de silicio 2), responsable de liberar el silicio dentro del xilema (Alcántar y Tréjo, 2006; Ma *et al.*, 2004).

El Si absorbido en forma de ácido silícico es transportado a la parte aérea y depositado en los tejidos vegetales como sílice amorfa hidratada ( $\text{SiO}_2\text{NH}_{10}$ ) o en forma de cuerpos silicosos en las células epidérmicas, estomas y tricomas, también puede incorporarse en la pared celular, en algunas especies se encuentra formando una densa capa debajo de la cutícula (Castellanos *et al.*, 2015; Currie y Perry, 2007).

### **Mecanismo de acción del silicio en la inducción de tolerancia al estrés**

El silicio ha mostrado tener varios efectos benéficos en las plantas ya que induce tolerancia al estrés biótico y abiótico (Alcántar y Trejo, 2006; Ma, 2004; Raya y Aguirre, 2012). Muchas investigaciones señalan la eficacia del Si en el control de bacterias y hongos fitopatógenos, así como su capacidad paliativa sobre el estrés salino, estrés por sequía, toxicidad de metales pesados y daño ocasionado por radiación, alta temperatura, etcétera (Ma, 2004; Savvas y Ntatsi, 2015).

Los mecanismos de acción del silicio en la inducción de tolerancia al estrés biótico y abiótico incluyen:

- Cambios fisicoquímicos en la estructura y composición de la pared celular de las células que componen los tejidos de las plantas.
- Cambios anatómicos en los tejidos de las plantas como consecuencia de la modificación en la pared celular.
- Cambios bioquímicos: estimulación de los sistemas antioxidantes de las plantas y la producción de compuestos tóxicos para los organismos patógenos así como la señalización a través de las fitohormonas.
- Modulación de la expresión génica (Ma, 2004; Epstein, 2009; Savvas y Ntatsi, 2015).

El Si cumple una importante función en la integridad estructural de las células vegetales, contribuyendo a las propiedades mecánicas, incluyendo rigidez y elasticidad, se considera que el efecto del silicio en la resistencia de las plantas a las enfermedades es debido a la acumulación de este elemento en el tejido epidérmico, actuando como una barrera física que ayuda a prevenir la penetración por agentes patógenos (Ma, 2004; Aguirre *et al.*, 2010). Varios trabajos de investigación han reportado efectos positivos del silicio en la anatomía de las plantas.

Soares *et al.*, (2012) evaluaron en orquídeas nativas la micropropagación utilizando silicato de calcio ( $\text{CaSiO}_3$ ) en el medio de cultivo, los tratamientos con Si restringieron el desarrollo de las características estomáticas de la superficie adaxial, sin embargo, el mesófilo de las hojas, la epidermis adaxial y abaxial fueron 15.8 %, 40.7 % y 26.4 % respectivamente, más grueso que el testigo, las hojas sin suministro de  $\text{CaSiO}_3$  mostraron deformaciones en las células de clorénquima y en la epidermis.

De igual manera Braga *et al.*, (2009) obtuvieron un aumento en el grosor de los tejidos de la hoja, una mayor deposición de cera epicuticular, así como la formación de depósitos de silicio en células de plántulas de fresa propagadas en un medio de cultivo adicionado con silicatos de calcio, sodio y potasio.

Eburneo *et al.*, (2013) determinaron que el uso de silicio no alteró la densidad e índice estomático en *Glycine max*, sin embargo, indujo un aumento en el espesor de la hoja en particular en la nervadura central, de igual forma se observó la acumulación de cristales de sílice en las hojas.

Asimismo, Luz *et al.*, (2012) analizaron la respuesta anatómica en hoja de plantas de banano cultivadas *in vitro* al añadir silicatos de calcio, dicho tratamiento proporcionó un mayor espesor de la epidermis superior e inferior, mesófilo y parénquima en empalizada.

De manera general el silicio contribuye a la estabilidad estructural de las hojas y tallos (He *et al.*, 2013) y disminuye la susceptibilidad al ataque de organismos patógenos.

La resistencia bioquímica inducida por silicio es asociada con:

- Aumento de la actividad de enzimas relacionadas con la defensa, tales como la polifenoloxidasas (PPO), glucanasa (GLU), peroxidasa (PO) y fenilalanina amonio liasa (PAL).
- Producción de compuestos antimicrobianos como ácidos fenólicos, flavonoides, fitoalexinas y proteínas relacionadas con la patogénesis en plantas (PR).
- Regulación de las señales sistémicas, como el ácido salicílico (SA), ácido jasmonico (JA) y etileno (ET) (Fauteux *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2017).

La polifenoloxidasas (PPO) está implicada en la síntesis de lignina, además es la principal enzima de oxidación de sustancias fenólicas estimulando la producción de compuestos antimicrobianos, su actividad ha sido correlacionada positivamente con la resistencia a las enfermedades en las plantas, de igual forma la actividad de la peroxidasa (PO) juega un papel importante en la interacción planta- patógeno, ya que está involucrada en el refuerzo de la pared celular y en la biosíntesis de lignina, mientras que la quitinasa participa en la degradación de las paredes celulares de muchos hongos fitopatógenos (Wang *et al.*, 2017).

Se ha demostrado que la aplicación de Si en plantas de calabacita aumenta la síntesis de enzimas peroxidasa, polifenoloxidasa, glucanasa y quitinasa, que ayudan a impedir la proliferación de organismos patógenos, favoreciendo la lignificación de los tejidos (Gomes *et al.*, 2005).

Fortunato *et al.*, (2012) reportaron que la aplicación de silicio en plantas de banano infectados con *Fusarium oxysporum* f. sp *cubense* aumentó la concentración de enzimas como fenilalanina amonio liasa, polifenoloxidasa, peroxidasa y glucanasa así como compuestos fenólicos y derivados del ácido lignina – tioglicólico, lo cual fue relacionado con la disminución de los síntomas de la marchitez causada por *Fusarium*.

En plantas de rosa infectadas por *Podosphaera pannosa* la aplicación de silicio (3.6 mM) incrementó la concentración de ácidos fenólicos y flavonoides antimicrobianos, este aumento fue correlacionado con la reducción del 46% en la gravedad de la enfermedad (Shetty *et al.*, 2011).

Las fitoalexinas son esenciales en la defensa de las plantas, se ha informado que el suministro de silicio aumenta la acumulación de fitoalexinas en plantas de pepino durante la infección de *Podosphaera xanthii* reduciendo la incidencia de la enfermedad (Fawe *et al.*, 1998; Wang *et al.*, 2017).

Por otra parte, varios estudios han sugerido que la aplicación de silicio puede regular las respuestas de estrés al modular la producción de fitohormonas y las vías de señalización, en *Arabidopsis thaliana* infectadas con *Erysiphe cichoracearum* el suministro de silicio estimuló la producción de ácido salicílico, ácido jasmónico y etileno lo cual condujo a una mayor resistencia contra la infección (Fauteux *et al.*, 2006; Wang *et al.*, 2017). El silicio amplifica la respuesta mediada por ácido jasmónico actuando como un cebador en la vía, además el ácido jasmónico promueve la silificación de la hoja (Fauteux *et al.*, 2006).

En lo que respecta a la modulación de la expresión génica el silicio puede modular la actividad de los sistemas de señalización intracelular post-elicitación que regulan la

expresión de genes de defensa relacionados con modificaciones estructurales de las paredes celulares, respuestas de hipersensibilidad, síntesis de hormonas, compuestos antimicrobianos y proteínas PR (Fauteux *et al.*, 2005).

Ghareeb *et al.*, (2011) reportaron que la aplicación de silicio condujo la expresión de genes involucrados en la defensa y transducción de señales en plantas de tomate, las cuales mostraron mayor resistencia al estrés causado por *Ralstonia solanacearum*.

En otro estudio realizado por Kiirika *et al.*, (2013) la aplicación de silicio indujo la expresión de genes clasificados en las categorías de defensa, transducción de señales y la transcripción, disminuyendo 40% la incidencia de la marchitez causada por *R. solanacearum* en plantas de tomate.

### **Aplicaciones de silicio en cultivos para control de enfermedades causadas por patógenos**

Se han realizado varias investigaciones sobre el efecto de la aplicación de Si en los cultivos para prevenir y contrarrestar enfermedades causadas por patógenos.

López (2013) encontró solamente 2 % de daño por cenicilla y mildiu en el rosal al suministrar 150 mg Si L<sup>-1</sup> de Si en la solución nutritiva y aplicaciones foliares de silicato de potasio (K<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>).

Asimismo, Dios-Delgado *et al.*, (2006) realizaron un estudio en plantas de lechuga para probar el efecto del metasilicato de sodio (4 mg L<sup>-1</sup>) y nitrato de calcio (0.5%) en la incidencia del hongo *Bremia lactucae*, observando una disminución de incidencia del 10 %.

Por su parte, Gómez *et al.*, (2006) evaluaron el efecto de la fertilización foliar con Si soluble (0.1 % y 0.2 %) y miel de abeja al 2 % sobre la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* en tomate de cáscara, la severidad de la enfermedad disminuyó hasta en un 80 % en las plantas donde se aplicó ambos tratamientos,



además se comprobó la presencia de cristales de silicio acumulados en las paredes del xilema de las hojas.

Por otro lado, Yanar *et al.*, (2011) evaluaron el control del “mildiu” causado por *Leveillula taurica* en el cultivo de tomate, al aplicar  $1\text{g L}^{-1}$  de silicato de potasio ( $\text{K}_2\text{SiO}_3$ ) vía foliar. Los índices de severidad de la enfermedad fueron de 77.5 % a 74.7 % en el testigo y con el tratamiento de silicato de potasio solamente 5.8 % y 4.6 %.

Las aplicaciones foliares de silicio también han resultado efectivas en el combate de cenicilla en el cultivo de pepino y la vid, reduciendo hasta un 98 % la enfermedad (García, 2014).

### **Aplicaciones de silicio en cultivo de tomate para contrarrestar el ataque de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.**

Se han llevado a cabo trabajos de investigación en el cultivo de tomate observándose un efecto positivo al aplicar silicio para mitigar el daño causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Huang *et al.*, (2011) encontraron que el uso de solución nutritiva (Hoglands) modificada con silicio a  $100\text{ mg L}^{-1}$  en tomate disminuyó la pudrición de la raíz causada por *Fusarium oxysporum* hasta un 82.1 %.

En otro trabajo también se descubrió que la adición de silicato de potasio (100 ppm) en la solución nutritiva tiene efectos positivos en la contención parcial de la fusariosis vascular del tomate (Chitarra, *et al.*, 2013).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Descripción del sitio**

El desarrollo del experimento se llevó a cabo en un invernadero ubicado en el Departamento de Horticultura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, con coordenadas de 25°21'27.17" latitud N, 101°02'00.16" longitud O y 1763 msnm. El invernadero es de baja tecnología con cubierta de polietileno con 70% de irradiancia natural y con una orientación sur-norte, cuenta con dos cortinas como sistema de enfriamiento. El suelo cuenta con una cubierta plástica de color blanco para evitar que las raíces entren en contacto directo con el suelo. El rango de temperatura osciló de 20-30 °C y 50-60 % de humedad relativa.

La evaluación de las variables histológicas se llevó a cabo en el laboratorio de citogenética del Departamento de Fitomejoramiento de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

### **Siembra y desarrollo del cultivo**

Se utilizaron semillas de tomate de la variedad Río fuego de crecimiento determinado. Para la siembra se utilizaron 2 charolas de poliestireno con 200 cavidades, las cuales fueron desinfectadas con una solución clorada al 2 % para eliminar cualquier tipo de residuos presentes que pudieran contaminar y afectar la germinación, se empleó sustrato para germinación para el llenado de las charolas.

El trasplante se realizó en bolsas de polietileno color negro de 10 L, con sustrato peat moss-perlita en proporción 1:1 (v/v). La nutrición del cultivo se basó en una solución fertilizante Steiner (Steiner, 1961) aplicada mediante riego localizado. El cultivo se manejó a un tallo, se realizaron las labores culturales tradicionales, a excepción de aplicación de fungicidas.

### **Preparación del inóculo de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3**

Para la preparación del inóculo de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol) (González-Morales *et al.*, 2015), primero se reactivó y posteriormente se incrementó en agar papa dextrosa (PDA), y se incubó durante 15 días a 27 °C (Benhamou *et al.*, 1998). Después se realizó una mezcla del agar junto con el patógeno y agua estéril, y con un agitador magnético se cosechó el micelio y las esporas mediante agitación. El líquido de todas las cajas Petri fue concentrado seguido de un conteo de esporas con la cámara de Neubauer para ajustar a una concentración de  $1 \times 10^4$  esporas mL<sup>-1</sup>.

### **Inoculación de plantas**

La inoculación del patógeno se realizó 40 días después del trasplante (ddt). Se realizaron cuatro perforaciones en cada maceta a una longitud de 10 cm y a una distancia de 2 cm del tallo (con la finalidad de realizar heridas a las raíces secundarias de la planta), en las perforaciones se distribuyó 55 ml de una solución de  $1 \times 10^4$  esporas mL<sup>-1</sup> de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

### **Aplicaciones de silicio**

Para el tratamiento de silicio se utilizó un producto comercial de COSMOCEL FUNGICEL® a base de ácido silícico (Si) al 11 %. Las aplicaciones de Si a las plantas de tomate fueron efectuadas de manera foliar cada semana después del trasplante (ddt), totalizando en 10 aplicaciones; la concentración empleada fue de 1 L ha<sup>-1</sup> por aplicación, finalizando con un acumulado de 10 L ha<sup>-1</sup>. Se realizaron dos aplicaciones de los tratamientos previos a la inoculación del patógeno (18 y 25 ddt).

### **Densidad, índice y tamaño de estomas**

Para el estudio de estomas, se evaluaron las siguientes variables: densidad estomática (DE) abaxial y adaxial, índice estomático (IE) abaxial y adaxial, longitud y ancho de estomas abaxial y adaxial.

A los 89 ddt se tomaron impresiones foliares en la parte adaxial y abaxial de la hoja fisiológicamente madura (tercera o cuarta hoja) aplicando sobre la superficie foliar una capa fina de pegamento para PVC y se dejó secar, posteriormente se colocó sobre el pegamento un trozo de cinta transparente para extraer la muestra. A continuación la muestra fue adherida sobre un portaobjetos de vidrio, el cual fue observado en un microscopio óptico (Motic B3 Professional series). En cada impresión foliar se realizaron conteos de estomas y células epidérmicas en tres campos del microscopio elegidos al azar con el objetivo de 100X.

Posteriormente se aplicó la siguiente fórmula para obtener la densidad estomática, número de estomas X mm<sup>2</sup>:

$$\text{Densidad estomática} = \frac{1 \text{ mm}^2 \times \text{Numero de estomas}}{\text{Area del campo (0.0254mm}^2\text{)}}$$

Para obtener el área del campo visualizado se aplica lo siguiente:

$$\text{Diámetro del campo visual} = \frac{\text{diámetro del ocular (18)}}{\text{aumento del microscopio (100x)}}$$

Diámetro del campo visual= 0.18

Radio= 0.09

r<sup>2</sup>= 0.0081

Área del campo = π x r<sup>2</sup>

Área del campo = 3.1416 x 0.0081= 0.0254 mm<sup>2</sup>

El índice estomático es el número de estomas en relación al total de células epidérmicas, y para su estimación se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{IE} = \frac{\text{Número de estomas}}{\text{Células epidérmicas que rodean los estomas} + \text{Número de estomas}} \times 100$$

El tamaño de las estomas se determinó mediante el programa de medición AxioVision LE Rel. 4.5., determinando el largo y ancho de dos estomas en tres campos por muestra. Las mediciones fueron realizadas sobre fotografías tomadas (objetivo de 40X) en un microscopio óptico (Carl Zeiss) con cámara integrada y con el programa Pixera Wiewfinder Pro.

### **Análisis de micromorfología**

Los tejidos fueron procesadas por la técnica histológica de la parafina como sigue: se efectuó un muestreo destructivo a los 89 ddt de tres réplicas de cada tratamiento, para ello se cortaron 5 cm de tallo (a partir del nudo hacia arriba), 10 cm de raíz (hacia abajo de la raíz principal) y 1 cm<sup>2</sup> de hoja de la parte de la nervadura central. Las muestras fueron fijadas en una solución compuesta por 5 ml de formaldehído, alcohol etílico (90 ml) y ácido acético glacial (5 ml). Posteriormente el tejido fue deshidratado sumergiéndolo por espacio de 2 horas en cada una de la solución como a continuación se describe: alcohol etílico al 95 % y con un solvente cuyo componente principal es el xilol. Alcohol al 50 %, 60 %, 70 %, 85 %, 95 % + eosina, alcohol absoluto 1 y 2, xilol-alcohol absoluto 3-1, 1-1, 1-3, xilol puro 1, xilol puro 2.

Para la inclusión en parafina se colocaron los frascos con los tejidos en una estufa a 35 °C con xilol + parafina por 24 horas. Pasado el tiempo, la temperatura se cambió a 45 °C, se agregó más parafina a los frascos con el material vegetal, y fueron incubados por 24 horas, después la temperatura se modificó a 50 °C y se cambió la parafina con xilol por parafina pura. Finalmente la temperatura se incrementó a 60 °C y nuevamente se realizó un cambio de parafina pura e incubando por 24 horas. Se elaboraron moldes de aluminio de 8.2 x 9.4 cm, donde se colocó la muestra con parafina para su solidificación, una vez solidificado se procedió con los cortes transversales en el micrótomo rotatorio (LEICA) a 20 micras. La cinta de parafina obtenida con el tejido fue montada en un portaobjetos utilizando el adhesivo de Haupt y se fijó con calor. Para la tinción se utilizó la doble coloración de safranina-fast green. Posteriormente las muestras se secaron y se montaron con Bálsamo de Canadá (González- Morales *et al.*, 2015).

## **Análisis de imágenes**

Las muestras fueron analizadas en un microscopio óptico (Carl Zeiss) con cámara integrada y con el programa Pixera Wiewfinder Pro. Se tomaron fotografías a 2.5X y 10X en tres campos por cada corte (muestra) de raíz, tallo y hoja.

## **Determinación de la incidencia y severidad de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici***

Se determinó la severidad de la enfermedad producida por el hongo mediante el uso de la escala de Diener (2005) para cada tratamiento en:

0 ————— No hay presencia de síntomas.

1 ————— 10 % de afectación

2 ————— 25 % de afectación

3 ————— 50 % de afectación

4 ————— 70 % de afectación

5 ————— 100 % de afectación

El índice de la enfermedad fue calculado para cada tratamiento mediante el promedio de la escala de severidad de 18 plantas (Diener, 2005).

## **Variables evaluadas**

Variables de estomas

Índice (IE) y densidad estomática (DE) abaxial y adaxial, tamaño de estomas (largo y ancho) de la superficie abaxial y adaxial

Incidencia y severidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Variables histológicas

Raíz: grosor parénquima cortical, número de vasos de xilema mm<sup>-2</sup>, área de vaso de xilema.

Tallo: grosor de epidermis, grosor de parénquima cortical, número de vasos de xilema mm<sup>-2</sup>, área de vaso de xilema.

Hoja: grosor de epidermis, número de vasos de xilema mm<sup>-2</sup>.

### **Tratamientos:**

Fol+ Si (Plantas con la aplicación de Si e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*)

Si (Testigo relativo, plantas con la aplicación solamente de silicio)

Fol (Plantas inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* sin aplicación de Si)

To (Testigo absoluto, plantas sin aplicación de silicio y sin inóculo de patógeno).

### **Diseño experimental**

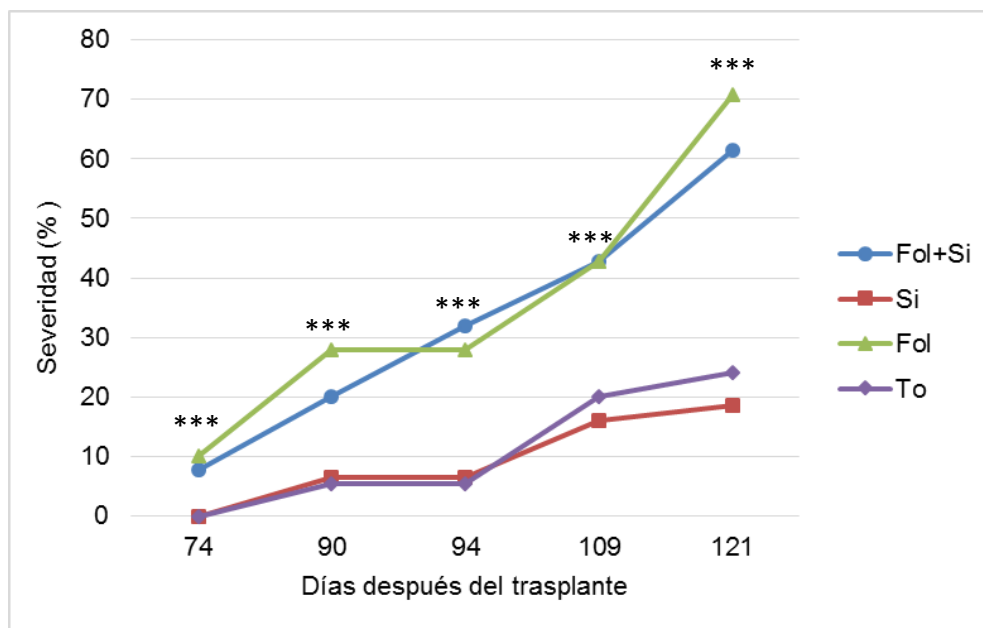
El diseño experimental utilizado fue bloques completos al azar. Se llevó a cabo un ANOVA así como una prueba de comparación de medias según LSD Fisher ( $\alpha \leq 0.05$ ), usando el programa SAS (Statistical Analysis System, 2002).

Se emplearon cuatro tratamientos para todas las mediciones. En la determinación de la severidad se emplearon 15 repeticiones, con un total de 60 unidades experimentales. Para el análisis de impresión de estomas se emplearon 12 repeticiones, con una suma de 48 unidades experimentales. En lo que respecta a la evaluación de micromorfología se utilizaron 3 repeticiones, dando un total de 12 unidades experimentales. La unidad experimental fue una planta por maceta.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Incidencia y severidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Los resultados obtenidos mostraron un efecto positivo en el grado de severidad de los síntomas causados por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en plantas de tomate, presentándose diferencias altamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) en todos los muestreos evaluados (Figura 1). Como era de suponerse en las plantas de los tratamientos que fueron asperjados con Si y el To presentaron menor nivel de daño. Los síntomas se manifestaron a partir de los 74 días después del trasplante (ddt) (primer muestreo) en las plantas de los tratamientos Fol+Si y Fol. La severidad de Fol fue incrementando a través del tiempo, el porcentaje de mayor severidad (70%) se presentó a los 121 ddt en las plantas que fueron inoculadas con Fol sin aplicación de Si, no obstante, en las plantas que fueron tratadas con Si más la inoculación del patógeno minimizó el grado de severidad en un 13.2%, en comparación al tratamiento Fol.



**Figura 1.** Dinámica de la severidad (%) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en plantas de tomate bajo aplicaciones de Si. \*, \*\*, \*\*\* Indican diferencias estadísticas <math><0.05</math>, <math><0.01</math>, <math><0.001</math> respectivamente.



Los resultados obtenidos son similares a otros estudios en los que han reportado la actividad beneficiosa del silicio en el control de enfermedades. Fortunato *et al.*, (2012) observaron en plantas de banano una reducción de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* del 12.37%. Resultados similares a lo obtenido en este trabajo, al reducirse 13.2 % la severidad de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, probando con ello que el suministro de silicio a las plantas tiene un gran potencial para reducir la intensidad de la marchitez de dicha enfermedad.

Asimismo, aplicaciones de silicato de potasio en plantas de frijol redujeron la severidad del marchitamiento causado por *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, donde los valores de gravedad de la enfermedad fue de 25-50 % en comparación de 75 % del testigo (Kidane, 2008).

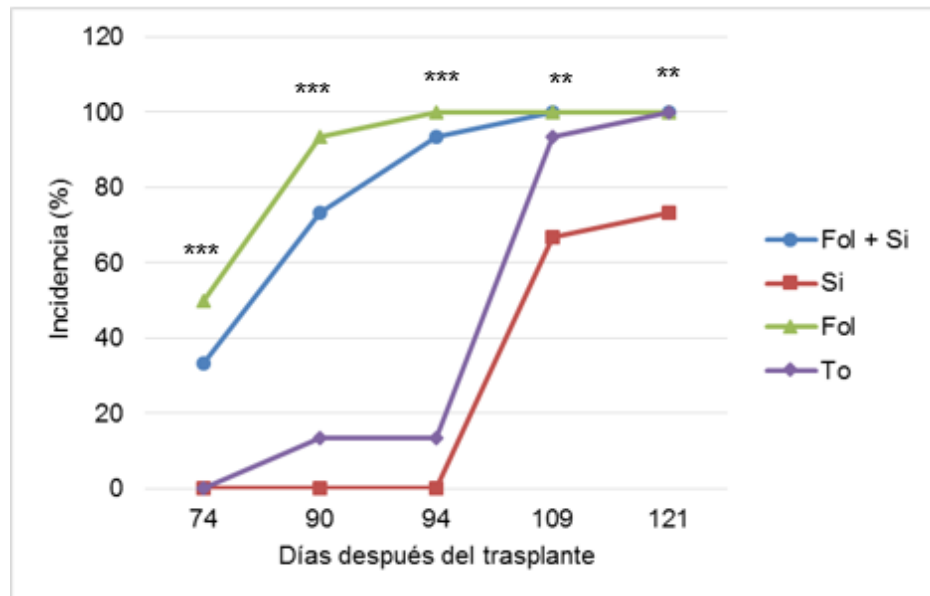
Posibles respuestas del silicio (silicato de potasio) para mitigar el daño inducido por el género *Fusarium* pueden derivarse a que puede ser tóxico para dichos organismos en altas concentraciones ( $>7840 \text{ mg L}^{-1}$ ), inhibiendo el crecimiento de hifas así como la germinación de esporas y la esporulación (Kidane, 2008).

Por otro lado, el silicio puede acumularse en los tejidos epidérmicos de las plantas, proporcionando mayor rigidez y protección a las paredes celulares contra la degradación enzimática causada por hongos patógenos, reduciendo así el grado de incidencia y severidad de la enfermedad (Piperno *et al.*, 2002).

Con respecto a la incidencia (%) hubo diferencias significativas, no obstante, a los 121 ddt todas las plantas presentaron algún nivel de daño causado por *F. oxysporum*, a excepción de las plantas tratadas solamente con Si (Figura 2). Indicando con esto que el silicio puede colaborar en el control del hongo, pero no evita por completo la presencia de la enfermedad en las plantas.

Agrios (2005) menciona que la marchitez vascular es una de las enfermedades más difíciles de controlar debido a la velocidad con que se desarrolla en el interior de las plantas, principalmente en los vasos de xilema de raíces y tallos, dentro de las cuales pueden propagarse las estructuras fungosas o bien sustancias que secreta el

hospedero en respuesta a la infección, provocando su obstrucción y por consiguiente la reducción del flujo de agua en un rango del 2-4 %, haciendo que la prevención y el posterior control de la infección sea prácticamente imposible.



**Figura 2.** Incidencia (%) de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en plantas de tomate bajo aplicaciones de Si. \*, \*\*, \*\*\* Indican diferencias estadísticas <0.05, <0.01, <0.001 respectivamente.

### Índice y densidad estomática

En la Tabla 1 se muestran los resultados del IE adaxial y abaxial de las hojas de tomate a 89 ddt, presentándose diferencias significativas en ambas variables. Los valores obtenidos indican que el IE de la parte adaxial fue 87.7 % mayor en las plantas a las que se les aplicó Si sin inóculo del patógeno, a diferencia del testigo que presentó el IE más bajo.

En el IE de la superficie abaxial también se encontraron diferencias estadísticas, al presentarse un incremento de 46.39 % en las plantas infectadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* bajo aplicaciones de silicio (Fol+Si), en oposición a las plantas sin suministro de Si e infectadas con el hongo (Fol) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Índice y densidad estomática de plantas de tomate inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* bajo aplicaciones de Si a 89 ddt.

Tratamiento	IE Adaxial	IE Abaxial	DE Adaxial	DE Abaxial
			(# estomas mm <sup>-2</sup> )	(# estomas mm <sup>-2</sup> )
<b>Fol+Si</b>	10.14 ab	26.16 a	9.79 a	35.20 a
<b>Si</b>	13.01 a	20.00 ab	18.41 a	32.17 a
<b>Fol</b>	10.57 ab	17.87 b	16.08 a	36.83 a
<b>To</b>	6.93 b	24.19 ab	10.02 a	42.19 a

Medias con la misma letra por columna son estadísticamente iguales (LSD Fisher,  $\alpha \leq 0.05$ ). IE: índice estomático. DE: densidad estomática.

Estos resultados sugieren que probablemente el silicio indujo tolerancia al estrés causado por el patógeno, ya que en los tratamientos To y Fol se observó un IE menor.

En otras investigaciones han reportado que el silicio induce cambios sobre las características estructurales y anatómicas de las hojas, Torabi *et al.*, (2015) reportaron un aumento del IE en plantas con aplicaciones de silicio sometidas a estrés salino.

Se considera que el IE es una función total de la radiación recibida y de las variaciones que presenta durante los días precedentes a la diferenciación estomática (Schoch *et al.*, 1980). Así de esta forma se puede explicar el aumento del IE en la superficie adaxial, ya que es la superficie que se encuentra más expuesta a la radiación solar, por lo que un mayor número de células epidérmicas aumenta la resistencia estomática incrementando la tolerancia de las plantas a condiciones estresantes (Cañizares *et al.*, 2003).

El incremento del IE se puede relacionar con la deposición de Si debajo de la cutícula de la hoja, como una doble capa (Si-cutícula) haciendo la superficie de la hoja más gruesa, lo cual puede llegar a alterar la permeabilidad del agua y bióxido de carbono y la cantidad de luz compuestos de señalización que influyen en el desarrollo de los estomas (Siregar *et al.*, 2016).

Por otro lado, Salisbury (1928) menciona que la distribución de los estomas está determinada por la iniciación estomática durante la ontogénesis y por la expansión de las células epidérmicas en la etapa de crecimiento foliar, de esta forma la deposición del Si en las paredes celulares no permite la expansión de las células para su diferenciación en estomas (Siregar *et al.*, 2016).

En la variable densidad estomática (DE) (Tabla 1) no se percataron diferencias significativas entre los tratamientos, no obstante se observó que las plantas con suministro de silicio (Si) presentaron un ligero incremento numérico en la DE adaxial (83.73 %), seguido por el tratamiento con inoculación del patógeno (Fol) (60.47 %), la DE más baja se observó en plantas del tratamiento Fol+Si al reducirlo 2.3 %, en comparación al testigo.

Asmar *et al.*, (2015) realizaron un estudio bajo condiciones *in vitro*, en el que encontraron que la presencia de silicatos en el medio de cultivo favoreció un mayor número de estomas en ambas caras de las hojas de banano.

De igual forma Dias *et al.*, (2014) reportaron resultados similares con el presente estudio, indicando que la adición de Si (silicato de sodio) promovía el desarrollo de densidades estomáticas superiores en plántulas de *A. andraeanum cv. rubi*.

En el cultivo de arroz la aplicación de Si fomentó un aumento en la densidad estomática ( $p < 0,01$ ) (Siregar *et al.*, 2016).

No obstante, en el tratamiento Fol + Si el resultado de una menor DE puede deberse a la infección provocada por el patógeno que afecta el movimiento del agua en las plantas, en este caso el Si pudo conferir tolerancia al estrés regulando el desarrollo de los estomas y así limitar la pérdida de agua por transpiración (Quero, 2009).

En la superficie abaxial se observó una DE mayor en todos los tratamientos en contraste de la DE adaxial, en este caso todos los tratamientos redujeron la DE, siendo las plantas suministradas con Si las que obtuvieron los menores resultados.

Sánchez- Díaz y Aguirreolea (1996) mencionaron que los estomas tienden a ser más frecuentes en la superficie abaxial de las hojas, lo cual explica por qué se observó una mayor DE en la superficie abaxial en todos los tratamientos, en comparación con la DE adaxial.

Además, la superficie abaxial se encuentra menos expuesta a la radiación, por lo que la presencia de un mayor número de estomas en esta superficie, responde a un mecanismo defensivo desarrollado por las plantas para evitar que la luz solar incida directamente sobre los estomas, y de esta forma reducir la pérdida de agua por transpiración (Álvarez y Reynaldo, 2015).

### **Tamaño de estomas**

En la Tabla 3 está representado el tamaño de estomas (ancho y largo) de la parte adaxial y abaxial de la hoja de plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* bajo aplicaciones de Si a los 89 ddt. En el ancho y largo de los estomas de la cara adaxial no hubo diferencias significativas entre tratamientos, pero ligeramente hay un incremento de ambas variables al asperjar silicio a las plantas. En la superficie abaxial si se presentaron diferencias significativas, donde la longitud del estoma del tratamiento Fol+Si fue 15.6 % mayor que el tratamiento infestado solamente con Fol, en tanto que para el ancho no se observaron diferencias significativas entre tratamientos.

**Tabla 2.** Tamaño de estomas de plantas de tomate inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* bajo aplicaciones de Si a 89 ddt.

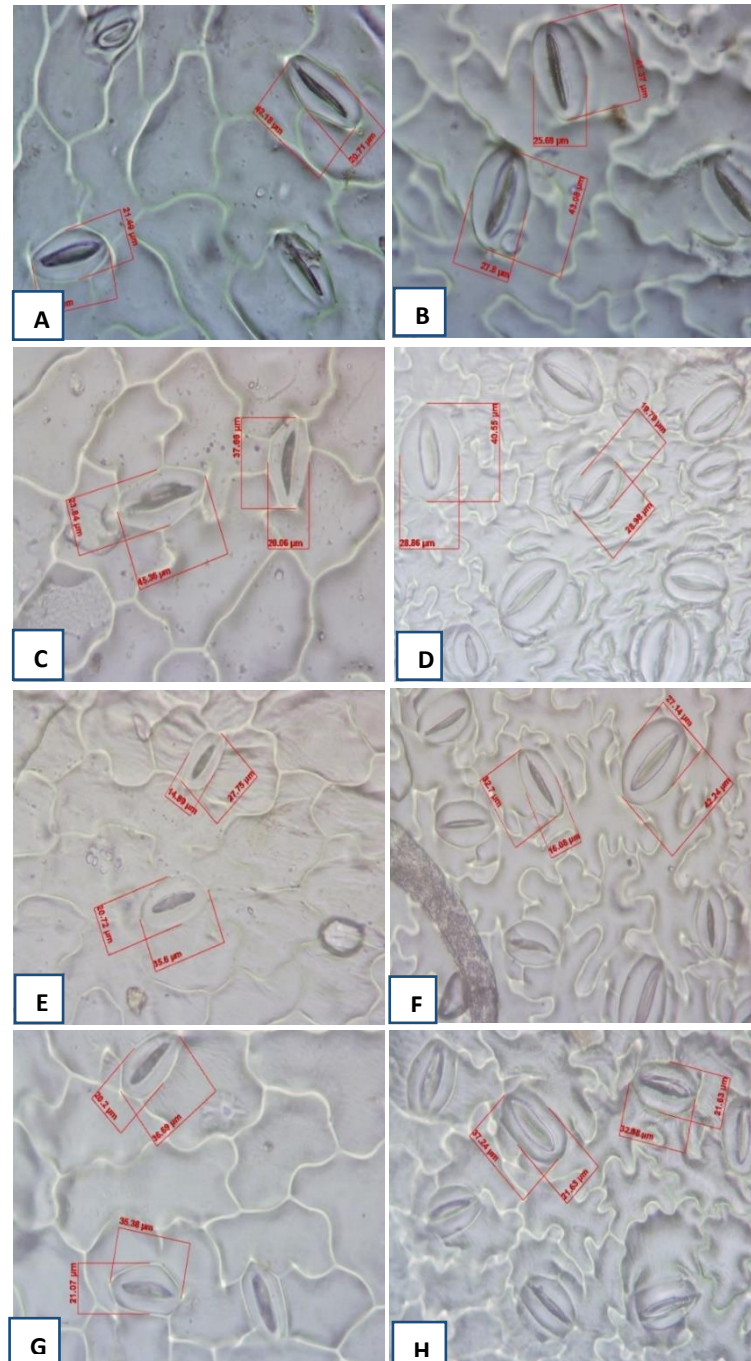
Tratamiento	TE Adaxial		TE Abaxial	
	Ancho ( $\mu\text{m}$ )	Largo ( $\mu\text{m}$ )	Ancho ( $\mu\text{m}$ )	Largo ( $\mu\text{m}$ )
<b>Fol+Si</b>	18.81 a	35.36 a	25.30 a	39.50 a
<b>Si</b>	18.84 a	33.91 a	22.49 a	35.64 ab
<b>Fol</b>	18.81 a	33.12 a	22.29 a	34.18 b
<b>To</b>	18.28 a	33.27 a	22.47 a	35.81 ab

Medias con la misma letra por columna son estadísticamente iguales (LSD Fisher,  $p \leq 0.05$ ). TE: tamaño de estoma.

Estos resultados muestran nuevamente que el silicio genera una respuesta en la planta, en este caso induciendo cambios en la longitud de los estomas de la superficie abaxial. La deposición de los cuerpos de sílice en las paredes de las células oclusivas que rodean al poro estomático pueden haber inferido para el incremento del tamaño de los estomas (Sangster *et al.*, 2001). Morikawa y Saigusa (2004) encontraron que el Si se acumula en la epidermis inferior alrededor de los estomas en las plantas de arándanos, esto podría explicar la mayor longitud en las células que componen al estoma.

No obstante, en las plantas infectadas con el patógeno sin suministro de silicio (Fol) la reducción del tamaño de los estomas pudo deberse a la respuesta de la planta ante el ataque, reduciendo la longitud de sus células para evitar la proliferación del hongo y la infección a otros tejidos, puesto que son una importante vía para la entrada de estos agentes en las plantas (Zeng *et al.*, 2010).

En la Figura 3 se muestran las microfotografías de las mediciones de estomas de plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* bajo aplicaciones de silicio.



**Figura 3.** Microfotografías de las mediciones de estomas de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a 89 ddt. A) Fol +Si Adaxial, B) Fol + Si Abaxial; C) Si Adaxial, D) Si Abaxial; E) Fol Adaxial, F) Fol Abaxial; G) To Adaxial, H) To Abaxial; ddt: días después del trasplante.

## **Epidermis en tallo**

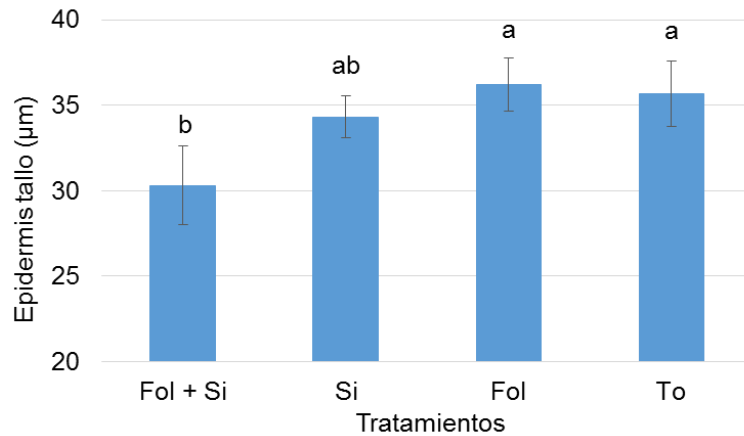
En la Figura 4 se representa el grosor de la epidermis del tallo ( $\mu\text{m}$ ), los resultados muestran diferencias significativas entre tratamientos. La comparación de medias manifiestan diferencias entre el To y el tratamiento Fol+Si donde este tratamiento mostro una reducción del 15%. Aunque los tratamientos To, Fol y Si mostraron un comportamiento similar, se aprecia un decremento del 3.71% en las plantas tratadas solamente con Si, así como un aumento del 1.57% en el tratamiento Fol en comparación al To.

La reducción de la epidermis del tallo que se presenta en el tratamiento Fol+Si puede atribuirse como respuesta de la planta por contrarrestar el ataque de *Fusarium*, ya que existe la muerte celular programada aleadaña a los sitios de penetración del patógeno, con la finalidad de evitar la proliferación hacia el sistema vascular, puesto que la infección por fusarium comienza su proceso de infección en el sistema dérmico, que es una de las primeras líneas estructurales de defensa de las plantas (González *et al.*, 2012).

Por otro lado Vargas (2011) menciona que cuando se modifica la estructura química de la pared celular se vuelve más rígida y menos susceptible a la expansión, y aunado a que el Si es acumulado en la pared celular de las células volviéndolas más rígidas y compactas (Epstein, 2009; Savvas y Ntatsi, 2015) se alude que el silicio influyó en la reducción epidérmica, resultado similar a lo reportado por Dias *et al.*, (2014) quienes también encontraron un adelgazamiento de la epidermis de plántulas de *Anthurium cv. rubi* cultivadas en un medio con silicato de sodio.

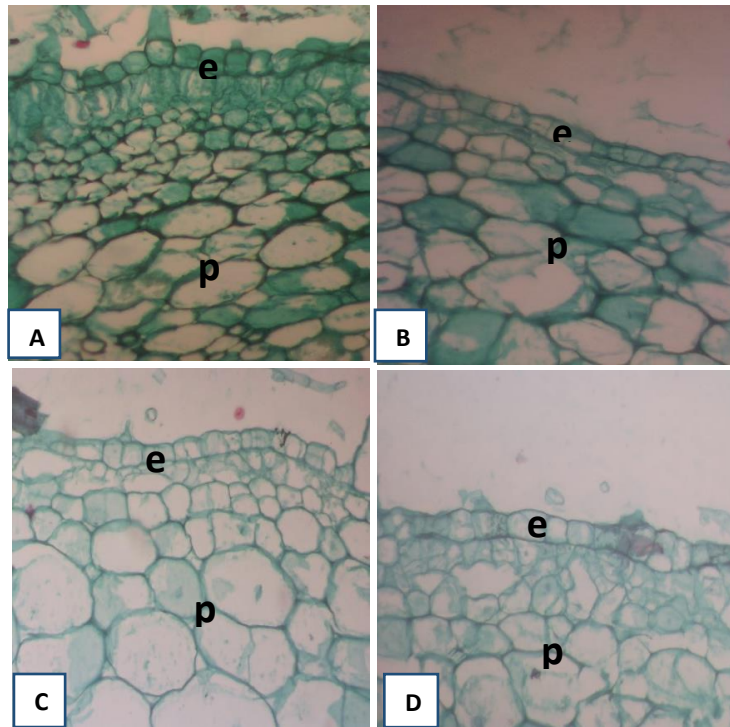
No obstante, el grosor de la epidermis en Fol se puede inferir que al no disponer de la rigidez proporcionada por la deposición del silicio en las paredes celulares las plantas infectadas se vieron obligadas a contrarrestar el ataque mediante la división de las células epidérmicas, ya que Vargas (2011) menciona que las células epidérmicas son capaces de diferenciarse y adquirir actividad meristemática después de sufrir lesiones o heridas que requieran ser reparadas.





**Figura 4.** Grosor de la epidermis ( $\mu\text{m}$ ) en tallo de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a 89 ddt.

En la figura 5 se muestran las microfotografías de la epidermis en tallo de plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* bajo aplicaciones de silicio.



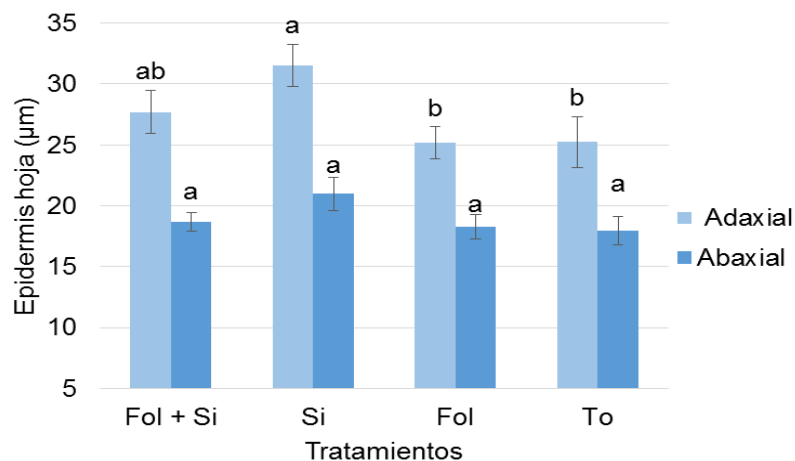
**Figura 5.** Microfotografías de la epidermis en tallo de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) To; D) Fol; e: epidermis, p: parénquima. ddt: días después del trasplante.

## Epidermis en hoja

Los resultados obtenidos en el grosor de la epidermis adaxial en hoja ( $\mu\text{m}$ ) muestran diferencias entre tratamientos (Figura 6), se puede observar que las plantas con aplicaciones de silicio (Fol+Si y Si) mostraron un mayor grosor de la epidermis con un incremento del 9.78 % y 24.92 % respectivamente, a diferencia del To y las plantas infectadas con el hongo sin aplicaciones de silicio (Fol).

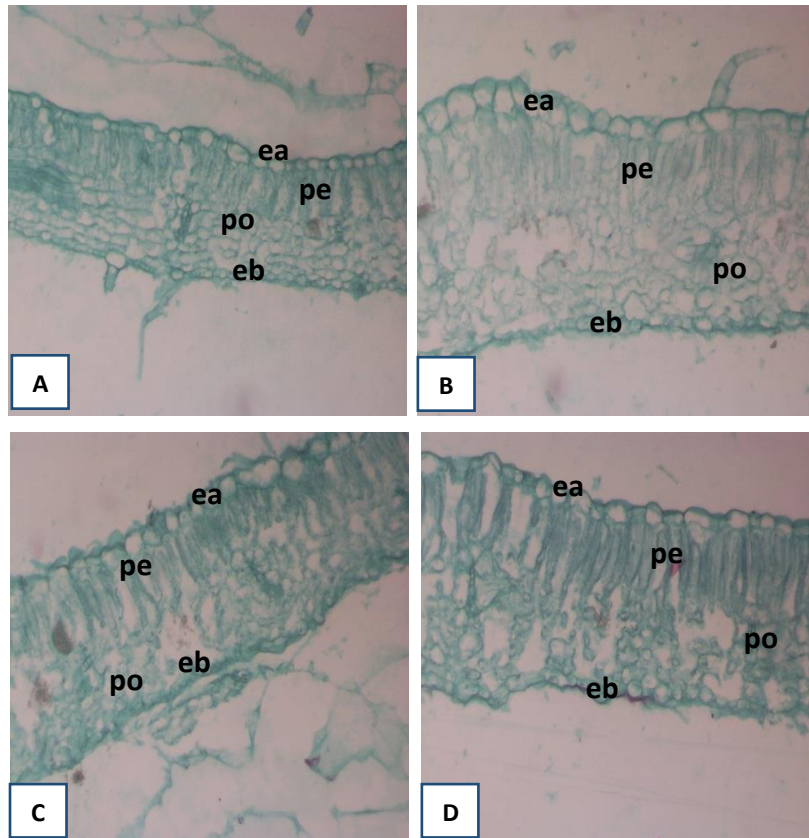
En la epidermis abaxial no se mostraron diferencias significativas entre tratamientos (Figura 6), sin embargo, se presentó un mayor grosor en las hojas de las plantas suministradas con silicio, en los tratamientos Fol+Si y Si hubo un incremento del 16.69 % y 3.72 % respectivamente, en comparación con el testigo.

Este incremento del grosor de la epidermis en hoja puede estar relacionada con el suministro del silicio, por ejemplo Raven (2003) menciona que el silicio se absorbe de una forma similar al agua, mediante el flujo transpiratorio hacia las hojas, en donde es acumulado en las paredes celulares al evaporarse el agua, depositándose en cantidades mayores en los tejidos en los que se pierde más agua, lo cual explica los resultados obtenidos en este estudio, ya que el grosor de la epidermis de las hojas fue superior al tallo.



**Figura 6.** Grosor de la epidermis ( $\mu\text{m}$ ) en hoja de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a 89 ddt.

En la Figura 7 se muestran las microfotografías de la epidermis adaxial y abaxial de las hojas de plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* bajo aplicaciones de silicio.

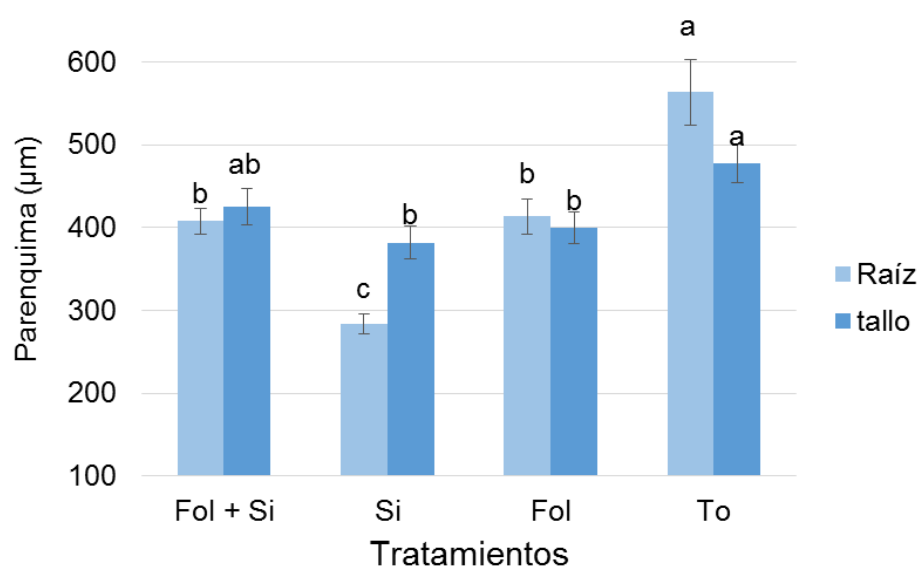


**Figura 7.** Microfotografías de la epidermis en hoja de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; ea: epidermis adaxial, eb:epidermis abaxial, pe: parénquima en empalizada, po: parénquima esponjoso.

### **Parénquima cortical en raíz y tallo**

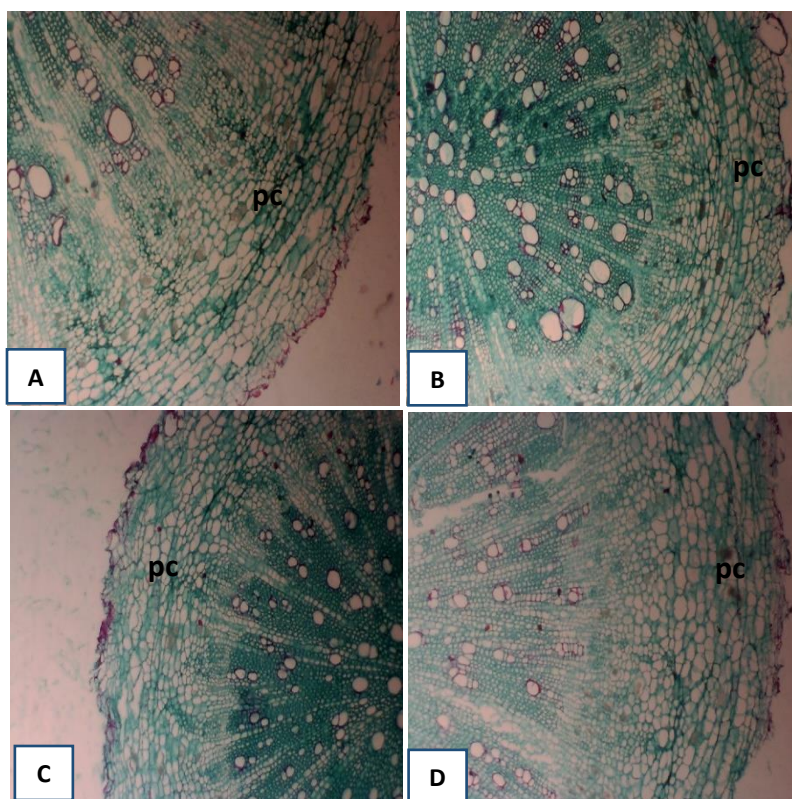
En la Figura 8 se muestran los resultados del grosor del parénquima cortical ( $\mu\text{m}$ ) en raíz y tallo, se observó diferencias significativas entre tratamientos en ambas variables. El parénquima de la raíz, en las plantas con suministro de silicio presentaron una reducción del 27.71 % (Fol+Si) y 49.69 % (Si), en comparación con el testigo.

En lo que respecta al tallo al igual que en la raíz, las plantas con aplicación de silicio mostraron una reducción del 10.87 % (Fol+Si) y 19.96 % (Si), en comparación con el testigo. La reducción del parénquima podría deberse a la acumulación del silicio en las paredes celulares que al volverlas más rígidas limita su capacidad de expansión (Peña, 2011), al observarse lo mismo en la epidermis del tallo podría considerarse que el silicio modifica la composición de la pared celular favoreciendo su rigidez y grado de compactación de las células que componen los tejidos.



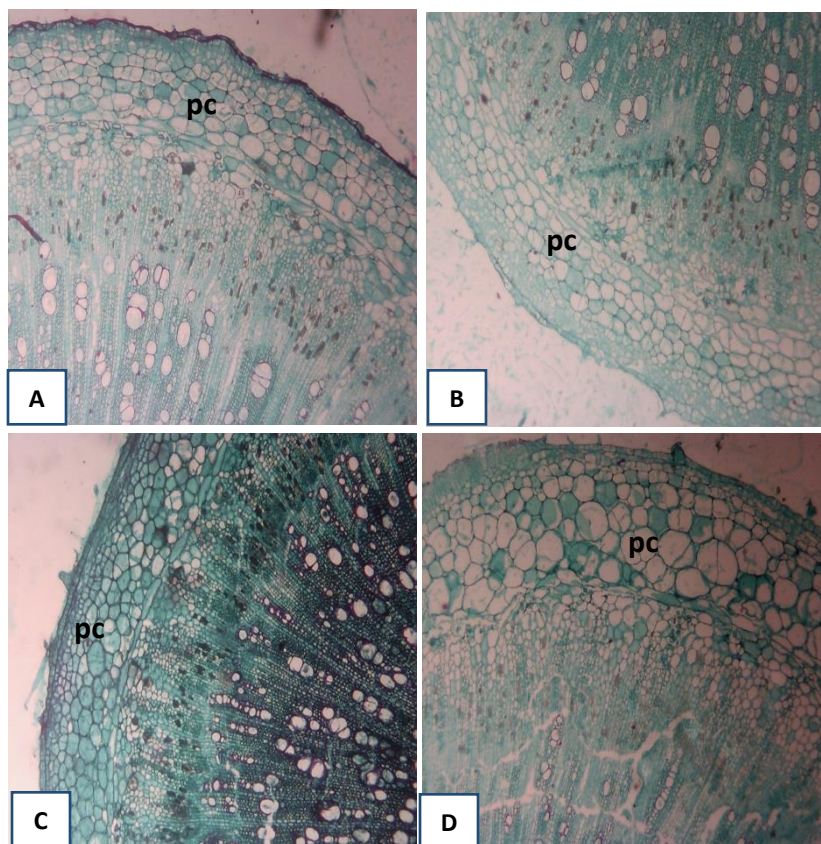
**Figura 8.** Grosor del parénquima ( $\mu\text{m}$ ) en raíz y tallo de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a 89 ddt.

En la Figura 9 se muestran las microfotografías del parénquima cortical de la raíz de plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* bajo aplicaciones de silicio.



**Figura 9.** Microfotografías del parénquima cortical en raíz de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; pc: parénquima cortical.

En la Figura 10 se muestran las microfotografías del parénquima cortical en tallo de plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* bajo aplicaciones de silicio.

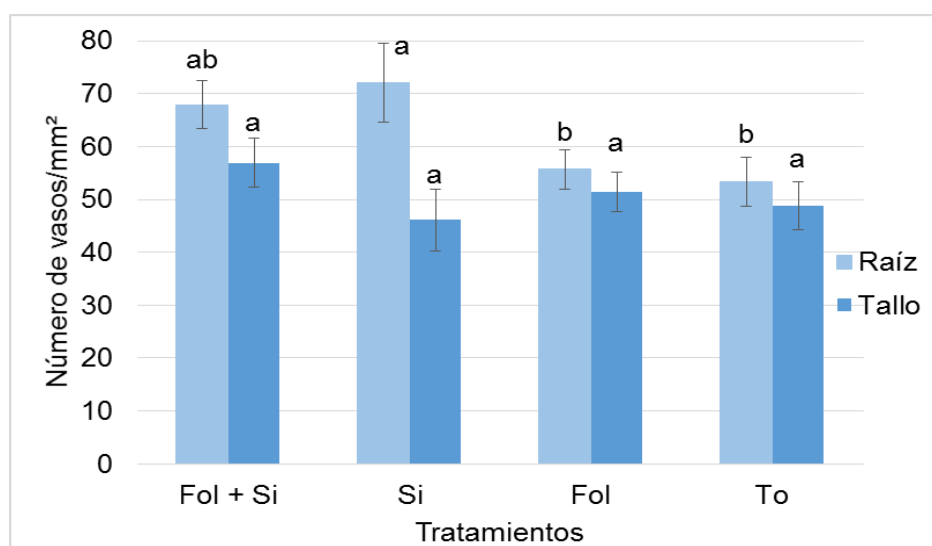


**Figura 10.** Microfotografías del parénquima cortical en tallo de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; pc: parénquima cortical; ddt: días después del trasplante.

### **Número de vasos de xilema mm<sup>-2</sup> en raíz y tallo**

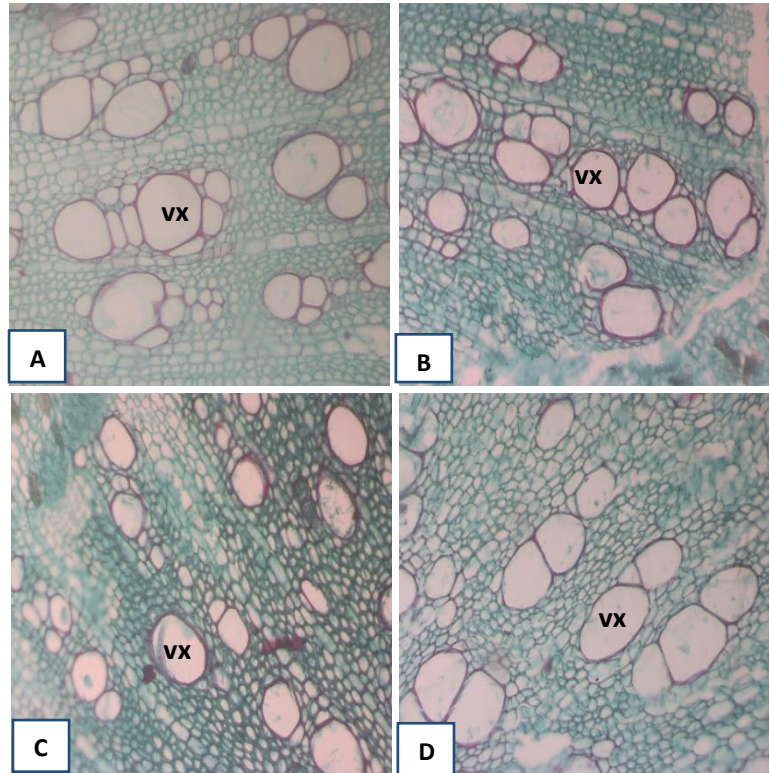
En la Figura 11 se muestran los resultados del número de vasos de xilema mm<sup>-2</sup> en raíz y tallo donde se apreciaron diferencias entre tratamientos, el número de vasos de la raíz fue 35.24 % superior en el tratamiento Si en comparación con el testigo, seguido del tratamiento Fol+Si con un incremento del 27.36 %, el tratamiento Fol tuvo un comportamiento similar al testigo. En el caso del tallo no hubo diferencias significativas, sin embargo los tratamientos que presentaron un incremento para esta variable fueron Fol+Si con 16.65 % y Fol con un 5.16 %, no obstante el tratamiento Si mostró una reducción del 5.47 % en comparación al testigo.

Estos resultados indican que el silicio favorece el número de vasos de xilema  $\text{mm}^{-2}$  en las plantas, pudiendo estar relacionado con la capacidad para reducir la severidad de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Figura 1). Los resultados de este trabajo posiblemente se originaron por la deposición del silicio en la pared celular confiriendo mayor rigidez, lo cual ayudó a evitar que los vasos de xilema fueran invadidos y destruidos por el hongo, ya que *Fusarium* afecta principalmente el sistema vascular.



**Figura 11.** Número de vasos de xilema  $\text{mm}^{-2}$  en raíz y tallo de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a 89 ddt.

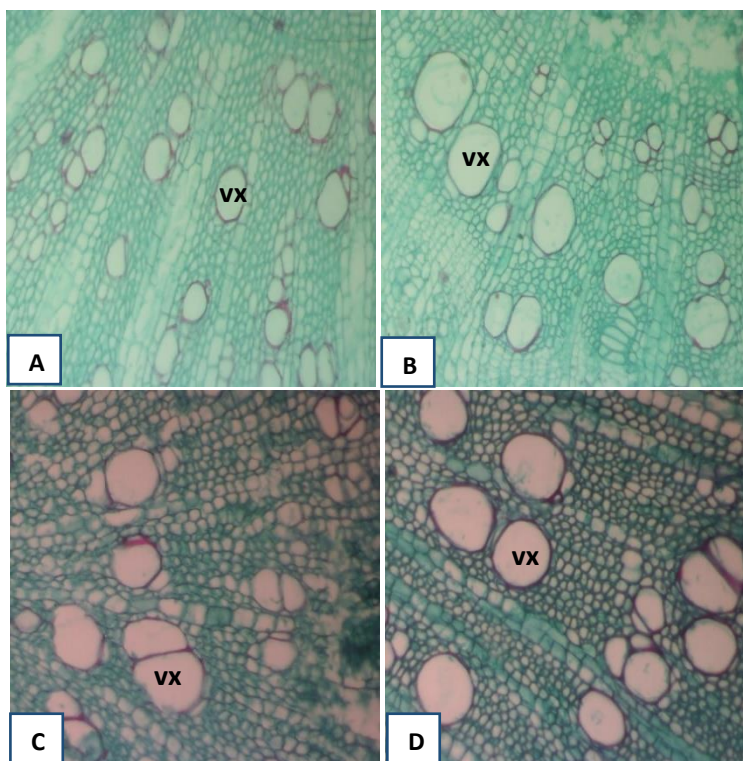
En la Figura 12 se muestran las microfotografías de los vasos de xilema en raíz de plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* bajo aplicaciones de silicio.



**Figura 12.** Microfotografías de los vasos de xilema en raíz de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; vx: vaso de xilema.

En la Figura 13 se muestran las microfotografías de los vasos de xilema en tallo de plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* bajo aplicaciones de silicio.

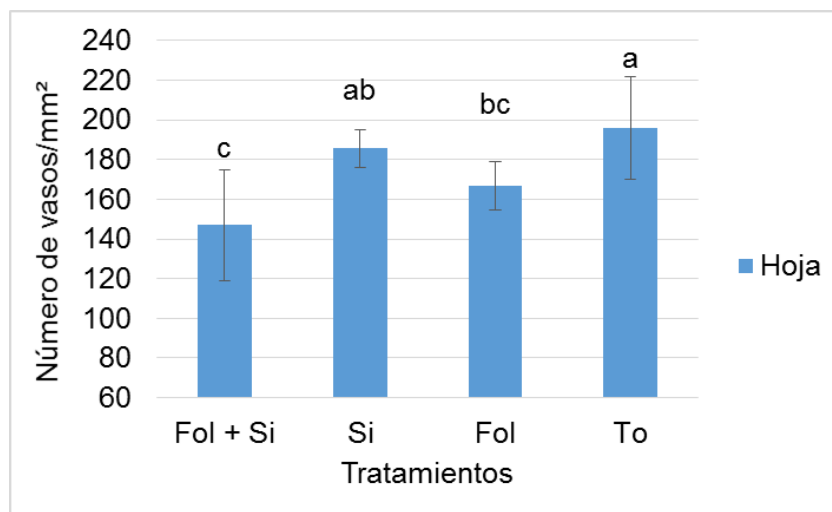




**Figura 13.** Microfotografías de los vasos de xilema en tallo de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; vx: vaso de xilema.

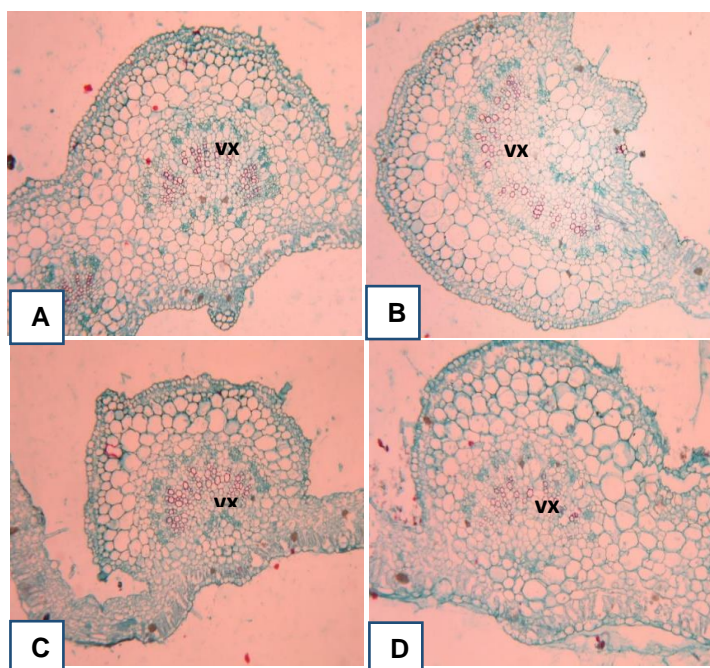
### Número de vasos de xilema mm<sup>2</sup> en hoja

Los resultados para la hoja (Figura 14) muestran diferencias significativas entre tratamientos, sin embargo en este órgano se observó un menor número de vasos de xilema en todos los tratamientos respecto al testigo, siendo el tratamiento Fol+Si el que presentó la mayor reducción con 25 %, seguido por Fol con un 14.8 % y Si con 5.27 %. La reducción de los vasos del xilema ha sido reportado por De Cal *et al.*, (2004) al encontrar un descenso del 20 % en el número de vasos de xilema en plantas de tomate infectadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.



**Figura 14.** Número de vasos de xilema mm<sup>-2</sup> en hojas de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a 89 ddt.

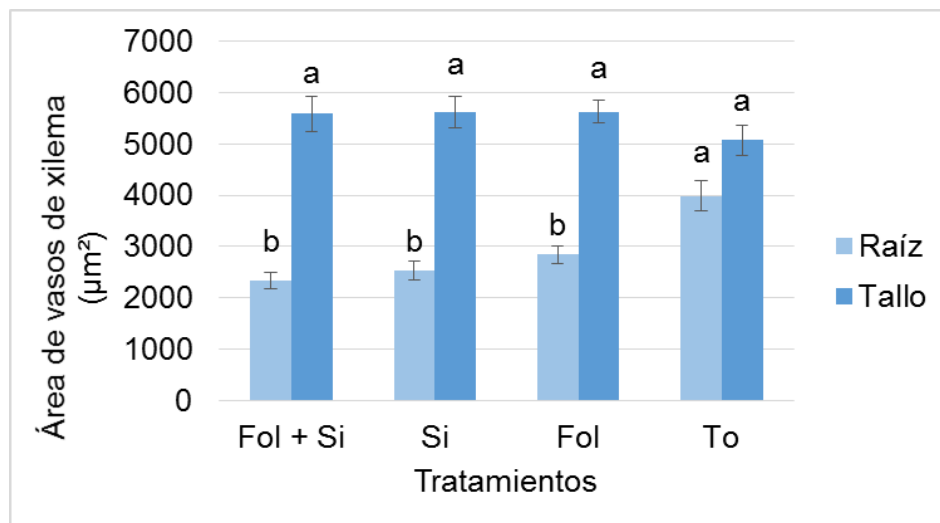
En la Figura 15 se muestran las microfotografías de los vasos de xilema en hoja de plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* bajo aplicaciones de silicio.



**Figura 15.** Microfotografías de los vasos de xilema mm<sup>-2</sup> en hojas de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; vx: vaso de xilema; ddt: días después del trasplante.

## Área de vasos de xilema en raíz y tallo

Los resultados obtenidos para el área de vasos de xilema se muestran en la Figura 16, solamente en la raíz se observaron diferencias significativas en los tratamientos. Los tratamientos Fol+Si, Si y Fol indujeron una reducción del 41.19 %, 36.44 % y 28.73 % respectivamente, del área de vaso de xilema de la raíz en comparación al testigo. Las plantas suministradas con silicio mostraron una menor área de vaso de xilema derivado de la modificación de la pared celular, ya que se ha reportado que los cristales de silicio son depositados en las paredes celulares de los vasos de xilema confiriendo una mayor resistencia al ataque de *F. oxysporum* (Gomes *et al.*, 2006). También puede estar relacionado con una respuesta de defensa de la planta, ya que una menor área evita la proliferación del hongo en el sistema vascular, puesto que las especies del género *Fusarium* colonizan el sistema vascular bloqueando el flujo de agua, dando como resultado la marchitez de la planta.



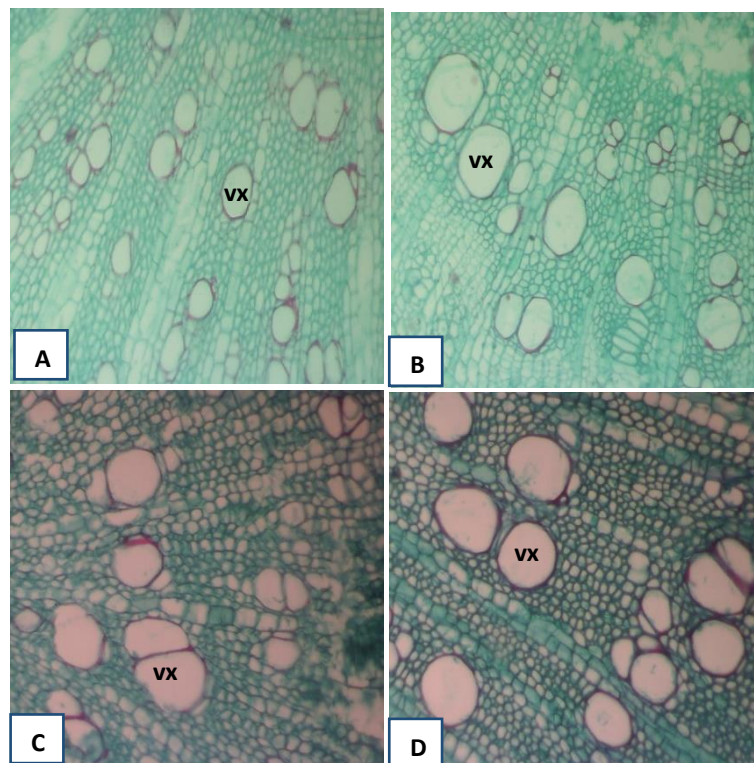
**Figura 16.** Área de vasos de xilema ( $\mu\text{m}^2$ ) de raíz y tallo en plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a 89 ddt.

En lo que respecta al área de vaso de xilema en tallo aunque no se encontraron diferencias significativas, el tratamiento Fol+Si presentó un incremento del 10 % en el

área, y los tratamientos Si y Fol mostraron una reducción del 10% en comparación con el testigo.

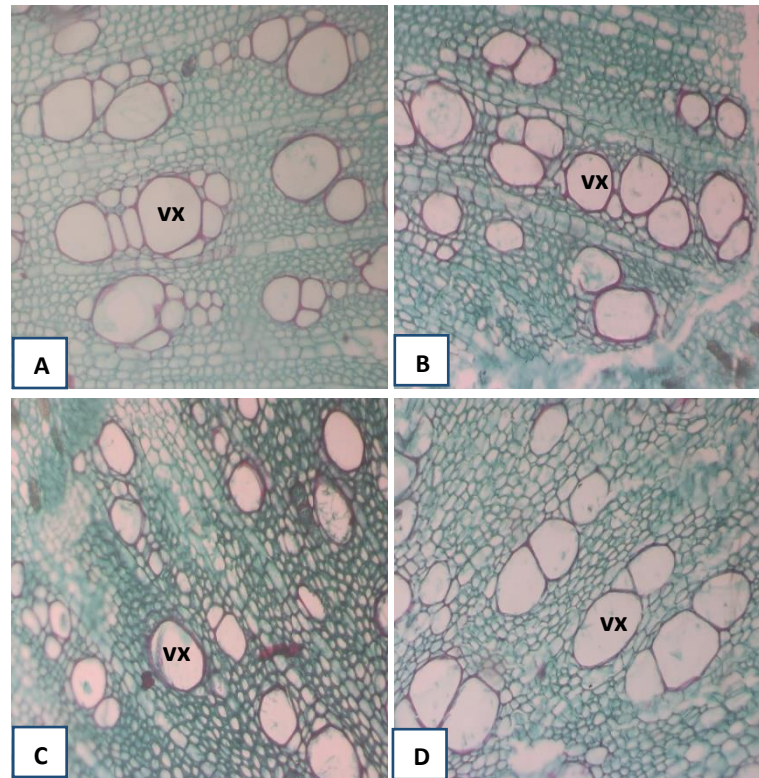
Una explicación del porqué en el tallo no se observó un efecto de los tratamientos, quizá esté relacionado con el patrón de colonización del patógeno, ya que inicia en la raíz, avanza hacia la endodermis y finalmente penetra los tejidos vasculares, en este caso el efecto de *Fusarium* fue principalmente en las raíces al observarse una reducción del área de los vasos, evitando con ello el avance del patógeno a otros órganos de la planta, afectando lo menos posible las estructuras vasculares del tallo.

En la Figura 17 se muestran las microfotografías de los vasos de xilema en raíz de plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* bajo aplicaciones de silicio.



**Figura 17.** Microfotografías del área de vasos de xilema en raíz de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; vx: vaso de xilema.

En la Figura 18 se muestran las microfotografías de los vasos de xilema en tallo de plantas de tomate inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* bajo aplicaciones de silicio.



**Figura 18.** Microfotografías del área de vasos de xilema en tallo de plantas de tomate bajo aplicaciones de silicio e inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* a los 89 ddt. A) Fol + Si; B) Si; C) Fol; D) To; vx: vaso de xilema.

## CONCLUSIONES

La aplicación de silicio mostró un efecto positivo en la reducción de la severidad de los síntomas causados por *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* en el cultivo de tomate.

El silicio favoreció el incremento del índice estomático, la longitud de estomas en la superficie abaxial, y el grosor de la epidermis en hoja.

El suministro de silicio redujo el grosor de la epidermis en tallo y el grosor del parénquima cortical en raíz y tallo.

La aplicación de silicio favorece una menor área de vasos de xilema en raíz y tallo, y muestra un efecto positivo en el número de vasos de xilema.

Los resultados de esta investigación sugieren que el silicio indujo cambios en la micromorfología epidérmica y vascular de plantas de tomate, reforzando las estructuras de defensa, dado que se mostró una reducción en la severidad de los síntomas causados por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

## LITERATURA CITADA

- Agrios G.N. (2005). Fitopatología. 5ed. Limusa, México, D.F.
- Aguilar G, J. C. (2012). Aplicación de silicio en tomate y su efecto en la calidad nutricional. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.46 pp.
- Aguirre, C., Chávez, T., García , P., y Raya, J. C. (2007). El Silicio en los Organismos Vivos. *Interciencia*, 32(8), 504-509.
- Alcántar González, G., y Trejo Tellez, L. (2006). *Nutrición de Cultivos*. Madrid, España: Paraninfo.
- Almenar, M.I.V., Rodie, J.U.,Cortada, G.E.,Sarle,J.G.,Ayala, I.L., y Ginjuan, D.I.R. (2013). *Poscosecha de pera, manzana y melocotón*. Madrid, España: Mundi-Prensa Libros.
- Álvarez Bello, I., y Reynaldo Escobar , I. M. (2015). Efecto del pectimorf® en el índice estomático de plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Cultivos Tropicales*, 36(3), 82-87.
- Andrade-Hoyos, P., Molina Gayosso, E., De León, C., Barquera, E., de la Cruz, M., Alvarado Rosales, D., and López Jiménez, A. (2015). Mecanismos de defensa en portainjertos de aguacate ante *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 6(2), 347-360.
- Arauz Cavallini, L. F. (1998). Fitopatología: un enfoque agroecológico. San José, Costa Rica: Universidad de Costa Rica, 467pp.
- Ascencio-Álvarez, A., López-Benítez, A., Borrego-Escalante, F., Rodríguez-Herrera, S. A., Flores-Olivas, A., Jiménez-Díaz, F., y Gámez-Vázquez, A. J. (2008). Marchitez vascular del tomate: I. Presencia de razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 26(2), 114-120.

- Asmar, S. A., Castro, E. M., Pasqual, M., Pereira, F. J., and Soares, J. D. (2013). Changes in leaf anatomy and photosynthesis of micropropagated banana plantlets under different silicon sources. *Scientia Horticulturae*, 161, 328-332.
- Asmar, S. A., Soares, J. D. R., Silva, R. A. L., Pasqual, M., Pio, L. A. S., De Castro, E. M. (2015). Anatomical and structural changes in response to application of silicon (Si) in vitro during the acclimatization of banana cv. 'Grand Naine'. *Australian Journal of Crop Science*, 9(12): 1236-1241.
- Bautista Hernández, C. (2005). Complejo Poliácido Acrílico – Quitosán (PAA-Q) y Ácido Salicílico en Solución Natural sobre Anatomía Epidérmica en Tomate Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, 77pp.
- Báez-Valdez, E. P., Carrillo-Fasio, J. A., Báez-Sañudo, M. A., García-Estrada, R. S., Valdez-Torres, J. B., y Contreras-Martínez, R. (2010). Uso de Portainjertos Resistentes para el Control de la Fusariosis (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder & Hansen raza 3) del Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en Condiciones de Malla Sombra. *Revista mexicana de fitopatología*, 28(2), 111-123.
- Bélanger R.R, Bowen P.A, Ehret D.L, Menzies J.G. (1995). Soluble silicon: it's role in crop and disease management of greenhouse crops. *Plant Disease*. 4: 329-336.
- Benhamou N. and Belángier R.R. (1998). Benzothiadiazole – Mediated Induced Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis – lycopersici* in Tomato. *Plant Physiology*. 4: 1203-1212.
- Braga Tavares, F., Nunes Ferreira, C., Favero, A. C., Pasqual, M., Guedes de Carvalho, J., y de Castro , E. M. (2009). Características anatômicas de mudas de morangueiro micropropagadas com diferentes fontes de silício. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44(2), 128-132.



- Castellanos González , L., de Mello Prado, R., y Silva Campos, C. N. (2015). El Silicio en la Resistencia de los Cultivos. *Cultivos trópicos*, 36 (especial), 16-24.
- Cañizares, A., Sanabria, M., Rodríguez , D. A., y Perozo, Y. (2003). Características de los estomas, índice y densidad estomática de las hojas de lima Tahití (*Citrus latifolia* Tanaka) injertada sobre ocho patrones cítricos. *Revista UDO Agrícola*, 3(1), 59-64.
- CONABIO. (2017). Obtenido de Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad: <http://www.biodiversidad.gob.mx/usos/alimentacion/jitomate.html>
- Croxdale, J. L. (2000). Stomatal Patterning in Angiosperms. *American Journal of Botany*, 87(8), 1069-1080.
- Cruz Borrueal, M., Hernández Fundora, Y., y Rivas Figueredo, E. (2006). Mecanismos de resistencia de las plantas al ataque de patógenos y plagas. *Temas de Ciencia y Tecnología*, 10(29), 45-54.
- Chitarra , W., Gilardi, G., Cogliati, E. E., Pugliese, M., Gullino, M. L., Garibaldi, A. (2013). Effects of silicon and concentration of nutrient solution on the control of Fusarium wilt of tomato. *Journal Protezione delle Colture* (2): 59-60.
- De Cal, A., Larena, I., Sabuquillo, P., y Melgarejo, P. (2004). Control de la marchitez vascular del tomate mediante aplicación de biofungicidas. *Horticultura: Revista de industria, distribución y socioeconomía hortícola*, (1): 118-125.
- Dias, G. D. M. G., Rodrigues Soares, J. D., Pasqual, M., Lara Silva, R. A., Rodrigues, L. C. D. A., Pereira, F. J., and de Castro, E. M. (2014). Photosynthesis and leaf anatomy of 'Anthurium' cv. *rubi* plantlets cultured 'in vitro' under different silicon (Si) concentrations. *Australian Journal of Crop Science*, 8(8): 1160-1167.
- Diener A.C. and Ausubel F.M. (2005). Resistance to *Fusarium oxysporum* 1, a Dominant Arabidopsis Disease-Resistance Gene, Is Not Race Specific. *Genetics*. 1: 305 – 321.

- Dios-Delgado, I., Sandoval-Villa, M., Rodríguez-Mendoza, M. d., Cárdenas Soariano, E. (2006). Aplicaciones foliares de calcio y silicio en la incidencia de mildiu en lechuga. *Terra Latinoamericana*, 24(1), 91-98.
- Eburneo, L., Silva, I. V., Gomes, N., Alves, S., Ribeiro Junior, N. G., Silva, G. C. (2013). Influência do silício na morfoanatomia, densidade e índice estomático / *Seminário de Biodiversidade Agroecossistemas*. Alta Floresta-MT.
- Esau, K. (1985). *Anatomía Vegetal* (3° ed.). Barcelona, España: OMEGA.
- Eshraghi, L., Anderson, J., Aryamanesh, N., Shearer, B., McComb, J., Hardy, G. S., O'Brien, P. A. (2011). Phosphite primed defence responses and enhanced expression of defence genes in *Arabidopsis thaliana* infected with *Phytophthora cinnamomi*. *Plant Pathology*, 60, 1086–1095.
- Fauteux, F., Chain, F., Belzile, F., Menzies, J. G., and Bélanger, R. R. (2006). The protective role of silicon in the *Arabidopsis*–powdery mildew pathosystem. *Proceedings of the National Academy of Science*, 103(46), 17554–17559.
- Fauteux, F., Rémus-Borel, W., Menzies, J. G., and Bélanger, R. R. (2005). Silicon and plant disease resistance against pathogenic fungi. *FEMS Microbiology Letters*, 249(1), 1-6.
- Fawe, A., Abou-Zaid, M., Menzies, J. G., and Bélanger, R. R. (1998). Silicon-mediated accumulation of flavonoid phytoalexins in cucumber. *Phytopathology*, 88(5), 396-401.
- Fernández-Herrera, E., Ruiz, J. G., Puente, E. R., y Ramos, M. A. (2013). Patógenos y síntomas asociados a la marchitez del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en Texcoco México. *Biotecnía*, 15(3), 46-50.
- Fortunato, A. A., Ávila Rodrigues, F., and Teles do Nascimento, K. J. (2012). Physiological and Biochemical Aspects of the Resistance of Banana Plants to *Fusarium* Wilt Potentiated by Silicon. *Phytopathology*, 102(10), 957-966.

- Fortunato, A. A., Ávila Rodrigues, F., Parpaiola Baroni, J., Barbosa Soares, G. C., Dita Rodriguez, M. A., Liparini Pereira, O. (2012). Silicon Suppresses Fusarium Wilt Development in Banana Plants. *Journal of Phytopathology*, 160(11-12), 674–679.
- Ghareeb, H., Bozsó, Z., Ott, P. G., Repenning, C., Stahl, F., y Wydra, K. (2011). Transcriptome of silicon-induced resistance against *Ralstonia solanacearum* in the silicon non-accumulator tomato implicates priming effect. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 75(3), 83-89.
- Gomes Batista F, Campos de Moraes J, Donizete dos Santos Custódio. (2005). Resistance induction in wheat plants by silicon and aphids. *Scientia Agrícola*. 6: 547-551.
- Gómez , D. E., y Reis, E. M. (2011). Inductores abióticos de resistencia contra fitopatógenos. *Revista Química Viva*, 1(10), 6-17.
- Gómez Camacho R, Rodríguez Mendoza Ma. De las N, Cárdenas Soriano E, Sandoval Villa M, Colinas de León M.T. (2006). Fertilización foliar con silicio como alternativa contra la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* (sheld) en tomate de cáscara. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 1: 69 –75
- González, I., Yailén, A., y Peteira, B. (2012). Aspectos generales de la interacción *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* - tomate. *Revista de Protección Vegetal*, 27(1), 1-7.
- González-Morales, S., Benavides-Mendoza, A., García-Enciso, E. L., Rodríguez-Campos, E., Flores-Olivas, A. (2015). Efecto de las alcaloides como inductores de tolerancia. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, Pub. Esp*(12), 2371-2382.
- Hernández Martínez, R., López Benítez, A., Borrego Escalante, F., Espinoza Velázquez, J., Sánchez Aspeytia, D., Maldonado Mendoza, I., López Ochoa, L.

- (2014). Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en predios tomateros en San Luis Potosí. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(7), 1169-1178.
- Hernández, Y., Portillo, F., Portillo, M., Navarro, C., Rodríguez, M., Velasco, J. (2006). Densidad estomática en materiales de plátano (*Musa* AAB, AAAB y ABB) susceptibles y resistentes a Sigatoka Negra (*Mycosphaerella fijiensis*, Morelet). *Revista de la Facultad de Agronomía*, 23(3), 292-297.
- Huang, C. H., Roberts, P. D., and Datnoff, L. E. (2011). Silicon suppresses *Fusarium* crown and root rot of tomato. *Journal of Phytopathology*, 159(7-8), 546-554.
- Jaimes Suárez, Y. Y., Moreno Velandia, C., y Cotes Prado, A. (2009). Inducción de resistencia sistémica contra *Fusarium oxysporum* en tomate por *Trichoderma koningiopsis* Th003. *Acta biológica colombiana*, 14(3), 111-120.
- Jerba, V. d., Rodella, R., Furtado, E. L. (2005). Relação entre a estrutura foliar de feijoeiro e a pré-infecção por *Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 40(3), 217-223.
- Kidane, E. G. (2008). Management of *Fusarium* Wilt Diseases Using Non-pathogenic *Fusarium oxysporum* and Silicon. Tesis de Doctorado. University of KwaZulu-Natal, Pietermaritzburg, South Africa.
- Kiirika, L. M., Stahl, F., and Wydra, K. (2013). Phenotypic and molecular characterization of resistance induction by single and combined application of chitosan and silicon in tomato against *Ralstonia solanacearum*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 81, 1-12.
- López Guisa, D. (2013). Efecto del silicio en las principales enfermedades foliares del rosal (*Rosa* spp.). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México, 71pp.
- Luz Queiroz, J. M., Asmar, S. A., Pasqual, M., Gomes de Araujo, A., Pio, L., and Ferreira Resende, R. (2012). Modifications in Leaf Anatomy of Banana Plants

- Cultivar 'Maçã' Subjected to Different Silicon Sources In Vitro. *Acta horticulturae*, 961, 239-244.
- Ma, J. F. (2004). Role of Silicon in Enhancing the Resistance of Plants to Biotic and Abiotic Stresses. *Soil Science and Plant Nutrition*, 50(1), 11-18.
- Ma, J. F., Mitani, N., Nagao, S., Konishi, S., Tama, K., Iwashita, T., y Yano, M. (2004). Characterization of the Silicon Uptake System and Molecular Mapping of the Silicon Transporter Gene in Rice1. *Plant Physiology*, 136(2), 3284-3289.
- Madriz Ordeñana K. (2002). Mecanismos de defensa en las interacciones planta – patógeno. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*. 63: 22- 32.
- Montiel González L, González Flores F, Sánchez García B.M, Guzmán Rivera S, Gámez Vázquez F.P, Acosta Gallegos J.A, Rodríguez Guerra R, Simpson Williamson J, Cabral Enciso M, Mendoza Elos M. (2005). Especies de *Fusarium* presentes en raíces de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con daños de pudrición, en cinco estados del centro de México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 23:1-7.
- Morikawa, C. K., and Saigusa, M. (2004). Mineral composition and accumulation of silicon in tissues of blueberry (*Vaccinium corymbosus* cv. Bluecrop) cuttings. *Plant and Soil*, 258(1), 1-8.
- Osbourn, A. E. (1996). Preformed Antimicrobial Compounds and Plant Defense. *The Plant Cell*, 8, 1821-1831.
- Paez, M., y Sanabria de Albarracin, N. (2007). Evaluación de la capacidad antagonista de *Trichoderma koningii* sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 24(1), 27-31.
- Peña J.R.A. (2011). Manual de Histología Vegetal. Madrid, España: Ediciones Mundi-Prensa.
- Piperno, D. R., Holst, I., Wessel-Beaver, L., and Andres, T. C. (2002). Evidence for the control of phytolith formation in Cucurbita fruits by the hard rind (Hr) genetic

locus: archaeological and ecological implications. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(16), 10923-10928.

Quero Gutiérrez., E. (2009). Nutrición con silicio y sus aplicaciones a cultivos a cielo abierto y en agricultura protegida: Un pequeño recorrido por la naturaleza . *Simposio Internacional de Nutrición Vegetal* (págs. 1-38). Guadalajara, Jalisco: Quero Consulting S.C.

Raya Pérez, J. C., y Aguirre Mancilla, C. L. (2012). El Papel del Silicio en los Organismos y Ecosistemas. *Conciencia Tecnológica*(43), 42-46.

Raven, J. A. (2003). Cycling silicon—the role of accumulation in plants. *New Phytologist*, 158(3), 419-421.

Riveros Angarita A.S. (2001). Moléculas activadoras de la inducción de resistencia, incorporadas en programas de agricultura sostenible. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*. 61: 4-11.

Rodríguez , D. A., y Montilla, J. O. (2002). Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate con extracto de *Citrus paradisi*. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)*(63), 46-50.

SAGARPA. (2010). Obtenido de Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación: <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/pablo/Documentos/Monografias/Jitomate.pdf>

SAGARPA. (2016). Obtenido de Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación: <https://www.gob.mx/sagarpa/articulos/tomate-o-jitomate?idiom=es>

SAGARPA. (2017). Obtenido de Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación:

<https://www.gob.mx/sagarpa/articulos/jitomate-sazonando-los-platillos-del-mundo?idiom=es>

<https://www.gob.mx/sagarpa/prensa/llegan-exportaciones-de-jitomate-a-mil-742-mdd-de-enero-a-octubre-del-2016>

Salas R, J. E., Sanabria Chopité, M. E., Rodríguez, D., Valera, R., Him de Fréitez, Y. (2009). Anatomía foliar comparada de materiales genéticos *in vitro* de papa (*Solanum tuberosum* L.). *Revista UDO Agrícola*, 9(3), 563-570.

Salisbury, E. J. (1928). On the causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to the woodland flora. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B*, 216, 1-65.

Sangster, A.G., Hodson, M.J., Tubb, H.J. (2001). Silicon deposition in higher plants. *Studies in Plant Science*. 8, 85-113.

Savvas, D., and Ntatsi, G. (2015). Biostimulant Activity of Silicon in Horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 66-81.

Schoch, P. G., Zinsou, C., and Sibí, M. (1980). Dependence of the stomatal index on environmental factors during stomatal differentiation in leaves of *Vigna sinensis* L. *Journal of Experimental Botany*, 31(5), 1211-1216.

Shetty, R., Fretté, X., Jensen, B., Shetty, N. P., Jense, J. D., Jørgensen, H. J., Christensen, L. P. (2011). Silicon-Induced Changes in Antifungal Phenolic Acids, Flavonoids, and Key Phenylpropanoid Pathway Genes during the Interaction between Miniature Roses and the Biotrophic Pathogen *Podosphaera pannosa*. *Plant Physiology*, 157(4), 2194-2205.

Siregar, A. F., Husnain, Sato, K., Wakatsuki, T., and Masunaga, T. (2016). Empirical Study on Effect of Silicon Application on Rice Blast Disease and Plant Morphology in Indonesia. *Journal of Agricultural Science*, 8(6), 137-148.

- Sivanesan, I., and Park, S. (2014). The role of silicon in plant tissue culture. *Frontiers in Plant Science*, 5(571), 1-4.
- Soares, J. D., Pasqual, M., Gomes de Araujo, A., de Castro, E. M., Pereira, F. J., y Tavares Braga, F. (2012). Leaf anatomy of orchids micropropagated with different silicon concentrations. *Acta Scientiarum*, 34(4), 413-421.
- Steiner, A. A. (1961). A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*. 2: 134- 154.
- Torabi, F., Majd, A., and Enteshari, S. (2015). The effect of silicon on alleviation of salt stress in borage (*Borago officinalis* L.). *Journal Soil Science and Plant Nutrition*, 61(5), 788-798.
- Vargas, R. G. (2011). *Botánica General. Desde Los Musgos Hasta Los Árboles*. San José, Costa Rica: EUNED. 470 pp.
- Villa - Martínez, A., Pérez-Leal, R., Morales-Morales, H. A., Basurto-Sotelo, M., Soto-Parra, J., y Martínez- Escudero, E. (2015). Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad antifúngica de extractos vegetales. *Acta Agronómica*, 64(2), 194-205.
- Wang, M., Gao, L., Dong, S., Sun, Y., Shen, Q., and Guo, S. (2017). Role of Silicon on Plant–Pathogen Interactions. *Frontiers in plant science*, 8, 1-14.
- Yanar, Y., Yanar, D., Gebologlu, N. (2011). Control of powdery mildew (*Leveillula taurica*) on tomato by foliar sprays of liquid potassium silicate (K<sub>2</sub>SiO<sub>3</sub>). *African Journal of Biotechnology*, 10(16), 3121-3123.
- Zeng, W., Melotto, M., He, S. Y. (2010). Plant stomata: a checkpoint of host immunity and pathogen virulence. *Current opinion in biotechnology*, 21(5), 599-603.