

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Respuesta de Tolerancia a Estrés Biótico en Plantas de Tomate con el Uso de Selenio

Por:

**VICTOR MANUEL TORRES VERA**

T E S I S

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

Saltillo, Coahuila, México

Febrero 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Respuesta de Tolerancia a Estrés Biótico en Plantas de Tomate con el Uso de Selenio

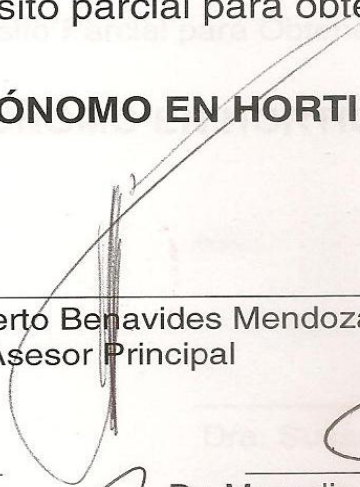
Por:

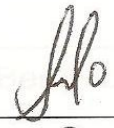
**VÍCTOR MANUEL TORRES VERA**

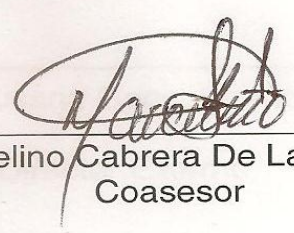
TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

  
Dr. Adalberto Benavides Mendoza  
Asesor Principal

  
Dra. Susana González Morales  
Coasesor

  
Dr. Marcelino Cabrera De La Fuente  
Coasesor

  
Dr. Leobardo Bañuelos Herrera  
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México  
Febrero 2014

## DEDICATORIA

### **A mis padres: Fermín Torres López y Guadalupe Vera de Jesús**

Con todo mi cariño y mi amor para las personas quienes me dieron la vida y que hicieron todo para que yo pudiera lograr mis sueños, sin esperar nada a cambio, aunque hemos pasado momentos difíciles siempre han estado apoyándome y brindándome todo su amor, comprensión, y confianza para guiarme siempre en el camino correcto.

### **A mi hermana: Janet Torres Vera**

Gracias a esa persona tan importante en mi vida, que siempre estuvo lista para brindarme toda su ayuda, y estar en momentos tan importantes, ahora me toca regresar un poquito de todo lo inmenso que me has otorgado, con todo mi cariño.

### **A mis Profesores del Departamento de horticultura**

A todos ustedes que con sus conocimientos influyeron en mi formación profesional y que son parte esencial de este logro, que gracias a sus sacrificios y lecciones me enseñaron que la vida tiene muchos retos, pero siempre impulsándome a seguir adelante.

### **A cada uno de mis buenos amigos y amigas**

Jesús Álvarez, Sandra Bautista, Javier Pérez, Francisco Marín, Jorge Valencia, Jorge Corrales, Javier Jiménez, Francisco Rojas, Karla Ibarra, Ismael Juárez, Óscar Sánchez, Ángel Mayo, Diego Romero, Ángeles Contreras. Por pasar a mi lado los momentos de mi vida universitaria y estar siempre en las buenas y las malas jamás los olvidare.

**A todos mis compañeros de la carrera por su valiosa amistad que nunca me ha faltado.**

## AGRADECIMIENTOS

**A Dios** Le agradezco por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi acompañante en los momentos más difíciles de mi vida y por brindarme un mundo de experiencias y aprendizajes, también por haberme ayudado a terminar este proyecto, y aún más porque siempre que caía tú me iluminabas para levantarme con la fuerza necesaria para continuar y lograr mi objetivo, de todo corazón **V.M.**

**A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, (“Alma Mater”)** por haberme brindado varias oportunidades dentro tus instalaciones las cuales me acogieron con toda sinceridad para realizar mis estudios en ella, para mi formación de profesionista.

**Al Dr. Adalberto Benavides Mendoza,** gracias por tener confianza en mí para permitirme realizar este proyecto, y brindarme todo su apoyo durante la elaboración de la tesis.

**A la Dr. Susana González Morales,** por su enorme apoyo y colaboración para sacar adelante el presente trabajo y gracias por su dedicación, disposición, asesoría, paciencia, y los conocimientos brindados en la elaboración de esta investigación.

**Al Dr. Marcelino Cabrera de la Fuente** gracias por el tiempo disponible para la revisión de este trabajo y por brindarme en cada momento su conocimiento en el transcurso de la carrera muchas gracias.

**Al Ing. Rigoberto Vera de Jesús y Lic. M. del Rosario Fabián Sánchez** muchas gracias por a verme brindado todo el apoyo incondicional desde el inicio hasta la culminación de mi carrera.

**A M. de los Ángeles Contreras Sánchez** por todo el apoyo durante la carrera, por tu paciencia, comprensión, bondad y sacrificio, que me inspiraron a ser mejor para tí y como persona, ahora puedo decir que esta tesis lleva mucho de tí, muchas gracias por estar siempre a mi lado.

## RESUMEN

El trabajo se realizó con el objetivo de determinar la respuesta de selenio en forma de selenito de sodio en plantas de tomate sometidos a un estrés biótico, y su influencia en el crecimiento fisiológico, el selenio se aplicó en forma asperjada (10 mg/L) y en solución de fertilización (2 mg/L), la solución de fertilización fue la solución nutritiva universal Steiner. Posteriormente después de la aplicación del selenio, las plántulas fueron inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) y *Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis* (CMM). Las variables evaluadas fueron altura de la planta, longitud de raíz, peso seco de hojas, peso seco de tallo, peso seco de raíz, incidencia, severidad y parámetros fotosintéticos (tasa fotosintética, conductancia, CO<sub>2</sub> intracelular, transpiración). El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar. En los resultados se observaron diferencias estadísticas significativas, siendo la aplicación de selenio en solución de riego que presentó mayor respuesta en los parámetros agronómicos, con un aumento de altura de (61.3 cm), en longitud de raíz aumento (46.2 cm), en el peso seco de hoja aumento (1.96 g), en el peso seco de tallo aumento (2.902 g) y en el peso seco de raíz aumento (2.549 g), en la incidencia no hubo diferencia significativa, y en severidad hubo una disminución de síntomas de 11.51% en las plantas tratadas con selenio en solución de riego, y de 7.85% con selenio asperjado, la tasa fotosintética aumento (12.113 *mmol*) en el primer muestreo con la aplicación de selenio en solución de riego, la conductancia aumento (0.16143 *mol*) en el segundo muestreo con la aplicación de CMM + selenio asperjado, en el CO<sub>2</sub> intracelular aumento (316.75 *mmol*) en el testigo y (310.25 *mmol*) con la aplicación de selenio en solución de riego en el primer muestreo, y la transpiración aumento (11.975 *mmol*) en el primer muestreo con la aplicación de selenio en solución de riego.

**Palabras clave:** Selenito de sodio, tolerancia biótica, *Solanum lycopersicum* Mill.

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 3.1 Descripción de los tratamientos utilizados en el experimento.....	24,25
Cuadro 4.1 Comportamiento de los parámetros fotosintéticos en plantas de tomate bajo el estrés biótico con la aplicación de selenio asperjado y en solución de riego.....	38,39

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Comportamiento de la variable altura de plantas de tomate bajo un estrés biótico.....	30
Figura 2 Comportamiento de la variable de longitud de raíz en plantas de tomate bajo un estrés biótico.....	31
Figura 3 Comportamiento de variable de peso seco de hojas en plantas de tomate bajo un estrés biótico.....	32
Figura 4 Comportamiento de la variable de peso seco de tallo en plantas de tomate bajo un estrés biótico.....	33
Figura 5 Comportamiento de la variable de peso seco de raíz de plantas de tomate bajo un estrés biótico.....	34
Figura 6 Comportamiento del porcentaje de la variable de incidencia en plantas de tomate con la inoculación de los patógenos CMM y FOL. la comparación de medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes.....	35
Figura 7 Comportamiento de la variable de severidad en plantas de tomate con la inoculación del patógeno CMM y de la aplicación de selenio asperjado y en solución.....	36
Figura 8 Comportamiento de la variable de severidad en plantas de tomate con la inoculación del patógeno FOL y de la aplicación de selenio asperjado y en solución de riego.....	37

## ÍNDICE DE APENDICE

Cuadro 1. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de altura de planta por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculada.....	51
Cuadro 2. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de longitud de raíz por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculadas.....	51
Cuadro 3. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de peso seco de hoja por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculadas.....	52
Cuadro 4. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de peso seco de tallo por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculadas.....	53
Cuadro 5. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de peso seco de raíz por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculadas.....	54
Cuadro 6. Comparación de la variable de incidencia en porcentaje.....	55
Cuadro 7. Comparación de promedio de la variable de severidad.....	55
Cuadro 8. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable tasa fotosintética por efecto de la aplicación de selenito de sodio a los 2 días.....	55
Cuadro 9. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable tasa fotosintética por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 7 días.....	56
Cuadro 10. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable tasa fotosintética por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 20 días.....	57
Cuadro 11. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de conductancia por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 2 días.....	58

Cuadro 12. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de conductancia por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 7 días.....	58
Cuadro 13. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de conductancia por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 20 días.....	59
Cuadro 14. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de CO <sub>2</sub> intracelular por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 2 días.....	60
Cuadro 15. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de CO <sub>2</sub> intracelular por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 7 días.....	60
Cuadro 16. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de CO <sub>2</sub> intracelular por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 20 días.....	61
Cuadro 17. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de transpiración por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 2 días.....	62
Cuadro 18. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de transpiración por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 7 días.....	63
Cuadro 19. Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de transpiración por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 20 días.....	63



# ÍNDICE DE CONTENIDO

<b>DEDICATORIA</b> .....	ii
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	iv
<b>RESUMEN</b> .....	v
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b> .....	vi
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	vi
<b>ÍNDICE DE APENDICE</b> .....	vii
<b>ÍNDICE DE CONTENIDO</b> .....	ix
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1 OBJETIVO GENERAL .....	3
1.2 Objetivos específicos .....	3
1.3 HIPÓTESIS.....	3
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	4
2.1 Origen .....	4
2.2 Importancia económica y distribución geográfica .....	4
2.3 Descripción botánica y morfología .....	4
2.4 Posición Taxonómica.....	5
2.5 Plagas del cultivo del tomate .....	5
2.6 Enfermedades del Cultivo de Tomate.....	6
2.7 Marchitez Vascular del Tomate.....	6
2.8 Clasificación taxonómica y características morfológicas de ( <i>F.oxysporum</i> f. <i>sp. lycopersici</i> ).....	7
2.8.1 Síntomas .....	8
2.8.2 Manejo de la Enfermedad.....	8
2.9 Clasificación taxonomía y características morfológicas del cáncer bacteriano, ( <i>Clavibacter michiganensis subesp. michiganensis</i> ).....	10
2.9.1 Etiología.....	10
2.9.2 Epifitiología .....	12
2.9.3 Síntomas .....	13
2.9.4 Manejo de la Enfermedad.....	14
2.10 Alternativas de manejo de enfermedades.....	15
2.11 Inducción de resistencia en plantas .....	17
2.12 Sistema antioxidante en las plantas.....	18
2.13 Estrés oxidativo en plantas .....	18

2.14 Selenio .....	19
2.15 Efectos del Selenio en plantas.....	20
2.16 Efecto del Selenito de sodio en plantas .....	22
2.17 Impacto del selenito de sodio en el sistema antioxidante en plantas.....	22
2.18 Inducción de resistencia sistémica adquirida (RSA) .....	23
2.19 Inducción de resistencia sistémica inducida (RSI) .....	23
<b>III. MATERIALES Y METODOS .....</b>	<b>24</b>
3.1 Localización del experimento.....	24
3.2 Tratamientos .....	24
3.3 Preparación del inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> .....	25
3.4 Preparación del inóculo de <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. michiganensis. ....	26
3.5 Prueba <i>in vivo</i> .....	26
3.6 Diseño experimental .....	27
3.7. Variables evaluadas.....	27
3.7.1 Altura de planta .....	27
3.7.2 Longitud de raíz .....	28
3.7.3 Biomasa seca .....	28
3.7.4 Parámetros relacionados a la fotosíntesis .....	28
3.7.5 Incidencia .....	28
3.7.6 Severidad .....	28
<b>IV. RESULTADOS .....</b>	<b>30</b>
4.1 Altura de planta.....	30
4.2 Longitud de raíz .....	31
4.3 Peso seco de hoja .....	32
4.4 Peso seco de tallo.....	32
4.5 Peso seco de raíz .....	33
4.6 Incidencia.....	34
4.7 Severidad.....	35
4.8 Parámetros fotosintéticos .....	37
<b>V. CONCLUSION.....</b>	<b>40</b>
<b>VI. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>41</b>
<b>VII. APÉNDICE .....</b>	<b>51</b>

## I. INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum L.*) es la hortaliza más importante en numerosos países y su popularidad aumenta constantemente. En la actualidad este cultivo ha adquirido importancia económica en todo el mundo, ya que es uno de los principales generadores de divisas para el país (Hortalizas, 2010). En lo social se mide por la cantidad de empleos generados durante el cultivo y comercialización de esta hortaliza. Es por ello, que el tomate se cultiva en toda la República Mexicana (SIAP, 2011). Es el principal producto hortícola de exportación, ya que representa el 37% del valor total de las exportaciones de legumbres y hortalizas y el 16% del valor total de las exportaciones agropecuarias (Flores *et al.*, 2007).

La producción se ha visto limitada por diversos factores, tanto de tipo biótico como abiótico, debido al constante cambio climático que altera los procesos fenológicos del cultivo, aunado a diferentes enfermedades que se han ido sumando al complejo de enfermedades en el cultivo del tomate (López, 1996). La economía agrícola mundial, anualmente, se ve afectada debido a enfermedades causadas por agentes de diversa índole, entre los cuales figuran preponderadamente, los hongos, bacterias, virus y nematodos. Las enfermedades en los cultivos hortícolas constituyen uno de los factores de mayor riesgo de pérdida en la producción, por lo cual resulta importante protegerlos del ataque de las mismas (Pérez y Rico, 2004).

La Marchitez Vascular causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* que ha evolucionado a razas 1, 2 y 3 (Tello *et al.*, 1988), destaca como una de las principales limitantes debido a su potencial destructivo. Esta enfermedad se encuentra distribuida en todo el mundo causando importantes pérdidas en el cultivo de tomate (Cai *et al.*, 2003). Las pérdidas ocasionadas por esta enfermedad llegan a ser del 60% del rendimiento, además de mermar la calidad de los frutos en variedades susceptibles (Ascencio *et al.*, 2008). El primer reporte de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* raza 3 en México se realizó en 1996 a partir de unas plantas de tomate colectadas en Sinaloa (Valenzuela *et al.*, 1996).

El cáncer bacteriano o cancro bacteriano (*Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis*, Smith), puede dispersarse a través de suelo contaminado arrastrado por el viento, que es una de las principales enfermedades en este cultivo. Esta bacteria es de interés cuarentenario para el país, considerada en el grupo o bien que ya está presente en el país pero bajo condiciones restringidas, en los estados de Chiapas y Sinaloa (López, 1996).

Uno de los métodos potenciales de reducir la severidad de las enfermedades causadas por patógenos, es la inducción de resistencia de la planta (Baysal *et al.* 2003). Dicha actividad está asociada a numerosas respuestas de defensa activadas por el hospedero después del contacto con el patógeno (Borboa *et al.*, 2009) o con algún inductor biótico o abiótico (Valueva *et al.*, 2004).

El Selenio es un elemento mineral natural ampliamente distribuido en la naturaleza, las formas oxidadas del selenio ( $\text{Se}^{4+}$  y  $\text{Se}^{6+}$ ) son acumulables en plantas debido a su elevada solubilidad (Broadley *et al.*, 2006). El selenio en forma de selenito de sodio se ha venido estudiando como un inductor eficiente de la actividad glutatión peroxidasa. En general se considera que el selenio se relaciona con el metabolismo antioxidante (Rayman, 2008) y se sabe que el selenito, sobre el selenato, induce más efectivamente esta actividad (Cartes *et al.*, 2005). Los metaloides como el selenio, en baja concentración, pueden inducir un efecto prooxidante que causa la inducción de respuestas defensivas en las plantas (Hasanuzzaman *et al.*, 2010).

### **1.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar la respuesta de tolerancia biótica del selenito de sodio al ser aplicado de forma asperjado y en solución en las plantas de tomate, inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis*.

### **1.2 Objetivos específicos**

1. Evaluación del desarrollo de la enfermedad en las plantas de tomate inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis* con la aplicación de selenio.
2. Evaluación de variables agronómicas y parámetros fotosintéticos en plantas de tomate inoculadas con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Clavibacter michiganensis* con la aplicación de selenio.

### **1.3 HIPÓTESIS**

Adicionar selenito de sodio ayudara a un mejor desarrollo de las plantas, promoviendo la resistencia sistémica bajo condiciones de estrés biótico inducido por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis*

.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Origen

El tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.) es originario de las laderas de los Andes, en América del Sur, pero hoy día se cultiva extensamente tanto en los países de clima templado como en los tropicales. La palabra tomate proviene del náhuatl “tomatl”. Esta hortaliza fue llevada a Europa por los españoles y se empezó a comercializar en Estados Unidos de América en 1835 (Galicia, 2007).

El lugar donde se produjo la domesticación ha sido controvertido, los nombres de mala peruviana o pomi del Perú dados por algunos botánicos del siglo XVI, quienes hicieron suponer que había sido domesticado en Perú. Estudios posteriores indican que el tomate fue domesticado en México por los aztecas y a ellos se debe el nombre actual; ya que esta cultura lo llamo “tomatl” (Candolle, 1883). El cultivo de tomate se dio a conocer a nivel mundial después de la llegada de los españoles a México; pero no fue hasta 1554 que el cultivo fue introducido a Europa (Rick, 1978).

### 2.2 Importancia económica y distribución geográfica

El tomate es la hortaliza mayormente cultivada en el mundo, con una superficie total de cultivo de alrededor de 2.5 millones de hectáreas y con una producción mundial de aproximadamente 77,538,000 toneladas, siendo China el principal productor a nivel mundial además de Estados Unidos, India, Turquía, Italia, España y Egipto; ubicándose México hasta el décimo lugar en la producción mundial (Macua *et al.*, 2012).

En México la superficie sembrada en el 2012 fue de 54,510 hectáreas, con una producción total de alrededor de 2,600,000 toneladas con valor monetario de \$14,200,000,000; siendo Sinaloa el Estado con la mayor superficie sembrada y con el mayor volumen de producción seguido por Nayarit y Veracruz. (SIAP, 2012).

### 2.3 Descripción botánica y morfología

El tomate (*Solanum lycopersicum*), es una planta dicotiledónea perteneciente a la familia de las solanáceas, de porte arbustivo que se cultiva como anual. Puede

desarrollarse de manera rastrera, semierecta o erecta. Existen variedades de crecimiento limitado (determinadas) o de crecimiento ilimitado (indeterminadas). Posee un sistema radicular corto y débil con numerosas raíces secundarias; el tallo principal tiene un diámetro de entre 2-4 cm. En su base, sobre el que se van desarrollando hojas, tallos secundarios e inflorescencias; las hojas son compuestas e imparipinadas, con folíolos peciolados, lobulados y borde dentado en número de 7-9 recubiertas de pubescencia y alternas sobre el tallo; las flores son perfectas con 5 o más sépalos, de igual número de pétalos de color amarillo, se agrupan en inflorescencias de tipo racimoso, generalmente en número de 3 a 10, las inflorescencias se desarrollan cada 2 o 3 hojas en las axilas; el fruto es una baya bi o plurilocular que puede alcanzar hasta 600 g y está constituido por el pericarpio, el tejido placentario y las semillas (Nuño et al., 2007).

#### **2.4 Posición Taxonómica**

Recientemente, se ha propuesto un cambio en la nomenclatura del genero *Lycopersicon esculentum* Mill. Actualmente se denominó *Solanum lycopersicon* L. (Peralta,2005). **Reino**....*Plantae*, **División**....*Magnoliophyta*, **Clase**....*Magnoliopsida*, **Orden**....*Solanales*, **Familia**....*Solanaceae*, **Genero**....*Solanum*, **Especie**....*lycopersicon*

#### **2.5 Plagas del cultivo del tomate**

Dentro de las plagas más importantes del cultivo del tomate se encuentran: gusano cortador (*Agrotis* spp), grillo (*Acheta domesticus* y *Gryllus bimaculatu*), hormiga (*Solenopsis*), pulgones (*Myzus persicae*), arañita roja (*Tetranychus urticae*), gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*), falso medidor (*Trichoplusia ni*), gusano de cuerno (*Manduca sexta*), entre otras. Algunos insectos pueden ser transmisores de virus, por lo que los frutos atacados maduran disparejos y en el lugar del picado se endurece la carne del fruto (Van Haeff, 1995).

## **2.6 Enfermedades del Cultivo de Tomate**

Las enfermedades de las plantas son importantes para el hombre debido a que perjudican a las plantas y sus productos, además se encuentran ampliamente distribuidos entre las poblaciones (Agrios, 2002).

La producción del tomate se ve mermada por enfermedades ocasionadas por hongos, bacterias, nematodos y virus. Dentro de las enfermedades fungosas, la que más sobresale es (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.), entre otros que ocasionan marchitez en las plantas; tales como: *Verticillium*, *Alternaria solani* y *Phytophthora infestans*,(Steiner y Doudoroff, 1977; Fravel, 1988; Schippers *et al.*, 1987; Weller, 1988). Dentro de las enfermedades bacterianas destaca el cáncer bacteriano (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensi*.), la cual también repercute mucho en la producción del tomate.

## **2.7 Marchitez Vascular del Tomate**

El ciclo de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f sp. *lycopersici*. se inicia con la presencia del inoculo en el suelo o residuos de la cosecha del inoculo constituido por hifas, esporas o clamidosporas que germinan cuando son activadas por los exudados producidos en las raíces fibrosas del tomate; los tubos germinativos del hongo penetran la epidermis de las raíces directamente o por heridas, pasan a la corteza o a la endodermis, y una vez dentro del hospedante se mueven por colonización de los vasos del xilema produciendo la oclusión del sistema vascular de la planta. Su disseminación en el campo se produce a través de material de propagación infectado, fragmentos de plantas enfermas y movimientos de suelo infestado con clamidosporas de *F. oxysporum* las cuales pueden sobrevivir en este por más de 10 años (Haglund y Kraft, 20001).

La tasa de velocidad de la infección depende de factores como el tiempo de la infección inicial, la virulencia y condiciones climáticas. Dependiendo de la tasa de velocidad de infección, el hongo puede ocasionar pudrición radicular y muerte, incluso en plantas muy jóvenes (Agrios, 20002).

Esta enfermedad es más agresiva en climas cálidos y suelos con textura arenosa (González, 1974); sin embargo, fuertes afecciones en cultivares susceptibles se han



reportado bajo condiciones de invernadero. Los daños se presentan con mayor severidad cuando las plantas son sometidas a un periodo de estrés hídrico, principalmente en la etapa de floración y fructificación (González, 1974; Ramírez, 1998). Los síntomas más notables de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* ocurren al inicio de la floración, poco después de la formación de los primeros frutos (Beckman, 1987; Mendoza, 1993; Ramírez, 1998).

## **2.8 Clasificación taxonómica y características morfológicas de (*F.oxysporum* f. sp. *lycopersici*).**

*F. oxysporum* pertenece al reino *Fungi*, división *Deuteromycota*, clase Sordariomycetes, orden Hipocreales y familia Nectriaceae (Nelson *et al.*, 1993).

*F. oxysporum* es un hongo imperfecto, que aparentemente ha perdido el estado perfecto o sexual. Estos se reproducen por medio de conidias (una espora asexual formada en el extremo de una hifa). El hongo sobrevive por largos periodos en el suelo en forma de clamidosporas. El micelio es generalmente aéreo, abundante, algodonoso, con diferentes coloraciones como blancas, durazno, salmón, pero usualmente con un tinte purpura o violeta más intenso.

El hongo se caracteriza por producir tres clases de esporas, una de ellas son las microconidias, que son esporas unicelulares, septadas, hialinas, de forma variable, formadas sobre fialides laterales o sobre conidióforos poco ramificados. Las 9 microconidias tienen entre 5-12 micras de largo x 2.5-3.5 micras de ancho (Nelson, 1981). Las macroconidias son de pared delgada, fusiformes, largas y moderadamente curvas en forma de hoz, poseen de tres a cinco septas transversales, con la célula basal elongada y la célula apical atenuada. Tiene un tamaño de 27-60 x 3-5 micras (Nelson, 1981).

Las clamidosporas son globosas, de doble pared gruesa, se encuentran solitarias o en pares, formadas a partir de la condensación del contenido de las hifas y las conidias. Con esta estructura el hongo sobrevive en condiciones ambientales desfavorables y en ausencia de plantas hospedantes. Su tamaño varía de 5-15 micras de diámetro (Summerell *et al.*, 2002; Barrera y Gómez, 1995; Nelson, 1981). Esta especie se caracteriza por producir distintas formas especiales, las cuales no se

pueden diferenciar por su morfología o por las características culturales de las colonias, sin embargo, son fisiológicamente diferentes por su capacidad de parasitar y ocasionar enfermedades en plantas hospedantes y sus exudados radicales satisfacen los requerimientos nutricionales del hongo y por lo tanto, puede desarrollarse solo en este tipo de plantas (Nelson, 1981; Gordon y Martyn, 1997).

### **2.8.1 Síntomas**

Inician con un amarillamiento en las hojas más viejas, extendiéndose a toda la planta y ocasionando una clorosis que a veces se presenta en las hojas de un solo lado de la planta, y en ocasiones solo en la mitad de estas (Cárdenas, 2000). Las hojas afectadas se marchitan y mueren, aunque pueden permanecer adheridas al tallo. Si se realiza un corte transversal del tallo, se observa una necrosis vascular de color café en forma de anillo, la cual se extiende hacia la parte apical de la planta de acuerdo con la severidad de la enfermedad, marchitando y matando a las plántulas o plantas adultas (Sánchez, 1998). Las plantas más viejas pueden marchitarse y morir repentinamente; sin embargo, comúnmente muestran achaparramiento, epinastia, amarillamiento de las hojas inferiores, marchitez de las hojas y tallo jóvenes, defoliación, necrosis marginal de hojas y finalmente la muerte de la planta (Sanchez, 1998). Cuando las raíces y los tallos son colonizados, los síntomas se muestran como una pudrición necrótica, particularmente sobre las raíces laterales más pequeñas; lo cual acelera el marchitamiento del follaje. Después que la planta muere, el hongo fructifica sobre la superficie del tallo bajo condiciones de ambiente húmedo (Angulo, 1996; Valdez, 1999).

### **2.8.2 Manejo de la Enfermedad**

#### **2.8.2.1 Control cultural**

En suelos arenosos evitar encharcamientos para impedir el traslado de nematodos ya que las heridas que generan éstos en las raíces facilitan el ingreso de la enfermedad. También las plantas enfermas deben eliminarse lo más pronto posible a efectos de reducir el inóculo (Gonzales, 2006).

Teniendo en cuenta que este patógeno es más severo en condiciones de suelos ácidos, se recomienda la aplicación de cal agrícola o cal hidratada para aumentar el pH. Medios o sustratos de crecimiento que poseen un pH alto tienden a mantener niveles más altos de nutrientes, mayores poblaciones de microorganismos (hongos, bacterias y actinomicetos) y menor severidad de marchitamiento por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. El riego con aguas salinas y la fertilización con sulfato de amonio predisponen a la planta al ataque por el hongo (FAO, 2003). Es de vital importancia para el control de la enfermedad seleccionar muy bien el semillero y sembrar plántulas sanas en campo (FAO, 2003).

#### **2.8.2.2 Control químico**

El uso de agroquímicos como el bromuro de metilo, metam sodio y metam potasio han sido utilizados como estrategias para el control de fitopatógenos por su amplio espectro contra patógenos del suelo (Ohr *et al.*, 1996) estos productos son empleados en las principales zonas productoras de tomate para el control de *Fusarium oxysporum*.

#### **2.8.2.3 Variedades resistentes**

Gonzales en el 2006, afirma que la utilización de variedades resistentes es la medida más adecuada para el manejo de *F. oxysporum*. En el mercado existen variedades con resistencia a las razas 1 y 2 y en menor proporción a la raza 3 (Báez falta el año).

#### **2.8.2.4 Control biorracional**

Marcos en 1996, menciona que el uso de extractos vegetales acuosos de *C. ambrosioides* y de *N. glauca* son muy efectivos para el control de *F. oxysporum* inclusive sobre el tratamiento químico Metalaxil.

Rodríguez., *et al.*, 2002 demuestran que realizando una inmersión de raíces de plantas en solución del extracto de *Citrus paradisi*, la aplicación semanal al suelo logra reducir la marchitez en un 85%, seguido por la aplicación combinada al suelo y

al follaje con un 64% de reducción. La aplicación del extracto de *C. paradisi* al follaje o al suelo ocasionan una reducción del 42% comparado con el testigo. Los resultados indican la posibilidad de controlar patógenos del suelo con el uso del extracto de semilla de *C. paradisi*.

### **2.8.2.5 Control biológico**

La siembra de semillas pregerminadas con suspensiones del hongo *Trichoderma koningii* y de la bacteria *Pseudomonas fluorescens* al suelo de los semilleros, posibilitan un adecuado control de *Fusarium oxysporum* (FAO,2003).

La pre-inoculación de plantas de tomate siete días antes del trasplante con *Penicillium oxalicum* reduce la severidad de la enfermedad. La aplicación de las bacterias *Serratia plymuthica* y *Pseudomonas* sp. a las semillas, también ha permitido una disminución de la incidencia y severidad de la marchitez por *Fusarium oxysporum*. (FAO, 2003).

Mojica *et al.*, 2009 encontraron que de 64 cepas de *B. thuringiensis* probadas solo ocho cepas mostraron un efecto inhibitorio contra *F. oxysporum*. De estas solo cinco inhibieron más del 30% del crecimiento y una reducción en la tasa de crecimiento de 0,52 a 0,10 cm/ día.

## **2.9 Clasificación taxonomía y características morfológicas del cáncer bacteriano, (*Clavibacter michiganensis subesp. michiganensis*).**

Según Jansen (2004), la clasificación taxonómica es la siguiente:

Reino: Bacteria, Clase: Actinobacteriales, Orden: Actinomycetales, Género: Clavibacter, Especie: michiganensis, Subespecie: michiganensis.

### **2.9.1 Etiología**

El cáncer bacteriano es una enfermedad muy seria del tomate, causada por *Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis*. La enfermedad se descubrió por primera vez en 1909 en Grand Rapids, Michigan, Estados Unidos, pero actualmente se ha reportado en áreas de producción de tomate de todo el mundo y anualmente ocurren algunos ataques de la enfermedad. Sin embargo, se pueden tomar medidas

preventivas en todas las etapas de producción para evitar pérdidas por cáncer bacteriano (Aguirre, 1965).

Esta enfermedad fue estudiada por primera vez por E. F. Smith (1910) y debe su nombre al lugar donde fue encontrada por primera vez. En Argentina fue determinada por Dosio (1957) y descrita posteriormente por Rossi y Resnik (1968) (Fernández, 1975). Actualmente se encuentra distribuida en todas las zonas productoras de tomate del mundo (Chang *et al.*, 1991).

El agente etiológico es la bacteria gram positiva *Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis* (Fernández, 1975). Las células de *C. michiganensis* subesp. *michiganensis* pueden ser pleomórficas, pequeñas, en forma de cocos o bastón, dependiendo de las condiciones de crecimiento, no forma esporas, son aeróbica y sin movimiento. El arreglo de las células, generalmente se presenta en empalizadas en forma de V o Y (OEPP/EPPO, 2005). En medio DNA, a los tres días la pigmentación de sus colonias es de color amarillo o naranja pálido, puntiformes y mucoides, a los 4 días miden 1mm de diámetro, son aplanadas o redondas, semifluidas y levantadas, a los 7 días miden de 2-3mm de diámetro, son lisas enteras, convexas, semifluidas en aislamiento reciente (en subcultivo son mantecosas) y color amarillo pálido que se va oscureciendo, su crecimiento es relativamente lento. Los reportes de movilidad y encapsulación son variados, pero en general la bacteria es considerada negativa para estas características. Las colonias en agar nutritivos son característicamente amarillas y alcanza un diámetro 2-3mm en 5 días, lisa en márgenes enteros y de consistencia butirosa. Lelliott *et al.* (1987) mencionó que el aislamiento se puede realizar por medio de Glucosa Agar Nutritivo (NGA) o Levadura Pectona Glucosa Agar (YPGA). La apariencia de la colonia en medio selectivo varia, dependiendo el medio (Jones *et al.*, 1991). La colonia crece a 28°C ( $\pm 2^\circ\text{C}$ ), (OEPP/EPPO, 2005). Hidroliza esculina, la utilización de la glucosa es oxidativa (aerobia estricta), oxidasa positiva, prueba de RYO positiva y catalasa positiva (MAPA /DGSPA, 1991).

### **2.9.2 Epifitiología**

La bacteria *C. michiganensis* subesp. *michiganensis*, en campo se desarrolla mejor a temperatura de 25°-30°C y requiere periodos de alta evapotranspiración (OEPP/EPPO, 2005).

Por su parte León *et al.*, (1982) mencionó que la bacteria muestra un crecimiento óptimo a temperatura de 28°C, condiciones bajo las cuales la planta de tomate se desarrolla durante el ciclo de cultivo. Se han reportados reducciones en la cosechas de hasta un 70% (Rat *et al.*, 1991). Las semillas es la principal fuente de inóculo del patógeno. El comercio de las semillas ha facilitado la distribución mundial de la enfermedad. Localmente, la transferencia del equipo contaminado puede permitir la transmisión de la enfermedad a otros campos(OEPP/EPPO, 2005). Smith *et al.* (1992) mencionó que antes de que se adoptara medidas higiénicas y métodos de extracción de semillas, la enfermedad podía causar pérdidas hasta el 70%, siendo esta la principal fuente de diseminación. Por su parte Messiaen (1995), comentaba que las semillas que se hayan altamente contaminadas de un principio, pueden motivar el nacimiento de más de un 1% de las plantas enfermas lo que puede originar ataques generalizados, debido a que una transmisión en semillas del 1% puede proporcionar la infestación del 100% del cultivo.

Las bacterias invernan en o sobre las semillas y en los restos de plantas depositados en el suelo. Las infecciones primarias pueden deberse a la propagación de esas bacterias desde las semillas hasta los cotiledones u hojas pero La mayoría de ellas se deben a la penetración de dichas bacterias a través de heridas en raíces, tallo, hojas y frutos (García *et al.*, 2000).

Las bacterias son llevadas hasta ellos a través de la manipulación de esos órganos, la cual tiene lugar durante el transporte, aunque también son diseminadas por el agua del suelo, por la lluvia acarreada por el viento y las prácticas agrícolas como el atado y la poda de las plantas del tomate en forma de vara. Una vez que se encuentra dentro de la planta, las bacterias llegan al sistema vascular se desplazan y propagan principalmente los vasos xilemáticos espirales, para después salir de ellos e invadir el floema, medula y corteza (León *et al.*, 1982).

Cuando el clima es húmedo, las lesiones exudan masas mucilaginosas de bacterias hasta la superficie del tallo, desde donde se extiende hasta las hojas y frutos y producir infecciones secundarias (CNRDF-DGSV, 1999).

### **2.9.3 Síntomas**

Por su parte *C. michiganensis* subsp. *michiganensis* causa el marchitamiento y la úlcera del tallo de tomate (*Solanum lycopersicum*), una de las más importantes enfermedades bacterianas del tomate en todo el mundo. Los síntomas de esta enfermedad se pueden observar en los distintos órganos de la planta, por un lado, el marchitamiento unilateral de las hojas es el primer síntoma de la enfermedad, donde más tarde la marchitez se extiende a todas las hojas. En el tallo aparecen unas lesiones en forma de úlceras después la planta se marchita del todo y muere. En el caso de que la infección se haya producido en el último estadio de desarrollo de la planta de tomate, las plantas pueden sobrevivir para fructificar, pero en tal caso en los frutos aparecerán unas manchas denominadas ojos de pájaro, y a menudo la semilla terminará infectándose y constituyéndose en inóculo de una nueva infección. En los suelos contaminados con *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, la bacteria puede entrar a través de heridas en el tallo o en la raíz, y se dirige al xilema. El xilema permite la colonización sistémica de la planta por la bacteria. Precisamente, el marchitamiento se debe en gran medida al atasco de los vasos del xilema a consecuencia de la síntesis de polisacáridos extracelulares y a la destrucción de los mismos por la presencia de enzimas que los degradan como celulosa, poligalacturonasa, pectín metil esterasa y xilanasa (García *et al.*, 2000). En condiciones naturales, la bacteria es específica de tomate (*Solanum lycopersicum*) citándose con excepción un ataque a *Solanum douglasii* y a *Capsicum annum*, como nuevo hospedante en condiciones naturales. La principal fuente primaria de inóculo es la semilla, que transporta a la bacteria en forma epífita o como infección latente, pero debido al largo periodo de incubación que presenta la enfermedad solo se manifiesta a los 30 o 40 días luego del transplante (Chang *et al.*, 1992).

La fuente secundaria de infección es la generada por los canchales que se abren. La supervivencia de la bacteria en el campo es a través de los restos de cultivo que persisten en el campo, también sobrevive en hospedantes alternativos (Chang *et al.*, 1991).

A veces se puede observar una decoloración rosa muy ligera del tejido vascular. El cáncer bacteriano se confunde fácilmente con la marchitez causada por *Verticillium* o *Fusarium* (OEPP/EPPO, 2005).

#### **2.9.4 Manejo de la Enfermedad**

Para reducir las pérdidas por esta enfermedad es muy recomendable evitar que el patógeno llegue al área de cultivo, puesto que no hay variedades resistentes y los productos químicos que existen a la fecha no tienen efecto curativo, por lo que se debe emplear semilla, plántulas y patrones libres del patógeno.

El tratamiento de semillas con ácido disminuye las bacterias que se encuentran sobre ellas.

Con la práctica de siembra directa en campo se reduce el riesgo de una diseminación mayor a 10% cuando la semilla contiene una infección de 1%.

Un aspecto sumamente importante es realizar monitoreos del cultivo el mayor número de veces posible y capacitar al personal para que, en cuanto se detecten los primeros signos de la enfermedad, se tomen medidas antes de que la infección se disemine.

En cuanto se descubran los primeros síntomas aislar la planta o el área de las plantas cercanas a la enferma. Sacar completas las plantas enfermas, procurando recoger todo el material vegetal que caiga al suelo y al extraer la raíz evitar sacudirla para no dispensar el suelo donde ya se puede encontrar el patógeno, las plantas enfermas se deben de colocar en bolsas de plástico en el momento de sacarlas y cerrar muy bien la abertura para evitar la diseminación o contagio de las plantas contiguas.

Evitar las plantas enfermas a un laboratorio para que se realice el diagnóstico y saber con certeza que se trata de *C.michiganensis* subesp. *michiganensis*.



A las plantas que se le encuentran cercanas a las enfermas se les pueden aplicar bactericidas como derivados del cobre, gentamicina o estreptomina para protegerlas y se deben manejar hasta el último.

Colocar tapetes sanitarios a la entrada del área y hacer el cambio de la solución desinfectante una o dos veces al día.

Evitar el ingreso de personal ajeno y de ser posible que haya personal exclusivo para el manejo de plantas con síntomas o sospechosos.

Hacer un manejo adecuado de riego para evitar que en la superficie de las hojas se formen películas de agua, con el propósito de reducir la desinmanación.

Desinfectar las herramientas con Virkon-S, hipoclorito de sodio a 2% o formaldehído (35-40%), formol (5%), de ser posible entre planta y planta.

Si la enfermedad ya se presentó y se va a establecer el nuevo cultivo se debe hacer una buena desinfección de todo el invernadero, incluyendo paredes, tuberías, de gas, agua, aire, etc. Dejando actuar al producto al menos 12 horas.

Recoger y destruir todos los residuos vegetales que se encuentren dentro y alrededor de la zona del cultivo.

Desinfectar el área circulante a los invernaderos y eliminar todas las malezas y plantas de tomate que hayan crecido en forma espontánea.

## **2.10 Alternativas de manejo de enfermedades**

En general, para el control de enfermedades en tomate, como para cualquier otra especie, se debe hacer un programa donde se considere la integración de todas las posibilidades de control para tender a un uso racional de los productos fitosanitarios, causando el mínimo impacto ambiental y económico y que los productos cosechados sean inocuos.

De acuerdo a las especificaciones técnicas de Buenas Prácticas Agrícolas de hortalizas, de la Comisión Nacional de BPA del gobierno, a continuación se describen las BPA para el manejo de las principales enfermedades del cultivo de tomate:

- Es importante conocer la historia del lote; especialmente evaluar la eventual presencia de patógenos u otros agentes contaminantes.

- Se debe monitorear permanentemente el cultivo para eliminar todas aquellas plantas que presenten síntomas
- Se deben usar semillas sanas, evitando la contaminación con inóculos de hongos que contengan las semillas. Si no se tiene la certeza de la sanidad de la semilla, se debe realizar una desinfección de ésta o de la planta, con fungicidas según las recomendaciones de un técnico capacitado y de acuerdo con las indicaciones de la etiqueta del producto.
- Se recomienda utilizar variedades resistentes a las enfermedades causadas por hongos, bacterias y virus.
- Como medida de prevención, se debe mantener un régimen nutricional e hídrico adecuado, evitando la posibilidad de pudrición, rajaduras de frutos, pudriciones apicales en los frutos y otros.
- Se deben eliminar los restos vegetales para evitar inóculo de diferentes patógenos
- Se debe favorecer la adecuada ventilación dentro de los invernaderos e impedir la presencia de rocío o humedad sobre las plantas, lo que disminuye el riesgo de enfermedades.
- Hay que eliminar constantemente las hojas y flores secas, las cuales favorecen la proliferación de hongos como *Oidium* y *Botrytis*.
- Es importante, también eliminar malezas que puedan ser hospederos alternantes de las enfermedades más frecuentes, como *Alternaria* y *Botrytis*.
- Todo el material cortado debe ser sacado del invernadero y eliminado en forma adecuada. Este residuo vegetal nunca debe ser quemado ni apilado en las cercanías de alguna zona de producción.
- Se recomienda seleccionar terrenos con suelos livianos, con una buena capacidad de drenaje. En suelos pesados se debe evitar dar riegos en exceso.
- A fin de cortar los ciclos de patógenos que quedan en el suelo de un año a otro, se debe considerar la rotación de cultivo.
- Inmediatamente después de realizar una poda, aplicar productos con base en cobre para evitar la entrada de patógenos por las heridas.

- En el caso de presentarse enfermedades del suelo, se deben realizar tratamientos localizados en el sitio donde se presenta la enfermedad.
- Se deben aplicar fungicidas al follaje ante la aparición de los primeros síntomas; para esto se deben monitorear constantemente los cultivos. La aplicación de fungicidas debe seguir las indicaciones de la etiqueta del producto.
- Con el fin de disminuir inóculos de patógenos de un cultivo a otro, se recomienda desinfectar las estructuras del invernadero anualmente.
- Desinfectar constantemente las herramientas y manos de los trabajadores durante las prácticas de manejo del cultivo (poda, deschuponada, deshojes, amarres, descuelgue de plantas, cosecha, etc.)
- Se deben ubicar piletas de desinfección de zapatos a la entrada del invernadero para evitar el ingreso de patógenos o contaminación del cultivo. En estas piletas se aplica yodo agrícola al 10% como desinfectante.
- Se debe evitar la sobre fertilización nitrogenada para prevenir el excesivo desarrollo vegetativo de las plantas.
- Para que no haya presencia de insectos vectores de virus, se deben usar barreras físicas que impidan su ingreso dentro de los invernaderos, o trampas atrayentes que disminuyan su problema.

### **2.11 Inducción de resistencia en plantas**

Las plantas han desarrollado mecanismos que le permiten defenderse de ataques por patógenos. En la infección de la planta por microorganismos patógenos, se produce una respuesta de hipersensibilidad (HR) a nivel local, caracterizada por la muerte celular en los lugares de infección, y una resistencia sistémica adquirida. La resistencia sistémica adquirida es un mecanismo inducido en la planta por un patógeno, provocado la activación de genes R, que codifican para una familia de proteínas relacionadas con la patogénesis (Rangel *et al.*, 2010).

### **2.12 Sistema antioxidante en las plantas**

La función química de los antioxidantes es ceder potencial reductor a los compuestos oxidantes capaces de dañar a los componentes celulares. Los productos finales de esta reacción de disipación energética antioxidante-oxidante son comúnmente el  $O_2$  y el  $H_2O$ , acompañados de liberación de calor. Los compuestos oxidantes más abundantes en las células vegetales se derivan de la activación de la molécula de dióxígeno ( $O_2$ ), lo que da lugar a especies químicas parcialmente reducidas, como el oxígeno singlete  $O_2^1$  y el radical superóxido ( $O_2^-$ ), que constituyen las especies activas (o reactivas) de oxígeno (ROS) primarias. Las reacciones posteriores de las especies activas de oxígeno primarias con los componentes celulares, forman otros radicales libres (como el radical hidroxilo  $HO^-$ ) u otros compuestos oxidantes como el peróxido de hidrógeno,  $H_2O_2$ , que tienen carácter oxidante pero no son radicales libres (Mittler, 2002).

Las ROS, en general, son producto de reacciones del metabolismo energético como la fotosíntesis, la respiración y la fotorespiración. Otras reacciones de síntesis de ROS más específicas y sujetas a control celular sobrevienen por la acción de enzimas como la NADPH oxidasa, amino oxidasas y peroxidasas de la pared celular. La función de estas últimas enzimas es producir ROS involucradas en la muerte celular programada y en la defensa contra patógenos (Mittler, 2002)

### **2.13 Estrés oxidativo en plantas**

El estrés oxidativo y la protección antioxidante, son de interés en agronomía, la ciencia de los alimentos y la medicina. El estrés oxidativo es un estado celular en el cual se encuentra alterada la homeostasis óxido-reducción intracelular, es decir el balance entre prooxidantes y antioxidantes. Este desbalance se produce a causa de una excesiva producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) y/o por deficiencia en los mecanismos antioxidantes, conduciendo a un daño celular.

Se ha estimado que aproximadamente un 2 por ciento del oxígeno consumido por un organismo normal formará ERO, de las cuales varias son radicales libres. Cuando la generación de ERO sobrepasa las barreras de defensa antioxidantes del organismo, se produce un daño por lesión química de las estructuras biológicas y a este proceso

se le denomina estrés oxidativo. El daño oxidativo que estas especies pueden producir en las macromoléculas biológicas es de graves consecuencias. Reaccionan con lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN en el interior de las células y con componentes de la matriz extracelular, por lo que pueden desencadenar un daño irreversible que si es muy extenso, puede llevar a la muerte celular.

En plantas, las ERO son generadas a velocidades significantes por reacciones intrínsecas a la fotosíntesis, fotorespiración, fosforilación oxidativa, oxidación de ácidos grasos y muchos otros tipos de oxidación (Alscher et al., 1997).

### **2.14 Selenio**

El selenio (Se) es un elemento mineral natural, ampliamente distribuido en la naturaleza en la mayoría de las rocas y suelos; en forma pura existe como cristales hexagonales gris metálicos a negros, pero en la naturaleza generalmente está combinado con sulfuro o con minerales de plata, cobre, plomo y níquel (ATSDR, 2009). El selenio es un metaloide del Grupo 16, encontrándose justo abajo del azufre (S) en la tabla periódica, dándole así propiedades químicas similares a este último elemento (Cruz-Jiménez, 2005).

El selenio (Se), elemento benéfico, es uno de los elementos más distribuidos en la tierra, teniendo una abundancia media de 0.09 mg kg<sup>-1</sup> (H.W., 1972). Fue aislado del residuo color rojo producido durante la oxidación del dióxido de azufre proveniente de piritas de cobre para la producción de ácido sulfúrico (N. Terry *et al.*, 2000). Aunque el selenio no es considerado un micronutriente esencial en la planta (Mengel y Kirkby, 1987), éste es esencial para el mantenimiento de salud (Herlong et al., 1998). La deficiencia o toxicidad de selenio en la vida del humano es raro, pero puede ocurrir en áreas localizadas, debido al bajo contenido de selenio en suelos y productos cosechados locales (Combs, 1989). Últimamente se ha dado mucha atención sobre el rol del selenio reduciendo ciertos tipos de cánceres y enfermedades.

Desde su descubrimiento, este metaloide ha tenido importantes aplicaciones en la industria. Se utiliza en la producción de celdas fotoeléctricas y conductores de luz en las fotocopiadoras xerográficas, por su característica de producir y conducir

corriente eléctrica debido a la excitabilidad de sus electrones en la luz (Brown, et al., 2009)

### **2.15 Efectos del Selenio en plantas**

Todas las formas de selenio han sido encontradas en hojas, tallos y raíces de plantas. Las plantas cultivadas que crecen en suelos no seleníferos, presentan concentraciones de selenio de 0.01 a 1 mg kg<sup>-1</sup> de peso seco (Marschner, 2002).

Debido a que las plantas difieren en su capacidad de acumulación, se le han clasificado en tres grupos; 1) Acumuladoras de selenio, 2) no acumuladoras de selenio y acumuladoras secundarias de selenio. En el primer grupo se encuentran diversas especies de los géneros *Astragalus*, *Stanleya*, *Morinda*, *Neptunia*, *Oonopsis* y *Xylorhiza*; acumulando selenio desde cientos hasta varios miles de miligramos de selenio por kilogramo de peso seco en sus tejidos. En el segundo grupo, se incluyen la mayoría de las especies forrajeras, plantas cultivadas, así como los pastos conteniendo menos de 25 mg Se kg<sup>-1</sup> de peso seco y no acumulan selenio por arriba del límite de 100 mg Se kg<sup>-1</sup> de peso seco cuando crecen en suelos seleníferos (Brown y Shrift, 1982). Las especies no acumuladoras contienen altas concentraciones de selenometionina, mientras que las altas acumuladoras contienen cantidades mínimas de selenometionina y grandes cantidades de las formas inorgánicas como selenato y selenito de sodio (Mayland, 1994; Wu, 1998). La tercera categoría de plantas (también llamadas semi-acumuladoras) crecen en suelos que contienen niveles medio o alto de selenio y acumulan hasta 1000 mg Se kg<sup>-1</sup> de peso seco. Recientemente se han identificado especies de Brassicaceae de rápido crecimiento como mostaza india (*Brassicajuncea*) y canola (*B. napus*), como nuevas especies acumuladoras secundarias de selenio, con una concentración de algunos Selenio en forma de selenito de sodio en plantas. Impacto del selenito de sodio en el sistema antioxidante en plantas cientos de mg de Se kg<sup>-1</sup> de peso seco en tallos, cuando crecen en suelos contaminados con niveles moderados de Se (Bañuelos *et al.*, 1997).

El selenio es metabolizado en las plantas por la vía de asimilación del azufre y su distribución y acumulación dependerá de la especie química y la concentración del elemento suministrado a las raíces y por vía foliar, así como de la naturaleza y la concentración de otras sustancias en la solución (Terry *et al.*, 2000). Respecto a su forma química, en el corto plazo la mayor parte de Se tomado como selenato se mantiene en forma inorgánica, mientras que cuando se aplica como selenito se acumula en su forma orgánica (Cartes *et al.*, 2006).

Cantidades mínimas de selenio han incrementado el crecimiento de algunas especies de plantas. Bajas concentraciones de este elemento inhiben la peroxidación de lípidos en *Lolium perenne*, y esta disminución coincide con un mayor crecimiento (Hartikainen *et al.*, 2000).

Las plantas absorben el selenio del agua, suelo o sedimentos y pueden acumularlo en sus tejidos y volatilizarlos. El selenio tomado por las plantas puede ser asimilado como formas inorgánicas (sin sufrir alteraciones), incorporado en proteínas que contienen selenio, y acumulado siguiendo la ruta metabólica del azufre, pudiendo ser incorporado de manera no específica dentro de compuestos de bajo y alto peso molecular, o formando parte de especies de selenio no proteicas (evitándose así la adición de Se-aminoácidos dentro de las proteínas) (Montes-Bayón *et al.*, 2002).

Los selenatos son tomados por la planta de una manera preferente sobre los selenitos, y acumulado tanto en raíces como en parte aérea. En cuanto a la habilidad para inducir la capacidad antioxidante (Cartes *et al.* 2005) demostraron que el selenito es un inductor más eficiente de la actividad glutatión peroxidasa.

Benavides *et al.* en el (2010) realizaron aportes de selenito de sodio a la solución nutritiva por vía foliar y en aplicación post- cosecha a frutos de tomate (*Lycopersicum esculentum* Mill.), utilizando sustratos inertes, lo cual concluyen que induce rápida toxicidad con aportes de selenio de 10 a 20 mg L<sup>-1</sup> como selenito de sodio (Na<sub>2</sub>SeO<sub>3</sub>) en la solución nutritiva, mientras que los aportes de 10 mg L<sup>-1</sup> en suelo y en turba canadiense aumentan el tamaño y calidad de los frutos.

### **2.16 Efecto del Selenito de sodio en plantas**

Cuando el selenio se encuentra en forma de selenato +6 parece ser movilizado a las células vegetales a través de un proceso de transporte primario acoplado a una H<sup>+</sup>-ATPasa, posiblemente por medio de un transportador de sulfato (Terry *et al.*, 2000) o de silicio (Zhao *et al.*, 2010). La absorción de selenito +4 ocurre por un mecanismo diferente a la del selenato (Terry *et al.*, 2000), posiblemente a través de un transportador de fosfato (Zhao *et al.*, 2010). Una vez absorbido, el selenato tiende a detectarse en los tejidos radicales en forma inorgánica, mientras que el selenito parece formar rápidamente compuestos orgánicos (De Souza *et al.*, 1998; Cartes *et al.*, 2006). En general se considera que el selenio se relaciona con el metabolismo antioxidante (Rayman, 2008) y se sabe que el selenito induce más efectivamente a esta actividad que el selenato (Cartes *et al.*, 2005).

Casi todos los cultivos, entre ellos el tomate, son del tipo denominado no acumulador de selenio, es decir, son plantas para las cuales más de 25 µg de selenio/1 g de peso seco de raíces y hojas resulta en toxicidad (White *et al.*, 2004). Esta puede manifestarse a través de estrés oxidativo considerando la habilidad pro-oxidante del selenio o por sustitución competitiva del azufre en las proteínas (Hartikainen *et al.*, 2000).

### **2.17 Impacto del selenito de sodio en el sistema antioxidante en plantas**

Los radicales libres son eliminados por moléculas antioxidantes. En estos, un primer grupo neutraliza la acción de los radicales libres ya formados, por tanto detiene la cadena de propagación; en este grupo pueden encontrarse enzimas detoxificadoras como la superóxido dismutasa y la catalasa, así como la glutatión peroxidasa (Sahnoun *et al.*, 1997). Las enzimas antioxidantes utilizan en su mayoría elementos traza como cofactores para sus reacciones y se destaca la función del selenio (Se) como elemento esencial y cofactor para la actividad de la glutatión peroxidasa, la cual es una de las enzimas detoxificadoras más importantes (Ryaman, 2005).



### **2.18 Inducción de resistencia sistémica adquirida (RSA)**

Esta activación de RSI se da por la proximidad de microorganismos estrechamente relacionados o en asocio con el tejido de la planta. Mientras que, en el caso de la RSA en el momento en que se da una infección localizada y la mediación activa de un inductor hace que las células del hospedante enciendan el ciclo de SAM (adenosin-metionina) por una cadena de genes que desencadenan uno o varios mecanismos de defensa contra ese patógeno en particular o inespecífico, contra otros potenciales agresores. Dos características de RSA son: (1) es efectiva contra un amplio espectro de diferentes patógenos y (2) es a largo plazo. (Moffat, 1992).

### **2.19 Inducción de resistencia sistémica inducida (RSI)**

La resistencia inducida es un “estado fisiológico” de incremento de la capacidad defensiva de la planta producida como respuesta a estímulos de medios ambientales específicos, por medio de los cuales las defensas innatas de esta son potencializadas en contra de diversos patógenos. Se desarrolla a partir de la colonización de las raíces de la planta por microorganismos de la rizosfera, particularmente rizobacterias. Este tipo de resistencia es conocida como resistencia sistémica inducida (RSI) y se caracteriza por estar mediada por vías metabólicas sensibles al ácido jasmonico, etileno y ser independiente de la expresión de los genes PR y del ácido salicílico (Pieterse y Van Loon 1999). La RSI está basada en una rápida e intensa respuesta de la planta a una subsecuente infección, que resulta de una rápida expansión de genes de defensa.

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 Localización del experimento

El trabajo experimental se estableció en el invernadero de Investigación ubicado en la Colonia Esperanza, Calle Principal, Km 6, Saltillo, Coahuila. Latitud 25°21'58.55" N, Longitud 101°1'47.35" O, 1745 msnm.

#### 3.2 Tratamientos

Se utilizaron los patógenos *Fusarium oxysporum* sp. *lycopersici* y *Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis* para someter a un estrés biótico en plantas de tomate con el uso de selenito de sodio en forma asperjada y en la solución de riego.

La aplicación de selenio se realizó después de la aparición de las primeras 5-6 hojas verdaderas, además de la aplicación de una solución nutritiva universal Steiner al 30%.

**Cuadro 3.1:** Descripción de los tratamientos utilizados en el experimento

TRAT.	DESCRIPCION	SIGLAS
1	Testigo absoluto	TA
2	Plantas con aplicación de selenio en solución de riego	SS
3	Plantas con la aplicación de selenio asperjado	SA
4	Plantas inoculadas con <i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i> (CMM)	CMM
5	Plantas con la aplicación de selenio en solución de riego e inoculadas con CMM	SSCMM

<b>6</b>	Plantas con la aplicación de selenio asperjado e inoculadas con CMM	SACMM
<b>7</b>	Plantas inoculadas con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (FOL)	FOL
<b>8</b>	Plantas con la aplicación de selenio en solución de riego e inoculadas con FOL	SSFOL
<b>9</b>	Plantas con la aplicación de selenio asperjado e inoculadas con FOL	SAFOL

### **3.3 Preparación del inóculo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.**

El hongo (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) utilizado fue proporcionado por el departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN. La cepa fue sembrada inicialmente en agar papa dextrosa (PDA), cuando estuvo la caja totalmente invadida por el crecimiento y conservada, se agregó 10 ml del líquido crioconservador (glicerol al 10% / leche descremada al 5%) y se raspó el micelio hasta que se desprendiera y se mezclara con el líquido. Posteriormente, se colocó esta mezcla en tubos Eppendorf de 1.5 ml estériles, y se almacenaron a -72°C. Para el inóculo de las plantas se llevó a cabo el crecimiento de FOL en caldo papa dextrosa, el cual se incubó durante 5 días a 25°C con una agitación de 125 rpm. Posteriormente el cultivo se centrifugó a 5000 g por 20 minutos, y se hicieron lavados con agua destilada estéril (2 veces). Ajustando la concentración de esporas con una cámara de Neu Bauer a  $1 \times 10^6$  esporas/ml.

La inoculación para el caso de FOL fue mediante inmersión de raíces en una solución de esporas de  $1 \times 10^6$  esporas/ml durante 10 minutos (Benhamou *et al.* 1998).

### **3.4 Preparación del inóculo de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*.**

La bacteria (*Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis*) utilizada fue proporcionada por el departamento de Parasitología Agrícola de la UAAAN. Se reactivó en los medios YDC (extracto de levadura 1 %, D-glucosa 2 %, CaCO<sub>3</sub> 2 %, agar 1.2 %); y NBY (Caldo nutritivo 0.8 %, extracto de levadura 0.2 %, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.2 %, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.025 %, agar 1.5 %). Las cajas se incubaron a 29 °C por 48 horas (Borboa et al., 2009). Posteriormente se conservó la bacteria en glicerol al 20% y se guardó a -20°C.

El inóculo para las plantas se preparó a partir de células en fase logarítmica temprana, las cuales fueron obtenidas creciendo la bacteria en NBY en matraces de 250 ml con 100 ml de caldo NBY estéril. Se incubaron a 28°C en un shaker orbital a 200 rpm por 48 horas. Posteriormente se centrifugó el medio a 3500 g por 10 minutos y las células se lavaron con agua destilada estéril (2 veces). La concentración se ajustó a 10<sup>8</sup>UFCmL<sup>-1</sup> por dilución de suspensiones hasta llegar a una densidad óptica 640 de 0.12 (Baysal et al., 2003).

La técnica de inoculación utilizada fue el corte de hoja e inoculación con la suspensión bacteriana y la aspersion directa a la hoja.

### **3.5 Prueba *in vivo***

La prueba *in vivo* se llevó a cabo con plantas de tomate de la variedad Río Grande (susceptibles a fitopatógenos), sembradas en macetas de una capacidad de 1L utilizando como sustrato peat moss y perlita en una proporción (70:30). La nutrición del cultivo se realizó mediante la aplicación de la solución nutritiva universal Steiner (Steiner, 1984). La prueba se dividió en 9 tratamientos (antes mencionados). La unidad experimental será una planta por maceta. La aplicación de selenito de sodio (Na<sub>2</sub>SeO<sub>4</sub>) se realizó cuando las plantas tuvieron de 5 a 6 hojas verdaderas a una concentración de 2 mg/L (vía solución de riego) y de 10 mg/L (vía foliar).

Cuatro días después de la aplicación del selenito de sodio, se inocularon las plantas de los tratamientos FOL, Selenio/FOL, CMM y Selenio/CMM utilizando la técnica para el caso de FOL de inmersión de raíces en una solución de esporas de  $1 \times 10^6$  esporas/ml durante 10 minutos, y para el caso de CMM se realizará por inoculación de hojas nuevas con una solución de  $1 \times 10^8$  UFC/ml. El diseño experimental de los tratamientos fué completamente al azar. De cada tratamiento se muestrearán 20 plantas elegidas al azar, a las cuales se les determinaron los siguientes parámetros: Altura de la planta, longitud de raíz, peso seco de hojas, peso seco de raíz, peso seco de tallo, la determinación de la severidad de la enfermedad producida por FOL (50 repeticiones), utilizando la escala de (Diener, 2005). Para el caso de CMM se utilizó la escala de severidad (50 repeticiones) según (Baysal *et al.*, 2003).

### **3.6 Diseño experimental**

El presente trabajo se estableció bajo un diseño completamente al azar, con 9 tratamientos y 100 repeticiones por tratamiento, dándonos un total de 900 unidades experimentales. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System), utilizando la prueba de Tukey al 95% de confiabilidad.

### **3.7. Variables evaluadas**

#### **3.7.1 Altura de planta**

La determinación de altura se realizó veinte días después de la inoculación con los fitopatógenos, se evaluaron 20 plantas de tomate de cada tratamiento, se realizó separando la parte aérea de la raíz, se midió la altura con una cinta métrica y los resultados se expresaron en centímetros.

### **3.7.2 Longitud de raíz**

La determinación se realizó veinte días después de la inoculación con los fitopatógenos, después de eliminar el agua y el sustrato de las raíces, se realizó la medición de la longitud de ésta, se evaluaron 20 plantas de tomate por cada tratamiento, utilizando una cinta métrica para determinar la longitud de raíces y los resultados se expresaron en centímetros.

### **3.7.3 Biomasa seca**

Las muestras de hojas, raíz, tallo y frutos se colocaron en bolsas de papel estraza y se sometieron a un proceso de secado en una estufa a una temperatura de 60 °C por un lapso de 48 horas, para posteriormente determinar peso seco en una balanza analítica, de cada tratamiento se evaluaron 20 repeticiones, los resultados se expresaron en gramos.

### **3.7.4 Parámetros relacionados a la fotosíntesis**

Los parámetros fotosintéticos se evaluaron a los 2, 7 y 20 días después de la aplicación del selenito de sodio utilizando el equipo Licor 6400.

### **3.7.5 Incidencia**

La incidencia es el porcentaje o proporción de plantas enfermas dentro de una unidad de muestreo (50 plantas), es una medida cuantitativa, rápida y sencilla que es generalmente más precisa y reproducible que otras mediciones cuantitativas (Zadoks and Schein, 1979; Seem, 1984).

### **3.7.6 Severidad**

La severidad es la cantidad de enfermedad que afecta las entidades (área foliar) dentro de una unidad de muestreo (50 plantas). La medida de severidad es más sencilla cuando se expresa como proporción o porcentaje de la unidad de

muestreo usando unidades de mediciones directas o estimaciones indirectas como claves o escalas (Zadoks y Schein, 1979; Seem, 1984).

Después de veinte días de la inoculación de los fitopatógenos, se evaluó la incidencia y severidad de cada tratamiento, utilizando la siguiente escala de severidad para FOL (Diener 2005)

Escala de Diener, la cual consiste en lo siguiente:

0 planta muerta;

1 las hojas viejas muertas, las jóvenes crecimiento detenido;

2 las hojas viejas cloróticas, hojas jóvenes con crecimiento detenido;

3 hojas viejas tienen clorosis vascular, hojas jóvenes con crecimiento detenido;

4 los peciolo de las hojas con crecimiento detenido;

5 no hay síntomas visibles.

Y utilizando la siguiente escala de severidad para CMM (Baysal *et al.*, 2003):

0, la hojas no muestran signos de marchitez;

1, marchitez marginal leve, 1–10% de las hojas marchitas;

2, 11–25% de las hojas marchitas;

3, marchitamiento sectorizado, 26–49% de las hojas muestran marchitez asociada con clorosis;

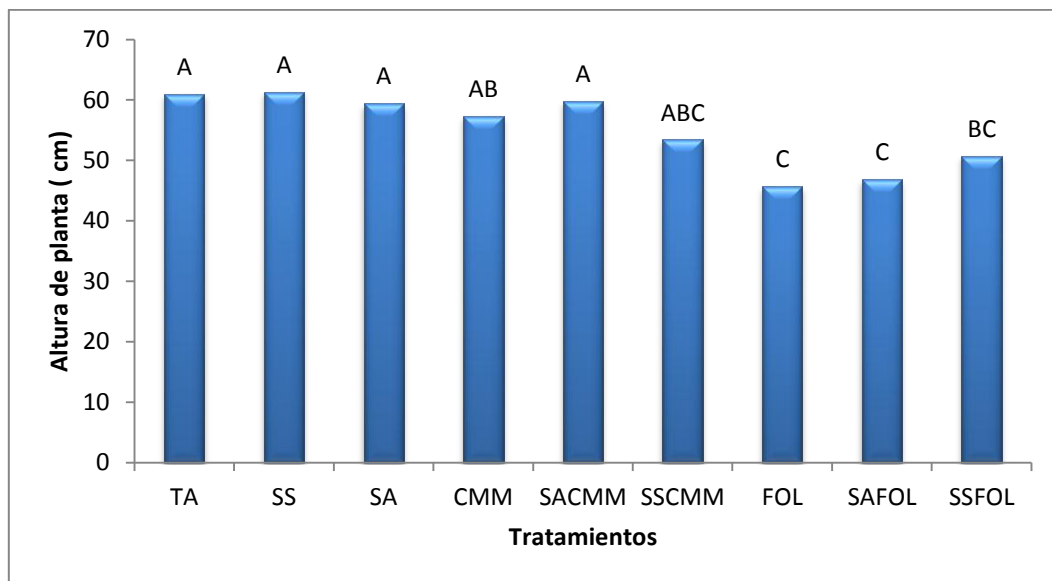
4, colapso de hojas pronunciado, 50–74% de las hojas muestran marchitez;

5, todas las hojas marchitas

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Altura de planta

Los resultados obtenidos para la variable de altura sobre plantas de tomate sometidas a un estrés biótico (Figura 1) muestran una diferencia significativa entre los tratamientos, observando que entre los tratamientos de Testigo absoluto (61 cm), Selenio en solución de riego (61.3 cm), Selenio asperjado (59.4 cm) y Selenio asperjado+ CMM (59.8 cm), hay diferencias estadísticas (Tukey  $\alpha=0.05$ ) entre estos tratamientos, y los restantes muestran una disminución en la altura de planta.



**Figura 1.** Comportamiento de la variable altura de plantas de tomate bajo un estrés biótico.

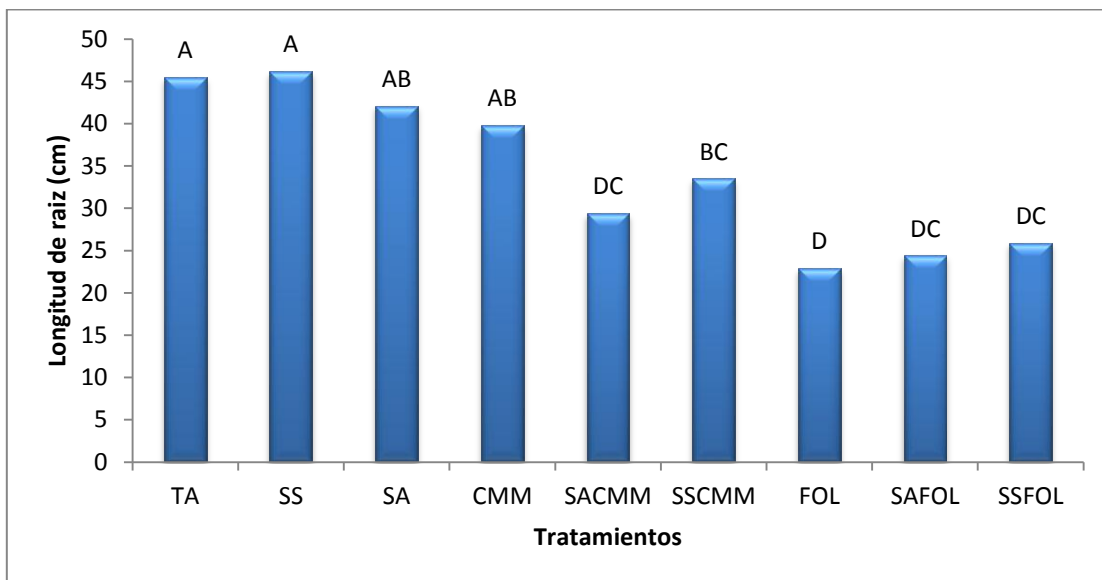
Los resultados obtenidos coinciden con los obtenidos por Sari y Etebariam, (2006) quienes encontraron que la aplicación de ácido salicílico, incrementa la altura de las plántulas de trigo bajo estrés biótico, esto debido a la producción de proteínas codificadoras de genes de señalización (conocidas como proteínas PR), que incrementan la concentración de ácido salicílico en la planta y esto a su vez, la producción de fitoalexinas que inhiben el crecimiento del patógeno, interfiriendo en su metabolismo, e induciendo una respuesta de desarrollo en la planta Rangel *et al.*, (2010). También coinciden con los encontrados por Villanueva *et al.*, (2009)



donde encontraron que la aplicación de ácido salicílico en concentración de  $10^{-8}$  y  $10^{-6}$  M asperjado al follaje, tuvieron efecto positivo al incrementar la altura de plantas de crisantemo.

#### 4.2 Longitud de raíz

La variable longitud de raíz en plantas de tomate bajo estrés biótico (Figura 2) muestran diferencia significativa entre los tratamientos, siendo los tratamientos con una mayor longitud de raíz el testigo absoluto (45.5 cm) y las plantas con aplicación de selenio en solución de riego (46.2 cm) en comparación a los demás tratamientos. Hay diferencias estadísticas (Tukey  $\alpha=0.05$ ) entre estos tratamientos, y los restantes muestran una disminución en la longitud de raíz.

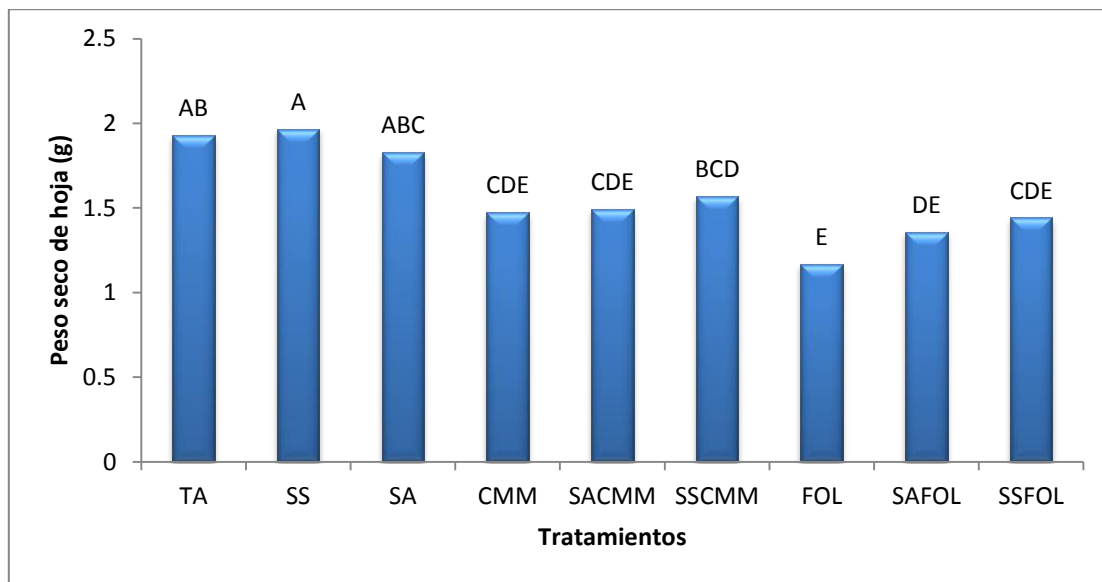


**Figura 2.** Comportamiento de la variable de longitud de raíz en plantas de tomate bajo un estrés biótico.

Rodríguez *et al.*, (2008) reporta que al aplicar ácido salicílico en plantas de tomate, se incrementó la longitud de raíz en un 16% comparado con el testigo. Por su parte Sari y Etebariam, (2006) indican que al tratar plántulas de trigo inoculadas con *Gaeumannomyces graminis* var. *Tritici* con ácido salicílico a concentraciones de 0.1 y 0.2 mmol ejerce efecto positivo al incrementar la longitud de raíz.

### 4.3 Peso seco de hoja

Los resultados de la variable de peso seco de hoja bajo estrés biótico (Figura 3) muestran diferencia significativa entre los tratamientos, siendo el tratamiento de plantas con la aplicación de selenio en solución (1.96 g) donde se obtuvo un mayor peso seco de hoja comparado con los demás tratamientos. Hay diferencias estadísticas (Tukey  $\alpha=0.05$ ) entre estos tratamientos, y los restantes muestran una disminución en el peso seco de hojas.



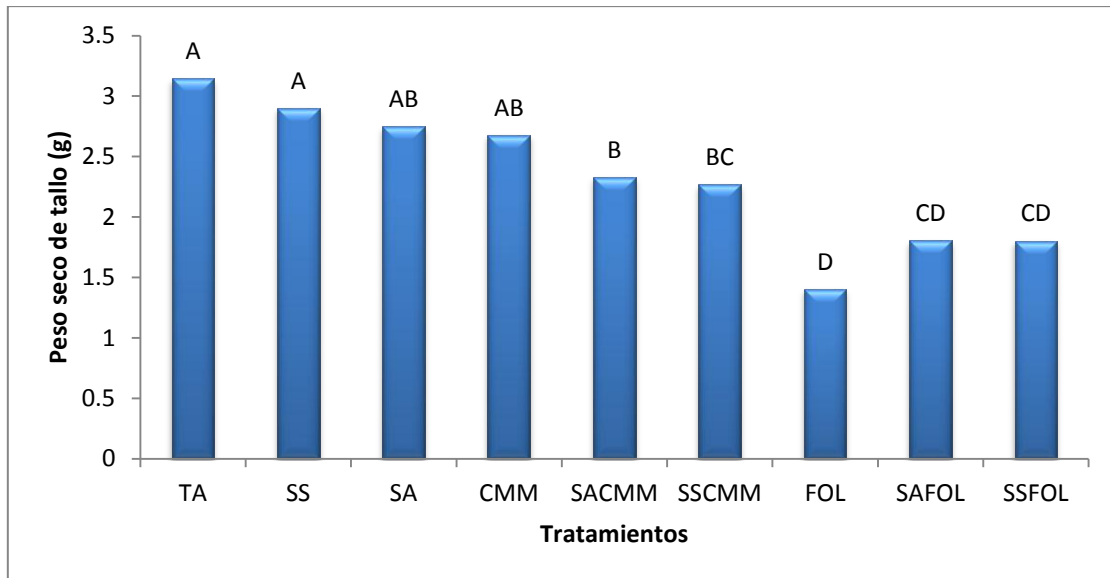
**Figura 3.** Comportamiento de variable de peso seco de hojas en plantas de tomate bajo un estrés biótico.

Los resultados obtenidos coinciden con los reportados por Arroyo (2006) ya que encontró que al aplicar ácido benzoico en papa, tiene efecto positivo al incrementar el peso seco foliar, Tambascio *et al.*, (2008) menciona que al aplicar fosfitos de potasio en papa, hay efecto positivo al incrementar el peso seco de hojas.

### 4.4 Peso seco de tallo

Los resultados en la variable de peso seco de tallo bajo el estrés biótico (Figura 4) muestran diferencia significativa entre los tratamientos, siendo los tratamientos con la mayor cantidad de biomasa de tallo el testigo absoluto (3.145 g) y las plantas con la aplicación de selenio en solución de riego (2.902 g), en comparación de los demás tratamientos. Hay diferencias estadísticas (Tukey

$\alpha=0.05$ ) entre estos tratamientos, y los restantes muestran una disminución en el peso seco de tallo.

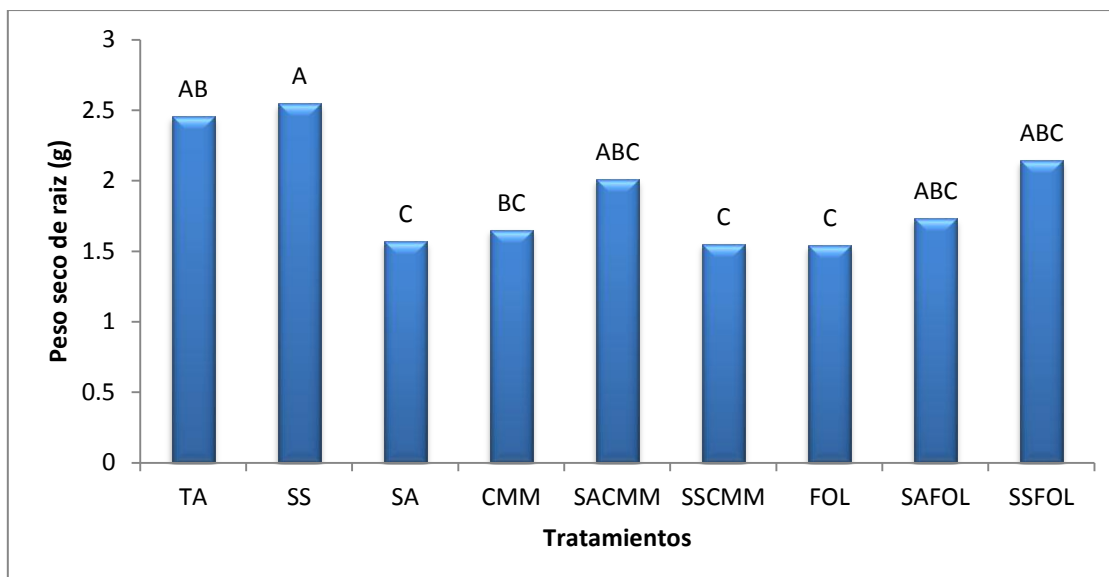


**Figura 4.** Comportamiento de la variable de peso seco de tallo en plantas de tomate bajo un estrés biótico.

Los resultados obtenidos coinciden con los reportados por Bectort *et al.* Benavides (2012), encontraron que cuando el selenio se aplicó con la solución fertilizante los valores más altos del elemento se encontraron en la raíz, seguidos de los tallos y hojas, y al final los frutos en plantas de tomate y al aplicarse de igual manera el selenio por aspersion foliar, la concentración en raíces, tallos y hojas tiende a igualarse, las concentraciones más bajas se presentaron en los frutos y estas mismas tendencias la describió Arvy (1993).

#### 4.5 Peso seco de raíz

Los resultados en la variable de peso seco de raíz bajo el estrés biótico (Figura 5) muestran diferencia significativa entre los tratamientos, siendo el tratamiento de plantas con la aplicación de selenio en solución de riego (2.549 g) el que mejor biomasa seca de raíz presentó en comparación con los demás tratamientos. Hay diferencias estadísticas (Tukey  $\alpha=0.05$ ) entre estos tratamientos, y los restantes muestran una disminución en el peso seco de tallo.

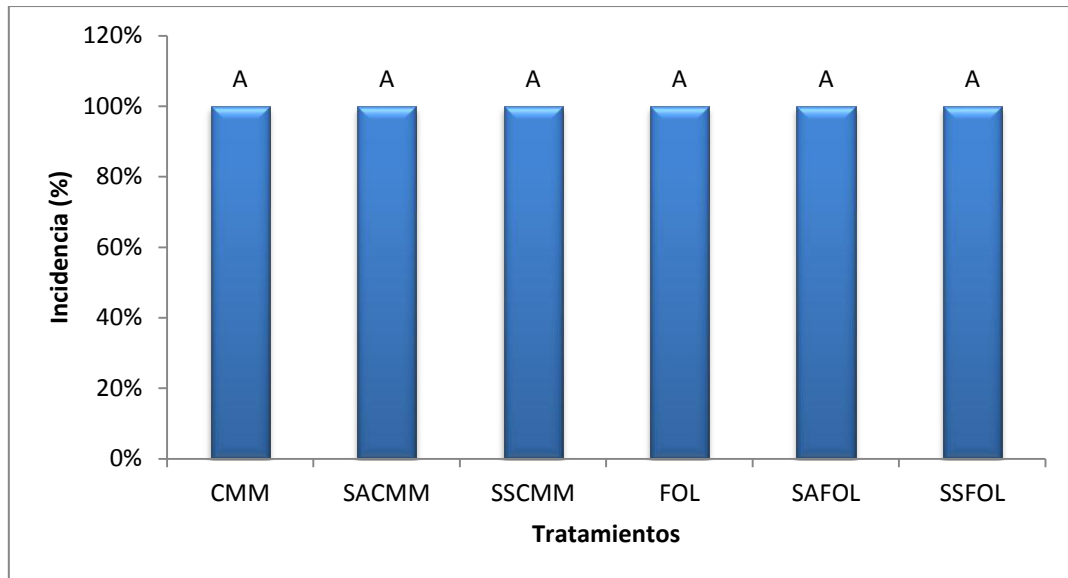


**Figura 5.** Comportamiento de la variable de peso seco de raíz de plantas de tomate bajo un estrés biótico.

Los resultados obtenidos coinciden con los encontrados por Arroyo, (2006) quien al aplicar ácido benzoico en papa, tiene efecto positivo en el peso de las raíces. También coinciden por los encontrados por Velázquez, (2010) quien reportó que la aplicación de silicio incrementó el peso seco de las raíces en plantas de tomate.

#### 4.6 Incidencia

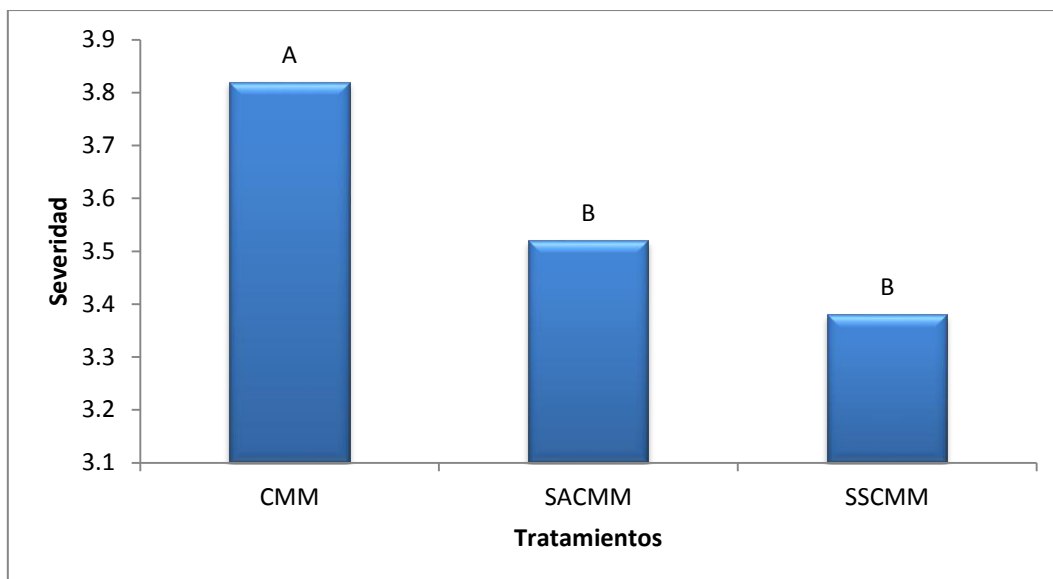
Los resultados obtenidos en la variable de incidencia de las plantas inoculadas con *Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis* y *Fusarium oxisporum* f. sp. *lycopersici* (Figura 6) con la aplicación selenito de sodio, no se muestran diferencias significativas entre los tratamientos. Esto es un comportamiento típico de moléculas elicitoras, ya que en general, la inducción de resistencia no es un método único para el combate de enfermedades y plagas, sino que debe combinarse con otras prácticas de control como la resistencia genética, las prácticas culturales, el control biológico y, a menudo, el uso reducido de plaguicidas (Walling 2001, Vallad y Goodman 2004, Urban y Lebeda 2006).



**Figura 6.** Comportamiento del porcentaje de la variable de incidencia en plantas de tomate con la inoculación de los patógenos CMM y FOL. la comparación de medias con la misma letra no son estadísticamente diferentes.

#### 4.7 Severidad

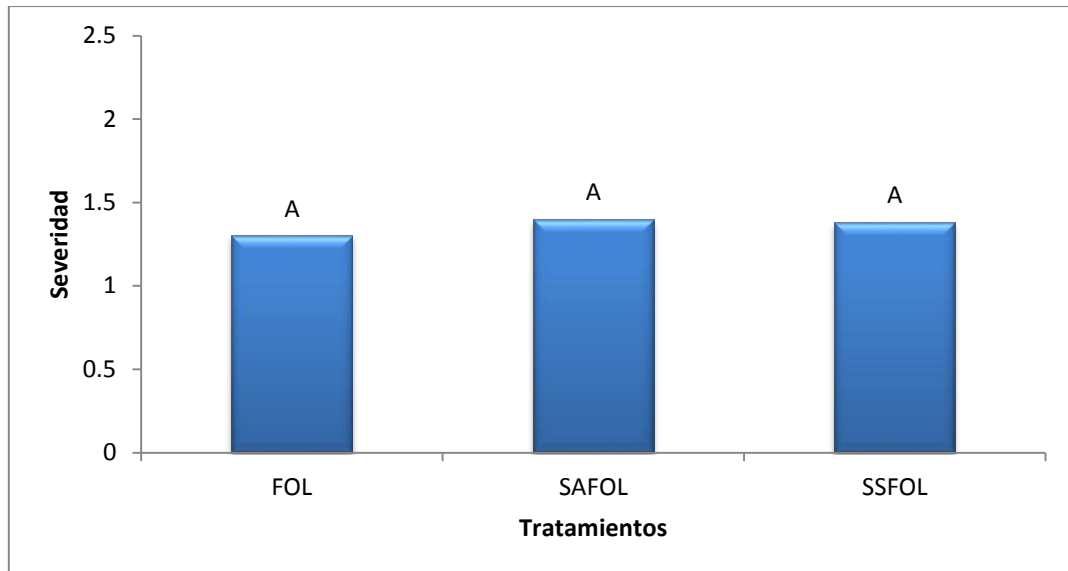
Los resultados obtenidos en la variable de severidad (Figura 7) indican que existe diferencia significativa entre los tratamientos inoculados con *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, donde se presenta una disminución de la severidad de los síntomas de 11.51% en las plantas tratadas con selenio vía solución de riego, y de 7.85% en las plantas tratadas con selenio asperjado en las hojas, ambos tratamientos inoculados con CMM en comparación con las plantas inoculadas solo con CMM. Hay diferencias estadísticas (Tukey  $\alpha=0.05$ ) entre estos tratamientos, y los restantes muestran un aumento en la severidad de la enfermedad.



**Figura 7.** Comportamiento de la variable de severidad en plantas de tomate con la inoculación del patógeno CMM y de la aplicación de selenio asperjado y en solución.

Los resultados obtenidos coinciden con los encontrados por Orober et al. (2002), quienes en plantas de pepino tratadas con sales de potasio, demostraron un aumento local y sistémico del Ácido salicílico (AS), lo cual está relacionado con la activación de la Resistencia Sistémica Adquirida. Cohen & Coffey (1986), atribuyen el modo de acción indirecto de Fosfito de potasio sobre los patógenos por acumulación de fitoalexinas.

Los resultados obtenidos en la variable de severidad (Figura 8) en las plantas inoculadas con *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* no muestran diferencias significativas entre tratamientos. Esto pudiera ser por falta de tiempo de acción del selenito de sodio en las plántulas de tomate, tal vez si se hubiera evaluado la severidad en planta adulta hubiera presentado algún control en los síntomas de las planta inoculadas con FOL. Las diferencias estadísticas (Tukey  $\alpha=0.05$ ).



**Figura 8.** Comportamiento de la variable de severidad en plantas de tomate con la inoculación del patógeno FOL y de la aplicación de selenio asperjado y en solución de riego.

#### 4.8 Parámetros fotosintéticos

Los resultados obtenidos (Cuadro 4.1) en el parámetro de tasa fotosintética bajo el estrés biótico muestran que si hay diferencia significativa entre los tratamientos en el primer muestreo, siendo el mejor tratamiento la aplicación de selenio en solución de riego con un aumento del 49 % en comparación del testigo, en el segundo muestreo de igual manera la aplicación de selenio en solución de riego muestra una diferencia significativa entre los tratamientos con un aumento del 31% en comparación del testigo y en el tercer muestreo también la aplicación de selenio en solución de riego fue el mejor tratamiento con un aumento del 70%. En los resultados obtenidos en el parámetro de conductancia en el primer muestreo, indican que si hay una diferencia significativa entre los tratamientos siendo el mejor la aplicación de selenio en solución de riego con un aumento del 37% en comparación del testigo, en la segunda lectura también hubo una diferencia significativa siendo el mejor tratamiento la inoculación de CMM + selenio asperjado del 58% en comparación del testigo y en el tercer muestreo no mostro una diferencia significativa entre los tratamientos.

En los resultados obtenidos en el parámetro de CO<sub>2</sub> intracelular muestran en el primer muestreo que si hay una diferencia significativa entre los tratamientos siendo los mejores, el testigo absoluto con el 100% y la aplicación de selenio en solución de riego con un aumento de 98%, en el segundo muestreo no hubo una diferencia significativa entre los tratamientos, y en el tercer muestreo si hay diferencia significativa entre los tratamientos siendo el mejor la inoculación de CMM con un aumento de 11% en comparación del testigo. Los resultados obtenidos en el parámetro de transpiración en el primer muestreo si hay una diferencia significativa entre los tratamientos siendo el mejor la aplicación de selenio en solución de riego con un aumento del 53% en comparación del testigo, en el segundo muestreo de igual manera hay una diferencia significativa siendo los mejores tratamientos la aplicación de selenio asperjado con un aumento del 24%, selenio en solución de riego con un aumento de 37%, así como la inoculación de CMM + selenio asperjado con un aumento de 30% y CMM + selenio en solución de riego con un aumento de 38% todos en comparación del testigo, y en el tercer muestreo no mostro una diferencia significativa entre los tratamientos.

**Cuadro 4.1:** Comportamiento de los parámetros fotosintéticos en plantas de tomate bajo el estrés biótico con la aplicación de selenio asperjado y en solución de riego.

Tratamientos	Tasa fotosintética <i>mmol CO<sub>2</sub> m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup></i>	Conductancia <i>mol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup></i>	CO <sub>2</sub> intracelular <i>mmol CO<sub>2</sub> mol<sup>-1</sup></i>	Transpiración <i>mmol H<sub>2</sub>O m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup></i>
TA*	8.115 b	0.4515 ab	<b>316.75 a</b>	7.8225 b
SA*	7.848 b	0.1975 b	282.5 b	5.8625 b
SS*	<b>12.113 a</b>	<b>0.6173 a</b>	<b>310.25 a</b>	<b>11.975 a</b>
TA**	3.455 abc	0.10235 ab	275.75 a	6.235 ab
SA**	4.168 ab	0.12853 ab	277.75 a	<b>7.77 a</b>
SS**	<b>4.518 a</b>	0.14908 ab	286 a	<b>8.535 a</b>
CMM**	2.755 abc	0.1329 ab	306 a	7.463 ab
CMM+SA**	3.493 abc	<b>0.16143 a</b>	303.75 a	<b>8.088 a</b>
CMM+SS**	3.493 abc	0.14825 ab	298.5 a	<b>8.63 a</b>
FOL**	0.24 c	0.0264 b	331.5 a	1.898 b
FOL+SA**	0.588 bc	0.04903 ab	366.75 a	3.008 ab



<b>FOL+SS**</b>	0.873 abc	0.02858 b	307.75 a	2.04 b
<b>TA***</b>	4.083 ab	0.0943 a	278.75 ab	4.7 a
<b>SA***</b>	2.315 ab	0.07915 a	295.25 ab	4.265 a
<b>SS***</b>	<b>6.933 a</b>	0.1254 a	248.25 b	6.74 a
<b>CMM***</b>	1.398 b	0.08753 a	<b>308.5 a</b>	4.923 a
<b>CMM+SA***</b>	2.958 ab	0.08295 a	283.5 ab	4.625 a
<b>CMM+SS***</b>	3.79 ab	0.08683 a	276 ab	4.965 a
<b>FOL***</b>	4.213 ab	0.06898 a	242.5 b	4.45 a
<b>FOL+SA***</b>	3.953 ab	0.10375 a	268.25 ab	5.508 a
<b>FOL+SS***</b>	5.273 ab	0.1161 a	257.5 ab	6.515 a

Los resultados se le atribuyen a que la aplicación de nutrientes resulta en un aumento de área foliar, todo lo cual aumenta la fotosíntesis por unidad de área (Richards, 2000). Los incrementos en la tasa de fotosíntesis no es garantía de que la biomasa total se incrementara, debido a que la curva de respuesta entre la tasa de fotosíntesis y la eficiencia en el uso de radiación (biomasa de cultivos / energía radiante) se disminuye a altas tasas de fotosíntesis y luego aumenta sustancial incluso con un incremento modesto en la biomasa (Milroy y BANGE, 2013).

En CO<sub>2</sub> intercelular mostro diferencias significativas, esto puede ser debido a la tasa de carboxilación por Rubisco que se disminuye, una respuesta común a situaciones de estrés (Valledor *et al.*, 2013).

En general las plantas con selenito de sodio en solución de riego tiene una mejor absorción y translocación de selenio (Se), puede ser refleja en los parámetros de alto nivel relacionados con la fotosíntesis. Dado que el selenio (Se) es absorbido por las raíces de las planta desde la solución del suelo predominantemente como selenato, pero también como selenito o selenio orgánico son absorbidos por la raíz, aunque el selenito no es normalmente acumulado en la raíz (Virupaksha *et al.* 1966; Shrift y Ulrich 1969; Martin *et al.* 1971; Asher *et al.* 1977; Blanco *et al.* 2004).

## V. CONCLUSION

La aplicación de selenito de sodio en solución de riego y la aplicación asperjada ayuda a reducir sustancialmente la presencia de síntomas de la bacteria fitopatógena *Clavibacter michiganensis* subesp. *michiganensis* ayudando a que tenga una tolerancia en las plántulas de tomate.

Con la aplicación de selenito de sodio en solución de riego aumento considerablemente los parámetros agronómicos como altura de planta, longitud de raíz y el peso seco de hoja, tallo y raíz, aumentando la biomasa de las plantas de tomate.

También con la aplicación de selenito de sodio en solución de riego aumento los parámetros fotosintéticos como la tasa fotosintética, conductancia, CO<sub>2</sub> intracelular, y transpiración.

## VI. LITERATURA CITADA

- Acencio-Alvarez, A.; A. López; F. Borrego; S. Rodríguez; A. Flores; F. Jiménez; A. Gómez. 2008.** Marchites Vascular del Jitomate: 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.
- Alscher, R. G. Donahue, J. L. Cramer, C. L. 1997.** Reactive Oxygen Species and Antioxidants: Relationships in Green Cells. *Physiol. Plant.* 100:24-233
- Alfonso-Prieto, M., Biarnes, X., Vidossich, P. and Rovira, C. 2009.** The molecular mechanism of the catalase reaction. *Journal of the American Chemical Society*, 131: 11751–11761.
- Angulo, M.J.H. 1996.** Efecto de razas de *Fusarium oxysporum* F. sp. *Lycopersicium* materiales silvestres de tomate. Tesis de licenciatura en Ciencias Agropecuarias. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán. Sinaloa, Mexico. 39 p.
- Aguirre, A. 1965.** Patología vegetal. Ediciones Omega S.A. Barcelona, España. 816 p.
- Agrios, George; 2002.** Fitopatología. Segunda edición. Limusa. Grupo Noriega Editores. Mexico. 425-431 pp
- Agency for Toxic Substances & Disease Registry (ATSDR),** Resumen de Salud Pública: Selenio. Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE. UU. [http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs92.html](http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs92.html).
- Arroyo, M, M. 2006.** Aplicación de Ácido Benzoico y extracto de Gobernadora en tubérculos de semilla de papa (*Solanum tuberosum* L.) Tesis de Licenciatura. Ingeniero Agrónomo en Horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
- Bañuelos, G. S., H.A. Ajwa, M. Mackey, L. Wu, and C. Cook. 1997.** Evaluation of different plant species used for phytoremediation of high soil selenium. *J. Environ. Qual.* 26: 639-646

- Baysal Ö., Soyly E. M. and. Soyly S., 2003.** Induction of defence-related enzymes and resistance by the plant activator acibenzolar-S-methyl in tomato seedlings against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* ssp. *Michiganensis* Plant Pathology 52: 747–753.
- Beckman, C. H. 1987.** The Nature of the Wilt Diseases of Plants. The American phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. USA. 80 p.
- Becvort-Azcurra Armando<sup>1</sup>, Laura Olivia Fuentes-Lara<sup>2</sup>, Adalberto Benavides-Mendoza<sup>1</sup>, Homero Ramírez<sup>1</sup>, Valentín Robledo-Torres<sup>1</sup> y María de las Nieves Rodríguez-Mendoza<sup>1</sup>. Agosto de 2012** artículo de aplicación de selenio en tomate: crecimiento, productividad y estado antioxidante del fruto.
- Broadley M. R, White P. J, Bryson R. J, Meacham M. C, Bowen H. C, Johnson S. E, Hawkesford M. J, Mc Grath S. P, Zhao F. J, Breward N, Harriman M, and Tucker M., 2006.** Biofortification of UK food crops with selenium. Proceedings of the Nutrition Society 65: 169-181.
- Borboa Flores J., Rueda Puente E. O., Acedo F. E., Ponce J. F., Cruz M., Juárez O., and García Ortega A. M., 2009.** Detección de *Clavibacter michiganensis* subespecie *michiganensis* en el tomate del estado de Sonora, México. Revista Fitotecnia Mexicana, 32 (4): 319-326.
- Brown, T. A. and A. Shrift. 1982.** Selenium: toxicity and tolerance in higher plants. Biol. Rev. 57: 59-84.
- Candolle, A. 1883.** Origine des plants cultivées. Bailliere. Paris.
- Cartes P., Gianfreda L., and Mora M. L., 2005.** Uptake of selenium and its antioxidant activity in ryegrass when applied as selenate and selenite forms. Plant Soil. 276: 359–367.
- Cárdenas, 2000.** Eficacia en el control químico de *Fusarium Oxysporum* y *Phytophthora capsici* en los cultivos de tomate, chile y sandía. Tesis de Maestría de la facultad de Agronomía, de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, Mexico. 156 p.

- Cai, G., Gale, I.R., Scheider, R.W., Kistler, H. C., Davis, R. M., Elias, K.S. Miyao, E. M. 2003.** Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum* F. SP. *Licopersici* at a single site in California. *Phitopatologi* 93: 1014-1022.
- Cartes, P., C. Shene, and M. L. Mora. 2006.** Selenium distribution in ryegrass and its antioxidant role as affected by sulfur fertilization. *Plant Soil*. 285:187-195.
- Cartes, P., L. Gianfrera, and M. L. Mora. 2005.** Uptake of selenium and its antioxidative activity in ryegrass when applied a selenite and selenite forms. *Plant Soil* 276: 359-367.
- Chang, R. J.; Ries, S. M. and Pataky, J. K. 1991.** Dissemination of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* by practices used to produce tomato transplants. *Phytopathology* 81:1276-1281
- Chang, R. J.; Ries, S. M. and Pataky, J. K. 1992.** Local sources of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in the development of bacterial canker on tomatoes. *Phytopathology* 82:553-560
- Cohen Y. & M. Coffey. 1986.** Systemic fungicides and the control of Oomycetes. *Annual Review of Phytopathology* 24:311-338.
- CNRDF-DGSV, 1999.** Memorias. Detección de *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. Centro Nacional de Referencias Fitosanitarias, Dirección General de Sanidad Vegetal. México.
- Combs, G.F. Jr. 2001.** Selenium in global food systems. *Br. J. Nutr.* 85:517-547.
- Cruz-Jimenez, G., 2005.** Toxicity and Accumulation of Selenium by Plant Species from the Chihuahua Desert. Tesis Doctoral. The University of Texas at El Paso. El Paso, Texas, USA. Págs.50-51.
- De Souza, M. P., E. A. H. Pilon-Smits, C. M. Lytle, S. Hwang, J. Tai, T. S. U. Honma, L. Yeh, and N. Terry. 1998.** Rate-limiting steps in selenium assimilation and volatilization by Indian mustard. *Plant Physiol.* 117: 1487-1494
- Diener Andrew C. and Ausubel Frederick M., 2005.** Resistance To *Fusarium Oxysporum* 1, a Dominant Arabidopsis Disease-Resistance Gene, Is Not Race Specific. *Genetics* 171: 305–321

- H.W. Lakin.** Selenium accumulation in soils and its absorption by plants and animals. *Geological Soc. Am. Bull.* 83:181, 1972.
- Hartikainen, H., T.L. Xue, and V. Piironen. 2000.** Selenium as an anti-oxidant and prooxidant in ryegrass. *Plant Soil* 225: 193-200.
- Hortalizas. 2010.** Tomates de México.
- FAO, 2003.** Manejo Integrado de Enfermedades. Pag 54 y 55.
- Fernández M. V. 1975.** Introducción a la fitopatología (3° edición) Volumen II: bacterias, fisiogénicas, fungicidas, nematodos. Colecciones científicas del INTA. Impreso en los talleres gráficos I. S. A. G. -Don Bosco 4053- Bs. As.
- Flores, j.; Ojeda-Bustamante, W.; López, i.; Rojano, a.; Salazar, I. 2007.** requerimientos de riego para tomate de invernadero. *TERRA latinoamericana*, 25:127-134.
- Fridovich, I (1974).** Superoxide dismutases. In: *Advances in Enzymology* (Meister, A, ed.), 35-97. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey, USA.
- Fu, L.-H., X.-F. Wang, Y.-M. She, L. J. Donald, K. G. Standing, and G. Ben-Hayyim. 2002.** A selenoprotein in the plant kingdom: mass spectrophotometry confirms that an opal codón (UGA) encodes selenocysteine in *Chlamydomonas reinhardtii* glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem.* 227: 25893-25991.
- Galicia Cabrera Rosa María 2009,** Extracción de pigmentos carotenoides en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) y su aplicación en sistemas alimentarios modelo, México D.F.
- García, S.R., Carrillo, A. J., Allende-Molar, R., Márquez Z. I. y Cruz-Ortega, J. 2000.** Síntomas e identificación de bacterias en plantas de tomate cultivadas con alta tecnología en Sinaloa. Resúmenes del XXVII Congreso Nacional de Fitopatología. Soc. Mex. De fitopatología. L-32.
- Garg, N. and Manchanda, G. 2009.** ROS generation in plants: boon or bane?. *Plant Biosys.*, 143: 80-96.
- Gill, S. and Tuteja, N. 2010.** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 909-930.

- González, G.R 1974.** Estudio sobre marchitez del tomate causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, en el valle de Culiacán, Sinaloa. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Posgraduados. Chapingo, Edo. México.
- Gonzales Pablo, 2006.** Enfermedades del Tomate. Facultad de Agronomía. Montevideo URUGUAY.
- Haglund, W.A.; Kraft, J. M2001.** *Fusarium wilts...*En: Kraft, J.M.; Pfleger, F.L (ed.). *Compendium of Pea Diseases and Pests.* The American Phytopathological Society Press.St.Paul, Minnesota. USA. 14-16-84pp.
- Hasanuzzaman M., Hossain M. A. and Fujita M., 2010.** Selenium in higher plants: physiological role, antioxidant metabolism and abiotic stress tolerance. *Journal of Plant Science* 5: 354-375.  
<http://www.siap.sagarpa.gob.mx/sistemas/siac>.
- Janse J. D, 2004.** Fatty acid analysis in the identification, taxonomy and ecology of (plant pathogenic) bacteria. In: Kowalchuk GA, de Bruijn FJ, Head IM, Akkermans AD, van Elsas JD, eds. *Molecular Microbial Ecology Manual*, 2nd ed. New York, USA: Springer Publishing, 973-982.
- Jones, J. B.; Stall, R. E. & Zitter, T. A. 1991.** *Compendium of tomato diseases.* The American Phytopathological Society. E.U. A. p 1.
- Kato, S., Ueno, T., Fukuzumi, S. and Watanabe, Y. 2004.** Catalase reaction by myoglobin mutants and native catalase. Mechanistic investigation by kinetic isotope effect. *Journal of Biological Chemistry* 279: 52376–52381.
- Lelliott, R.A. & D.E. Stead (1987).** *Methods for the diagnosis of bacterial diseases of plants.* Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- León G., Y M. Arosamena D. 1982.** El cultivo del tomate para consumo fresco en el valle de Culiacán. INIA-SARH. 183 p
- Lynch, M & Kuramitsu, H (2000).** Expression and role of superoxide dismutases (SOD) in pathogenic bacteria. *Microbes & Infection* 2, 1245-1255.
- Macua Gonzalez, J. I., Lahoz García, I., Calvillo Ruiz, S. y Bozal Yanguas, J. M. 2012.** Variedades de tomate para industria. Navarra Agraria. Edición 2013.

- MAPA/DGSPA, 1991.** Manual de laboratorio. Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Dirección General de la Producción Agraria. Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Marschner, H. 2002.** Mineral nutrition of higher plants. Second Edition. Academic Press. London, U. K. 889 p.
- Mayland, H.F. 1994.** Selenium in plant and animal nutrition. Pp 29-45. In: W. T. Jr. Frankenberger and J. Benson (eds.). Selenium in the environment. New York: Marcel Dekker.
- Maykelis Y., Pérez C., Prieto M., Wencomo H. and Lugo Y., 2010.** Determinación de antioxidantes enzimáticos en variedades e híbridos de *Morus alba* Determination of enzymatic antioxidants in *Morus alba* varieties and hybrids. Pastos y forrajes 33 (3):
- Mengel, K. and E. A. Kirkby. 1987.** Principles of plant nutrition. International Potash Institute, Bern: Int. Potash Inst. 687 p.
- Messiaen, C.M., y R. Lafon. 1968.** Enfermedades de las hortalizas. Editorial Oikos tau. Barcelona, España. 361 p.
- Milroy, S. P. and Bange, M. P. 2013.** Reduction in radiation use efficiency of cotton (< i> *Gossypium hirsutum*</i> L.) under repeated transient waterlogging in the field. Field Crops Research, 140, 51-58.
- Mittler, R. 2002.** Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci. 7:405-410
- Montes-Bayón, M., T. D. Grant, J. Mejia, and J. A. caruso. 2002.** Selenium in plants by mass spectrometric techniques: developments in bio-analytical methods. J. Anal. At.Spectrom. 17: 1015-1023.
- N. Terry, A.M. Zayed, M.P. deSouza, A.S. Tarun. 2000.** Selenium in higher plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51:401–432.
- Nelson, P.E. 1981.** Life cycle and epidemiology of *F.oxysporum*. M.E. Mace, AA. Bell and C.H. Beckman (Eds.). Fungal wilt diseases of plants. Academic Press. New York. 51-80pp.



- Nelson, P.E., Toussoun, T.A., Marasas. W.F.O. (1983)** *Fusarium Species: an illustrated manual for identification*. Pennsylvania State University Press, Estados Unidos de America. 191 p.
- Nuño Moreno, R., Ponce Medina, J. F., Hernandez Zavalza, C. y Machain Servín, G. M. 2007.** Manual de producción de tomate rojo bajo condiciones de invernadero. Fundación produce. Mexicali. Baja California. México. Pag 3-4.
- OEPP/EPPO. 2005.** No. 39, Diagnostic protocol for *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. – Data Sheets on Quarantine Pests. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 35, 275-283.
- Ohr, H.D., Sims, J., Grech N. M., Becker J. O., Mejr M. 1996.** Methyl iodide, an oz alternative to methyl bromide as a soil fumigant. *Plant Disease*, 80(7):731-735.
- Orober M., J. Siegrist & H. Buchenauer. 2002.** Mechanisms of phosphate-induced disease resistance in cucumber. *European Journal of Plant Pathology* 108:345-353.
- López, N. J. E. 1996.** Bacterias de importancia cuarentenaria con su rango de hospederos y su principal área de inspección. Métodos de diagnóstico de bacteria de importancia cuarentenaria. Secretaria de Agricultura, Ganadería, y Desarrollo Rural. Comisión Nacional de Sanidad Vegetal Agropecuario. Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Capitulo V.
- Rangel, S. G., Castro, M. E., Beltrán, P. E., Reyes, C. H., García, P. E. (2010)** El ácido salicílico y su participación en la resistencia a patógenos en plantas. *Biológicas*, 12(2): 90 – 95.
- Ramirez, H. Rancaño, A, J, H. Benavidez, M, A. Mendoza, V, R. padrón, C, E. 2006.** Influencia de promotores de oxidación controlada en hortalizas y su relación con antioxidantes. *Revista Chapingo. Horticultura*, julio-diciembre, vol. 12, número 002. Universidad autónoma Chapingo, México. Pp 189-195
- Rat, B.; Poissonnier, J.; Goisque, M.J.; Burgaud, A. (1991)** Le point sur le chancre bactérien. *Fruit et Légumes* 86, 38-40.

- Rayman, M. P., 2008.** Food-chain selenium and human health: emphasis on intake. *British Journal of Nutrition* 100: 254–268.
- Richards, R.A. 2000.** Selectable traits to increase crop photosynthesis and yield of grain crops. *Journal of Experimental Botany* 51: 447-458
- Rick, C.M. 1978.** El tomate investigación y ciencia. The tomato. *Sci. Amer.* 239(2): 45-55.
- Romero, C., S. 1993.** Hongos fitopatógenos. 1a reimpresión. Universidad Autónoma Chapingo. México. Pp 19, 76 y 69.
- Rodríguez, L, L. Matos, L. Santos, P. Infante, S. 2008.** Crecimiento, floración y fructificación en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum* L., var. Vyta) provenientes de semillas tratadas con ácido salicílico. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Granma. Cuba
- Sánchez, C.M.A. 1998.** Enfermedades causadas por hongos en tomate. Pp.17-28. En: O.J. Cruz, R. García E. y A. Carrillo F. (eds.). *Enfermedades de las Hortalizas.* Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 225p.
- Sari, E. Etebarian, H, R. 2006.** Concentration-dependent effect of salicylic acid application on wheatseedling resistance to take-all fungus, *Gaeumannomyces graminis* var. *Tritici*. *Phytoparasitica* 37:67–76.
- Smith, I. M., Dunez, J., Lelliott, R.A., Phillips, D. H., Archer, S. A. 1992.** Manual de enfermedades de las plantas. Mundi-Prensa. Madrid, España.
- Stainer, R. AND M. Doudoroff, M. 1977** *Microbiología.* Editorial. Aguilar S. A. Barcelona España. 467 p.m.
- Steiner, A.A., 1984.** The universal nutrient solution. *Proceedings 6th International Congress on Soils Culture.* Wageningen. The Netherlands. 633-650.
- Sumerell A B Leslie F J Backhouse D., Bryden L Wayne, Burgess W. L. 2002** *Fusarium* Paul E. Nelson Memorial Symposium .Second printing.The American Phytopathological Society. St Paul Minnesota, USA. 15-23pp.
- Tambascio, C. Dosio, G. A. A. De Lasa, C. Andreu, A. B. Caldiz, D. O. 2008.** Efecto del fosfito de potasio sobre la intercepción de radiación y la clorofila en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) por aplicación a la semilla y/o al

- follaje. Laboratorio de Fisiología Vegetal, Unidad Integrada (FCA UNMdP - EEA INTA) Balcarce. Argentina.
- Tello, J.C., Lacasa, A. 1988** Evolucion racial de producciones *Fusarium oxysporum* f, sp.*licopersici*. Boletin de Sanidad Vegetal-Plagas 14: 335-341.
- Peralta I.E., Knapp S.K. y Spooner D.M.2005.** New species of wild tomatoes (solanum section Lycopersicon: Solanaceae) from northern Peru Systematic Botany 30(2):424-434.
- Pérez M. L. y Rico J. E. 2004.** Virus fitopatógenos en cultivos hortícolas de importancia económica en el estado de Guanajuato.1ra edición, Universidad de Guanajuato e Instituto de Ciencias Agrícolas. México, D.F. págs.: 63-79.
- Peralta, I., S. Knapp, and D.M. Spooner. 2005. New species of wild tomatoes (Solanum section Lycopersicon: Solanaceae) from northern Peru. Syst. Bot.30:424-434.
- Van, Haeff, J. N. 1995.** Manuales de tomates para educación agropecuaria. Área: producción vegetal. 2º Edición. Editorial Trillas. México, D.F. pp.16.
- Valenzuela –Ureta, J.G., Lawn, D. A., Heisey. R.F., Zamudio, G. V. 1996.** First report of *Fusarium* Wilt race 3, Caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Licopersici*, of tomato in Mexico Plant Disease 80:105
- Valledor, L., Furuhashi, T., Hanak, A. M., and Weckwerth, W. (2013).** Systemic cold stress adaptation of *Chlamydomonas reinhardtii*. Molecular & Cellular Proteomics.
- Velázquez, M, N, S. 2010.** Análisis de la fertilización a base de Silicio en el cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en condiciones de invernadero y cultivo sin suelo. Tesis de licenciatura. Ingeniero Agrónomo en Horticultura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Villanueva, C, E. Alcantar, G, G. Sánchez G, P. Soria, F, M. Parque, S, A. 2009** Efecto del ácido salicílico y dimetilsulfóxido en la floración de [*Chrysanthemum morifolium* (Ramat) Kitamura] en Yucatán. Departamento de Posgrado e Investigación, Instituto Tecnológico de Conkal

- Virupaksha, T.K., Shrift, A. and , H. 1966** Metabolism of selenomethionine in selenium accumulator and non-accumulator Astragalus species. *Biochim Biophys Acta* 130: 45–55
- White, P. J., H. C. Bowen, P. Parmaguru, M. Fritz, W. P. Spracklen, R. E. Spiby, M. C. Meacham, A. Mead, M. Harriman, L. J. Trueman, B. M. Smith, B. Thomas, and M. R. Broadley. 2004.** Interactions between selenium and sulphur nutrition in *Arabidopsis thaliana*. *J. Exp. Bot.* 55:1927-1937.
- [www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx). Acceso en línea. Mayo de 2013.
- Zamocky, M., Furtmüller, P. and Obinger C. 2008.** Evolution of catalases from bacteria to humans. *Antioxidants and Redox Signaling*, 10 (9): 1527–1547.
- Zhao, X. Q., N. Mitani, N. Yamaji, R. F. Shen, and J. F. Ma. 2010.** Involvement of silicon influx transporter OsNIP2;1 in selenite uptake in rice. *Plant Physiol.* 153: 1871-1877

## VII. APÉNDICE

**Cuadro 1.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de altura de planta por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculadas.

Agrupamiento de Tukey	Medias	Tratamientos
A	61.300	2
A	61.000	1
A	59.800	5
A	59.400	3
AB	57.300	4
ABC	53.400	6
BC	50.700	9
C	46.900	8
C	45.700	7

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
<b>TRATAMIENTOS</b>	8	2965.022222	370.627778	10.35	<.0001
<b>ERROR</b>	81	2901.700000	35.823457		
<b>TOTAL</b>	89	5866.722222			
<b>C.V (%)</b>	10.87133				

**Cuadro 2.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de longitud de raíz por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculadas.

Agrupamiento de Tukey	Medias	Tratamientos
-----------------------	--------	--------------

A	46.200	2
A	45.500	1
AB	42.100	3
AB	39.800	4
BC	33.500	6
CD	29.400	5
CD	25.900	9
CD	24.400	8
C	22.900	7

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>P&gt;F</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	8	6812.08889	851.5111	20.32	<.0001
<b>ERROR</b>	81	3393.70000	41.89753		
<b>TOTAL</b>	89	10205.78889			
<b>C.V (%)</b>	18.81029				

**Cuadro 3.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de peso seco de hoja por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculadas.

<b>Agrupamiento de Tukey</b>	<b>Medias</b>	<b>Tratamientos</b>
A	1.9680	2
AB	1.9280	1
ABC	1.8280	3
BCD	1.5700	6
CDE	1.4950	5

CDE	1.4730	4
CDE	1.4430	9
DE	1.3590	8
E	1.1700	7

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
<b>TRATAMIENTOS</b>	8	5.87614222	0.73451778	9.90	<.0001
<b>ERROR</b>	81	6.00924000	0.07418815		
<b>TOTAL</b>	89	11.88538222			
<b>C.V (%)</b>	17.22197				

**Cuadro 4.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de peso seco de tallo por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculadas.

Agrupamiento de Tukey	Medias	Tratamientos
A	3.1450	1
A	2.9020	2
AB	2.7490	3
AB	2.6780	4
B	2.3310	5
BC	2.2720	6
CD	1.8070	8
CD	1.8040	9
D	1.4060	7

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>P&gt;F</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	8	26.93711556	3.36713944	25.84	<.0001
<b>ERROR</b>	81	10.5548000	0.13030617		
<b>TOTAL</b>	89	37.49191556			
<b>C.V (%)</b>	15.40161				

**Cuadro 5.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de peso seco de raíz por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculadas.

<b>Agrupamiento de Tukey</b>	<b>Medias</b>	<b>Tratamientos</b>
A	2.5490	2
AB	2.4570	1
ABC	2.1450	9
ABC	2.0080	5
ABC	1.7330	8
BC	1.6520	4
C	1.5680	3
C	1.5530	6
C	1.5420	7

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>P&gt;F</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	8	12.50056889	1.56257111	4.68	<.0001
<b>ERROR</b>	81	27.03841000	0.33380753		
<b>TOTAL</b>	89	39.53897889			
<b>C.V (%)</b>	30.21937				



**Cuadro 6.** Comparación de la variable de incidencia en porcentaje.

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>PLANTAS SANAS</b>	<b>PLANTAS ENFERMAS</b>	<b>INCIDENCIA</b>
CMM	0	50	100%
SACMM	0	50	100%
SSCMM	0	50	100%
FOL	0	50	100%
SAFOL	0	50	100%
SSFOL	0	50	100%

**Cuadro 7.** Comparación de promedio de la variable de severidad.

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>SEVERIDAD</b>
CMM	3.82
SACMM	3.52
SSCMM	3.38
FOL	1.3
SAFOL	1.4
SSFOL	1.38

**Cuadro 8.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable tasa fotosintética por efecto de la aplicación de selenito de sodio a los 2 días.

<b>Agrupamiento de Tukey</b>	<b>Medias</b>	<b>Tratamientos</b>
A	12.113	3
B	8.115	1

B	7.848	2
---	-------	---

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
<b>TRATAMIENTOS</b>	2	45.65571667	22.82785833	10.37	0.0046
<b>ERROR</b>	9	19.81345000	2.20149444		
<b>TOTAL</b>	11	65.46916667			
<b>C.V (%)</b>	15.85478				

**Cuadro 9.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable tasa fotosintética por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 7 días.

Agrupamiento de Tukey	Medias	Tratamientos
A	4.518	3
AB	4.168	2
ABC	3.493	6
ABC	3.493	5
ABC	3.455	1
ABC	2.755	4
ABC	0.873	9
BC	0.588	8
C	0.240	7

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
<b>TRATAMIENTOS</b>	8	84.3297500	10.5412188	4.23	0.0022

<b>ERROR</b>	27	67.3116500	2.4930241		
<b>TOTAL</b>	35	151.6414000			
<b>C.V (%)</b>	60.26455				

**Cuadro 10.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable tasa fotosintética por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 20 días.

<b>Agrupamiento de Tukey</b>	<b>Medias</b>	<b>Tratamientos</b>
A	6.933	3
AB	5.273	9
AB	4.213	7
AB	4.083	1
AB	3.953	8
AB	3.790	6
AB	2.958	5
AB	2.315	2
B	1.398	4

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>P&gt;F</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	8	83.5390500	10.4423812	2.60	0.0299
<b>ERROR</b>	27	108.2964250	4.0109787		
<b>TOTAL</b>	35	191.8354750			
<b>C.V (%)</b>	51.62817				

**Cuadro 11.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de conductancia por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 2 días.

<b>Agrupamiento de Tukey</b>	<b>Medias</b>	<b>Tratamientos</b>
A	0.6173	3
AB	0.4515	1
B	0.1975	2

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>P&gt;F</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	2	0.35757217	0.17878608	6.30	0.0194
<b>ERROR</b>	9	0.25537075	0.02837453		
<b>TOTAL</b>	11	0.61294292			
<b>C.V (%)</b>	39.90857				

**Cuadro 12.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de conductancia por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 7 días.

<b>Agrupamiento de Tukey</b>	<b>Medias</b>	<b>Tratamientos</b>
A	0.16143	5
AB	0.14908	3
AB	0.14825	6
AB	0.13290	4
AB	0.12853	2
AB	0.10235	1
AB	0.04903	8

B	0.02858	9
B	0.02640	7

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
<b>TRATAMIENTOS</b>	8	0.09379929	0.01172491	4.11	0.0026
<b>ERROR</b>	27	0.07695148	0.00285005		
<b>TOTAL</b>	35	0.17075077			
<b>C.V (%)</b>	51.85755				

**Cuadro 13.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de conductancia por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 20 días.

Agrupamiento de Tukey	Medias	Tratamientos
A	0.12540	3
A	0.11610	9
A	0.10375	8
A	0.09430	1
A	0.08753	4
A	0.08683	6
A	0.08295	5
A	0.07915	2
A	0.06898	7

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
----	----	----	----	---	-----

<b>TRATAMIENTOS</b>	8	0.01052675	0.00131584	0.51	0.8411
<b>ERROR</b>	27	0.07021901	0.00260070		
<b>TOTAL</b>	35	0.08074576			
<b>C.V (%)</b>	54.31804				

**Cuadro 14.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de CO<sub>2</sub> intracelular por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 2 días.

<b>Agrupamiento de Tukey</b>	<b>Medias</b>	<b>Tratamientos</b>
A	316.750	1
A	310.250	3
B	282.500	2

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>P&gt;F</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	2	2647.166667	1323.583333	14.55	0.0015
<b>ERROR</b>	9	818.500000	90.944444		
<b>TOTAL</b>	11	3465.666667			
<b>C.V (%)</b>	3.145623				

**Cuadro 15.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de CO<sub>2</sub> intracelular por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 7 días.

<b>Agrupamiento de Tukey</b>	<b>Medias</b>	<b>Tratamientos</b>
A	366.75	8
A	331.50	7

A	307.75	9
A	306.00	4
A	303.75	5
A	298.50	6
A	286.00	3
A	277.75	2
A	275.75	1

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>P&gt;F</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	8	26073.22222	3259.15278	1.64	0.1606
<b>ERROR</b>	27	53733.75000	1990.13889		
<b>TOTAL</b>	35	79806.97222			
<b>C.V (%)</b>	14.58007				

**Cuadro 16.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de CO<sub>2</sub> intracelular por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 20 días.

<b>Agrupamiento de Tukey</b>	<b>Medias</b>	<b>Tratamientos</b>
A	308.50	4
AB	295.25	2
AB	283.50	5
AB	278.75	1
AB	276.00	6
AB	268.25	8

AB	257.50	9
B	248.25	3
B	242.50	7

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
<b>TRATAMIENTOS</b>	8	14852.00000	1856.50000	3.77	0.0044
<b>ERROR</b>	27	13309.00000	492.92593		
<b>TOTAL</b>	35	28161.00000			
<b>C.V (%)</b>	8.127615				

**Cuadro 17.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de transpiración por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 2 días.

Agrupamiento de Tukey	Medias	Tratamientos
A	11.9750	3
B	7.8225	1
B	5.8625	2

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

FV	GL	SC	CM	F	P>F
<b>TRATAMIENTOS</b>	8	257.9182020	32.2397753	5.64	0.0003
<b>ERROR</b>	27	154.2623130	5.7134190		
<b>TOTAL</b>	35	412.1805150			
<b>C.V (%)</b>	40.08624				



**Cuadro 18.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de transpiración por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 7 días.

<b>Agrupamiento de Tukey</b>	<b>Medias</b>	<b>Tratamientos</b>
A	8.630	6
A	8.535	3
A	8.088	5
A	7.770	2
AB	7.463	4
AB	6.235	1
AB	3.008	8
B	2.040	9
B	1.898	7

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>P&gt;F</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	8	257.9182020	32.2397753	5.64	0.0003
<b>ERROR</b>	27	154.2623130	5.7134190		
<b>TOTAL</b>	35	412.1805150			
<b>C.V (%)</b>	40.08624				

**Cuadro 19.** Comparación de medias y análisis de varianza para la variable de transpiración por efecto de la aplicación de selenito de sodio e inoculación a los 20 días.

<b>Agrupamiento de Tukey</b>	<b>Medias</b>	<b>Tratamientos</b>
A	6.740	3

A	6.515	9
A	5.508	8
A	4.965	6
A	4.923	4
A	4.700	1
A	4.625	5
A	4.450	7
A	4.265	2

\* Medias con la misma letra no son significativamente diferentes Tukey ( $p \geq 0.05$ ).

<b>FV</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F</b>	<b>P&gt;F</b>
<b>TRATAMIENTOS</b>	8	25.3744722	3.1718090	0.62	0.7525
<b>ERROR</b>	27	137.8603500	5.1059389		
<b>TOTAL</b>	35	163.2348222			
<b>C.V (%)</b>	43.55685				