

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Evaluación de Resistencia en Plantas de Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) por la Aplicación Exógena de Afinina Contra la Infección de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* y *Botrytis cinerea*

Por:

DANIEL ALEJANDRO RODRÍGUEZ CHÁVEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre del 2015

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Evaluación de Resistencia en Plantas de *Lisianthus (Eustoma grandiflorum)* por la
Aplicación Exógena de Afinina Contra la Infección de *Fusarium oxysporum* f.sp.
lycopersici y *Botrytis cinerea*

Por:

DANIEL ALEJANDRO RODRÍGUEZ CHÁVEZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

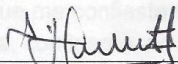
INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dr. Alberto Flores Olivas

Asesor Principal



Dr. José Humberto Valenzuela Soto

Coasesor

Lidia M. Flores T.

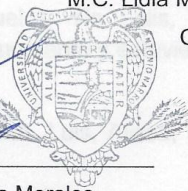
M.C. Lidia Monserrat Flores Torres

Coasesora



Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Diciembre del 2015

DEDICATORIAS

Dedico el presente trabajo tesis primeramente a Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado y por darme la capacidad de pagarme mis estudios y soportar las adversidades, además de darme fortaleza por los momentos en que no tuve que comer ni donde vivir, y por último inteligencia para concluir mis estudios y el presente trabajo.

A mi madre por darme la vida, por enseñarme los valores que hoy en día rigen mi vida, por darme su confianza y amor a pesar de los tiempos difíciles, por su paciencia y fuerza de no vernos en tiempos distantes, también por creer en mí y confiar en la conclusión de mis estudios además de ese apoyo incondicional en los momentos difíciles de mi vida.

A mi padre por darme la fortaleza, por enseñarme lo importante que es el trabajo y el compromiso, por darme su apoyo cuando lo necesité, por su confianza y por tu manera de demostrarme tu cariño que me forjó un carácter, e instruirme para afrontar las verdades de esta vida.

A mis hermanas, que me llamaron cuando necesite de su apoyo, por su cariño y ternura, por regalarme los momentos felices que compartimos juntos en familia.

“La dicha de la vida consiste en tener siempre algo que hacer, alguien a quien amar y alguna cosa que esperar” con esta frase dedico muy en especial a la mujer que ha estado conmigo en todo este trayecto académico, por su apoyo y motivación incondicional, por estar conmigo en las buenas y en las malas, por su confianza y paciencia, por esperarme en la distancia, por abrigarme cuando tuve frío, por darme de comer cuando tuve hambre y por aconsejarme y motivarme a la conclusión del presente trabajo, de mis estudios y de buscar siempre algo mejor. Te dedico este trabajo y mi vida a ti que me confiaste tu vida y la de tu maravilloso hijo, lo dedico a ti mi fiel compañera, amiga, confidente, novia y futura esposa Melissa Estrada.

A mi tita, mi abuela, abuelo, Tío Miguel y Tía Lolis, que me apoyaron incondicionalmente, estuvieron conmigo en todo momento y estuvieron al pendiente de mis avances académicos.

A mis nuevas amistades: Israel, Mehír, Paco, Luis, Alissa, Marissa, Don José, Doña Perla, Jona, Dora, Pepito, Piña, Benja y Gabo.

A la Radio Universidad Agraria por su hospitalidad y enseñanzas que me ayudaron a manejar mi dicción y expresión verbal, al igual que darme la oportunidad de colaborar con ellos por 2 años.

Por último pero muy en especial quiero dedicar el presente trabajo a mi Tito (Rubén Chávez) quien fue mi inspiración y modelo a seguir para tomar la agronomía como un estilo de vida y no algo que estudiar, es un orgullo ser tu nieto y haber compartido momentos juntos, aunque ya no estés con nosotros siempre te recordare con mucho cariño y admiración.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi alma terra mater por darme las bases y sus instalaciones para la realización del presente trabajo, por sus herramientas, por darme maestros capaces de formarme académicamente, por concluir mis estudios por ser el pilar de mis conocimientos y mi futuro trabajo.

A mi tutor M.C. Víctor Sanchez, por ser constante en mi avance académico, apoyarme en todo momento y compartir sus conocimientos y experiencias.

A mis maestros y amigos M.C Antonio Cárdenas, M.C Arturo Coronado, Dr. Alberto Sandoval, Dr. Fidel Cabezas y Dr. Melchor Cepeda Siller por sus enseñanzas y consejos además de compartir sus conocimientos y experiencias.

Al Dr. Humberto Valenzuela, por confiarme el proyecto ahora trabajo de tesis, por compartir sus conocimientos, por su apoyo para hacer posible la realización de mi tesis y por su amistad y confianza.

Al Dr. Alberto Flores por su confianza en el presente trabajo, por brindarme sus conocimientos, por su apoyo en todo momento y hacer posible la realización de mi tesis.

A la M.C Lidia Flores por su gran apoyo en laboratorio, por su paciencia y compartir sus conocimientos para la realización del presente trabajo.

Al M.C Omegar por su apoyo técnico en análisis de datos estadísticos y manejo del programa SAS utilizado en el presente trabajo.

Al CIQA por brindarme su hospitalidad e instalaciones para la realización del presente trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO.....	v
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICAS.....	x
RESUMEN.....	11
INTRODUCCIÓN.....	12
Objetivo general.....	16
Objetivos particulares.....	16
Hipótesis.....	16
REVISIÓN DE LITERATURA.....	17
GENERALIDADES DE LISIANTHUS <i>Eustoma grandiflorum</i>	17
Clasificación taxonómica.....	17
Origen de Lisianthus <i>Eustoma grandiflorum</i>	18
Descripción Botánica.....	19
CICLO DEL CULTIVO.....	20
Propagación Sexual.....	20
MARCHITEZ VASCULAR CAUSADA POR <i>Fusarium Oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i>	21
Clasificación Taxonómica.....	22
Signos y síntomas.....	23
MOHO GRIS CAUSADO POR <i>Botrytis cinere</i>	24

Clasificación Taxonómica.....	24
Signos y Síntomas.....	25
RESISTENCIA INDUCIDA.....	26
Inductores abióticos o químicos: ventajas y desventajas.....	27
DESCRIPCIÓN DEL EXTRACTO DE <i>Heliopsis longipes</i>	28
Clasificación taxonómica.....	28
Características Generales de la Afinina.....	29
Uso en la Agricultura.....	30
MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
Modelo Estadístico.....	32
Tratamientos a evaluar.....	32
Concentración de tratamientos.....	32
Parámetros de medición del comportamiento de los tratamientos.....	33
Cronograma de actividades.....	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
CONCLUSIONES.....	44
BIBLIOGRAFÍA.....	45

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Concentración de tratamientos en el primer experimento.....	31
Cuadro 2. Concentración de tratamientos del segundo experimento.....	32
Cuadro 3. Cronograma de actividades.....	33
Cuadro 4. Análisis de varianza del número de flores por planta de Lisianthus en el experimento 1 realizado en el CIQA.....	37
Cuadro 5. Prueba de medias por el método de Duncan, se observa que no existe diferencias estadísticamente significativas por lo tanto los tratamientos se comportaron iguales en el número de flores y no se ve afectado por la presencia los patógenos.....	37
Cuadro 6. Análisis de varianza de las hojas jóvenes donde se evaluó la incidencia los patógenos FOL y <i>Botrytis</i> en el experimento 1.....	38
Cuadro 7. Prueba de medias por el método de Duncan, donde se observa que un tratamiento muestra diferencia significativa en comparación de los otros tratamientos por lo tanto <i>Botrytis cinerea</i> + <i>Afinina</i> tienen una mayor incidencia en Lisianthus.....	38
Cuadro 8. Análisis de varianza de las hojas jóvenes donde se evaluó la incidencia los patógenos FOL y <i>Botrytis</i> en el experimento 1.....	39
Cuadro 9. Prueba de medias por el método de Duncan, donde se observa que el tratamiento de <i>Botrytis cinerea</i> y <i>Botrytis</i> son estadísticamente iguales pero diferentes al resto de los tratamientos por lo tanto <i>Botrytis cinerea</i> tiene gran incidencia en hojas jóvenes en plantas de Lisianthus.....	39
Cuadro 10. Análisis de Varianza del programa estadístico SAS de la variable incidencia en el experimento 2.....	40
Cuadro 11. Prueba de medias por el método de Duncan donde se observa que en el tratamiento de <i>Botrytis cinerea</i> existe diferencia significativa ya que en el tratamiento de	

Botrytis con afinina no presenta diferencias con el resto de los tratamientos por lo tanto *Botrytis cinerea* presenta mayor incidencia que el resto de los tratamientos.....40

Cuadro 12. Análisis de varianza de la variable altura de planta en el experimento 2.....41

Cuadro 13. Prueba de medias por el método de Duncan, donde se observa que FOL y *Botrytis cinerea* se comporta estadísticamente igual, pero *Botrytis* se comporta similar a la Afinina y FOL se comporta sin diferencias significativas con *Botrytis cinerea*+ afinina y FOL+ afinina.....41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Planta de <i>Lisianthus</i> durante el experimento en el Centro de Investigación de Química Aplicada.....	17
Figura 2. Macroconidias y microconidias de <i>Fusarium oxysporum</i>	22
Figura 3. Conidias del moho gris <i>Botrytis cinerea</i>	24
Figura 4. Planta de <i>Heliopsis longipes</i>	27

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Promedio del número de flores en plantas de Lisianthus por tratamiento.....	34
Gráfica 2. Promedio de hojas infectadas en el experimento 1 en post-cosecha.....	35
Gráfica 3. Promedio de la longitud tanto de raíz como de plantas en centímetros.....	35
Gráfica 4. Promedio de porcentaje de incidencia de <i>Botrytis cinerea</i>	36
Gráfica 5. Porcentaje de severidad con <i>Botrytis cinerea</i>	36

RESUMEN

El presente trabajo se llevó a cabo en plantas de Lisianthus (*Eustoma grandiflorum* var. Mariachi morado) con la finalidad de evaluar el efecto de la aplicación de la molécula inductora afinina (alcamida) en la patogenicidad de dos tipos de hongos (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* y *Botrytis cinerea*.). La evaluación se realizó a partir de plántulas que fueron trasplantadas en macetas individuales y se desarrollaron durante dos meses hasta alcanzar un tamaño de 50 cm, justo antes de la presencia de botones florales. A partir de ese momento se realizaron las aplicaciones de afinina en 3 diferentes tratamientos y posterior a las 24 horas se realizó la inoculación con los patógenos, a los 3 días se evaluaron los síntomas expresados en cada uno de los tratamientos. Para el caso de FOL no presentó ningún síntoma de la enfermedad en ninguno de los ensayos, mientras que en el caso de *B.cinerea* si presento sintomatología en las hojas infectadas siendo estadísticamente significativo en las plantas que fueron previamente tratadas con afinina. Sin embargo, en postcosecha los tallos florales presentaron el efecto contrario ya que no hubo diferencia significativa por la aplicación de afinina, y *B.cinerea* provocó síntomas en ambos tratamientos sin ser significativos. Finalmente, en este trabajo se comprobó que el efecto de afinina es más efectivo en plantas en desarrollo que en plantas en cosecha.

Palabras clave: Lisianthus, Afinina, *B.cinerea*, *F. oxysporum* f.sp *lycopersici*, resistencia.

Correo electrónico: Daniel Alejandro Rodríguez Chávez iap_darch@hotmail.com

INTRODUCCIÓN

En el mundo, la producción ornamental se ha incrementado notablemente debido a la mayor demanda de productos. En parte, el éxito de los países líderes en el ramo, es la oferta de productos de calidad, al manejo adecuado en cosecha y postcosecha, la existencia de productos homogéneos y con altos estándares de calidad, volúmenes grandes de producción, buena organización y canales de distribución y comercialización bien definidos.

Holanda, es el principal productor y comercializador de flores a nivel mundial, seguido por Colombia, Ecuador y Kenia. Otros países como Israel, Italia y Tailandia, están tomando importancia (Pérez, 2008).

En México los productos ornamentales han ganado terreno en cuanto a exportaciones y al valor de la producción. En 2011 el valor de la floricultura fue de cinco mil 646 millones de pesos, lo cual equivale a 82% del valor total de la producción del frijol para ese mismo año (seis mil 890 millones de pesos) (SIAP, 2013).

Por otro lado en el período 2003-2011, el valor de las exportaciones de ornamentales creció a un ritmo de 1.8 % anualmente; para el último año, el comercio exterior de flores significó 26 millones 96 mil pesos, siendo Estados Unidos y Canadá los principales compradores de productos como la rosa (*Rosa canina*), gladiola (*Gladiolus* spp.), gerbera (*Gerbera hybrida*), ave del paraíso (*Strelitzia reginae*), clavel (*Dianthus caryophyllus*), statice (*Limonium sinuatum*) y margarita (*Bellis perennis*).

En el país se tienen condiciones idóneas para impulsar la horticultura ornamental; sobre todo por la diversidad de climas naturales, menores costos de mano de obra en comparación con otros países, la existencia de tratados de libre comercio, y la cercanía con Canadá y Estados Unidos para exportar productos.

Las condiciones existentes permiten producir una gran diversidad de especies de flores, plantas y follajes ornamentales, y la gran diversidad de especies nativas. La actividad ornamental en México ha tomado importancia en los últimos años pues es una alternativa viable y rentable, debido a la demanda nacional e internacional de flores

de corte en maceta, palmas y follajes. Actualmente el país ocupa el tercer lugar a nivel mundial en superficie dedicada a esta actividad; sin embargo, no figura dentro de las más importantes a nivel mundial.

Durante 2011, la superficie destinada al cultivo de la flor y plantas en maceta fue de 18 mil 629 hectáreas; entre los estados con mayor participación por el valor de la producción de este cultivo destacaron Estado de México, Puebla, Morelos, Distrito Federal, Baja California y Jalisco, pero sólo el primero aporta tres de cada cinco pesos del valor total.

Cabe mencionar que 80% de la producción total se destina a abastecer el mercado interno y 20% a las exportaciones, México cuenta con una ventana de oportunidad en el mercado europeo, ya que la demanda de flores se ha acrecentado en los últimos años (SIAP, 2013).

Las plagas y enfermedades en la producción de plantas de ornato constituyen un riesgo para la producción, dado que hay una gran diversidad de especies en producción, así también hay diversas plagas y patógenos.

Para que se presente una plaga o enfermedad será necesario que se presenten tres factores: hospedante (cultivo o arvense), agente causal (plaga o patógeno) y un ambiente favorable para su desarrollo (humedad relativa, temperatura, entre otros), si falta alguno de estos no existirá el problema. Es importante conocer los ciclos de vida de los patógenos y plagas, saber cuánto dura su ciclo, cuantas etapas comprende, cuáles son sus hábitos, qué les gusta, qué no les gusta, etc. Todo ello encaminado a estructurar un programa de manejo integrado, con el enfoque de prevenir problemas, ya que no existe en el mercado un plaguicida “total”, que sea capaz de matar “todo”, es decir los plaguicidas sólo “matan” en una o algunas etapas del ciclo de vida de una plaga, pero no todas, esto garantiza que siempre habrá sobrevivientes (con su respectiva resistencia) que continúen perpetuando la especie y causando los daños consecuentes (Morán, 2004).

Una de las enfermedades que más afecta ornamentales de corte es el moho gris, ocasionado por *Botrytis cinerea*. El inicio de la enfermedad está asociada a las condiciones de temperatura y humedad que se le da a la planta durante el crecimiento y en postcosecha, además de la susceptibilidad del hospedero (Martínez, 1999).

Esta enfermedad al mismo tiempo es de riesgo para diversos cultivos regionales, ya que presenta más de 235 hospederos entre ornamentales; frutales como el manzano, hortalizas como el tomate, papa, chile, lechuga entre otros.

Otro patógeno es *Fusarium*, un hongo que se encuentra en el suelo alrededor del mundo y afecta muchas especies vegetales y animales y es difícil de controlar. Existe una gran diversidad de cepas de *Fusarium* spp., de las cuales algunas son patogénicas y su gran mayoría son saprófitas pueden ser utilizadas como controladores biológicos. Según Cook y Baker (1989) existen más de 76 cepas de *Fusarium oxysporum* reportadas que causan enfermedad. En éste género se ubican dos especies que afectan al cultivo de Lisianthus uno de ellos *Fusarium oxysporum* f.sp. *eustomae* obtenido en plantas de lisianthus enfermas con síntomas de marchitez en el norte de Italia caracterizado por Chiara Bertoldo (2014). Y otra especie es *Fusarium avenaceum* globalmente distribuido y obtenido comúnmente del suelo y una amplia gama de plantas, entre ellas Lisianthus afectando el tallo y brotes de la planta.

Por otro lado en Lisianthus no se ha reportado aplicaciones de inductores de resistencia como ocurre en otros cultivos (tomate, tabaco, etc). Los primeros trabajos sobre respuestas inductoras a las enfermedades en las plantas fueron desarrollados por Ray y Beauverie a comienzos del siglo XX, los cuales demostraban que existía la posibilidad de que las plantas puedan protegerse del ataque de microorganismos patógenos mediante la activación de sus mecanismos de defensa.

El primer experimento fue conducido por Kuć y colaboradores en 1959, para describir el fenómeno de la resistencia inducida contra la sarna del manzano. Desde entonces, diversos estudios han demostrado que las plantas tienen la capacidad natural de defenderse de los agentes fitopatógenos a través de un fenómeno biológico conocido como resistencia, considerando a la susceptibilidad como una excepción a lo que

naturalmente ocurre. Por tanto, los vegetales poseen en su constitución genética, genes que codifican para producir numerosas “armas químicas”, extremadamente eficientes, que impiden o disminuyen el daño causado por los microorganismos (Diana *et al*, 2011).

Estos conocimientos sobre los mecanismos de defensa de los vegetales fueron adquiriendo mayor importancia por la incorporación de nuevos conceptos de manejo de cultivos, en búsqueda de una agricultura más sustentable, tornándose indispensable investigar métodos opcionales de control de fitopatógenos, que sean al mismo tiempo eficientes y menos agresivos a la salud humana y a la agroecología (Diana *et al*, 2011).

Dentro de este concepto, el extracto vegetal de *Heliopsis longipes* que resulta ser un complejo de alcanidas de las cuales se presenta primordialmente Afinina, seguida por la N-(-2-metilbutil)-2E,6Z,8E-trien-decamida (García *et al.*, 2002) ha sido utilizado para el control de microorganismos fitopatógenos que afectan gran número de cultivos.

Objetivo general.

Evaluar el efecto de la aplicación exógena de afinina en plantas de lisianthus (*E. grandiflorum*) y la resistencia a la infección por *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* y *B. cinerea*.

Objetivos particulares.

Evaluar el efecto *in planta* sobre la aplicación de afinina en el crecimiento de plantas de lisianthus.

Realizar ensayos de patogenicidad con *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* en plantas de lisianthus previamente tratadas con afinina.

Aplicar afinina exógenamente en plantas de lisianthus previamente infectadas por *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

Evaluar el tratamiento de afinina en botones de floración en pre-cosecha y posteriormente inocular con *Botritis cinerea* en almacenamiento.

Hipótesis.

La aplicación exógena de la molécula de afinina en plantas de lisianthus (*E. grandiflorum*) promueve la inducción de resistencia a patógenos fúngicos (*F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* y *B. cinerea*) en diferentes etapas de crecimiento en la planta.

REVISIÓN DE LITERATURA

GENERALIDADES DE LISIANTHUS *Eustoma grandiflorum*

El lisianthus, es un cultivo de interés por su rentabilidad, adaptación a nuestras condiciones climáticas, adecuación de la tecnología e instalaciones existentes, principalmente para cultivos entre primavera y otoño. El lisianthus presenta una buena adaptación para su cultivo en maceta en invernaderos fríos o con un ligero apoyo térmico, en las épocas de primavera otoño. Es un cultivo que no presenta excesivos problemas técnicos, y su demanda es buena (de los Santos, 2002).

Clasificación taxonómica

Utilizando la clasificación propuesta por Cronquist 1984 y las categorías de la jerarquía taxonómica aceptadas por el Código Internacional de Nomenclatura Botánica, se clasifica del modo siguiente:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Gentianales

Familia: Gentianaceae

Género: *Eustoma*

Especie: *Eustoma grandiflorum*

Origen de Lisianthus *Eustoma grandiflorum*.

Eustoma significa literalmente 'con buena boca'. El nombre refiere a las flores bien abiertas descrita por Raf en 1806.

El Lisianthus es una planta originaria de las praderas húmedas de la zona meridional de los Estados Unidos y norte de México (Sogi, 1988). Pertenece a la familia de las Gentianaceas, su nombre científico es *Eustoma grandiflorum* (Raf, 1806). Es planta de ciclo anual o bianual.

En general está presente en zonas de planicie y praderas de suelo arenoso y/o alcalino, además de laderas de montañas de los condados del centro de Texas, Sonora, Florida, California y Arizona, incluyendo Nuevo México y Lousiana (Sogi, 1988). La planta es de origen europeo y se estima que para 1935 entró en América, pudiéndose encontrar en grandes planicies y evolucionando en una planta con flor de color gris hasta los actuales colores: morados, amarillo, blanco, rosa, lila y combinaciones en sus diversas tonalidades (Fig.1). Forma una roseta de hojas, sobre la que se desarrolla un tallo de 40 o 50 cm de largo; en cuyo extremo aparecen las flores largamente pediceladas de 6 a 9 cm de diámetro (de los Santos, 2002).

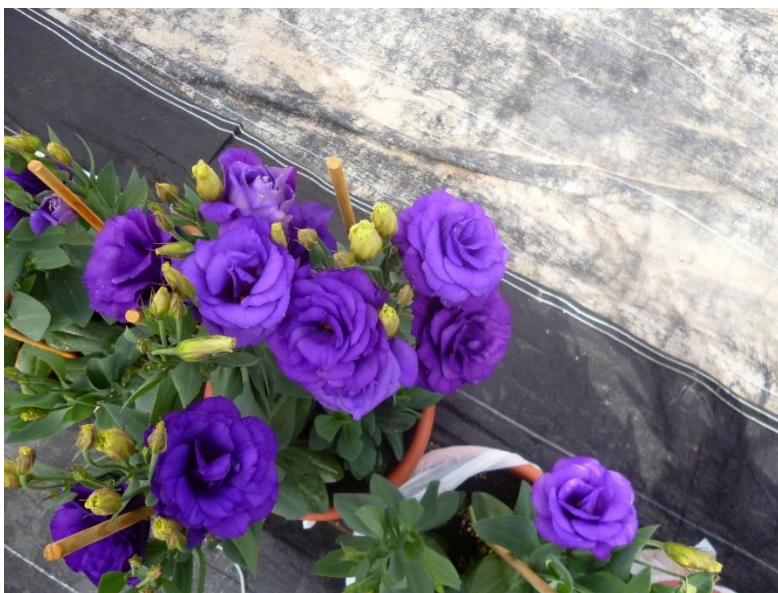


Figura 1. Planta de Lisianthus durante el experimento en invernadero del Centro de Investigación de Química Aplicada.

Descripción Botánica.

Halvey en 1984 señala que ésta delicada planta anual-perenne posee respectivamente uno o dos periodos cubiertos de flores; inicialmente presentan un crecimiento basal en roseta para posteriormente desarrollar tallos foliados, erectos o ascendentes de cuarenta a setenta centímetros de alto con hojas opuestas, sésiles, enteras y gruesas o amplexicaules, oblongas, de cinco a treinta milímetros de altura de la planta; tiene el tallo ramificado de la mitad hacia arriba donde sustenta los pedicelos florales en la axila de las hojas superiores; las flores maduran y abren acropetalamente, están compuestos por un cáliz de cinco partes, sus lóbulos son delgados, alargados y acuminados, su corola es acampanulada compuesta de cinco a seis lóbulos azules, morados y ocasionalmente blancos, con el centro más oscuro o verde respectivamente regularmente cerosos y denticulados que en conjunto forman el flósculo de seis a nueve centímetros de lado a lado. La parte floral alcanza hasta veinticinco centímetros con seis a siete flores en racimo pudiendo variar de tres a doce dependiendo de su cultivo y condiciones de desarrollo, llegando a sustentar hasta cuarenta flores con una duración individual de dos semanas (Halvey, 1984).

Los estambres se localizan en la garganta de la corola unidos a través de las anteras oblongas y en disposición recta, ligeramente doblada al paso del tiempo a un tercio del tamaño de la corola; su cápsula es oval a elipsoidal de diez a quince milímetros, con una o dos valvas sobre un largo peciolo, con semillas pequeñas, dehiscentes y numerosas con algunas depresiones amplias y profundas, que una vez secas son de color café oscuro, negro o pálidas (Halvey, 1984).

CICLO DEL CULTIVO.

Propagación Sexual

Primera etapa (día 1 – 14) Se siembran las semillas peletizadas con cuidado en las cavidades de la charola (una sola semilla por cavidad). No cubrir la semilla y mantener suficiente humedad para no dejar secar la semilla. Al principio, suficiente humedad es necesaria para romper la cápsula de la semilla peletizada. Mantener una temperatura de sustrato entre 20 – 24 °C, y una humedad suficiente durante el proceso de germinación. Un pH entre 6.0 y 6.5 es óptimo para proveer un buen nivel de calcio en las plántulas (Santos, 2002).

Segunda etapa (día 14 – 21). Se colocan las charolas en invernadero con buena circulación de aire bajando una temperatura entre 15 – 20 °C y fertilizar ligeramente con 100 – 150 ppm de nitrógeno de una formulación balanceada con nitrato de calcio. Evitar temperaturas altas para evitar arrosetamiento (etapa intermedia en que la planta no crece), el cual es difícil de curar. El periodo más crítico son los primeros 45 días después de la germinación (Santos, 2002).

Tercera etapa (día 21- 56). Las plántulas jóvenes crecen muy lentas al principio y debe tomarse en cuenta algunas condiciones ambientales como evitar temperaturas excesivas, niveles de luz y humedad excesiva que son factores que inducen enfermedades (Santos, 2002).

Cuarta etapa (día 57 – 60). Las plántulas deben de tener 4 hojas verdaderas, en esta etapa están listas para el trasplante. El sistema de raíz de *lisianthus* es muy sensible y hay que tener mucho cuidado para evitar dañar las plantas. El trasplante a tiempo es muy importante para mantener las raíces activas y facilitar la transición desde la bandeja de plántulas a la cama de cultivo. Plántulas viejas tendrán raíces chuecas y después tallos más cortos; sobre todo durante los periodos cuando hay días más largos (Santos, 2002).

El *lisianthus* una vez plantado pasa por tres fases:

- 1) Durante 30 días la planta desarrolla su área foliar.
- 2) Los siguientes 30 días el tallo se alarga y la planta emite tallos secundarios en número de cuatro a ocho según la variedad, alcanzando una longitud de entre 30 y 50 cm; después comienzan a aparecer los botones florales.
- 3) Los próximos y últimos 30 días los botones florales se engrosan y se desarrollan, a la vez sus pedúnculos se alargan hasta alcanzar su altura definitiva. Posteriormente los botones viran de color verde al propio de la variedad y finalmente abren (Santos, 2002).

El ciclo total desde la plantación a la floración es de aproximadamente de 90 a 120 días dependiendo de la variedad y la época.

Las fechas de plantación más extendida suele ser entre los meses de marzo y abril, con lo que se obtiene una producción en julio o agosto, y en caso de dejar rebrotar la planta, otra segunda cosecha entre septiembre y octubre. Sin embargo en invernaderos se manejan las plantaciones en septiembre u octubre para recolectar a partir de diciembre y hasta marzo (Santos, 2002).

Lisianthus en un cultivo muy susceptible a la humedad y con cualquier exceso se puede presentar el ataque de hongos tanto en raíz como en área foliar, para reducir el riesgo de ataques de patógenos se recomienda tener cuidado con los niveles de humedad y procurar mantener el invernadero lo más ventilado posible (Domínguez, 2002).

MARCHITEZ VASCULAR CAUSADA POR *Fusarium Oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

El hongo *Fusarium oxysporum* es un patógeno que pudre la corona, a consecuencia de la cual las hojas se marchitan y mueren. La pudrición de la corona es de un color café oscuro. Las raíces de las plantas enfermas no muestran síntomas por un tiempo relativamente largo y mueren hasta que la planta se seca. En México este hongo fue aislado y estudiado por Vergara en 1993.

Las especies de *Fusarium oxysporum* se dividen de manera artificial sobre la base de patogenicidad de uno o más huéspedes, en los que se llama *formae specialis*, de las cuales se han descrito unas 150 (Elliott, 2010).

Clasificación Taxonómica.

Reino: Fungi

División: Deuteromycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium*

Especie: *Fusarium oxysporum*

Fusarium oxysporum es una de las especies de mayor importancia fitopatológica, una de una de las que cuenta con mayor número de plantas hospedantes y una de las especies que mayor daño económico ocasiona entre los patógenos de plantas. La especie tiene la capacidad de atacar un gran número de plantas de importancia agrícola y ocasiona principalmente marchitamientos vasculares, seguidos de la muerte de la planta. Algunas también pueden ocasionar también pudrición de la corona.

El hongo se caracteriza por producir colonias de crecimiento rápido y tres tipos de esporas: microconidias, macroconidias y clamidosporas (Arbelaez, 2010).



Figura 2. Macroconidias y microconidias de *Fusarium oxysporum*

Signos y síntomas

Ésta enfermedad es más agresiva en climas cálidos y suelos con textura arenosa, sin embargo, fuertes infecciones 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. Los 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 sólo en la mitad de éstas. 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. Las plantas más viejas pueden marchitarse y morir repentinamente; sin embargo, comúnmente muestra achaparramiento, amarillamiento de las hojas inferiores, marchitez de las hojas y tallos jóvenes, defoliación, necrosis marginal de hojas y finalmente la muerte de la planta. 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 (Carrillo et al., 2003).

MOHO GRIS CAUSADO POR *Botrytis cinerea*.

El hongo *B. cinerea* es un fitopatógeno ampliamente reconocido y estudiado que infecta una amplia variedad de plantas y que tiene la habilidad de hacer uso de diferentes mecanismos de infección. Puede atacar durante todos los estados de desarrollo del cultivo hospedante e infectar cualquiera de sus partes (Benito et al., 2000). A causa de la considerable incidencia del patógeno y las repercusiones económicas que tiene en cultivos de destacada importancia económica, resulta imprescindible la ejecución de estudios sobre la biología de *B. cinerea*, interacciones en las que participa y los posibles métodos de control.

Clasificación Taxonómica

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Leotiomycetes

Orden: Helotiales

Familia: Sclerotiniaceae

Género: *Botrytis*

Especie: *Botrytis cinerea*.

Signos y síntomas

Botrytis cinerea es un hongo considerado generalmente como parásito secundario; sin embargo puede dañar gravemente las hojas y las flores durante largos periodos de tiempo con húmedo sobre todo cuando son heridas mecánicamente o por factores del medio ambiente. Los síntomas de infección son áreas alternadas de color claro y café oscuro, las cuales durante periodos de alta humedad son cubiertas por la fructificación del hongo, conidióforos y conidios. Éstos son diseminados por el viento y las lluvias, o agua de riego, pudiendo llegar de esta manera a nuevos testigos susceptibles (Romero, 1996).

Las lesiones en el tallo son de forma irregular, café oscura, húmedas y ocasionalmente hundidas. Todo el tallo es susceptible, pero, por lo general, en la base es donde ocurren los primeros y más severos daños. En estado avanzado de la enfermedad todo el tejido interno del tallo es invadido, con lo que se debilita y puede romperse fácilmente. La esporulación abundante del hongo en hojas, flores y tallos propicia la diseminación de la enfermedad y la gravedad de los daños que ésta ocasiona.

El hongo se caracteriza por su micelio septado; conidióforos de color, café, claro, largos, delgados, ramificados, con los ápices de las ramas hinchados de los cuales nacen esterigmas cortos, que producen conidios de color gris en masa, unicelulares y ovales (Romero, 2002).



Figura 3. Conidias del moho gris *Botrytis cinerea*

RESISTENCIA INDUCIDA.

La resistencia inducida surgió como una alternativa para control de patógenos, involucran un gran número de moléculas exógenas denominados agentes inductores que, cuando son reconocidos por moléculas endógenas tienen la función de activar o aumentar el nivel de resistencia de las plantas, tanto a nivel local como en puntos distantes al sitio de infección (Camarena 2007).

El término “resistencia inducida” fue propuesto en el *Primer Simposio Internacional de Resistencia Inducida a Plantas* Realizado en Corfú, Grecia del 2000. Esta expresión involucra a los fenómenos de **Resistencia Sistémica Adquirida (RSA)** y **Resistencia Sistémica Inducida (RSI)** aunque son distintos la similitud de ambos se basa fenotípicamente en que, las plantas, luego de ser expuestas a un agente inductor, activan sus mecanismos de defensa tanto en el sitio de infección como en áreas distantes (respuesta sistémica).

Estas sustancias inductoras actúan sobre la planta impidiendo o retrasando la entrada del patógeno, y limitando consecuentemente su actividad en el tejido afectado. Dependiendo del tipo de agente inductor, existen dos tipos de inducción de resistencia; uno es activado por la presencia de hongos, virus, bacterias, nemátodos e insectos, llamada inducción biótica. Por otro lado, imitando la presencia de un patógeno o insecto, la presencia también puede ser generada por la presencia de moléculas sintéticas depositadas sobre los órganos vegetales, denominada inducción abiótica (Camarena, 2007), las cuales son conocidas como Patrones Moleculares Asociados al Patógeno o PAMPs (del inglés, Pathogen Associated Molecular Patterns), por ejemplo, estos pueden ser componentes del flagelo en bacterias, quitina de hongos o proteína de la cápside de virus y que inducen resistencia en plantas.

Las vías de señalización de respuestas por un agente biótico pueden ser dependiente tanto del ácido salicílico, como el ácido jasmónico y el etileno, no estando asociado con la acumulación de las proteínas relacionadas con la patogénesis,

conocida como resistencia sistémica adquirida. En cambio las señales generadas por un inductor abiótico solo sigue la vía del ácido jasmónico y etileno, denominada resistencia sistémica inducida.

Inductores abióticos o químicos: ventajas y desventajas.

Los inductores abióticos en su mayoría son compuestos naturales, de origen biológico, que se aplican externamente en las plantas ya sea inyectadas o asperjadas. Su empleo fue mencionado en numerosos cultivos con fines comerciales como algunas leguminosas, cucúrbitas, arroz, algodón, plátano, papa, tomate, tabaco, cacao, cítricos entre otros (Salazar, 1983).

Las ventajas reconocidas son:

- Aumento del nivel de resistencia por la activación de mecanismos latentes, sin alteración del genoma de la planta.
- No imponen presión de selección sobre el patógeno.
- Tienen efecto sistémico
- Tienen efecto de protección prolongado
- Son soluciones estables.
- Proveen control eficiente y de bajo costo.
- Menor número de aplicaciones en comparación de fungicidas tradicionales
- Seguros desde el punto de vista ambiental.
- Son biodegradables.
- Inocuos para personas, animales y las mismas plantas.
- Uso en agricultura, jardinería, floricultura, y plantas ornamentales.

Las desventajas reconocidas son:

- Proporcionan una resistencia parcial incompleta.

- En algunos casos la inducción de la resistencia requiere un costo fisiológico, al activarse en condiciones en la cual su expresión no es necesaria así como en ausencia de patógenos.

Existen numerosas sustancias que actúan como agentes inductores, producidas de forma sintética y en escala comercial. Sin embargo fueron reportadas cuantiosas moléculas químicas no definidas y extracto de plantas y de microbios de los cuales solo algunas han sido comercializadas (Salazar, 1983).

DESCRIPCIÓN DEL EXTRACTO DE *Heliopsis longipes*.

Clasificación taxonómica

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Heliopsis*

Especie: *Heliopsis longipes*



Figura 4. Planta de *Heliopsis longipes*

Heliopsis longipes se encuentra distribuida en México en la sierra gorda, en el centro del país en la región de colindancia de los estados de Guanajuato, San Luis Potosí y Queretaro, en éste género solo se han encontrado alcanidas alifáticas y acetilénicas. Otro conjunto lo constituyen las amidas que presentan anillos homo o heterocíclicos. Este tipo de estructuras se observan particularmente diversa en la familia Piperaceae e incluye varios alcaloides (Parmar et al., 1997).

H.longipes fue la primer especie en la que se determinó la presencia de una alcanida olefínica (Acree et al., 1945). Sin embargo, la planta cuya muestra de raíces fue sometida para su análisis en laboratorio resultó erróneamente identificada como *Erigeron affinis* y así, la amida aislada fue denominada afinina.

Características generales de la Afinina.

Es un compuesto alcanida, considerado el principio activo de la planta *Heliopsis longipes*. La parte de la planta que se usa para extraer la afinina considerada insecticida es la raíz.

Una de las hipótesis de la vía de síntesis de Afinina plantea que procede del ácido mevalónico que es el precursor universal de la síntesis de terpenos, los que poseen actividad antifúngica (García et al., 2002).

Es como un aceite amarillo, viscoso, soluble en disolventes no polares como cloroformo e insoluble en soluciones ácidas y alcalinas.

Uso en la agricultura.

Se ha probado su efecto antagónico contra la bacteria *Escherichia coli* a una concentración 75 microgramos/mL, así como para *Pseudomonas solanacearm* y *Bacillus subtilis* a una concentración de 150 micro gramos/mL (Ramírez et al., 2001).

El extracto vegetal que nos concierne en este estudio ha sido evaluado in vitro, como fungicida sobre el desarrollo de *Sclerotium rolfsi* y *Sclerotium cepivorum*, los resultados mostraron que inhibe su desarrollo a dosis de 50 y 75 microgramos/mL (Ramírez et al., 2001).

La aplicación a plantas de tomate tratadas con *H. longipes* y el control positivo promovió cambios estructurales, los cuales fueron el aumento de córtex y la reducción de medula en tejidos de tallo y raíz, por consecuencia un buen incremento de enzimas relacionadas al mecanismo de defensa en plantas para controlar la infección de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Perez, 2011).

Por sus propiedades insecticidas fue una de las plantas empleada por los Estados Unidos durante la segunda guerra mundial, ya que se observó que los extractos de las raíces tienen el mismo grado de acción paralizante y tóxica que el piretro contra moscas y otros insectos (Little, 1948).

MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo se realizó en dos experimentos uno establecido en el Centro de Investigación de Química Aplicada (CIQA) para evaluar el efecto en post-cosecha y el segundo experimento se realizó en el invernadero del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

La variedad utilizada del *Lisianthus* es Mariachi morado, las plantas se adquirieron en la empresa Plántulas de Tetela, en Morelos.

Para el presente trabajo, se empleó el diseño estadístico de bloques al azar con cinco tratamientos y un testigo absoluto. Las plantas se establecieron en macetas de 4" de diámetro con un sustrato para conservar humedad y facilitar el manejo de las plantas, además se utilizaron tutores de madera para las plantas, los hongos utilizados fueron otorgados por el Dr. Flores Olivas del Departamento de Parasitología. Cabe mencionar que el hongo *Fusarium oxysporum* fsp. *lycopersici* (FOL) se utilizó como referencia al género *Fusarium* ya que no pudo encontrarse la especie a fin del cultivo.

En el primer experimento se utilizaron 35 macetas con 3 plantas cada una, por lo tanto se emplearon 105 plantas en las cuales a 9 macetas se les inoculó FOL+Afinina y a 4 macetas se les inoculó únicamente FOL, ambos inoculados al drench al igual que la Afinina, para su evaluación en post-cosecha se les inoculó el hongo *Botrytis* + Afinina a 27 plantas cosechadas, y a 12 plantas se les inoculó únicamente *Botrytis*, el cual fue inoculado por cortes de PDA de 1 cm de diámetro con el hongo joven y bien desarrollado, después se refrigeraron en un cuarto frío del CIQA con una temperatura entre 6-7 °C, las plantas fueron colocadas en cubetas de 20L con un volumen de agua de 5L para mantenerlas hidratadas, al extraerlas del cuarto frío se colocaron a temperatura ambiente por 4 días y se evaluó el avance de la infección.

En el caso del segundo experimento se utilizó una planta por maceta, y se manejó un total de 130 plantas dentro de una malla en el interior del invernadero de parasitología para aislar el cultivo de problemas con experimentos vecinos, en este caso ambos hongos se aplicaron con micropipeta al drench de la planta al igual que la afinina, a diferencia del anterior las concentraciones fueron distintas.

La variable evaluada para la resistencia en plantas de *Lisianthus* en el experimento fue sanidad, para lo cual se tomaron los parámetros: Incidencia y severidad de la enfermedad en base a niveles de daño.

Modelo Estadístico

El estudio se estableció en un diseño de bloques al azar en 5 Tratamientos y un Testigo distribuidas en una malla sombra. La eficiencia de la afinina se realizó únicamente en los tratamientos con *Botrytis* por ser una especie que afecta directamente al cultivo y se determinó en porcentaje de avance de infección tomando como 100% toda la hoja.

Los resultados de ambos experimentos se corrieron en el programa SAS (Statistical Analysis System, 1998) con la prueba de Duncan ya que el número de repeticiones es distinto entre tratamientos.

Tratamientos a evaluar

1. Testigo absoluto
2. Lisianthus + FOL
3. Lisianthus + *Botrytis*
4. Lisianthus + Afinina
5. Lisianthus + Afinina + FOL
6. Lisianthus + Afinina + *Botrytis*

Concentración de tratamientos

En el cuadro 1 se muestra la concentración de los tratamientos en el primer experimento realizado en el CIQA.

Tratamiento	Concentración de hongos	Cantidad aplicada	Concentración de Afinina	Cantidad aplicada
Testigo absoluto	-	-	-	-
Lisianthus + FOL	1×10^8	50 μ l	-	-
Lisianthus + <i>Botrytis</i>	Hongo en PDA	1cm de diámetro	-	-
Lisianthus + Afinina	-	-	78 000ppm	150 μ l
Lisianthus + Afinina + FOL	1×10^8	50 μ l	78 000ppm	150 μ l
Lisianthus + Afinina + <i>Botrytis</i>	Hongo en PDA	1cm de diámetro	78 000ppm	150 μ l

Cuadro 1. Concentración de tratamientos en el primer experimento.

En el cuadro 2 se muestra la concentración de los tratamientos en el experimento 2 realizado en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Tratamiento	Concentración de hongos	Cantidad aplicada	Concentración de Afinina	Cantidad aplicada
Testigo absoluto	-	-	-	-
Lisianthus + FOL	1×10^6	50 μ l	-	-
Lisianthus + <i>Botrytis</i>	1.2×10^5	50 μ l	-	-
Lisianthus + Afinina	-	-	123 000ppm	150 μ l
Lisianthus + Afinina + FOL	1×10^6	50 μ l	123 000ppm	150 μ l
Lisianthus + Afinina + <i>Botrytis</i>	1.2×10^5	50 μ l	123 000ppm	150 μ l

Cuadro 2. Concentración de tratamientos del segundo experimento.

Parámetros de medición del comportamiento de los tratamientos

- a) Incidencia de la enfermedad
- b) Severidad de la enfermedad
- c) Longitud de planta
- d) Número de flores

Cronograma de actividades

Actividad	oct-14	nov-14	dic-14	ene-15	feb-15	mar-15	abr-15	may-15	jun-15	jul-15
Establecimiento del Experimento	■							■		
Aplicación de Afinina	■								■	
Inoculación de <i>Fusarium</i>	■									
Reproducción de <i>Fusarium</i> y <i>Botrytis</i>		■	■					■		
Cosecha de plantas de <i>Lisianthus</i>			■							
Inoculación de <i>Fusarium</i> y <i>Botrytis</i>			■						■	■
Refrigeración de plantas de <i>Lisianthus</i>			■							
Purificación de hongos					■	■				
Refrigeración para conservación de hongos					■	■	■			
Evaluación de avance de infección		■	■							■

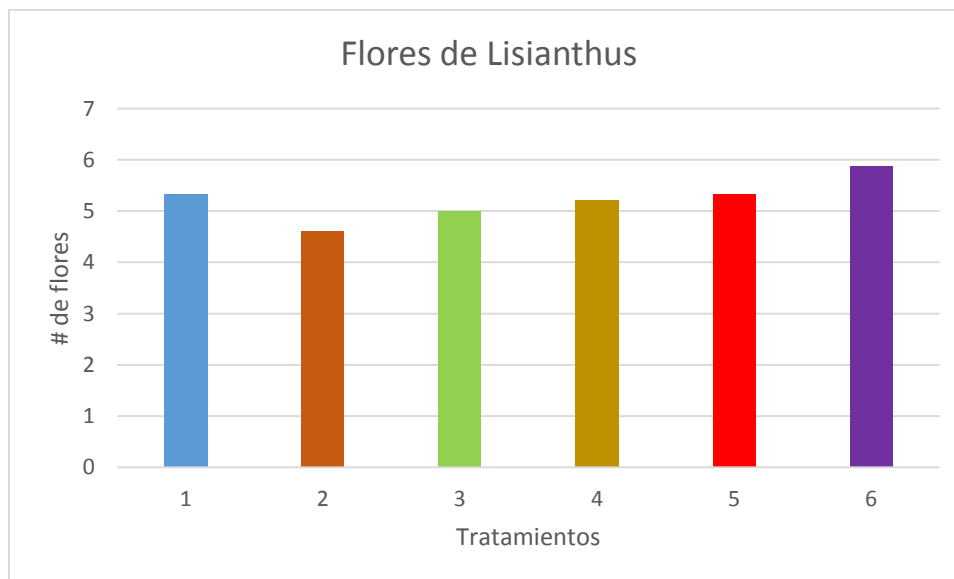
Cuadro 3. Cronograma de actividades.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para determinar la incidencia y severidad se tomó en cuenta la altura de planta y el porcentaje de infección. Los experimentos presentaron algunas variantes interesantes tanto controladoras como promotoras del desarrollo de los patógenos inoculados.

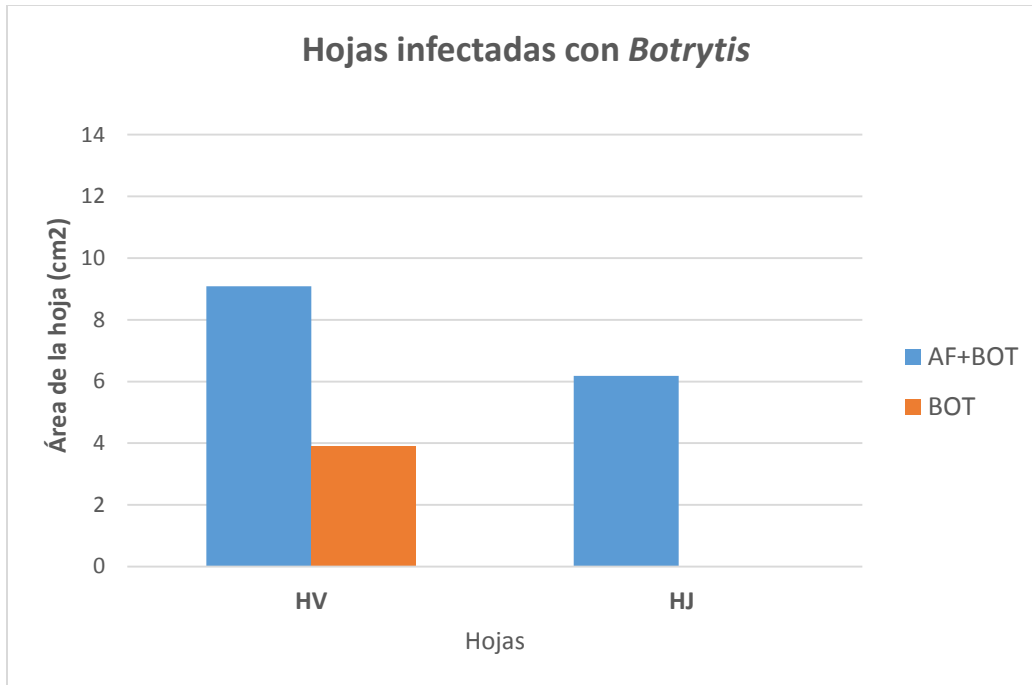
En el caso del objetivo particular sobre la aplicación de afinina previa a la infección de FOL no se llevó a cabo por no presentar sintomatología de infección en *Lisianthus*.

En la gráfica 1 se observa el promedio de flores de cada tratamiento antes de la cosecha siendo similares entre tratamientos.



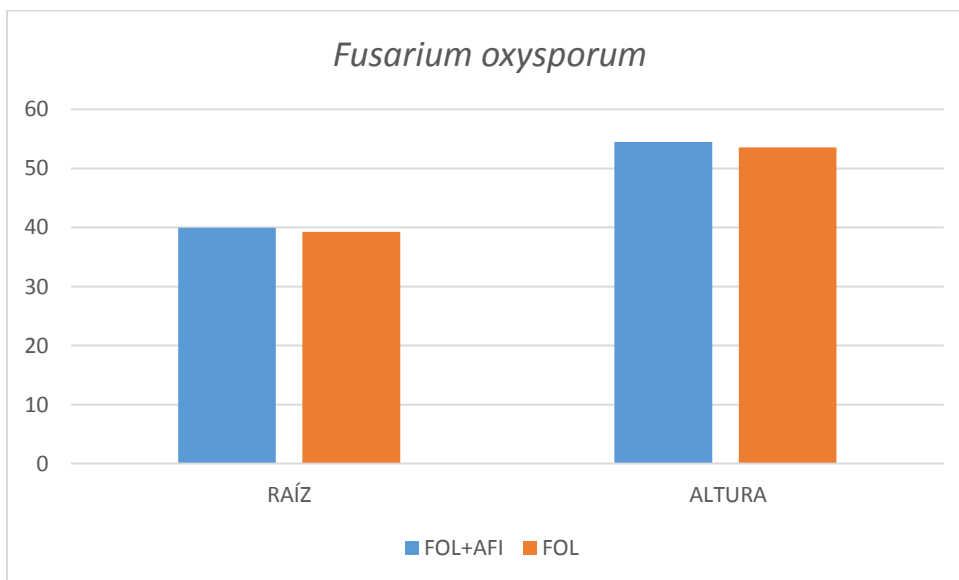
Gráfica 1. Promedio del número de flores en plantas de *Lisianthus* por tratamiento. Se observa que es similar el número de flores aunque por cuestión de decimales el tratamiento 6 presenta mayor número de flores en promedio.

En la gráfica 2 se observa las hojas viejas y las hojas jóvenes infectadas por *Botrytis cinerea*.



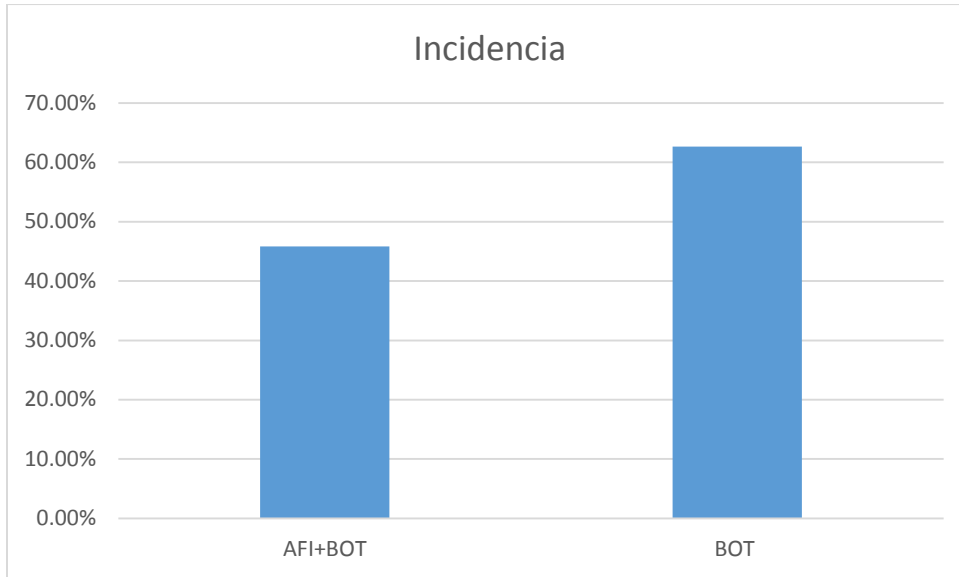
Gráfica 2. Promedio de hojas infectadas en el experimento 1 en post-cosecha. Se muestra mayor infección en hojas viejas y hojas jóvenes con Afinina + *Botrytis* por lo tanto en este caso Afinina promueve el desarrollo en hojas viejas y jóvenes.

En la gráfica 3 se muestra el promedio de longitud de tallo y de raíz ya que es la influencia que tiene el patógeno *Fusarium* dentro de las plantas.



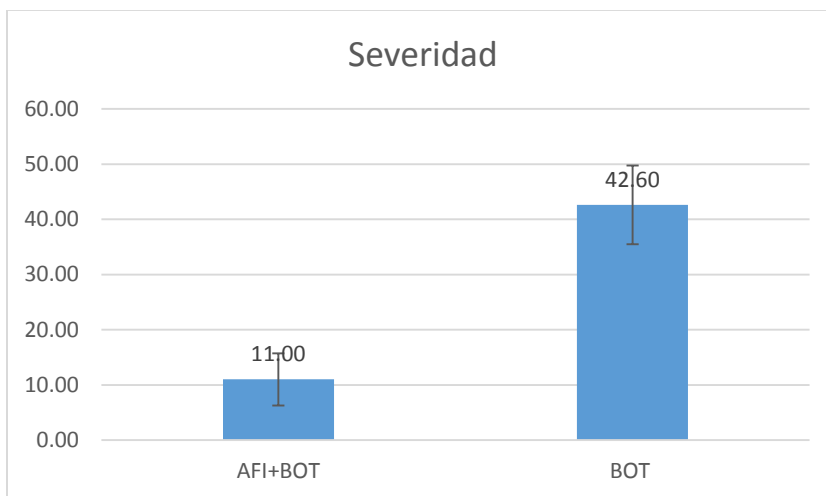
Gráfica 3. Promedio de la longitud tanto de raíz como de plantas en centímetros. Se observa una similitud en cuanto a su longitud de raíz y altura de planta por lo tanto no se observa diferencias significativas.

En la gráfica 4 se muestra la incidencia de *Botrytis cinerea* en plantas enfermas sin Afinina y con Afinina donde se compara el porcentaje de incidencia reducido por la aplicación exógena de esta alcalamida.



Gráfica 4. Promedio de porcentaje de incidencia de *Botrytis cinerea*. Se observa la diferencia entre porcentajes de incidencia en cada tratamiento teniendo *Botrytis cinerea* una incidencia mayor, por lo tanto se observa control por parte de Afinina.

En la gráfica 5 se muestra la severidad de *Botrytis cinerea* a partir del promedio de las plantas con el porcentaje de daño del patógeno.



Gráfica 5. Porcentaje de severidad con *Botrytis cinerea*. Se observa la severidad y la diferencia entre tratamientos mostrándose *Botrytis cinerea* con mayor severidad en *Lisianthus*.

El análisis de varianza y la prueba de Duncan se realizaron por el programa SAS donde se muestran las comparaciones de resultados en cada experimento tomando en cuenta distintos parámetros en cada experimento por ser distinta etapa fenológica del cultivo de Lisianthus.

A continuación en el cuadro 4 se presenta el análisis de varianza en el experimento 1 en el cual se evaluó número de flores.

		Suma de	Cuadrado de		
Fuente	DF	cuadrados	la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	16.2180722	3.2436144	0.85	0.5216
Error	60	229.6001096	3.8266685		
Total correcto	65	245.8181818			

Cuadro 4. Análisis de varianza del número de flores por planta de Lisianthus en el experimento 1.

En el cuadro 5 se muestra la prueba de medias por el método de Duncan donde se observa un comportamiento estadísticamente similar entre cada uno de los tratamientos.

Duncan	Agrupamiento	Media	N	trat
	A	5.882	17	BOTAFI
	A	5.333	6	FOL
	A	5.333	3	TA
	A	5.214	14	AFIN
	A	5.000	3	BOTR
	A	4.609	23	FOLAFI

Cuadro 5. Prueba de medias por el método de Duncan, se observa que no existe diferencias estadísticamente significativas por lo tanto los tratamientos se comportaron iguales en el número de flores y no se ve afectado por la presencia los patógenos y la afinina.

A continuación en el cuadro 6 se presenta el análisis de varianza de la incidencia de los patógenos FOL y *Botrytis cinerea* en hojas jóvenes del *Lisianthus* en el experimento 1.

	Suma de	Cuadrado de			
Fuente	DF	cuadrados	la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	2009.211676	401.842335	7.09	<.0001
Error	60	3402.776961	56.712949		
Total correcto	65	5411.988636			

Cuadro 6. Análisis de varianza de las hojas jóvenes donde se evaluó la incidencia los patógenos FOL y *Botrytis*.

En el cuadro 7 se presenta la prueba de medias por el método de Duncan donde se observa que un tratamiento se comporta estadísticamente diferente al resto de los tratamientos.

Duncan Agrupamiento	Media	N	trat
A	12.721	17	BOTAFI
B	3.917	3	BOTR
B	0.000	14	AFIN
B	0.000	6	FOL
B	0.000	23	FOLAFI
B	0.000	3	TA

Cuadro 7. Prueba de medias por el método de Duncan, donde se observa que un tratamiento muestra diferencia significativa en comparación de los otros tratamientos por lo tanto *Botrytis cinerea* + Afinina tienen una mayor incidencia en *Lisianthus*.

A continuación en el cuadro 8 se muestra el análisis de varianza sobre incidencia en hojas viejas de *Lisianthus* en el experimento 1.

Suma de Cuadrado de					
Fuente	DF	cuadrados	la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	4278.65954	855.73191	8.26	<.0001
Error	60	6218.43137	103.64052		
Total correcto	65	10497.09091			

Cuadro 8. Análisis de varianza de las hojas jóvenes donde se evaluó la incidencia los patógenos FOL y *Botrytis* en el experimento 1.

En el cuadro 9 se muestra la prueba de medias por el método de Duncan donde se observa que hay 2 tratamientos estadísticamente iguales pero diferente al resto de los tratamientos.

Duncan Agrupamiento	Media	N	trat
A	18.118	17	BOTAFI
A	13.333	3	BOTR
B	0.000	14	AFIN
B	0.000	6	FOL
B	0.000	23	FOLAFI
B	0.000	3	TA

Cuadro 9. Prueba de medias por el método de Duncan, donde se observa que el tratamiento de *Botrytis cinerea* y *Botrytis* + *Afinina* son estadísticamente iguales pero diferentes al resto de los tratamientos por lo tanto *Botrytis cinerea* tiene gran incidencia en hojas jóvenes en plantas de *Lisianthus*.

A continuación en el cuadro 10 se muestra el análisis de varianza sobre incidencia en *Lisianthus* en el experimento 2.

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	2.97906169	0.59581234	20.28	<.0001
Error	124	3.64348209	0.02938292		
Total correcto	129	6.62254377			

Cuadro 10. Análisis de Varianza del programa estadístico SAS de la variable incidencia en el experimento 2.

En el cuadro 11 se muestra la prueba de medias por el método de Duncan donde se observa que hay 1 tratamiento (*Botrytis cinerea*) estadísticamente diferente al resto de los tratamientos.

Duncan	Agrupamiento	Media	N	trat
A	0.39535	25	BOTR	
B	0.10392	25	BOTAFI	
B	0.00000	20	AFIN	
B	0.00000	25	FUS	
B	0.00000	25	FUSAFI	
B	0.00000	10	TA	

Cuadro 11. Prueba de medias por el método de Duncan donde se observa que en el tratamiento de *Botrytis cinerea* existe diferencia significativa ya que en el tratamiento de *Botrytis* con afinina no presenta diferencias con el resto de los tratamientos por lo tanto *Botrytis cinerea* presenta mayor incidencia que el resto de los tratamientos.

A continuación en el cuadro 12 se muestra el análisis de varianza sobre la altura en *Lisianthus* en el experimento 2.

Suma de Cuadrado de					
Fuente	DF	cuadrados	la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	5	3291.365577	658.273115	15.43	<.0001
Error	124	5291.382500	42.672440		
Total correcto	129	8582.748077			

Cuadro 12. Análisis de varianza de la variable altura de planta en el experimento 2.

En el cuadro 13 se muestra la prueba de medias por el método de Duncan donde se observa que hay 1 tratamiento (Testigo absoluto) estadísticamente diferente al resto de los tratamientos y una similitud estadística entre el tratamiento de *Botrytis* y FOL.

Duncan	Agrupamiento	Media	N	trat
	A	55.140	25	BOTAFI
	A	54.460	25	FUSAFI
	B A	53.540	25	FUS
	B C	49.880	25	BOTR
	C	46.875	20	AFIN
	D	36.750	10	TA

Cuadro 13. Prueba de medias por el método de Duncan, donde se observa que FOL y *Botrytis cinerea* se comporta estadísticamente igual, pero *Botrytis* se comporta similar a la Afinina y FOL se comporta sin diferencias significativas con *Botrytis cinerea*+ afinina y FOL+ afinina.

En estos ensayos bajo las condiciones de los experimentos podemos comentar que el tratamiento con afinina no causa ningún efecto en el desarrollo de plantas de *lisanthus*, es decir, no redujo y tampoco promovió crecimiento.

Podemos discutir que los resultados obtenidos y llevados a cabo en plantas de *lisanthus* en etapas jóvenes de crecimiento presentaron mejores datos, ya que el número de repeticiones por cada tratamiento permitió obtener diferencias significativas en la infección por *Botrytis cinerea* en plantas tratadas con afinina. Esto se debe a que

las plantas en etapas tempranas responden eficientemente a la molécula de afinina al activar una posible resistencia a la infección por el hongo *Botrytis cinerea*. Sin embargo, en tallos florales evaluadas en postcosecha y en diferentes condiciones de temperatura resultaron variables, esto porque las plantas que se trataron con afinina presentaron síntomas de infección siendo muy avanzado. Esto puede explicarse porque las plantas posteriores a la cosecha del tallo floral responden muy diferente al ser adultas y la falta de nutrientes podría afectar la resistencia a hongos en postcosecha.

Para los ensayos de patogenicidad en plantas de *lisianthus* con *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* no se observó ningún indicio de la enfermedad, tal vez *lisianthus* no es hospedero para la cepa de FOL utilizada como referencia. Por otro lado, una posible explicación de ello sería la secreción de exudados de *lisianthus* con alta actividad antimicrobiana y que pudiera estar afectando la colonización de rizobacterias promotoras de crecimiento (*Bacillus subtilis*) y en nuestro trabajo, la infección por la cepa de FOL. Aunque esto podría contemplarse para otro trabajo de investigación si realmente ocurre esto en las raíces de *lisianthus* con sus exudados.

En el caso de la severidad evaluada (Gráfica 5) se observan las diferencias ya que se presentaron mayor número de plantas con presencia del patógeno sin embargo poco número de plantas en comparación del tratamiento de *Botrytis cinerea* sin afinina.

CONCLUSIONES

- Los tratamientos empleados en los experimentos tuvieron algunas respuestas interesantes como es en el caso de que la afinina provocó una sinergia en la incidencia de *Botrytis cinerea* en el área foliar en post-cosecha.
- *Lisianthus* no es hospedero de FOL, ya que en el desarrollo de flores que es cuando se aplicaron los tratamientos, la planta libera compuestos fenólicos e inhibe el desarrollo de patógenos radiculares (Torres, 2011).
- En el desarrollo del cultivo sólo se observó que *Botrytis cinerea* presentó sintomatología una gran incidencia en comparación con *Botrytis* + Afinina durante la evaluación en post cosecha, pero en el caso de FOL no se observó diferencias significativas en comparación a otros tratamientos.
- Recordando que el patógeno FOL se utilizó como referencia al género *Fusarium* se recomienda evaluar la especie *Fusarium avenaceum* quien es el patógeno específico de este cultivo previamente reportado en la literatura y observar la influencia de afinina en la posible resistencia.
- Las perspectivas de este trabajo son caracterizar a fondo la inducción de resistencia.

Al observar el comportamiento y resultados del experimento se rechaza la hipótesis de que la aplicación exógena de la molécula de afinina en plantas de *Lisianthus* (*Eustoma grandiflorum*) promueve la inducción de resistencia al patógeno fúngico (*Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*), sin embargo para el caso del patógeno *Botrytis cinerea* se acepta ya que en el desarrollo del cultivo hubo reducción en la incidencia del patógeno.

BIBLIOGRAFÍA

- BENITO, E., M. ARRANZ y P. ESLAVA. 2000. Factores de patogenicidad de *Botrytis cinerea*. Revista Iberoamericana de Micología 17: S43-S46.
- Bremer, K. 1994. Asteraceae: cladistics & classification. Timber Press. Portland.752
- Camarena Gutierrez G; R. de la Torre Alamráz. Resistencia sistémica adquirida en plantas: estado actual. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 2007.
- Chiara Bertoldo, 2014. Genetic diversity and virulence of Italian strains of *Fusarium oxysporum* isolated from *Eustoma grandiflorum*. North of Italy.
- Diana E. Gómez, Erlei M. Reis. Inductores abióticos de resistencia contra fitopatógenos, Revista QuimicaViva, Número 1, Abril 2011, Rio Grande, Brasil.
- Domínguez Ramírez Antero. Cultivo de Lisianthus *Eustoma grandiflorum*, Buenavista, Saltillo, Coahuila, 2002.
- Elidia Guadalupe de los Santos Vazquez. 2002. Análisis comparativo de rentabilidad entre Rosas (*Rosa spp.*) y Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*) de flor de corte bajo condiciones de invernadero, en la Carbonera, Arteaga, Coahuila.
- Estados Unidos de Norteamérica, Bancomext. 1988. Perfil de flores de corte. Sogi.
- F. A. Nalim, W. H. Elmer, R. J. McGovern, and D. M. Geiser, 2008. Multilocus Phylogenetic Diversity of *Fusarium avenaceum* Pathogenic on Lisianthus. Phytopathology 99:462-468.
- Fidel Moran Medina. 2004. Producción de plantas ornamentales en maceta en invernadero. Centro de Agronegocios Tezoyuca. FIRA – BANCO DE MÉXICO Tezoyuca, Morelos.
- García-Chávez, A.,E. Ramírez- Chávez, y J. Molina-Torres. 2002. El género *Heliopsis* (Heliantaceae; Asteraceae) en México y las alcamidas presentes en sus raíces. Acta Botánica Mexicana.
- Germán Arbeláez Torres. 2010. Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*.
- Halevy A., Kofranek A. 1984. Evaluation of Lisianthus as a new flower crop. HortScience

- José Armando Carrillo-Fasio¹, Teófilo de Jesús Montoya-Rodríguez², Raymundo Saúl García-Estrada¹, Jacobo Enrique Cruz-Ortega², Isidro Márquez-Zequera¹ y Adriana Josefa Sañudo-Barajas. Enero 2003. Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder y Hansen, en Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Revista Mexicana de Fitopatología.
- Julio Renato Mora Castillo, 2001. Control biológico de la pudrición radicular por *Fusarium oxysporum* en semilleros de café usando endomicorriza y *Trichoderma harzianum*.
- Little, E. 1948. El chilcuague (*Heliopsis longipes*) Planta insecticida. Boletín de la Sociedad Botánica de México 7: 23-27.
- Monica L. Elliot, Ph. D. 2010. Marchitez vascular causada por *Fusarium oxysporum*. University of Florida.
- Parmar, V.S., S.C. Jain, K.S. Bisht, R. Jain, P. Taneja, A. Jha, O.D. Tyagi, A.K. Prasad, J. Wengel, C.E. Olsen y P.M. Bool 1997. Phytochemistry of the genus piper. Phytochemistry 46: 597-673.
- Perez Delgado Hortencia, Respuesta de defensa estructural y bioquímica del extracto de *Heliopsis longipes* sobre el patosistema: Tomate – *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.
- Ponciano Pérez Hernandez. 2008. programa estratégico de necesidades de investigación y transferencia de tecnología de la cadena productiva horticultura ornamental en el estado de veracruz. Colegio de Postgraduados.
- Ramírez-Chávez, E., L. Lucas-Valdez, G. Virgen-Calleros y J. Molina-Torres. 2000. Actividad fúngica de afinina y extracto crudo de raíces de *Heliopsis longipes* sobre dos especies de *Sclerotium*.
- Salazar Jesús. Las plantas cultivadas y su resistencia a los patógenos. El Coji región centro occidente, Venezuela 1983.
- Sebastián Romero Cava. 1996. Plagas y enfermedades de ornamentales. Universidad Autónoma de Chapingo.
- SIAP. 2011. El valor de la producción de ornamentales en México. <http://www.siap.gob.mx/produccion-ornamental-mexico/>.
- Torres Hernández María Isabel, Fertilización foliar y malla sombra en *Eustoma grandiflorum* para incrementar intensidad de color, Montecillo, Texcoco, Edo. De México 2011.