

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISION DE AGRONOMIA

DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA



Respuesta a la Resistencia Genética en Líneas Extra Firmes de Larga Vida de Anaquel de Tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) Tipo Beef Entre Diferentes Técnicas de Inoculación y Campos de Acción de *Fusarium Oxysporum* (R<sub>3</sub>)

Por:

**LUIS GERARDO MORENO RODRIGUEZ**

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN HORTICULTURA**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Diciembre del 2018

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISION DE AGRONOMIA  
DEPARTAMENTO DE HORTICULTURA

Respuesta a la Resistencia Genética en Líneas Extra Firmes de Larga Vida de  
Anaquel de Tomate (*Solanum Lycopersicum* L.) Tipo Beef Entre Diferentes  
Técnicas de Inoculación y Campos de Acción de *Fusarium Oxysporum* (R<sub>3</sub>)

Por:

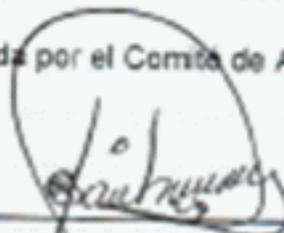
**LUIS GERARDO MORENO RODRIGUEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRONOMO EN HORTICULTURA**

Aprobada por el Comité de Asesoría:



M.C. Alfredo Sánchez López

Asesor Principal



Dr. Alberto Flores Olivas

Coasesor



M.C. Fidel Maximiano Peña Ramos

Coasesor

~~Dr. Gabriel Gallegos Morales~~

~~Coordinador de la División de Agronomía~~

~~Buenvista, Saltillo, Coahuila, México~~



Diciembre 2018

## **AGRADECIMIENTOS**

### **A mis padres Pedro Moreno y Jerónima Rodríguez**

Por regalarme la vida y formarme durante mis 22 años de vida y apoyarme siempre y enseñarme a luchar por lo que se quiere y no claudicar por más adversidades que se presenten en el camino siempre hay una alternativa para lograr mis metas y siempre tener fe en que podía lograrlo. Gracias por su esfuerzo y dedicación,

### **A Dios**

Por permitirme llegar a cumplir un logro más en la vida y por haber puesto grandes personas en mi camino que me guían, cuando más necesito un rumbo para lograr salir adelante y por darme la fortaleza de salir de mi casa a tierras lejanas y no perder el camino de bien.

### **A mi Querida Narro**

Por ser un refugio lleno de conocimientos y aventuras que me enseñó no solamente conocimientos sino también experiencias inolvidables, sabiduría y amar mi profesión eliminando los limitadores y dudas que tenía en el transcurso de mi caminar por la universidad.

### **Al M.C. Alfredo Sánchez López**

Por haberme permitido formar parte del proyecto y haber dirigido mi trabajo de Investigación con gran profesionalismo y conocimiento, sobre todo por creer y confiar en mí, cuando ni yo lo hacía y llegar a mi vida cuando necesitaba una guía y un consejo convirtiéndose en mi mentor y modelo a seguir en mi futuro como profesionalista al luchar durante tanto tiempo perseverando hasta cumplir su objetivo y compartir la felicidad al alcanzar su meta conmigo, por eso y muchas cosas más difíciles de describir muchas gracias con respeto y admiración.

### **Al M.C Fidel Maximiliano Peña Ramos**

Por sus observaciones como profesionista y por ayudarme en la interpretación estadística de mis datos y su amistad brindada.

### **A mi Tía Abuela Orlanda Rodríguez Betancurt y a su Familia**

Por hacerme sentir como en casa y darme cuenta que no estoy solo ni lejos de mi hogar al abrirme las puertas de su casa y darme amor y cariño como si fuera parte de su familia.

### **A mis Amigos**

Por su amistad brindada a lo largo de mi carrera, por encontrar refugio y buena amistad al llegar sin conocer a nadie y darme la oportunidad de conocernos.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS .....	i
ÍNDICE DE FIGURAS .....	vi
Resumen .....	ix
<b>I. INTRODUCCION .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Objetivo General .....</b>	<b>2</b>
<b>1.2 Objetivos Específicos .....</b>	<b>2</b>
<b>1.3 Hipótesis .....</b>	<b>3</b>
<b>1.4 Justificación .....</b>	<b>3</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1 Caracterización del Material Genético .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1.1 VILLA NARRO® .....</b>	<b>7</b>
<b>2.1.2 SofiMely® .....</b>	<b>8</b>
<b>2.1.3 Línea TSAN-04-SI-SV-7-3-1-S .....</b>	<b>9</b>
<b>2.2 Enfermedad .....</b>	<b>9</b>
<b>2.3 Postulados de Koch .....</b>	<b>11</b>
<b>2.4 Métodos de Inoculación .....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.1 Método de Inoculación con Palillo de Madera .....</b>	<b>11</b>
<b>2.4.2 Método de Inoculación con Inyección .....</b>	<b>12</b>
<b>2.4.3 Método de Inoculación con Punción .....</b>	<b>12</b>
<b>2.5 Mecanismos de Defensa de las Plantas Ante Ataques de los Patógenos .....</b>	<b>12</b>
<b>2.6 Tipos de Resistencia .....</b>	<b>13</b>
<b>2.6.1 Resistencia Genética .....</b>	<b>13</b>
<b>2.6.2 Resistencia sistémica adquirida .....</b>	<b>13</b>
<b>2.6.3 Resistencia Sistémica Inducida .....</b>	<b>13</b>
<b>2.7 Definiciones .....</b>	<b>14</b>

2.7.1 Enfermedad.....	14
2.7.2 Fitopatógeno.....	14
2.7.3 Aislamiento .....	14
2.7.4 Inoculo .....	14
2.7.5 Inoculación.....	14
2.7.6 Inocular .....	14
2.7.7 Síntoma.....	14
2.7.8 Clorosis.....	14
2.7.9 Fitoalexinas.....	15
2.7.10 Infección.....	15
2.7.11 Raza fisiológica.....	15
2.7.12 Resistencia .....	15
2.7.13 Resistencia horizontal .....	15
2.7.14 Resistencia vertical .....	15
2.7.15 Resistente .....	15
2.7.16 Susceptibilidad .....	15
2.7.17 Tolerancia.....	15
3.1 Localización del Área Experimental.....	16
3.2 Diseño Experimental .....	17
3.2.1 Análisis de Varianza.....	17
3.3 Diseño Factorial .....	17
3.4 Material Genético .....	18
3.5 Material Biológico para Inoculación.....	18
3.6 Siembra.....	19
3.7 Preparación de Camas y Establecimiento del Cultivo.....	19
3.8 Manejo Experimental.....	19

3.9 Trasplante.....	20
3.10 Riegos de Auxilio.....	21
3.11 Sistema de Conducción .....	21
3.12 Material de Campo.....	22
3.13 Aislamiento, Identificación e Inoculación de <i>Fusarium Oxysporum</i> .....	23
3.14 Inoculación por la Técnica del Palillo de Madera Infestado por Micelio .....	24
3.15 Inoculación con Suspensión Concentrada de Esporas (SCE) .....	25
3.16 Metodología de Inoculación con Palillo de madera .....	25
3.17 Metodología de Inoculación con Suspensión Concentrada de Esporas con Jeringa.....	28
3.18 Variables Evaluadas.....	29
3.18.1 Variables Agronómicas .....	29
3.18.2 Variable Fitopatológica.....	29
3.19 Evaluación de las Variables Agronómicas .....	31
3.19.1 Altura.....	31
3.19.2 Diámetro .....	32
3.19.3 Severidad .....	32
IV. RESULTADOS .....	34
4.1 Factor A .....	34
4.2 Factor B .....	36
4.3 Interacción de los Factores AXB .....	38
4.4 Severidad.....	43
V. DISCUSION .....	47
VI. CONCLUSIONES.....	49
VII. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA .....	51
VIII. APÉNDICE .....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ubicación del experimento en la UAAAN campus Buenavista.....	16
Figura 2 Trasplante y riego de asiento .....	21
Figura 3 Sistema de conducción modificado modificado empleado en el experimento.....	22
Figura 4 Palillos de madera infestados por Fusarium O.....	24
Figura 5 Inoculación con palillo de madera .....	26
Figura 6 Palillo de madera fijo en la planta.....	27
Figura 7 Inoculación con Suspensión Concentrada de Esporas con Jeringa.....	28
Figura 8 Escala de severidad utilizada del 0 a 5 para evaluar los materiales .....	30
Figura 9 Medición de altura con flexómetro.....	31
Figura 10 Medición del diámetro del tallo .....	32
Figura 11 Proceso para la evaluación en tallo y raíz de acuerdo a la escala establecida .....	33
Figura 12 Grafica correspondiente a la altura y los métodos de inoculación con la comparación de medias de Tukey al $p=0.05$ demostrando mayor significancia para el método de palillo de madera arriba de los cotiledones con respecto a los demás métodos para dicha variable. ....	35
Figura 13 Grafica correspondiente al número de hojas y el método de inoculación con la comparación de medias de Tukey al $p=0.05$ donde no existe diferencia significativa para la relación entre método de inoculación y el número de hojas. .	35
Figura 14 Grafica correspondiente a los vectores del diámetro de tallo y el método de inoculación con la comparación de medias de Tukey $p=0.05$ donde se aprecia que no existe diferencia significativa entre métodos de inoculación y diámetro de tallo.....	36
Figura 15 Grafica correspondiente a la altura de planta con los materiales genéticos con la comparación de medias de Tukey al $p=0.05$ donde se aprecia	

una significancia del 100% ente los materiales genéticos SofiMely® y L-04-SI-SV-7-3-1-SI . . . . .	37
Figura 16 Grafica correspondiente al número de hojas y el material genético con la comparación de medias de Tukey $p=0.05$ donde se aprecia que el vector del material L-04-SI-SV-7-3-1-SI teniendo una probabilidad del 96.96%.....	37
Figura 17 Grafica correspondiente al diámetro de tallo y el material genético con la comparación de medias de Tukey $p=0.05$ donde se aprecia que los materiales L-04-SI-SV-7-3-1-SI y SofiMely® teniendo cercana a un 100% de probabilidades. .	38
Figura 18 Grafica correspondiente a la interacción entre la variable altura de planta, método de inoculación y el material genético con la comparación de medias de Tukey $p=0.05$ teniendo mayor significancia los valores $>$ al 95% .....	40
Figura 19 Grafica correspondiente a la interacción entre la variable número de hojas, método de inoculación y el material genético con la comparación de medias de Tukey $p=0.05$ donde no se mostró diferencia significativa al tener valores inferiores al 95 %.....	41
Ilustración 20 Grafica correspondiente a la interacción entre la variable diámetro de tallo, método de inoculación y el material genético con la comparación de medias de Tukey $p=0.05$ teniendo mayor significancia los valores $>$ al 95% .....	42
Figura 21 Grafica correspondiente a la variable de severidad con el material genético con la comparación de medias de Tukey $p=0.05$ teniendo mayor probabilidad estadística el material L-04-SI-SV-7-3-1-SI de probabilidad. ....	44
Figura 22 Grafica correspondiente a la variable de severidad con el material genético de acuerdo al promedio de severidad expresado en porcentajes por material genético, presentando mayor severidad para el material L-04-SI-SV-7-3-1-SI con un 39.16% .....	44
Figura 23 Grafica correspondiente a la variable de severidad con método de inoculación con comparación de medias de Tukey $p=0.05$ donde no se mostró significancia estadística siendo iguales los daños de severidad causados por todos los métodos de inoculación .....	45
Figura 24 Grafica correspondiente a la variable de severidad con el método de inoculación de acuerdo al promedio de severidad expresado en porcentajes	

presentando un mayor daño por parte del método de inoculación de Suspensión Concentrada de Esporas con Jeringa con un 33.33% ..... 45

Figura 25 Grafica correspondiente a la interacción entre la variable de severidad, método de inoculación y el material genético con la comparación de medias de Tukey  $p=0.05$  teniendo mayor significancia los valores > al 95% ..... 46

## Resumen

El presente trabajo fue desarrollado con la finalidad de determinar la posible Resistencia Genética Adquirida de diferentes materiales Genéticos de Habito Semi-Indeterminado, de Larga Vida de Anaquel y Extra Firmes de tomate ante los ataques de *Fusarium Oxisporum* R<sub>3</sub>, se utilizaron tres métodos de Inoculación con el objetivo para determinar cuál es la Técnica más eficiente en futuros estudios de Fito patogenicidad, el experimento fue desarrollado en las Instalaciones del Campus Buenavista de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en el Invernadero perteneciente al Departamento de Parasitología. Se utilizó un acomodo experimental de bloques completamente al azar, con un modelo estadístico múltiple factorial con la prueba de comparación de medias de Tukey con una probabilidad de  $p \leq 0.05$  de confianza, donde se aplicaron las siguientes Técnicas de Inoculación: Palillo de madera infestado con micelio arriba de los cotiledones, Palillo de madera infestado con micelio en la intersección del tallo y raíz y Suspensión Concentrada de Esporas (**SCE**) con Jeringa a  $9 \times 10^6$ , contando con seis plantas por repetición y dos por técnica de inoculación, considerando las variables agronómicas de altura de la planta, número de hojas y diámetro del tallo con cuatro muestreos cada 15 días observando el comportamiento Fenotípico de los tres materiales Genéticos de Habito Semi-Indeterminado, considerando como variable Fitopatológica "Severidad" de daño por *Fusarium O.* se realizaron dos muestreos al inicio de Floración y Amarre de frutos y en Punto rallado de los mismos, ya que la planta paso por los procesos fenológicos y las etapas críticas de *Fusarium*, con una escala visual por daños causados y tejido necrótico al tallo y raíz que fue de 0 a 5 y expresada en porcentajes mediante una ecuación. Los resultados arrojaron que todas las Variedades evaluadas presentaron Resistencia Genética manifestando la de mayor a esta el Híbrido **L-04-SI-SV-7-3-1-SI** (99.71%), por otra parte, de los tres métodos de Inoculación evaluados los resultados arrojaron, que la mejor técnica para inocular *Fusarium* fue el método de **Palillo de madera arriba de los**

**cotiledones (99.66%)** Inoculándose a los 12 días del trasplante después de que la planta supero la etapa crítica de *Damping-off* y adaptándose a su sitio definitivo.

Palabras clave: *Fusarium O*, Método de Inoculación, Palillo de Madera, Severidad, Método de SCE con Jeringa. Material Genético.

## I. INTRODUCCION

Es bien conocido que *Fusarium* spp. Se encuentra dentro de las enfermedades más severas presentes en el suelo y que se manifiestan con mayor frecuencia en los cultivos, causando grandes daños y pérdidas económicas en el estado de Sinaloa de hasta un 50% (Carrillo-Fasio *et al.*, 2003; García y Valenzuela, 2009) en la disminución del rendimiento en la producción de fruto de tomate bajo cielo abierto e Invernadero. En sus variantes *oxisporum* y *lycopersici* también conocido como marchitez vascular del tomate, causando daños irreversibles o totales en las plantas provocando un taponamiento del Xilema lo que impide el movimiento de fotosintatos causando muerte del tejido en la planta, los síntomas más característicos causados por *Fusariosis* son el amarillamiento de las hojas más viejas junto con una epinastia avanzando a las hojas más jóvenes, las cuales entran en senescencia quedando adheridas al tallo de la planta, achaparramiento de la misma, necrosis radicular y el atrofiamiento en el sistema radicular hasta llegar a la muerte, el ataque por parte de *Fusarium* se puede dividir en tres etapas clave la primera en el estado de plántula junto a un complejo de otras enfermedades causando pudrición del cuello o *Damping off*, la segunda etapa se manifiesta en el inicio de la emisión de racimos florales y en plena producción del cultivo haciendo que los frutos no lleguen a la madurez de cosecha y pérdida de la planta. Una vez establecida la enfermedad se pueden utilizar programas preventivos por los agricultores y algunos inductores de resistencia que pueden aplazar los síntomas y efectos producidos, saneo de las plantas infectadas, evitar el contacto con herramientas y maquinaria que puedan diseminar la enfermedad a plantas y cultivos en terrenos sin incidencia del problema. Como prevención se realizan acciones de desinfección antes de establecer un nuevo cultivo, el uso de Variedades y/o Híbridos resistentes y tolerantes a *Fusarium* spp. Se conocen tres Razas en la actualidad, **R<sub>1</sub>**, **R<sub>2</sub>**, **R<sub>3</sub>**, lo que ha llevado a los Fito mejoradores a buscar alternativas en los Genes de Variedades silvestres capaces de Incorporar la Resistencia a los ataques de *Fusarium* capaz de soportar los estragos causados por este patógeno **R<sub>1</sub>**, **R<sub>2</sub>**

(González, Arias. 2012) que se encuentran presentes en la mayoría de las Variedades comerciales y/o Híbridos, mas no se ha tenido éxito al encontrar Variedades resistentes a *Fusarium R<sub>3</sub>*, sin embargo, se reportan porta Injertos exclusivos de alto costo, capaces de tolerarlo, pero se ha encontrado la inconveniencia que existe Incompatibilidad para su uso convencional junto con un elevado costo de los materiales que presentan esta resistencia.

### **1.1 Objetivo General**

- Evaluar y observar el comportamiento, la resistencia y/o tolerancia Genética expresada por parte de las Variedades y Líneas dispuestas ante el inoculo con cepas de *Fusarium spp. R<sub>3</sub>* a través de las diferentes técnicas de inoculación en tres Materiales Genéticos.

### **1.2 Objetivos Específicos**

- Determinar cuál es la mejor variedad con resistencia y/o tolerancia genética ante *Fusarium (R<sub>3</sub>)*.
- Evaluar la Severidad de *Fusarium oxysporum (R<sub>3</sub>)* en diferentes periodos fenológicos en tres Materiales de tomate tipo Beef de Larga Vida de Anaquel Extra Firmes.
- Comparar y determinar cuál es la metodología de inoculación más eficiente para trabajar con *Fusarium* en futuras evaluaciones en campo e Invernadero en el cultivo de tomate.

### 1.3 Hipótesis

- Durante el desarrollo del experimento los materiales Genéticos TSAN, al menos uno presentará resistencia y/o tolerancia adquirida positivamente ante los efectos y síntomas producidos por parte del ataque causado por *Fusarium* O. R3.
- Se identificará la mejor técnica de inoculación de *Fusarium* spp. o que al menos una de las técnicas demuestre diferencia significativa para su futura utilización.

### 1.4 Justificación

Entre las enfermedades más importantes que afectan al cultivo del tomate se encuentra la marchitez vascular, cuyo agente causal es *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici*, responsable de pérdidas en los rendimientos de hasta un 60%, afectando también la calidad del producto. Esta enfermedad afecta al menos 32 países en gran diversidad de condiciones, informándose hasta el momento, tres razas, las cuales se distinguen por su virulencia en materiales que contienen genes de resistencia. (González, Arias. 2012)

En regiones cálidas como las del Estado de Sinaloa, México, la marchitez vascular es muy severa en los cultivos de tomate, desarrollados bajo condiciones de cielo abierto o agricultura protegida, ocasionando fuertes daños en los Híbridos que muestran susceptibilidad al ataque de este Fitopatógeno. La magnitud del daño ocasionada por esta enfermedad en Sinaloa es muy variada, donde se reporta que el rendimiento del tomate cultivado con lotes infestados, ha disminuido hasta en un 50% debido al ataque de la enfermedad, tanto en campo abierto como en invernadero. (Carrillo-Facio *et al.*, 2003; García y Valenzuela, 2009).

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

dentro de las enfermedades que atacan a la raíz se encuentra la marchitez vascular causada por *Fusarium*, es un hongo tanto saprofito del suelo como un hongo especializado relacionado estrechamente con el hospedero que infeste, es posible encontrarlo prácticamente en todas partes del mundo donde se cultive tomate, puede sobrevivir indefinidamente en el suelo en forma de clamidosporas y micelio en restos de plantas hospederas, en la actualidad se considera a dos especies como las que causan más daños económicos para la horticultura siendo *Fusarium oxysporum* y *F. lycopersisi* los que causan más estragos en las Solanáceas. (Villa Martínez, 2014).

La infestación por *Fusarium* provoca marchitez y amarillamiento en las hojas más viejas de la planta pudiendo ser de forma parcial o total, las hojas al morir quedan unidas al tallo, los daños al tallo se observan con un cambio de coloración marrón-rojizo en el tejido vascular causante taponamiento y evitando a translocación de agua y foto asimilados, la enfermedad es más frecuente y severa en cultivos establecidos en zonas de clima cálido e invernaderos lo cual presenta molestias a los productores incrementando los costes de producción en fungicidas y uso de patrones resistentes. Fue descrito por primera vez en Inglaterra desde entonces se han encontrado mutaciones debido a su facilidad de adaptarse a nuevos medios por lo cual se han clasificado en tres razas, **R<sub>1</sub>**, **R<sub>2</sub>**, **R<sub>3</sub>**, la **R<sub>1</sub>** fue descrita en 1886 y se encontró resistencia genética en materiales de *Solanum pimpinellifolium*, para 1945 en Ohaio se identificó como **R<sub>2</sub>** a una nueva cepa con una patogenicidad más agresiva y severa que **R<sub>1</sub>**, para esta nueva raza se ogo encontrar resistencia en la hibridación de *S. esculentum* x *S. pimpinellifolium*, en Australia se encontró una nueva variante de *Fusarium* capaz de sobrepasar las barreras de defensa desarrolladas para naturalmente por los genetistas en 1978 dando origen a la **R<sub>3</sub>**. (Cai 2003; Chemelli y Dankers, 1992)

Las estrategias para combatir la marchitez vascular constan desde aplicaciones de fungicidas al suelo, uso de patrones resistentes y variedades mejoradas y el uso

de inductores de resistencia, mas sin embargo cada vez se encuentran más restricciones en cuanto a las aplicaciones de ciertos agroquímicos utilizados comúnmente como caballitos de batalla, por lo cual la alternativa más factible es el uso de variedades y patrones mejorados sin embargo aún no se han encontrado variedades resistentes en el mercado abierto lo contra fusarium **R<sub>3</sub>**.

La inoculación de patógenos en plantas sanas se realiza con la finalidad de reproducir los síntomas causados por una enfermedad, se puede realizar con diferentes propósitos de investigación como el conocer la cantidad mínima para producir una infección mínima, conocer las características fenológicas y ambientales en las que prospera la enfermedad o conocer su patogenicidad, evaluar un nuevo control contra la enfermedad o poner a prueba ciertos productos preventivos y curativos. Independientemente de cuál sea el caso se debe de tener en cuenta factores clave como la forma de penetración natural del inóculo, la etapa donde es susceptible la planta, tener un inóculo viable, presentar las condiciones ambientales para que se desarrolle el patógeno entre otras. (Eduardo R.F, Teddy T.H. 1980)

El tomate *Solanum lycopersicum* L. es considerado como la hortaliza número uno a nivel mundial, su producción y comercio se han extendido a nivel mundial, es un cultivo de clima cálido, aunque es posible establecerse bajo condiciones de agricultura protegida siendo capaz de producirse durante todo el año, es uno de los cultivos hortícolas más versátiles, muy noble y complejo a la vez. En el cultivo de tomate se pueden desarrollar todas las actividades culturales de manejo habidas y por haber, del mismo modo se manifiestan una gran cantidad de plagas y enfermedades que pueden causar graves daños al cultivo debido a su palatabilidad que atrae todo tipo de plagas. Al ser un cultivo muy versátil y debido a su alta demanda propicia una gran diversificación para satisfacer los distintos nichos de mercado, destinándose a su consumo en fresco y procesado por lo cual encontramos una amplia gama de Tipos y Variedades siendo los más comunes: bola o beef, roma o saladette y especialidades, lo cual lleva a los mejoradores y casas semilleras crear Variedades e Híbridos más apropiados a los deseos de los clientes, en el cultivo de tomate se encuentran variedades de habito de

crecimiento determinado e indeterminado, su producción puede realizarse bajo diferentes sistemas de producción según la tecnología disponible, en suelo a campo abierto o bajo agricultura protegida como en el caso de invernaderos de baja tecnología y casa sombra, mediana tecnología cubierto con plástico en semi-hidroponía, invernaderos de alta tecnología con cobertura de vidrio de luz difusa o plástico, en México se establecen dos ciclos de producción al año siendo el ciclo Primavera-Verano y Otoño-Invierno. Todo esto hace que la industria tomatera se incremente día a día para mantener el consumo y demanda a nivel nacional e internacional.

La producción nacional de tomate representa el 3.46% del PIB nacional cubriendo el 90.67% de las importaciones a Estados Unidos y el 65.31% de las de Canadá consolidándose como el principal exportador a nivel mundial seguido por Países Bajos, España, Marruecos, etc. las exportaciones representan el 47.96 de la producción nacional además de satisfacer la demanda nacional al 100%. (SIAP, 2017)

La producción nacional durante el año 2016 fue cultivadas 51,861 hectáreas con una producción de 3.35 millones de toneladas producidas, siendo los principales estados productores: Sinaloa, Sonora, Oaxaca, S.L.P., Baja California Sur, Michoacán, Querétaro, Baja California, Chiapas, Zacatecas, Jalisco y Guanajuato. (SIAP,2018)

En la actualidad la producción de cultivos de tomate se ha reducido en cuanto a superficie cultivada según lo informa el boletín emitido por parte de la SIAP y SAGARPA durante el periodo comprendido del 2003-2016, reduciendo el cultivo a campo abierto derivado del comportamiento de factores bióticos y abióticos tales como el clima y los siniestros ocurridos y la incidencia de plagas y enfermedades que obligan a los productores a destinar más recursos económicos para continuar con sus sistemas de producción, por otra parte está prosperando la producción bajo agricultura protegida lo cual ha permitido mantener un flujo de producción capaz de sostener la demanda de tomate.

## 2.1 Caracterización del Material Genético

### 2.1.1 VILLA NARRO®

La nueva Línea denominada **VILLA NARRO®** la cual se encuentra registrada ante el SNICS en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales, presenta un crecimiento de habito Semi-Indeterminado y requiere de 21 días a inicio de floración después del trasplante, con densidad de población en cielo abierto de 13,000 a 14,000 plantas por hectárea con el manejo de camas de 1.80 a 1.84 metros y entre plantas 35 a 40 centímetros, con poda a dos tallos, bajo el Sistema de Estacado Regional Modificado-Modificado y acolchado bicolor, en agricultura protegida de 15,000 a 16,000 plantas por hectárea con el manejo de camas de 1.84 a 1.90 metros y distancia entre plantas de 30 centímetros, en bolis de fibra de coco y/o acolchado bicolor, con fertirriego, a hilera sencilla, con poda a un tallo y el manejo de rafia y anillos.

La Línea antes mencionada presenta características de frutos Extra firmes y de larga vida de anaquel, hombros marcados con frutos comerciales Extra grandes (3x4 y 4x4), grandes (4x5, 5x5, 5x6) hasta en un 75% de la producción, y tamaños medianos (6x6) un 15% y chicos (6x7) un 10%, así como de 6 a 7 lóculos en un 96% en la parte interna del fruto manteniéndose durante toda la etapa productiva independientemente de la fecha y modalidad de siembra sin perder el tamaño grande si se mantiene la práctica de poda a dos tallos en cielo abierto y agricultura protegida, así también manejando los niveles de nutrición durante las etapas fenológicas, en cuanto al comportamiento del rendimiento en cielo abierto y poda a dos tallos es de 90 toneladas por hectárea y para agricultura protegida bajo la modalidad de malla sombra y poda a dos tallos es de 290 toneladas por hectárea.

En cuanto a la innovación de los atributos de calidad, en cuanto al dosel de la planta, esta variedad es muy versátil porque presenta menor distancia entre racimos, que es de 21.93 centímetros.

Para la resistencia a una de las enfermedades más severas en los suelos de México (*Fusarium oxisporum*) presenta resistencia a las razas **R<sub>1</sub>** y **R<sub>2</sub>**, entre otras.

La firmeza es de 3.62 kg/cm<sup>2</sup>, °Brix 3.667, contenido de licopeno de 3.533 mg/g (Sánchez, 2017).

### 2.1.2 SofiMely®

La nueva Línea denominada **SofiMely®**, que se encuentra registrada oficialmente por el SNICS en el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales, presenta un crecimiento de habido Semi-Indeterminado, requiere de 23 días a inicio de floración después del trasplante, con una densidad de población en cielo abierto de 13,000 a 14,000 plantas por hectárea, con el manejo de camas de 1.80 a 1.84 m y distancia entre plantas de 35 a 40 cm, con poda a dos tallos, bajo el Sistema de Estacado Regional Modificado-Modificado y acolchado bicolor, con fertirriego, en agricultura protegida de 15,000 a 16,000 plantas por hectárea, con el manejo de camas de 1.84 a 1.90 m y distancia entre plantas de 30 cm, en bolis de fibra de coco, y/o acolchado bicolor, con fertirriego a hilera sencilla, con poda a un tallo y el manejo de rafia y anillos.

La Línea antes mencionada, presenta características de frutos Extra firmes y de larga vida de anaquel, hombros uniformes y medio acanalados en la parte de los mismos y del pedúnculo, con frutos comerciales Extra Grandes (3x4 y 4x4), grandes( 4x5, 5x5, y 5x6) hasta en un 82% de la producción, y tamaños medianos (6x6) un 10% ,chicos (6x7) un 8.0% aproximadamente y con la característica de 5 a 6 lóculos en un 98% de los frutos en la parte interna del mismo, manteniéndose la calidad durante toda la etapa productiva independientemente de la fecha y modalidad de siembra, sin perder el tamaño grande si se mantiene la práctica de poda a dos tallos en cielo abierto y agricultura protegida, así también manejando los niveles de nutrición durante las etapas fenológicas. En cuanto al comportamiento de rendimiento en cielo abierto y poda a dos tallos es de 95 toneladas por hectárea,

para agricultura protegida bajo la modalidad de malla sombra y poda a dos tallos es de 310 toneladas por hectárea.

En cuanto a la innovación de los atributos de calidad, en cuanto a dosel de la planta esta variedad es muy versátil porque presenta menor distancia entre racimos que es de 22.53 cm.

Para la resistencia a una enfermedad más severa en los suelos de México (*Fusarium oxisporum*) presenta resistencia a las razas **R<sub>1</sub>** y **R<sub>2</sub>**, entre otras.

La Firmeza es de 3.84 kg/cm<sup>2</sup>, °Brix 3.706 y Contenido de Licopeno de 4.726 mg/g (Sánchez, 2017).

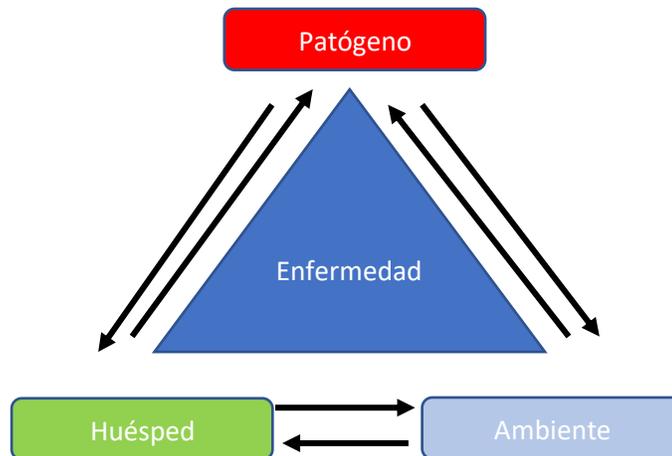
### **2.1.3 Línea TSAN-04-SI-SV-7-3-1-S**

Es un Material Experimental Híbrido que está en proceso de Formación y que presenta las siguientes Características; Hábito de planta Semi-Indeterminado, distancia entre inflorescencia 22 a 23 cm, frutos Extra firmes, Extra grandes, Grandes y Medianos, la forma del fruto es oblonga verde claro, con 6 y 7 lóculos, sin hombros marcados, de Larga Vida de Anaquel, Alto contenido de Licopeno con Resistencia a **R<sub>1</sub>** y **R<sub>2</sub>** *Fusarium oxisporum*, V, St, VMT, N, tolerante a bajas y altas temperaturas, y Color de frutos rojo intenso, actualmente todavía será sometido a dos procesos de Observación y Ensayos Rigurosos para poder proceder a su posible Registro.

## **2.2 Enfermedad**

Para que se manifieste una enfermedad se requiere de una planta huésped susceptible, un patógeno virulento y unas condiciones ambientales adecuadas para que se manifieste la enfermedad. Sin embargo, al adentrarse en los factores que influyen encontramos la genética tanto del patógeno y el huésped, el punto de interacción patógeno-huésped, tiempo durante el cual existen las condiciones

favorables para el patógeno y desfavorables para el huésped que causen un tipo de estrés. (Vivienne Gepp, 2011)



Todas las enfermedades pasan por un ciclo de desarrollo del cual depende el éxito o fracaso del patógeno, como primera etapa se encuentra la penetración que consiste en el cómo entra el patógeno al hospedero por heridas naturales, mecánicas, lesiones causadas por el patógeno, entre otros. (Estrada, 2015).

Infección cuando interactúan el patógeno con las células del huésped infectando la planta, el siguiente paso es la colonización donde crece y se expande el patógeno dentro del tejido vegetal, la aparición de los síntomas es un indicativo de la enfermedad actuando en el interior de la planta manifestando síntomas visibles como clorosis, epinastia, tejidos necróticos, crecimiento irregular o anormal, etc. (Vivienne Gepp, 2011)

Supervivencia y reproducción del patógeno esto porque se enfrenta a mecanismos de defensa por parte de las plantas como pueden ser fenoles, fitoalexinas, ac. Masónico, entre otros métodos de resistencia ante los ataques causados por patógenos. (Productores de hortalizas, 2016)

## **2.3 Postulados de Koch**

En el año de 1882 el médico alemán Robert Koch demostró experimentalmente que la tuberculosis era una enfermedad infecciosa y bacteriana al igual que el ántrax. Al perfeccionar la técnica bacteriológica en cuanto a medios de cultivo e inoculación proclamó el 24 de marzo de 1882 ante la Sociedad de Fisiología de Berlín que pudo llegar a esta conclusión gracias a un protocolo experimental que ahora se denomina “los postulados de Koch”. (Groschel, 1982).

Con el pasar de los años surgieron nuevos métodos y ajustes para mejorar la eficiencia de los postulados de Koch, para 19981 se estableció lo siguiente:

- La existencia de una enfermedad implica que hay o ha habido un microorganismo asociado a la misma.
- El microorganismo debe ser aislado y caracterizado en cultivo puro.
- Cuando se inocula una planta sana, los síntomas deben reproducirse.
- Se debe volver a aislar el microorganismo de la planta inoculada artificialmente y sus características deben coincidir con las determinadas anteriormente.

## **2.4 Métodos de Inoculación**

### **2.4.1 Método de Inoculación con Palillo de Madera**

Se realizaron investigaciones en la diferenciación de genotipos resistentes y susceptibles al inocular insertando palillos de madera cubiertos de micelio en brotes de oído de la seda en diversas líneas de maíz. (Ullstrup 19970)

#### **2.4.2 Método de Inoculación con Inyección**

Se realiza con jeringas y agujas de tamaños variados, sirven para distintos propósitos de inoculación, se pueden inocular bacterias como *Erwinia*, *Pseudomonas* inoculándose a sistema vascular de la axila de a hoja, esporas de la Roya inyectándose al cuello de la planta de cereales en forma de suspensión de esporas mostrando signos de infección algunos días después de la inoculación. (Eduardo R.F, Teddy T.H. 1980)

#### **2.4.3 Método de Inoculación con Punción**

El uso de un punzón como un bisturí, hoja de tijera o aguja de disección que habrá el camino a un inoculo que se coloque en la herida. Sin embargo, es más eficiente colocar primero el inoculo y después punzar la planta a través de él. (Eduardo R.F, Teddy T.H. 1980)

### **2.5 Mecanismos de Defensa de las Plantas Ante Ataques de los Patógenos**

Las plantas tienen una serie de mecanismos de defensa preexistentes y otros inducidos que se activan cuando se percibe un ataque. Pueden tener un sofisticado sistema de defensa para combatir patógenos que hacen uso de diversas estrategias de infección. La resistencia basal también es llamada inmunidad innata la cual representa la primera línea de defensa contra patógenos.

Las plantas cuentan con Genes de defensa, barreras estructurales o compuestos tóxicos como fenoles, Acido Jasmonico, Fitoalexinas, entre otros que actúan como barreras químicas, entre las respuestas vegetales se encuentran cambios en la estructura reforzando la pared celular lignificando los tejidos haciéndolos más

resistentes a la degradación por las enzimas fúngicas. (Productores de hortalizas, 2016)

## **2.6 Tipos de Resistencia**

### **2.6.1 Resistencia Genética**

Es la interferencia o reducción del crecimiento del patógeno que es provocada por la planta más sin embargo no es absoluta por lo cual se tiene niveles de resistencia. El grado de expresión fenotípica de la resistencia depende del alelo de resistencia, la base genética en que se encuentra el alelo de resistencia, el genotipo del patógeno, el estado de desarrollo de la planta y las condiciones ambientales. (Vivienne Gepp,2011)

### **2.6.2 Resistencia sistémica adquirida**

Al provocar una infección local por el patógeno provoca una inducción de resistencia de amplio espectro en otras partes de la planta, actúa expresando los genes de defensa con los que cuenta la planta. (Productores de hortalizas, 2016)

### **2.6.3 Resistencia Sistémica Inducida**

Se distinguen considerando la naturaleza del inductor y las rutas de activación que involucran. Es accionada por productos inductores de resistencia de activación enzimática, detonantes de procesos, etc. (Productores de hortalizas, 2016)

## **2.6.4 Caracterización fenotípica de diferentes niveles de resistencia genética**

(Vivienne Gepp,2011)

- 0 Inmune: sin pústulas
- 1 Resistente (R): pústulas muy chicas rodeadas de tejido muerto
- 2 Moderadamente resistente (MR): pústulas chicas-medianas con algo de tejido muerto
- 3 Moderadamente susceptible (MS): pústulas medianas sin tejido muerto
- 4 Susceptible (S): pústulas grandes sin tejido muerto

## **2.7 Definiciones**

**2.7.1 Enfermedad:** respuesta visible o invisible de una planta/tejido ante la acción de un organismo patógeno o factor ambiental que genera cambios en su forma, funcionamiento o integridad, originando un deterioro parcial hasta la muerte.

**2.7.2 Fitopatógeno:** termino que se aplica a los microorganismos que producen enfermedades en las plantas.

**2.7.3 Aislamiento:** separación de un patógeno de su huésped y su cultivo en un medio nutritivo.

**2.7.4 Inoculo:** patógeno o partes de él que ocasiona una enfermedad.

**2.7.5 Inoculación:** proceso mediante el cual un patógeno y un hospedero entran en contacto directo, llegada o transferencia de un patógeno a su hospedante.

**2.7.6 Inocular:** acción que pone en contacto con un patógeno con una planta hospedante o un órgano de ella.

**2.7.7 Síntoma:** reacciones o alteraciones internas o externas que sufre una planta como resultado a una enfermedad.

**2.7.8 Clorosis:** amarillamiento de los tejidos normalmente verdes, debido a la destrucción de la clorofila o a la imposibilidad de sintetizarla.

**2.7.9 Fitoalexinas:** sustancia que producen los tejidos del hospedante para inhibir el desarrollo de hongos parásitos y que se forman cuando las células de la planta hospedante entran en contacto con el patógeno.

**2.7.10 Infección:** establecimiento de un parasito dentro de una planta hospedante.

**2.7.11 Raza fisiológica:** es un taxón inferior a una forma especial que se diferencia fisiológicamente por su mayor virulencia cuando se infecta una serie dada de variedades de plantas. (AGRIOS, GN 1985)

**2.7.12 Resistencia:** la capacidad que tienen un organismo para no contraer una enfermedad en forma total o parcial.

**2.7.13 Resistencia horizontal:** resistencia parcial igualmente efectiva para todas las razas de un patógeno.

**2.7.14 Resistencia vertical:** resistencia competa a algunas razas de un patógeno, pero no a otras.

**2.7.15 Resistente:** que tiene la cualidad de impedir el desarrollo de un determinado patógeno.

**2.7.16 Susceptibilidad:** incapacidad de una planta para resistir y efecto de un patógeno u otro factor perjudicial.

**2.7.17 Tolerancia:** la capacidad que tiene una planta para soportar los efectos de una enfermedad sin llegar a la muerte. ( Vivienne Gepp,2011)

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1 Localización del Área Experimental

El presente trabajo de investigación, se llevó a cabo en un invernadero con cubierta de fibra de vidrio del área experimental del Departamento de Parasitología, dentro de las instalaciones de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Campus Buenavista, Saltillo, Coahuila, México, localizado entre las coordenadas geográficas latitud N 25° 21'13" y longitud O 101° 01'56" a una altura de 1742 msnm. Durante el ciclo Primavera – Verano del 2018.



Figura 1 Ubicación del experimento en la UAAAN campus Buenavista

## 3.2 Diseño Experimental

### 3.2.1 Análisis de Varianza

El experimento se estableció con un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones y seis plantas por tratamiento utilizando dos plantas por método de inoculación por tratamiento, en un arreglo múltiple factorial de AXB, donde el factor A=Método de inoculación (Palillo de madera arriba de los cotiledones, Palillo de madera en la intersección del tallo y raíz, Suspensión Concentrada de Esporas con Jeringa) y B=Material Genético (VILLA NARRO®, SofiMely®, L-04-SI-SV-7-3-1-SI). A los datos obtenidos se les efectuó un análisis de varianza y una prueba de comparación múltiple de medias con el método de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) fueron analizados con el programa R Core ver 3.2.5 (R Core Team, 2016).

Los factores se identificarán con la siguiente abreviatura:

#### 3.2.2 Factor A:

Parriba: Palillo de madera arriba de los cotiledones

Pabajo: Palillo de madera en la intersección del tallo

Jeringa: Suspensión Concentrada de Esporas con Jeringa

#### 3.2.3 Factor B:

V1: VILLA NARRO®

V2: SofiMely®

V3: L-04-SI-SV-7-3-1-SI

## 3.3 Diseño Factorial

El modelo múltiple factorial utilizado (Ángela Dean,1999) fue el siguiente:

$$y_{ijkl} = \mu + \tau_i + \beta_{j(i)} + \gamma_{k(ij)} + \varepsilon_{(ijkl)}$$

*i* Factores o nivel de los factores según corresponda

*j* Efectos

*k* Observaciones

*l* Niveles

$\mu$  Se refiere a la media general

$\tau_i$  Efecto del factor A

$\beta_{j(i)}$  Efecto del factor B anidado dentro los niveles del factor A

$\gamma_{k(ij)}$  Efecto del factor C anidados dentro de los niveles del factor B

$\varepsilon_{(ijkl)}$  Error aleatorio por el momento asumiremos que la distribución de este es normal

Factor A: Muestreos

Factor B: Métodos de inoculación

Factor C: Variedades

### 3.4 Material Genético

El Material Genético utilizado fueron los siguientes:

No. De tratamiento	Material Genético	Habito de Crecimiento
T1	VILLA NARRO®	Semi-indeterminado
T2	SofiMely®	Semi-indeterminado
T3	L-04-SI-SV-7-3-1-SI	Semi-indeterminado

Dicho material utilizado para el experimento forma parte de un programa de mejoramiento genético de tomate realizado por el M.C Alfredo Sánchez López, cuyas características son el ser de crecimiento Semi-Indeterminad, alta vida de anaquel, extra firmes, alta calidad nutracéutica, tamaños de fruto homogéneos desde el inicio hasta el final de cosecha, entrenudos entre racimo y racimo cortos, entre otras cualidades.

### 3.5 Material Biológico para Inoculación

Se colectaron muestras de tejidos vegetales que presentaban síntomas típicos de *Fusarium spp.* en un cultivo de tomate el cual reporta en su paquete de ficha técnica resistencia y tolerancia a *Fusarium oxysporum* y *F. lycopersisi*  $R_1$  y  $R_2$ , colectándose muestras del tejido del tallo y raíz y colocándose en cámara húmeda dentro de una hielera para su transporte llevándose a laboratorio CISEF para su clasificación y análisis. El aislamiento, enriquecimiento y multiplicación de la muestra se realizaron

en laboratorio en cajas Petri en un medio de cultivo de agar papa dextrosa (PDA) para su identificación.

### **3.6 Siembra**

La siembra se realizó el 20/04/2018 en el Invernadero de Alta Tecnología perteneciente al Departamento de Forestal de la UAAAN en charolas de poliestireno de 200 cavidades colocando una semilla por cavidad, se utilizó una mezcla de sustrato de peat moss 50% y perlita 30% el cual se mezcló perfectamente y se humedeció hasta saturación.

### **3.7 Preparación de Camas y Establecimiento del Cultivo**

El experimento se realizó en camas de 10 m de largo X 90 cm de ancho y 40 cm de alto, se utilizó tierra extraída de banco no tratada solamente cribada, se establecieron en un marco de plantación a doble hilera, de 20 cm entre planta X 30 cm de separación entre tratamientos. Se realizó un nivelado de las camas eliminando piedras y terrones, así como una fertilización de fondo básica de NPK, se colocó un sistema de riego con cintilla calibre 6,000 con los emisores a 30 cm de distancia entre emisores y con una separación entre cintilla de 30 cm con los emisores hacia arriba. Se dio un riego pesado de asiento con el propósito de llevar a capacidad de campo para facilitar el trasplante y así evitar deshidratación y daño al sistema radical de la plántula.

### **3.8 Manejo Experimental**

El experimento inicio el día 01 de junio del 2018 iniciando con el trasplante de las plántulas de tomate previamente germinadas en charlas de germinación,

concluyendo el día 07 de agosto del presente año, con la última evaluación que fue cuando los frutos se encontraban en punto estrella o rallado bien desarrollados.

Durante el desarrollo vegetativo se realizaron aporques, escardas, conducción y podas según se requerían, dicha actividad se realizó con la finalidad de eliminar la humedad manteniendo la aireación del suelo, eliminar malezas y dar mayor sostén a las planta y estacones. Las únicas podas que se realizaron fue el des

brote inicial (eliminar mamones y chupones) de manera manual con el propósito de facilitar aireación y vigor a la planta.

Se etiquetaron los tratamientos por variedad y método de inoculación, así como las repeticiones respectivamente de la siguiente manera:

#### Material Genético

- V1= VILLA NARRO®
- V2= SofiMely®
- V3= L-04-SI-SV-7-3-1-SI

#### Método de Inoculación

- Parriba= Palillo arriba de los cotiledones
- Pabajo= Palillo en la intersección del tallo y la raíz
- Jeringa= Solución Concentrada de Esporas con Jeringa

### **3.9 Trasplante**

El trasplante se realizó el día 01 de junio del 2018 efectuándose manualmente cuando las plántulas contaban con cuatro hojas verdaderas, se realizó a una distancia de 20 cm entre plantas y 30 cm entre tratamientos, después del trasplante se realizó un riego de asiento por medio de un sistema de riego por cintilla calibre 6,000, el fin de eliminar los espacios porosos presentes con aire en el suelo y evitar estrés por deshidratación en la planta.



Figura 2 Trasplante y riego de asiento

### **3.10 Riegos de Auxilio**

Los riegos se realizaron mediante riego por goteo de acuerdo a las necesidades hídricas efectuándose diariamente por un promedio de una hora a dos dependiendo de la temperatura interior, para mantener la planta en un estado hídrico óptimo y evitar supresión de raíz y rebentamiento de las mismas causado por el desbalance hídrico.

### **3.11 Sistema de Conducción**

El sistema de conducción aplicado fue el sistema de conducción regional modificado modificado, efectuándose a los 25 días después del trasplante, se utilizaron carrizos en medio de la hilera de aproximadamente 2.40 m, encajando 40 cm para un mejor sostén, se utilizó rafia agrícola colocándose cada 30 cm de altura cuidando no dañar

la planta y que creciera de una manera libre y natural, eliminando brotes axilares dándole la formación a dos tallos dejando como segundo tallo al brote emitido debajo del primer racimo floral.



Figura 3 Sistema de conducción modificado modificado empleado en el experimento

### 3.12 Material de Campo

- Libreta de campo
- Lápiz
- Flexómetro con capacidad de 3m
- Vernier electrónico
- Etiquetas
- Cámara fotográfica
- Rafia
- Cúter
- Carrizo

### **3.13 Aislamiento, Identificación e Inoculación de *Fusarium Oxysporum***

Las muestras se colectaron en un predio ubicado en Ajuchitlán, Colón, Querétaro y fueron enviadas a Saltillo, Coahuila para su procesamiento. Para su transporte se utilizó una hielera y las muestras se mantuvieron en una cámara húmeda por un tiempo no mayor a 24 has. para su traslado, se recibió la muestra del material proveniente de raíces y tallos de planta con síntomas típicos causados por *Fusarium spp.*

El Aislamiento de las muestras del material vegetativo infectado proveniente de plantas de Tomate. *Fusarium spp.* se realizó en el CISEF (Centro Internacional De Servicios Fitosanitarios). Iniciando con un lavado completo de las muestras de la planta con agua corriente y al final se enjuagaron con agua destilada, posteriormente se seccionó el material vegetativo proveniente de la raíz en pequeños trozos de 0.5 cm, se coloca en un matraz para su desinfección con solución de hipoclorito de sodio en una concentración del 1:10, posteriormente se lavaron con agua destilada para eliminar residuos de cloro que pudieran afectar el procedimiento, el material vegetativo se colocó en papel secante por 12 horas, como siguiente paso la muestra se sembró en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) en condiciones de esterilidad (utilizando cámara de transferencia de flujo laminar) y se incubó el medio a 28°C durante el tiempo necesario para el desarrollo y expresión del hongo, para proseguir con el aislamiento y purificación del patógeno, realizando la transferencia del crecimiento del hongo (micelio) a una nueva caja de Petri con medio de crecimiento PDA.

La clasificación e identificación del hongo se realizó con el uso de claves taxonómicas transfiriendo una muestra de micelio a un portaobjetos con una gota de medio de montaje (lactofenol-azul de algodón) con la ayuda de una aguja de disección previamente esterilizada en un mechero de alcohol, se colocó un cubre objetos y se llevó a observar al microscopio compuesto, determinando que el patógeno de la muestra pertenecía a *Fusarium Oxysporum*.

Una vez que se obtuvo la identificación del patógeno se procedió al enriquecimiento y propagación del patógeno en cajas Petri con PDA siguiendo los protocolos antes mencionados siempre evitando la contaminación causada por agentes externos.

### 3.14 Inoculación por la Técnica del Palillo de Madera Infestado por Micelio

Se transfirió una muestra del patógeno previamente identificado a 10 cajas de Petri con medio de cultivo PDA el cual se incubó a 28°C hasta que el hongo presentó 3 cm de crecimiento radial, se colocaron palillos de madera (mondadientes) previamente esterilizados y humedecidos con caldo nutritivo PDA de manera que una punta del palillo quedara en contacto con el crecimiento (central) del hongo, colocándolos en disposición radial (10 palillos por caja), se incubaron hasta que el crecimiento del hongo cubrió la cobertura de la caja, propiciado que el palillo quedara masivamente infestado con micelio y esporas de *Fusarium*.



Figura 4 Palillos de madera infestados por *Fusarium* O.

### **3.15 Inoculación con Suspensión Concentrada de Esporas (SCE)**

La suspensión concentrada de esporas se obtuvo a partir de una caja de Petri con medio de cultivo saturada con crecimiento de *Fusarium Oxisporum*, con la ayuda de un sacabocado de 1cm de diámetro esterilizado se realizaron cortes para la obtención de explantes que posteriormente se transfirieron a tubos de ensaye con 10 ml de agua destilada (10 explantes por tubo), con la ayuda del Vortex, se agito hasta desprender completamente el micelio contenido en los explantes, de esta manera se liberan las esporas presentes. Con ayuda de una micropipeta se tomó la cantidad de un microlitro de la solución con las esporas suspendidas y se llenó una cámara NEUBAUER, se observó en el microscopio compuesto y se realizó el conteo de esporas correspondiente. Con esto se determinó que la concentración de esporas fue de  $9 \times 10^6$  (9,000,000 esporas/ml), se colocaron 2 ml de dicha solución por planta.

### **3.16 Metodología de Inoculación con Palillo de madera**

La inoculación se realizó el día 12/06/2018 cuando las plantas tenían 12 días después de trasplante, se realizaron dos métodos de inoculación con palillos de madera insertándolos directamente al tallo con 60° de inclinación respecto al tallo, en un tratamiento se insertó el palillo de madera arriba de los cotiledones atravesando a epidermis y llegando a lesionar los haces vasculares, el otro tratamiento se efectuó insertando el palillo en la inserción entre el tallo y la raíz con una inclinación de 60° hasta llegar a los haces vasculares.



Figura 5 Inoculación con palillo de madera



Figura 6 Palillo de madera fijo en la planta

### 3.17 Metodología de Inoculación con Suspensión Concentrada de Esporas con Jeringa

Para la inoculación con suspensión concentrada de esporas se colocaron 2 ml de solución en una jeringa para insulina inyectándose directamente en el tallo de la planta entre la epidermis y los haces vasculares entre los cotiledones y la primera hoja verdadera.



Figura 7 Inoculación con Suspensión Concentrada de Esporas con Jeringa

### 3.18 Variables Evaluadas

Las variables que se evaluaron durante el desarrollo del experimento fueron las siguientes:

#### 3.18.1 Variables Agronómicas

Dentro de las variables agronómicas evaluadas se encuentran:

- Numero de hojas funcionales
- Altura del tallo
- Diámetro del tallo

#### 3.18.2 Variable Fitopatológica

- Severidad

##### 3.18.2.1 Severidad

Se evaluó visualmente de acuerdo a una escala de severidad arbitraria que consto de 0-5, donde se consideró:

- 0 plantas sin síntomas visuales en la parte aérea, radicar y en el tallo
- 1 plantas con daños mínimos al tallo o raíz
- 2 plantas con daños mínimos presentes tanto en tallo y raíz
- 3 plantas con daños moderadamente severos en tallo o raíz
- 4 plantas con daños moderadamente severos al tallo y raíz
- 5 Plantas muertas

Posteriormente se procedió a transformar los datos de la escala a porcentajes (%) por medio de la siguiente fórmula propuesta por Carrón en 2016:

$$s = \left( \frac{\Sigma(a \times b)}{(n \times k)} \right) \times 100$$

Donde:

S= severidad

$\Sigma(a \times b)$  = sumatoria del grado de afección total

n= número de plantas evaluadas

k= grado mayor de la escala



Figura 8 Escala de severidad utilizada del 0 a 5 para evaluar los materiales

- 0 Plantas sin síntomas visuales en la parte aérea, radicar y en el tallo
- 1 Plantas con daños mínimos al tallo o raíz
- 2 Plantas con daños mínimos presentes tanto en tallo y raíz
- 3 Plantas con daños moderadamente severos en tallo o raíz
- 4 Plantas con daños moderadamente severos al tallo y raíz
- 5 Plantas muertas

### 3.19 Evaluación de las Variables Agronómicas

#### 3.19.1 Altura

Se realizaron muestreos periódicos cada 15 días tomando como el inicio de la toma de datos el día de la inoculación tomando las variables de número de hojas contándose todas aquellas hojas funcionales, en cuanto a altura con la ayuda de un flexómetro tomándose en cm desde la base del tallo hasta el punto de crecimiento.



Figura 9 Medición de altura con flexómetro

### 3.19.2 Diámetro

La toma de datos para el diámetro del tallo se realizó con un vernier electrónico, tomándose a un centímetro de altura estando de manera horizontal de manera perpendicular al tallo anotándose la lectura en mm.



Figura 10 Medición del diámetro del tallo

### 3.19.3 Severidad

Para la evaluación de severidad se realizó en dos etapas considerándose como etapa uno (E1) en floración y cuajado de fruto a los 41 días después de la inoculación (5.8 semanas) el día 23 de Julio del 2018. La etapa dos (E2) se efectuó

cuando encontramos rallado de fruto, evaluándose el día 08 de agosto del 2018 a los 56 días después de la inoculación (6 semanas), tomándose datos de severidad, altura, numero de hojas, diámetro del tallo y racimos florales.

Para tomar los datos de severidad se sacó la planta con todo y raíz, posteriormente se eliminó el exceso de tierra sacudiendo la planta para finalmente lavarse con agua corriente para eliminar la mayoría de impurezas para poder observar síntomas de daño en el sistema radicular. Se realizó un corte longitudinal en tallo y raíz con un cúter para exponer los haces vasculares y poder observar los daños causados por *Fusarium* en el Xilema, finalmente se realizó otro corte transversal en donde se presentaban los daños para tener una mejor visión.



Figura 11 Proceso para la evaluación en tallo y raíz de acuerdo a la escala establecida

## IV. RESULTADOS

### 4.1 Factor A

El análisis de comparación de medias por el método de Tukey al  $p=0.05$  de significancia para la variable altura de la planta con el método de inoculación de palillo de madera arriba de los cotiledones arrojó diferencia significativa entre los vectores del método de inoculación de **Palillo de madera arriba de los cotiledones – Suspensión Concentrada de Esporas con Jeringa** del 96.25% y el método de inoculación de **Palillo de madera arriba de los cotiledones – Palillo de madera en la intersección del tallo y raíz** del 96.15% con un C.V. de 12.80 (Figura 12), la variable de número de hojas por planta no mostrando diferencia significativa para este parámetro ( $p>0.05$ ) con probabilidades del 2.72% al 56.26% contando con un C.V. de 25.15, en la variable de diámetro de tallo tampoco mostró diferencia significativa teniendo probabilidades del 33.23% a 91.61%. con un C.V. de 10.05.

Inoculación con la técnica de Solución Concentrada de Esporas con Jeringa el análisis de comparación de medias con el método de Tukey para las variables de altura de planta con un C.V. de 12.80, número de hojas con un C.V. de 25.15 y diámetro del tallo con C.V. de 10.05 no mostraron diferencia significativa ( $p>0.05$ ) siendo iguales estadísticamente los datos. (Figura 13)

El análisis de comparación de medias con el método de Tukey para las variables altura de la planta, número de hojas y diámetro de tallo no mostraron diferencia significativa ( $p\geq 0.05$ ) obteniendo valores probabilísticos del 0.005% para altura con un C.V. de 12.80, del 42.62% en el número de hojas y 59.97% con un C.V. de 25.15 en diámetro de tallo siendo iguales entre sí y un C.V. de 10.05. (Figura 14)

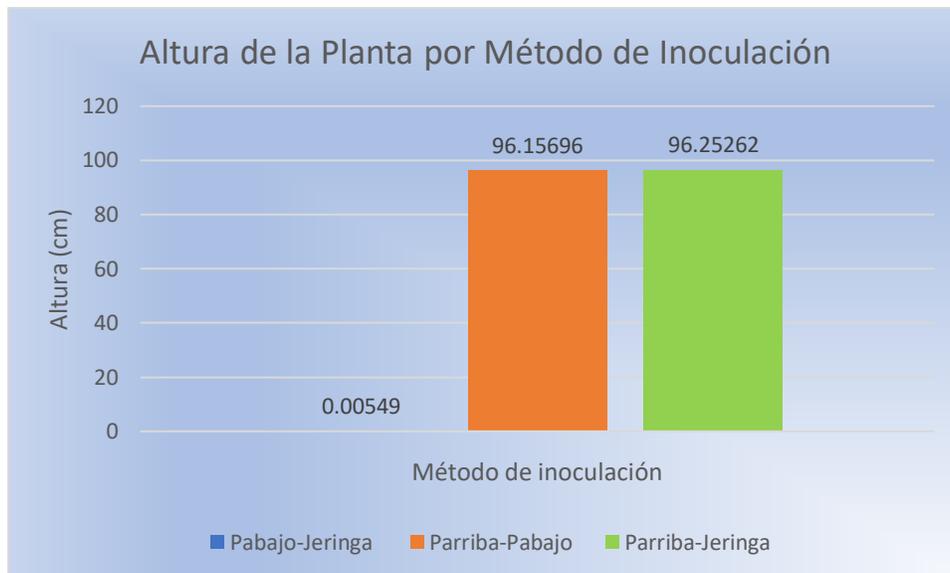


Figura 12 Grafica correspondiente a la altura y los métodos de inoculación con la comparación de medias de Tukey al  $p=0.05$  demostrando mayor significancia para el método de palillo de madera arriba de los cotiledones con respecto a los demás métodos para dicha variable.

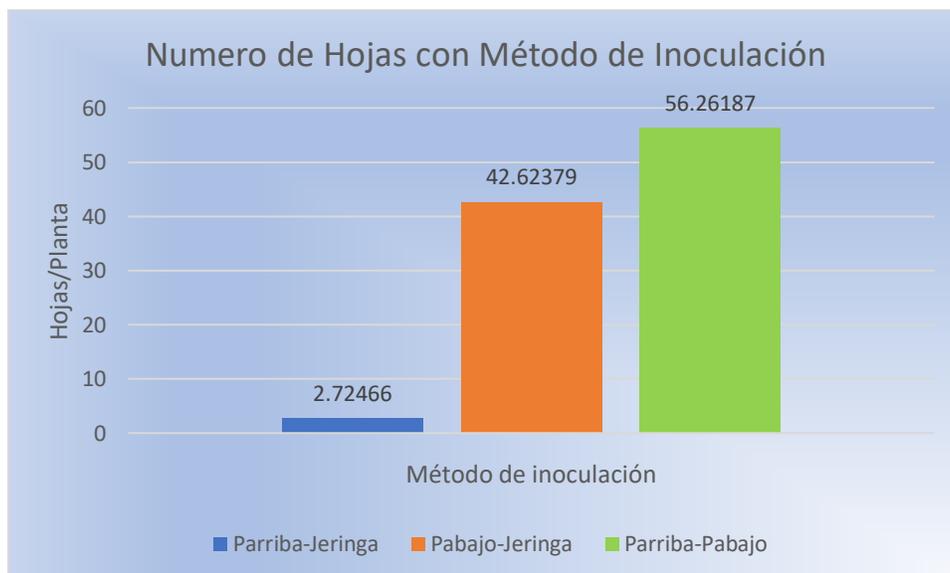


Figura 13 Grafica correspondiente al número de hojas y el método de inoculación con la comparación de medias de Tukey al  $p=0.05$  donde no existe diferencia significativa para la relación entre método de inoculación y el número de hojas.

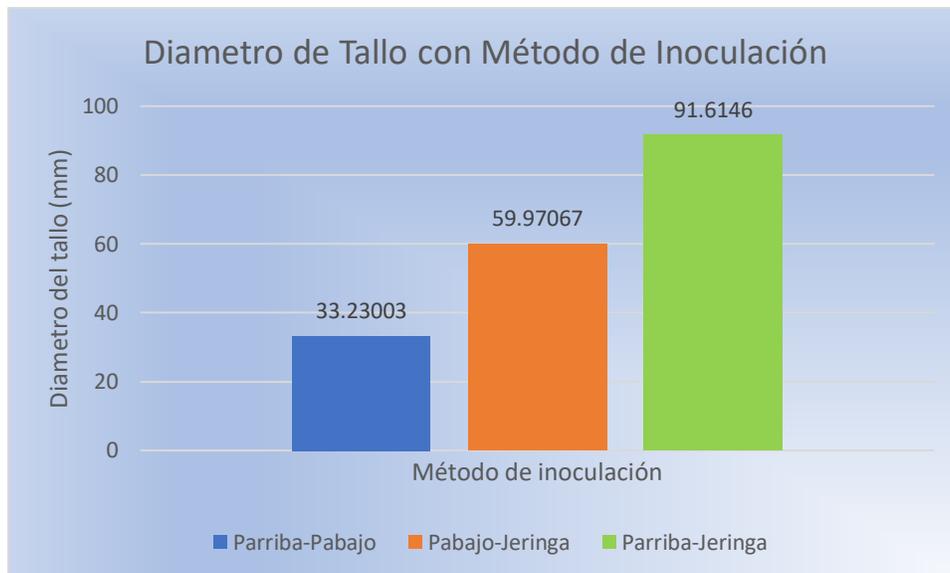


Figura 14 Grafica correspondiente a los vectores del diámetro de tallo y el método de inoculación con la comparación de medias de Tukey  $p=0.05$  donde se aprecia que no existe diferencia significativa entre métodos de inoculación y diámetro de tallo.

## 4.2 Factor B

La prueba de comparación de medias con el método de Tukey con una probabilidad de  $p=0.05$  en la variable altura con un C.V. de 12.80 mostro diferencia significativa entre los vectores de los materiales genéticos correspondientes a **SofiMely® - VILLA NARRO®** y **L-04-SI-SV-7-3-1-SI - VILLA NARRO®** ambos vectores con un 100%(Figura 15) , en la variable de número de hojas con un C.V. de 25.15 se encontró diferencia significativa en el vector **L-04-SI-SV-7-3-1-SI - VILLA NARRO®** con una probabilidad del 96.96%(Figura 16) teniendo un mejor desarrollo de biomasa durante el experimento, en cuanto la variable de diámetro de tallo y un C.V. de 10.05 se encontró diferencia significativa para los vectores de **L-04-SI-SV-7-3-1-SI - VILLA NARRO®** de un 99.99% y **SofiMely® - VILLA NARRO®** 99.98%(Figura 17) dando como resultado que para las variables evaluadas dichos materiales demostraron mayor resistencia genética ante el estrés producido por el patógeno desarrollándose como lo hacen bajo condiciones de cultivo normales.

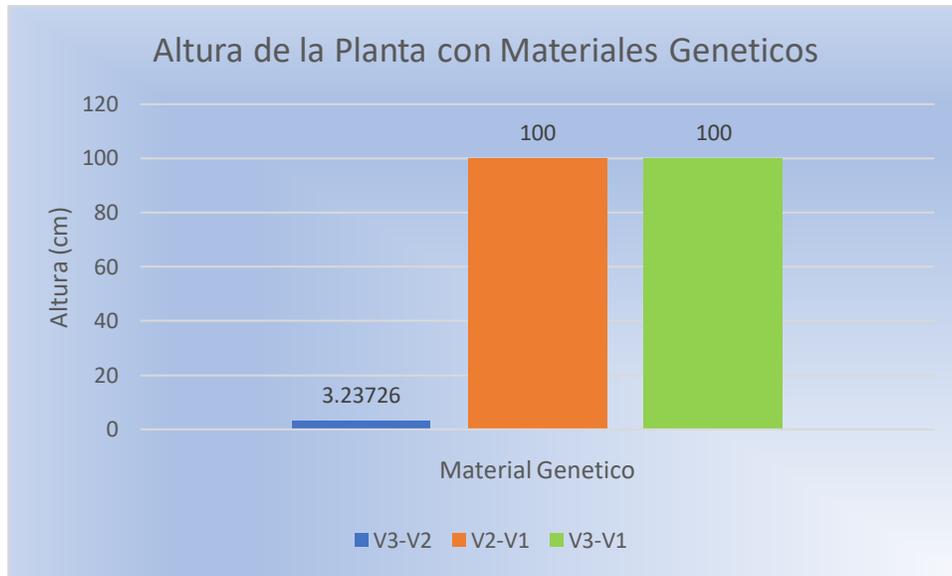


Figura 15 Grafica correspondiente a la altura de planta con los materiales genéticos con la comparación de medias de Tukey al  $p=0.05$  donde se aprecia una significancia del 100% ente los materiales genéticos SofiMely® y L-04-SI-SV-7-3-1-SI .

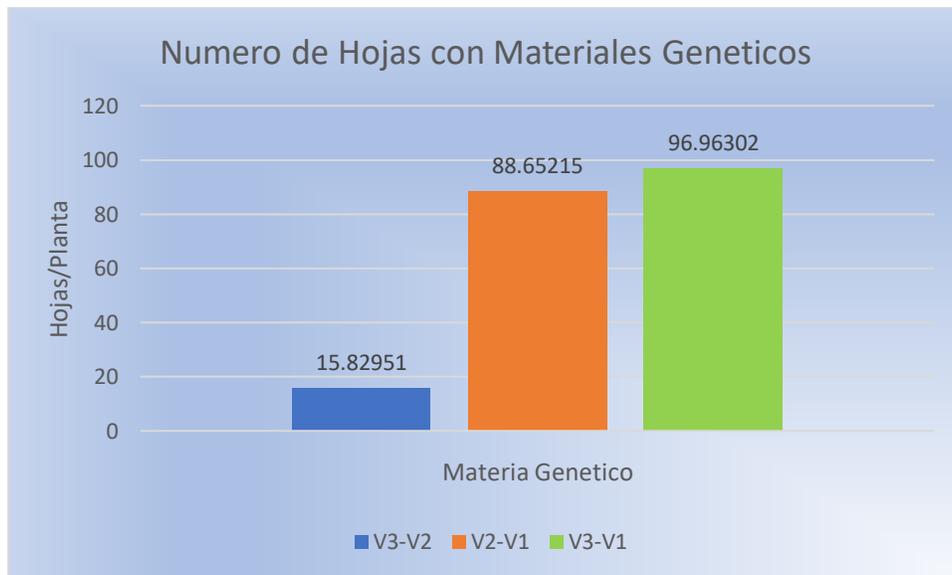


Figura 16 Grafica correspondiente al número de hojas y el material genético con la comparación de medias de Tukey  $p=0.05$  donde se aprecia que el vector del material L-04-SI-SV-7-3-1-SI teniendo una probabilidad del 96.96%

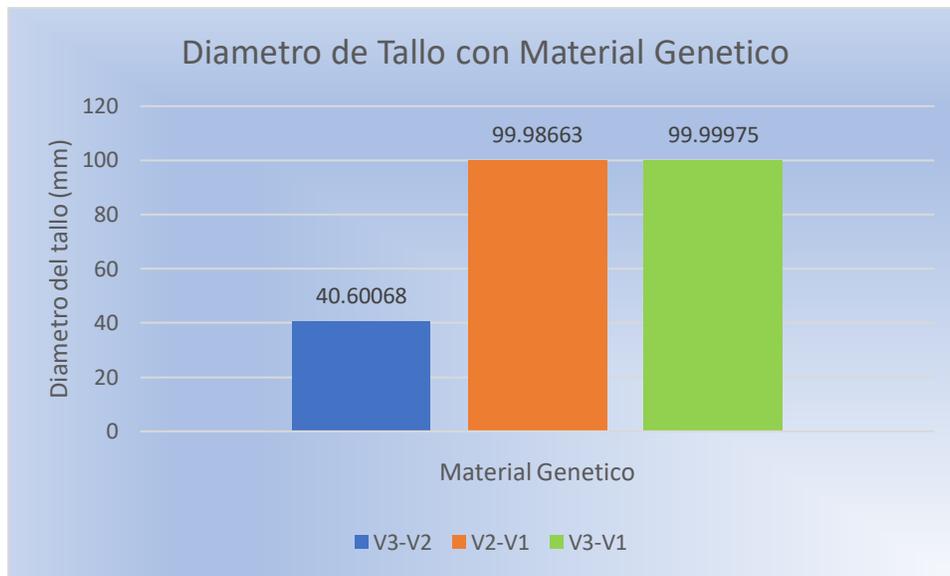


Figura 17 Grafica correspondiente al diámetro de tallo y el material genético con la comparación de medias de Tukey  $p=0.05$  donde se aprecia que los materiales L-04-SI-SV-7-3-1-SI y SofiMely® teniendo cercana a un 100% de probabilidades.

#### 4.3 Interacción de los Factores AXB

En las interacciones de los factores  $A \times B$  con e ANVA encontramos una relación en la que para la variable altura de planta con un C.V. de 12.80 con el método de inoculación de palillo de madera arriba de los cotiledones, encontrando un grupo de vectores que cuentan con significancia estadística predominando los vectores con dicho método de inoculación con los materiales genéticos **SofiMely®** y **L-04-SI-SV-7-3-1-SI** con probabilidades del 99.73% al 100%. En la interacción con el método de inoculación de Suspensión Concentrada de Esporas con Jeringa también se encontró un grupo de vectores con dicho método de inoculación y los materiales genéticos **SofiMely®** y **L-04-SI-SV-7-3-1-SI** con una probabilidad que va del 99.99% a 100%. Con el método de inoculación de Palillo de madera en la intersección del tallo y raíz del mismo modo que los métodos anteriores se obtuvo un grupo de vectores con los materiales genéticos **SofiMely®** y **L-04-SI-SV-7-3-1-SI** con una probabilidad del 99.96% al 100% demostrando que son las variedades

que mejor respuesta de resistencia ofrecen ante los ataques del patógeno en la variable altura. (Figura 18)

En la interacción de los métodos de inoculación y los materiales genéticos evaluados para la variable de número de hojas con un C.V. de 25.15 no se obtuvieron respuestas con significancia estadística ( $p > 0.05$ ) que van del 0% al 62.56% para ninguna interacción en cuanto a la variable de número de hojas dándonos a entender que no fue un parámetro muy importante a evaluar cuando se trabaja con *Fusarium O. R<sub>3</sub>*. Debido a que la pérdida de hojas puede deberse a una deficiencia de nutrientes, plaga u otro factor biótico o abiótico. (Figura 18)

Para la interacción de los factores con la variable del diámetro del tallo contando con un C.V. de 10.05 se encontraron tres vectores que presentan significancia estadística para el método de inoculación de **Palillo de madera arriba de los cotiledones: L-04-SI-SV-7-3-1-SI - Palillo de madera arriba de los cotiledones: VILLA NARRO®** de 99.99%, **Palillo de madera arriba de los cotiledones: SofiMely® - Palillo de madera arriba de los cotiledones: VILLA NARRO®** de 99.99% y **Palillo de madera arriba de los cotiledones: VILLA NARRO® - Palillo de madera en la intersección del tallo y raíz: VILLA NARRO®** de 99.82%. Con el método de inoculación de Solución Concentrada de Esporas con Jeringa se obtuvieron los siguientes vectores con diferencia significativa entre el método de inoculación de **Solución Concentrada de Esporas: L-04-SI-SV-7-3-1-SI - Palillo de madera arriba de los cotiledones: VILLA NARRO®** 99.99%, **Solución Concentrada de Esporas con Jeringa: SofiMely® - Palillo de madera arriba de los cotiledones: VILLA NARRO®** 99.99%. Con el método de inoculación de Palillo de madera en la intersección del tallo y raíz se obtuvieron dos vectores con diferencia significativa entre los vectores **Palillo de madera en la intersección del tallo y raíz: L-04-SI-SV-7-3-1-SI - Palillo de madera arriba de los cotiledones: VILLA NARRO®** 99.79%, **Palillo de madera en la intersección del tallo y raíz: SofiMely® - Palillo de madera arriba de los cotiledones: VILLA NARRO®** 99.75%. (Figura 19)

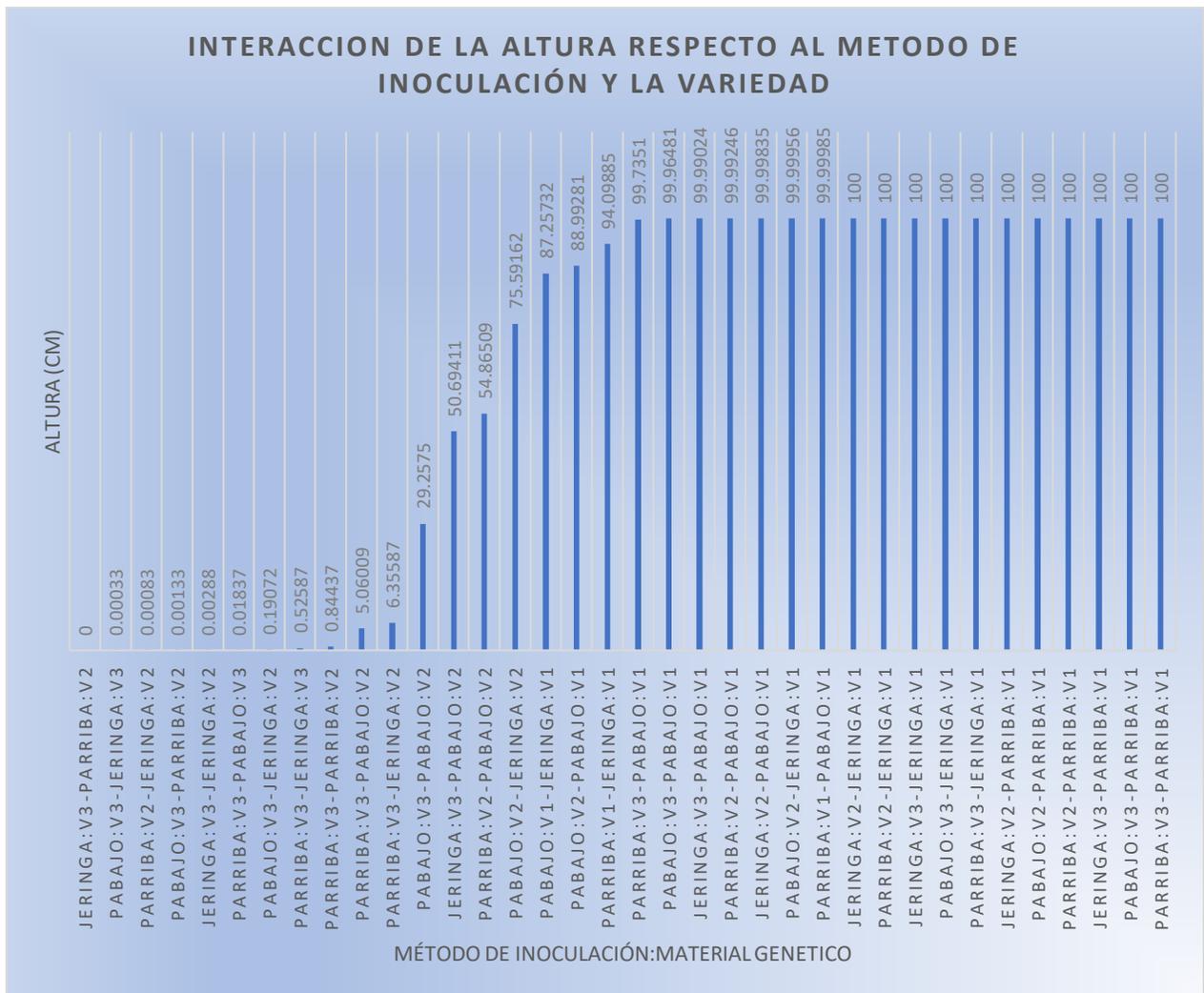


Figura 18 Grafica correspondiente a la interacción entre la variable altura de planta, método de inoculación y el material genético con la comparación de medias de Tukey  $p=0.05$  teniendo mayor significancia los valores  $>$  al 95%

## INTERACCION DEL NUMERO DE HOJAS RESPECTO AL METODO DE INOCULACIÓN Y LOS MATERIALES GENETICOS

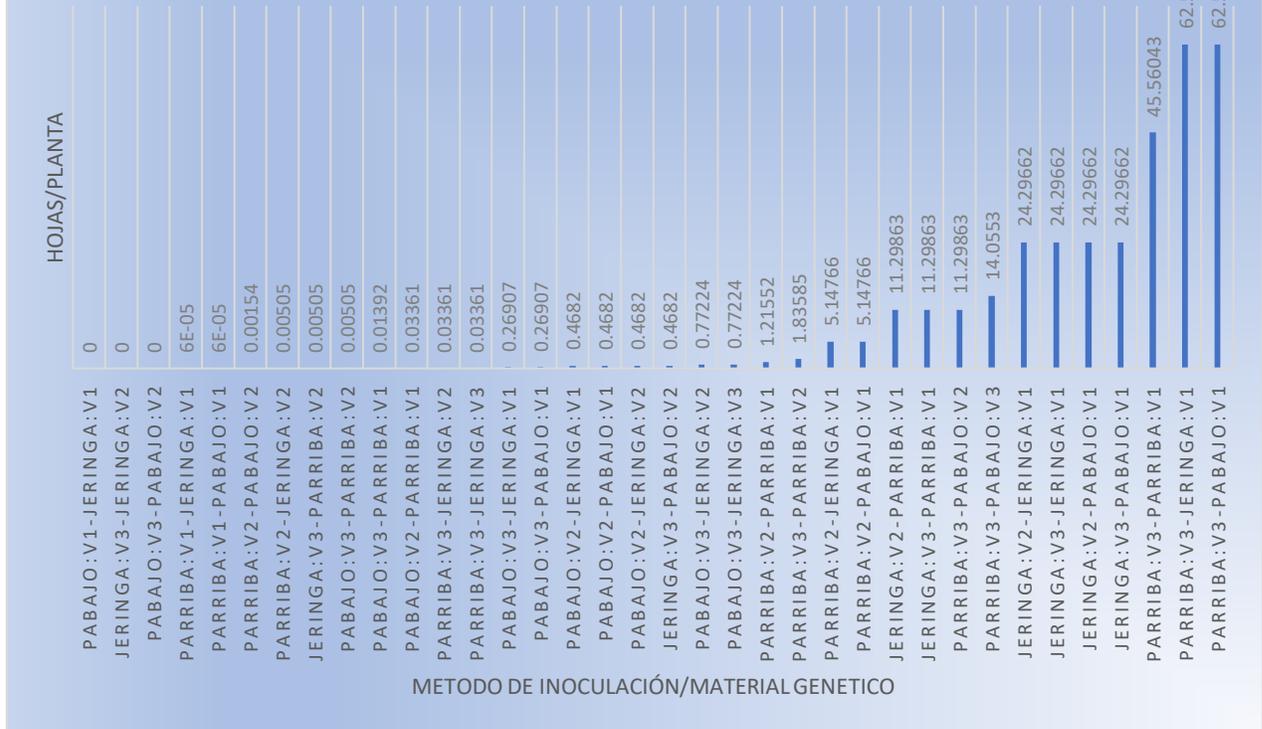


Figura 19 Grafica correspondiente a la interacción entre la variable número de hojas, método de inoculación y el material genético con la comparación de medias de Tukey  $p=0.05$  donde no se mostró diferencia significativa al tener valores inferiores al 95 %

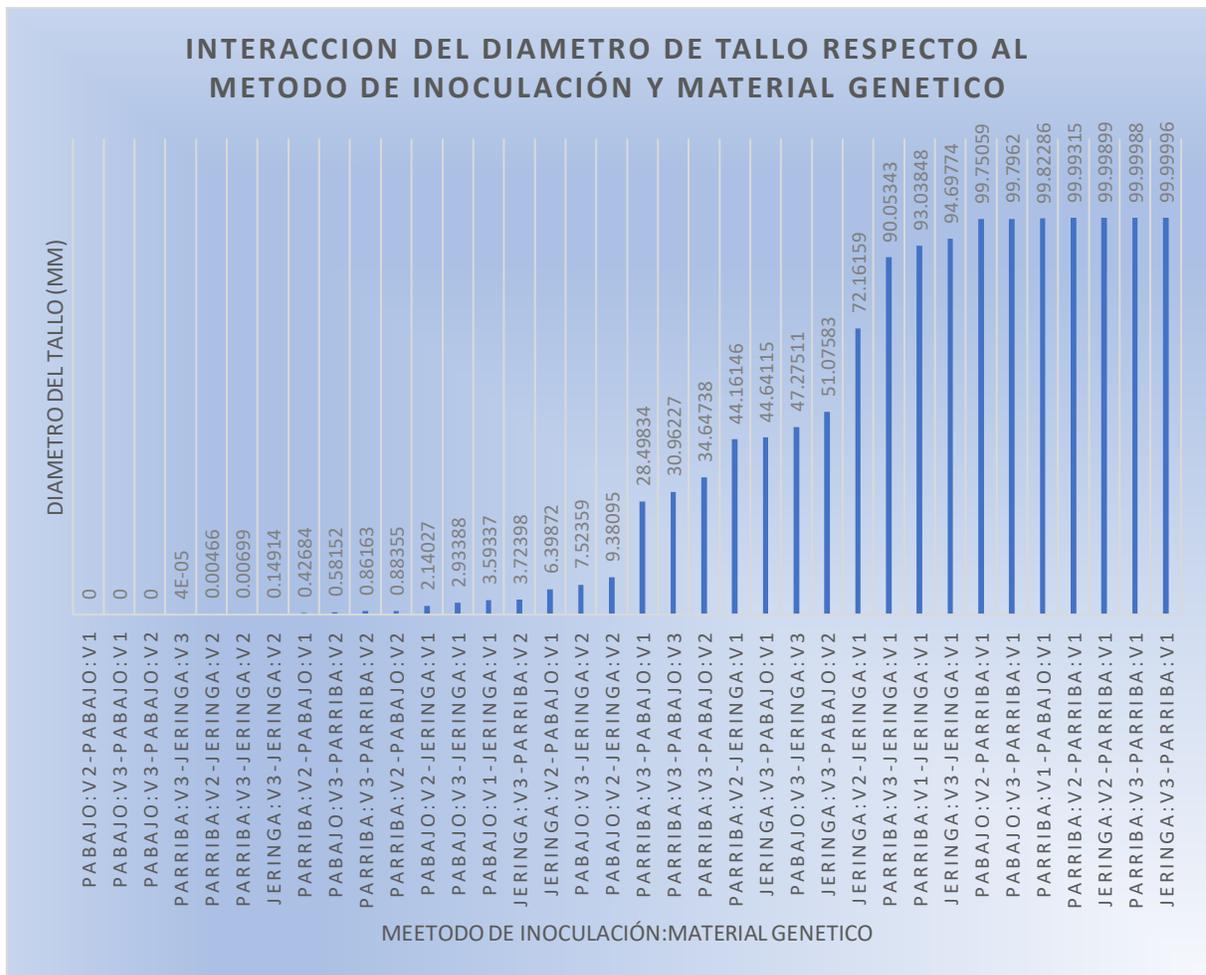


Ilustración 20 Grafica correspondiente a la interacción entre la variable diámetro de tallo, método de inoculación y el material genético con la comparación de medias de Tukey  $p=0.05$  teniendo mayor significancia los valores  $>$  al 95%

#### 4.4 Severidad

La prueba de comparación de medias con el método de Tukey con una significancia de  $p=0.05$  y un C.V. 19.69 para severidad con los métodos de inoculación no se encontró diferencia significativa ( $p \geq 0.05$ ) para ninguno de los métodos de inoculación utilizados teniendo valores del 4.17% al 31.36%(Figura 23), en cuanto a los materiales genéticos se obtuvo diferencia significativa entre los vectores de **L-04-SI-SV-7-3-1-SI - VILLA NARRO®** 98.25% y **L-04-SI-SV-7-3-1-SI - SofiMely®** 99.71% (Figura21) dándonos como dato que el material genético **L-04-SI-SV-7-3-1-SI** es el más resistente y se desarrolla con mayor amplitud que los demás materiales. En la interacción que involucra método de inoculación y material genético se obtuvieron tres vectores con diferencia significativa siendo los vectores de Palillo de madera arriba de los cotiledones: **L-04-SI-SV-7-3-1-SI - Solución Concentrada de Esporas con Jeringa: SofiMely®** 97.53%, **Palillo de madera arriba de los cotiledones: L-04-SI-SV-7-3-1-SI - Palillo de madera arriba de los cotiledones: VILLA NARRO®** 99.66% y el vector **Palillo de madera arriba de los cotiledones: L-04-SI-SV-7-3-1-SI - Palillo de madera arriba de los cotiledones: SofiMely®** 99.66%(Figura 24)tomando como referencia que el mejor método de inoculación es el de vector palillo de madera arriba de los cotiledones para inocular *Fusarium O.* y el mejor material genético fue el **L-04-SI-SV-7-3-1-SI**.

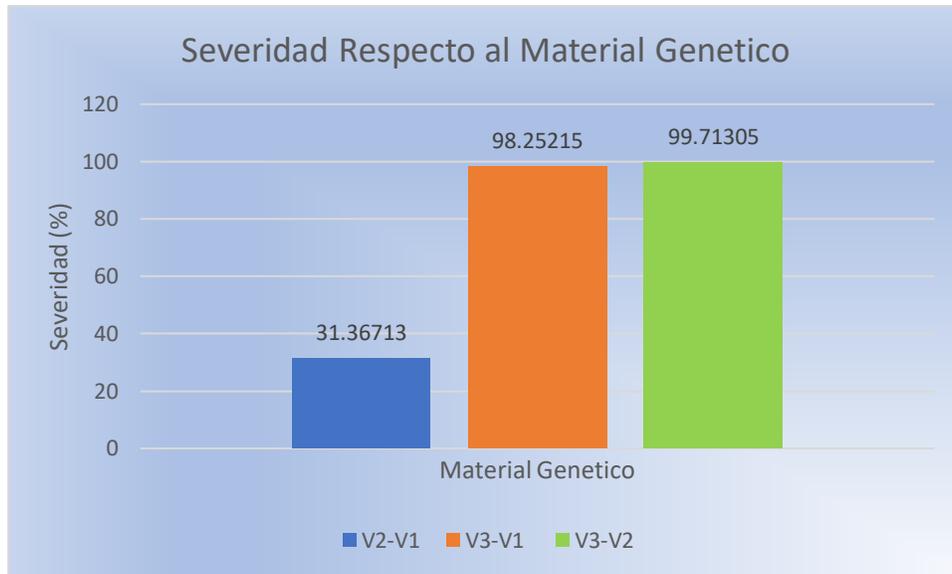


Figura 21 Grafica correspondiente a la variable de severidad con el material genético con la comparación de medias de Tukey  $p=0.05$  teniendo mayor probabilidad estadística el material L-04-SI-SV-7-3-1-SI de probabilidad.

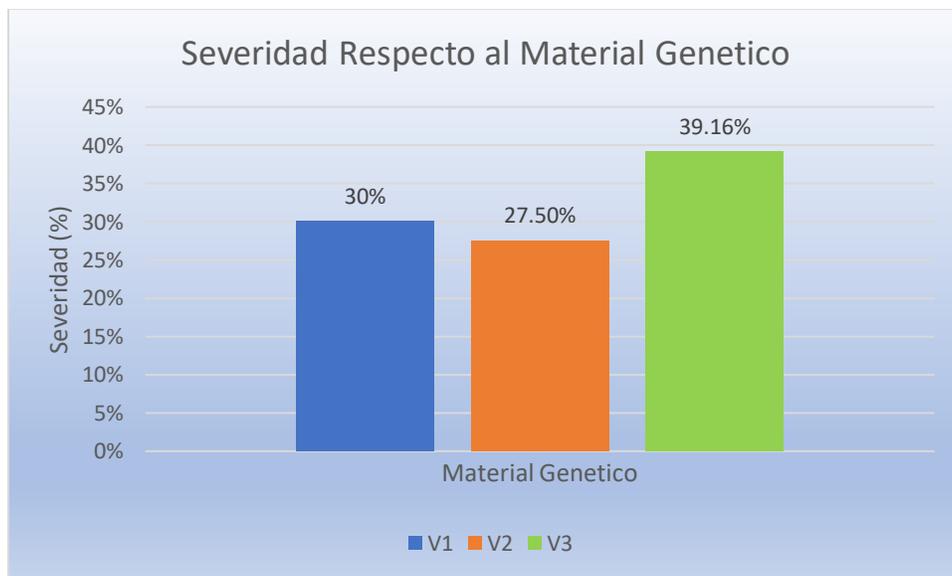


Figura 22 Grafica correspondiente a la variable de severidad con el material genético de acuerdo al promedio de severidad expresado en porcentajes por material genético, presentando mayor severidad para el material L-04-SI-SV-7-3-1-SI con un 39.16%

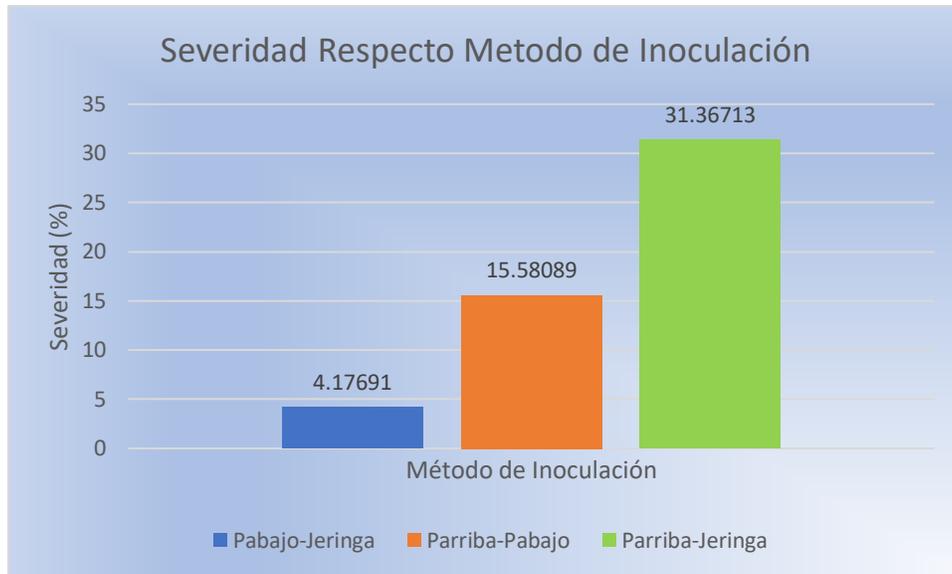


Figura 23 Grafica correspondiente a la variable de severidad con método de inoculación con comparación de medias de Tukey  $p=0.05$  donde no se mostró significancia estadística siendo iguales los daños de severidad causados por todos los métodos de inoculación

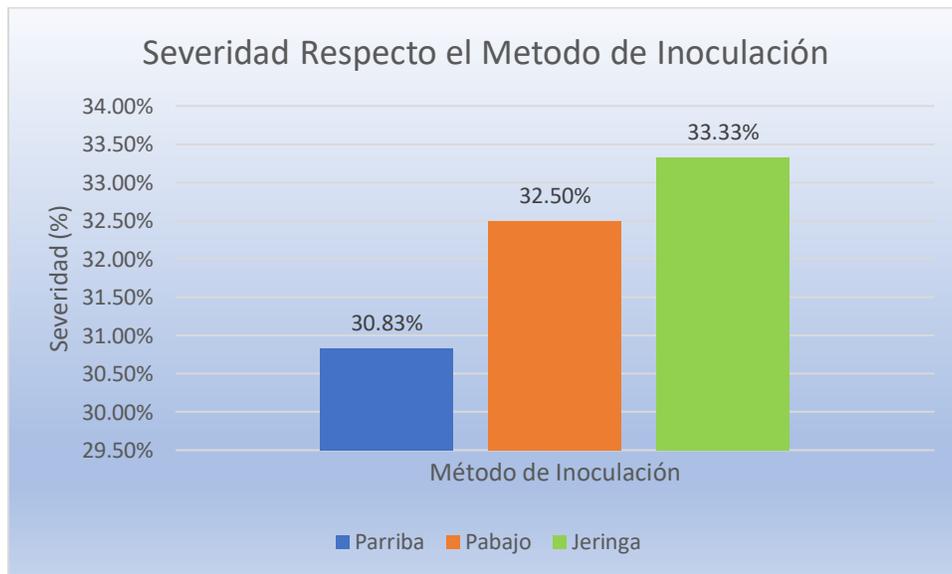


Figura 24 Grafica correspondiente a la variable de severidad con el método de inoculación de acuerdo al promedio de severidad expresado en porcentajes presentando un mayor daño por parte del método de inoculación de Suspensión Concentrada de Esporas con Jeringa con un 33.33%

## INTERACCION DE SEVERIDAD RESPECTO METODO DE INOCULACIÓN Y MATERIAL GENETICO

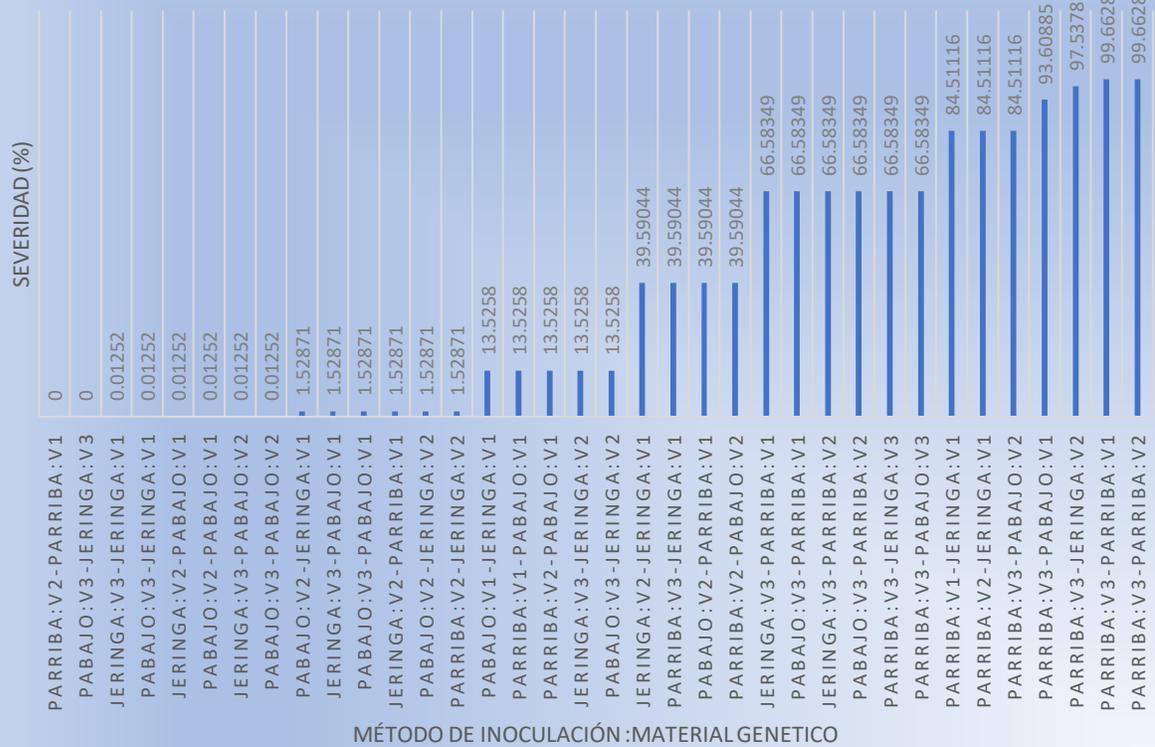


Figura 25 Grafica correspondiente a la interacción entre la variable de severidad, método de inoculación y el material genético con la comparación de medias de Tukey  $p=0.05$  teniendo mayor significancia los valores  $>$  al 95%

## V. DISCUSION

Después de desarrollar el experimento y con la respuesta de las diferentes técnicas de inoculación se determinó que todas las variedades presentan Resistencia Genética ante *Fusarium Oxisporum* R<sub>3</sub>, en todas las Variedades se encontró que presentaban daños mínimos con tejido necrosado lo cual nos indica que una de los posibles efectos durante su formación transfiriendo genes de resistencia adquiridos durante el proceso de formación por parte de ancestros Silvestres es que tengan diferentes métodos de defensa adquirida como pueden ser la respuesta de hipersensibilidad causando suicidio selectivo de las células más próximas al punto del daño evitando su proliferación, junto con el engrosamiento de las paredes celulares. Dicha resistencia se encuentra en diferente grado manifestando que el Híbrido **L-04-SI-SV-7-3-1-SI** es el que cuenta con mayor Resistencia Genética estadísticamente al presentar pequeños daños rodeados por tejido muerto o necrosado teniendo un mejor desarrollo vegetativo, sin embargo, fue el material que presentó mayor severidad general sin importar el método de inoculación (Figura 22), seguido por la variedad **SofiMely®** teniendo Resistencia aunque en un menor grado que el Híbrido, sin embargo, de manera particular (Figura 22) sin importar los métodos de inoculación fue quien tuvo un menor daño, aun así su desarrollo vegetativo fue bastante similar al expresado en condiciones normales, en cuanto a la variedad **VILLA NARRO®** se puede decir que presenta resistencia moderada observándose en la (Figura 22), al ser el que presentó daños más severos aun así fueron daños que no causaron estragos significativos que causaran la muerte de individuos, aunque si se vio disminuido un poco el proceso de desarrollo vegetativo normal que debería de ser observado. En cuanto a los métodos de inoculación el mejor resultado se obtuvo en **Palillo de madera arriba de los cotiledones** pudiendo deberse a que las esporas y micelio se encontraban localizados en un punto específico lo cual actuaría como si fuera el posible nicho de la enfermedad, además de estar fija en la zona de los haces vasculares, sin embargo de manera específica se encontró que fue el método que menor severidad reportó, sin importar los materiales genéticos evaluados (Figura 24), el método de **Suspensión**

**Concentrada de Esporas con Jeringa  $9 \times 10^6$**  fue el segundo mejor método de inoculación debiéndose quizá a la alta concentración de esporas que contenía, al estar expuesto en estado líquido y que puede ser diseminado con facilidad por los haces vasculares y la epidermis dando un mayor flujo y desimanación en los procesos que puede encontrarse en posibles grupos o colonias más dispersas y con una posible menor cantidad de esporas causando que baje el efecto esperado, por otra parte fue el método que presento una mayor severidad sin importar el material genético utilizado (Figura 24), el método que mostro menor respuesta estadísticamente fue el de **Palillo en la intersección del tallo y raíz** cosa que por su posicionamiento debería de dar resultados más rápidos y severos ya que esta entre las zonas de incidencia y daño directo, más sin embargo, no fue así pudiendo deberse a que a ser una lesión más violenta para la planta asumiendo que responde de una manera más rápida o se topa el punto de choque entre el patógeno con células con paredes más firmes al ser una zona de des-diferenciación celular, del mismo modo fue el método de inoculación que menor respuesta de severidad presento sin importar el material genético utilizado.(Figura 24)

## VI. CONCLUSIONES

- ❖ En general nos encontramos con materiales genéticos muy promisorios como es el caso del Híbrido **L-04-SI-SV-7-3-1-SI** y **SofiMely®** que pudieran ser de utilidad en los programas de mejoramiento Genético y para los productores en cielo abierto e Invernadero.
- ❖ Es importante considerar que la inoculación del patógeno para que manifieste una mejor respuesta deberá realizarse cuando la plántula se encuentre en su proceso de adaptación y haya superado la etapa de susceptibilidad en semillero por *Damping off*.
- ❖ Ofrecen una posible alternativa ante *Fusarium Oxisporum R<sub>3</sub>*, para cultivos *in-situ* e Invernadero reduciendo los costos al no tener que utilizar plántulas Injertadas con Patrones de alto costo y/o Variedades.
- ❖ Así como la disminución en el uso controles preventivos con producto químicos y biológicos, independientemente de la modalidad que maneje el productor.
- ❖ Para el desarrollo y generación de nuevos materiales genéticos se vuelve parte importante el realizar pruebas de patogenicidad.
- ❖ Demostrar que los Genes de Resistencia que sean portadores y provenientes de materiales Avanzados y/o Silvestres que sean de herencia simple transmisible a nuevas generaciones, por lo tanto, los métodos de Inoculación toman gran relevancia al separar Materiales Susceptibles y Resistentes.

- ❖ Deberán ser realizadas pruebas y estudios con productores Innovadores utilizando los materiales Genéticos **SofiMely®** y el **Hibrido L-04-SI-SV-7-3-1-SI** como posibles Patrones en Variedades de especialidad de alto costo, dado a su sistema radicular y versatilidad es prometedor.

## VII. BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Villa M., Pérez L. Alejandra R., Morales M. Hugo A. Basurto S. Moisés, Soto P. Juan M. y Martínez E. Esther. 2014. Situación actual en el control de *Fusarium* spp. y evaluación de la actividad anti fúngica de extractos vegetales.

Álvarez Ada A, López B Alfonso., Borrego E Fernando. Rodríguez H. Sergio A. Junio 2007. Marchitez Vascular del Tomate: I. Presencia de Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen en Culiacán, Sinaloa, México  
FIRA. 2017. Panorama Agroalimentario, Tomate Rojo

Hernández M. Rosendo, López B. Alfonso, Borrego E. Fernando, Espinoza V. José, Sánchez A., David I. Maldonado M. Eduardo, López O. Luis A. 2014. Razas de *Fusarium Oxysporum* f. sp. *Lycopersici* en predios tomateros en San Luis Potosí.

Lavilla, Miguel, Ivancovich, Antonio Agosto. 2016. Propuestas de escalas para la evaluación, a campo y en laboratorio, del “tizón foliar” y la “mancha púrpura de la semilla”, causadas por *Cercopora kikuchii*, en soja.

López B. Alfonso, Ascencio Á., Rodríguez H Ada S., Borrego E., Fernando, Flores O. Alberto. Variabilidad genética para virulencia en *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol), fuentes de resistencia y forma de herencia en especies de *Lycopersicon*

Manual de Microbiología General. Medidas Cuantitativas de la Población Bacteriana.

Millas O. Paz. France I Andrés. 2017. Fitopatología – Enfermedades en hortalizas: Marchitez vascular en tomate

Productores de Hortalizas, Edición Abril, 2016, página 40

R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

R. French Eduardo, Teddy T. Hebert.1980. Métodos de investigación fitopatológica  
García E.Roberto, 2001. Comparación de Técnicas para Evaluar in vitro la Patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* y Efecto de la Temperatura

Robles C. Angel, Gómez C. Richard., Macas R. Fabián., Sánchez R Aminael., Torres G Roldán. Estudio de la patogenicidad de aislados de *Fusarium* spp., asociados a la marchitez vascular del babaco en Loja- Ecuador

SAGARPA. 2017. Planeación Agrícola Nacional, jitomate mexicano, 2017-2030

Sánchez, L, A. 2017 Registro de la variedad SofiMely Extrafirmes de larga vida de anaquel de tomate *Solanum lycopersicum* L. tipo Beef. Págs. 1-59

Sánchez, L, A. 2017. Registro de la Variedad Villa Narro Extrafirmes de larga vida de anaquel de tomate *Solanum lycopersicum* L. tipo Beef. Págs. 1-60

Temas de Ciencia y Tecnología. 2009. Genética de la resistencia a las enfermedades en plantas hortícolas

Una revisión Agronomía Colombiana. 2008. Génesis y evolución de los postulados de Koch y su relación con la fitopatología.

Vivanco Jorge M., Eric C., Víctor M., Loyola V., Héctor E. Flores. 2005. Mecanismos químicos de defensa en las plantas

Vivienne Gepp. 2011. Resistencia genética. Fuentes de diversidad de los patógenos. Control genético.

## VIII. APÉNDICE

Cuadro 1. Análisis de Varianza ANVA para la Variable de Altura de Planta

Tomando en consideración los factores FB, FC, FB:FC, los cuales se expresan como FA, FB, FA: FB respectivamente para resultados y discusión

```

Response: Altura de la Planta
      Df Sum Sq Mean Sq  F value    Pr(>F)
FA      3  38347 12782.2  508.8560 < 2.2e-16 ***
FB      2    207   103.6    4.1260  0.01876 *
FC      2  5475  2737.5  108.9800 < 2.2e-16 ***
FA:FB    6    226    37.7    1.4998  0.18506
FA:FC    6  3605   600.9   23.9215 < 2.2e-16 ***
FB:FC    4    872   217.9    8.6755 4.129e-06 ***
FA:FB:FC 12    635    52.9    2.1073  0.02204 *
Residuals 108  2713    25.1
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
cv
[1] 12.80421
    
```

Cuadro 2. ANVA para Factor A en la Variable Altura de Planta

Métodos de Inoculación	Diff	Lwr	Upr	p adj
Pabajo-Jeringa	0.01020833	-	2.44146	0.9999451
Parriba-Jeringa	2.55020833	0.1189568	4.98146	0.0374738
Parriba-Pabajo	2.54	0.1087485	4.971252	0.0384304

Cuadro 3. ANVA para Factor B en la Variable Altura de Planta

Material Genético	Diff	Lwr	upr	p adj
V2-V1	12.95354	15.384793	10.52229	0
V3-V1	13.20354	15.634793	10.77229	0
V3-V2	-0.25	-2.681252	2.181252	0.9676274

Cuadro 4. ANVA para la Interaccion de Factores A:B en la Variable Altura de Planta

FA:FB	diff	lwr	upr	p adj
Pabajo:V1-Jeringa:V1	-4.961875	10.5713426	0.6475926	0.1274268
Parriba:V1-Jeringa:V1	5.501875	-0.1075926	11.1113426	0.0590115
Jeringa:V2-Jeringa:V1	-14.46125	20.0707176	-8.8517824	0
Pabajo:V2-Jeringa:V1	-10.0325	15.6419676	-4.4230324	0.0000044
Parriba:V2-Jeringa:V1	13.826875	19.4363426	-8.2174074	0
Jeringa:V3-Jeringa:V1	-13.71625	19.3257176	-8.1067824	0
Pabajo:V3-Jeringa:V1	-13.1525	18.7619676	-7.5430324	0
Parriba:V3-Jeringa:V1	12.201875	17.8113426	-6.5924074	0
Parriba:V1-Pabajo:V1	10.46375	4.8542824	16.0732176	0.0000015
Jeringa:V2-Pabajo:V1	-9.499375	15.1088426	-3.8899074	0.0000165
Pabajo:V2-Pabajo:V1	-5.070625	10.6800926	0.5388426	0.1100719
Parriba:V2-Pabajo:V1	-8.865	14.4744676	-3.2555324	0.0000754
Jeringa:V3-Pabajo:V1	-8.754375	14.3638426	-3.1449074	0.0000976
Pabajo:V3-Pabajo:V1	-8.190625	13.8000926	-2.5811574	0.0003519
Parriba:V3-Pabajo:V1	-7.24	12.8494676	-1.6305324	0.002649
Jeringa:V2-Parriba:V1	19.963125	25.5725926	14.3536574	0
Pabajo:V2-Parriba:V1	15.534375	21.1438426	-9.9249074	0
Parriba:V2-Parriba:V1	-19.32875	24.9382176	13.7192824	0
Jeringa:V3-Parriba:V1	19.218125	24.8275926	13.6086574	0
Pabajo:V3-Parriba:V1	18.654375	24.2638426	13.0449074	0
Parriba:V3-Parriba:V1	-17.70375	23.3132176	12.0942824	0
Pabajo:V2-Jeringa:V2	4.42875	-1.1807176	10.0382176	0.2440838

Parriba:V2- Jeringa:V2	0.634375	-4.9750926	6.2438426	0.9999917
Jeringa:V3- Jeringa:V2	0.745	-4.8644676	6.3544676	0.9999712
Pabajo:V3-Jeringa:V2	1.30875	-4.3007176	6.9182176	0.9980928
Parriba:V3- Jeringa:V2	2.259375	-3.3500926	7.8688426	0.9364413
Parriba:V2-Pabajo:V2	-3.794375	-9.4038426	1.8150926	0.4513491
Jeringa:V3-Pabajo:V2	-3.68375	-9.2932176	1.9257176	0.4930589
Pabajo:V3-Pabajo:V2	-3.12	-8.7294676	2.4894676	0.707425
Jeringa:V3- Parriba:V2	0.110625	-5.4988426	5.7200926	1
Pabajo:V3-Parriba:V2	0.674375	-4.9350926	6.2838426	0.9999867
Parriba:V3-Parriba:V2	1.625	-3.9844676	7.2344676	0.9915563
Pabajo:V3-Jeringa:V3	0.56375	-5.0457176	6.1732176	0.9999967
Parriba:V3- Jeringa:V3	1.514375	-4.0950926	7.1238426	0.9947413
Parriba:V3-Pabajo:V3	0.950625	-4.6588426	6.5600926	0.9998163

Cuadro 5. Análisis de Varianza ANVA para la Variable de Numero de Hojas

Tomando en consideración los factores FB, FC, FB:FC, los cuales se expresan como FA, FB, FA:FB respectivamente para resultados y discusión

```

Response: Hojas
      Df  Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
FA      3 1488.36  496.12  66.3131 < 2e-16 ***
FB      2   12.88    6.44   0.8605  0.42585
FC      2   54.87   27.44   3.6674  0.02878 *
FA:FB   6   17.85    2.97   0.3976  0.87917
FA:FC   6   17.68    2.95   0.3939  0.88157
FB:FC   4    9.87    2.47   0.3300  0.85729
FA:FB:FC 12   38.24    3.19   0.4259  0.95017
Residuals 108  808.00    7.48
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> cv
[1] 25.15154

```

Cuadro 6. ANVA para Factor A en la Variable Numero de Hojas

Método de Inoculación	diff	Lwr	upr	p adj
Pabajo-Jeringa	0.5625	- 0.7643394	1.8893394	0.5737621
Parriba-Jeringa	-0.125	- 1.4518394	1.2018394	0.9727534
Parriba-Pabajo	-0.6875	- 2.0143394	0.6393394	0.4373813

Cuadro 7. ANVA para Factor B en la Variable Numero de Hojas

Materia Genético	diff	lwr	upr	p adj
V2-V1	-1.125	- 2.451839	0.2018394	0.1134785
V3-V1	-1.4375	- 2.764339	-0.1106606	0.0303698
V3-V2	-0.3125	- 1.639339	1.0143394	0.8417049

Cuadro 8. ANVA para Factor A:B en la Variable Numero de Hojas

AxB	diff	lwr	upr	p adj
Pabajo:V1-Jeringa:V1	0	- 3.06133	3.0613298	1
Jeringa:V3-Jeringa:V2	0	- 3.06133	3.0613298	1
Pabajo:V3-Pabajo:V2	0.0625	- 2.99883	3.1238298	1
Parriba:V1-Jeringa:V1	-0.25	- 3.31133	2.8113298	0.9999994
Parriba:V1-Pabajo:V1	-0.25	- 3.31133	2.8113298	0.9999994
Parriba:V2-Pabajo:V2	-0.375	- 3.43633	2.6863298	0.9999846
Parriba:V2-Jeringa:V2	0.4375	- 2.62383	3.4988298	0.9999495
Jeringa:V3-Parriba:V2	-0.4375	- 3.49883	2.6238298	0.9999495
Pabajo:V3-Parriba:V2	0.4375	- 2.62383	3.4988298	0.9999495
Pabajo:V3-Parriba:V1	-0.5	- 3.56133	2.5613298	0.9998608

Pabajo:V2- Parriba:V1	-0.5625	- 3.62383	2.4988298	0.9996639
Parriba:V3- Jeringa:V2	-0.5625	- 3.62383	2.4988298	0.9996639
Parriba:V3- Jeringa:V3	-0.5625	- 3.62383	2.4988298	0.9996639
Pabajo:V3- Jeringa:V1	-0.75	- 3.81133	2.3113298	0.9973093
Pabajo:V3- Pabajo:V1	-0.75	- 3.81133	2.3113298	0.9973093
Pabajo:V2- JERINGA:V1	-0.8125	- 3.87383	2.2488298	0.995318
Pabajo:V2- Pabajo:V1	-0.8125	- 3.87383	2.2488298	0.995318
Pabajo:V2- Jeringa:V2	0.8125	- 2.24883	3.8738298	0.995318
Jeringa:V3- Pabajo:V2	-0.8125	- 3.87383	2.2488298	0.995318
Pabajo:V3- Jeringa:V2	0.875	- 2.18633	3.9363298	0.9922776
Pabajo:V3- Jeringa:V3	0.875	- 2.18633	3.9363298	0.9922776
Parriba:V2- Parriba:V1	-0.9375	- 3.99883	2.1238298	0.9878448
Parriba:V3- Parriba:V2	-1	- 4.06133	2.0613298	0.9816415
Parriba:V2- Jeringa:V1	-1.1875	- 4.24883	1.8738298	0.9485234
Parriba:V2- Pabajo:V1	-1.1875	- 4.24883	1.8738298	0.9485234
Jeringa:V2- Parriba:V1	-1.375	- 4.43633	1.6863298	0.8870137
Jeringa:V3- Parriba:V1	-1.375	- 4.43633	1.6863298	0.8870137
Parriba:V3- Pabajo:V2	-1.375	- 4.43633	1.6863298	0.8870137
Parriba:V3- Pabajo:V3	-1.4375	- 4.49883	1.6238298	0.859447
Jeringa:V2- Jeringa:V1	-1.625	- 4.68633	1.4363298	0.7570338
Jeringa:V3- Jeringa:V1	-1.625	- 4.68633	1.4363298	0.7570338
Jeringa:V2- Pabajo:V1	-1.625	- 4.68633	1.4363298	0.7570338
Jeringa:V3- Pabajo:V1	-1.625	- 4.68633	1.4363298	0.7570338

Parriba:V3- Parriba:V1	-1.9375	- 4.99883	1.1238298	0.5443957
Parriba:V3- Jeringa:V1	-2.1875	- 5.24883	0.8738298	0.3743586
Parriba:V3- Pabajo:V1	-2.1875	- 5.24883	0.8738298	0.3743586

Cuadro 9. Análisis de Varianza ANVA para la Variable de Diámetro de Tallo

Tomando en consideración los factores FB, FC, FB:FC, los cuales se expresan como FA, FB, FA:FB respectivamente para resultados y discusión

```

Response: Diametro del Tallo
      Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
FA      3 165.393   55.131 215.8110 < 2.2e-16 ***
FB      2   1.202    0.601   2.3532 0.0999255 .
FC      2   7.890    3.945  15.4434 1.262e-06 ***
FA:FB    6   1.307    0.218   0.8529 0.5321180
FA:FC    6   6.180    1.030   4.0322 0.0011022 **
FB:FC    4   5.356    1.339   5.2412 0.0006756 ***
FA:FB:FC 12   3.526    0.294   1.1501 0.3285345
Residuals 108  27.590    0.255
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> cv
[1] 10.05512

```

Cuadro 10. ANVA para Factor A en la Variable Diámetro de Tallo

Método de Inoculación	diff	Lwr	upr	p adj
Pabajo-Jeringa	0.13375	- 0.11143053	0.3789305	0.4002933
Parriba-Jeringa	0.22229167	- 0.02288886	0.4674722	0.083854
Parriba-Pabajo	0.08854167	- 0.15663886	0.3337222	0.6676997

Cuadro 11. ANVA para Factor B en la Variable Diámetro de Tallo

Material Genético	diff	lwr	upr	p adj
V2-V1	0.4385417	0.6837222	0.1933611	0.0001337
V3-V1	0.5391667	0.7843472	0.2939861	0.0000025
V3-V2	-0.100625	0.3458055	0.1445555	0.5939932

Cuadro 12. ANVA para Factor A:B en la Variable Diámetro de Tallo

AxB	diff	lwr	upr	p adj
Pabajo:V1-Jeringa:V1	-0.20625	0.771939	0.359439	0.9640663
Parriba:V1-Jeringa:V1	0.54375	0.021939	1.109439	0.0696152
Jeringa:V2-Jeringa:V1	0.434375	1.000064	0.131314	0.2783841
Pabajo:V2-Jeringa:V1	0.189375	0.755064	0.376314	0.9785973
Parriba:V2-Jeringa:V1	0.354375	0.920064	0.211314	0.5583854
Jeringa:V3-Jeringa:V1	0.561875	1.127564	0.003814	0.0530226
Pabajo:V3-Jeringa:V1	0.199375	0.765064	0.366314	0.9706612
Parriba:V3-Jeringa:V1	-0.51875	1.084439	0.046939	0.0994657
Parriba:V1-Pabajo:V1	0.75	0.184311	1.315689	0.0017714
Jeringa:V2-Pabajo:V1	0.228125	0.793814	0.337564	0.9360128
Pabajo:V2-Pabajo:V1	0.016875	0.548814	0.582564	1
Parriba:V2-Pabajo:V1	0.148125	0.713814	0.417564	0.9957316
Jeringa:V3-Pabajo:V1	0.355625	0.921314	0.210064	0.5535885
Pabajo:V3-Pabajo:V1	0.006875	0.558814	0.572564	1

Parriba:V3- Pabajo:V1	-0.3125	- 0.878189	0.253189	0.7150166
Jeringa:V2- Parriba:V1	- 0.978125	- 1.543814	- 0.412436	0.0000101
Pabajo:V2- Parriba:V1	- 0.733125	- 1.298814	- 0.167436	0.0024941
Parriba:V2- Parriba:V1	- 0.898125	- 1.463814	- 0.332436	0.0000685
Jeringa:V3- Parriba:V1	- 1.105625	- 1.671314	- 0.539936	0.0000004
Pabajo:V3- Parriba:V1	- 0.743125	- 1.308814	- 0.177436	0.002038
Parriba:V3- Parriba:V1	-1.0625	- 1.628189	- 0.496811	0.0000012
Pabajo:V2- Jeringa:V2	0.245	- 0.320689	0.810689	0.9061905
Parriba:V2- Jeringa:V2	0.08	- 0.485689	0.645689	0.9999534
Jeringa:V3- Jeringa:V2	-0.1275	- 0.693189	0.438189	0.9985086
Pabajo:V3- Jeringa:V2	0.235	- 0.330689	0.800689	0.9247641
Parriba:V3- Jeringa:V2	- 0.084375	- 0.650064	0.481314	0.9999301
Parriba:V2- Pabajo:V2	-0.165	- 0.730689	0.400689	0.9911645
Jeringa:V3- Pabajo:V2	-0.3725	- 0.938189	0.193189	0.4892417
Pabajo:V3- Pabajo:V2	-0.01	- 0.575689	0.555689	1
Parriba:V3- Pabajo:V2	- 0.329375	- 0.895064	0.236314	0.6535262
Jeringa:V3- Parriba:V2	-0.2075	- 0.773189	0.358189	0.9627602
Pabajo:V3- Parriba:V2	0.155	- 0.410689	0.720689	0.9941848
Parriba:V3- Parriba:V2	- 0.164375	- 0.730064	0.401314	0.9913837
Pabajo:V3- Jeringa:V3	0.3625	- 0.203189	0.928189	0.5272489
Parriba:V3- Jeringa:V3	0.043125	- 0.522564	0.608814	0.9999996
Parriba:V3- Pabajo:V3	- 0.319375	- 0.885064	0.246314	0.6903773

## SEVERIDAD

Cuadro 13. Análisis de Varianza ANVA para Severidad

```

Analysis of Variance Table

Response: Severidad
          Df Sum Sq Mean Sq F value    Pr(>F)
Método      2  29.17   14.58   0.3621 0.701191
Variedad    2 679.17  339.58   8.4310 0.002608 **
Método:Variedad 4 770.83  192.71   4.7845 0.008322 **
Residuals   18 725.00   40.28

---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
> cv
[1] 19.69596
    
```

Cuadro 14. ANVA Factor A en la Variable Método de Inoculación

Método de Inoculación	diff	lwr	upr	p adj
Pabajo-Jeringa	-0.8333333	-8.468788	6.802122	0.9582309
Parriba-Jeringa	-2.5	10.135455	5.135455	0.6863287
Parriba-Pabajo	-1.6666667	-9.302122	5.968788	0.8441911

Tabla 15 ANVA Factor B en la Variable Material Genético

Material Genético	diff	lwr	upr	p adj
V2-V1	-2.5	10.135455	5.135455	0.6863287
V3-V1	9.166667	1.531212	16.802122	0.0174785
V3-V2	11.666667	4.031212	19.302122	0.0028695

Tabla 16 ANVA para Factor A:B en Severidad

AxB	diff	lwr	upr	p adj
Pabajo:V1- Jeringa:V1	-7.5	-25.656583	10.656583	0.864742
Parriba:V1- Jeringa:V1	-15	-33.156583	3.156583	0.1548884
Jeringa:V2- Jeringa:V1	-10	-28.156583	8.156583	0.6040956
Pabajo:V2- Jeringa:V1	-5	-23.156583	13.156583	0.9847129
Parriba:V2- Jeringa:V1	-15	-33.156583	3.156583	0.1548884
Jeringa:V3- Jeringa:V1	-2.5	-20.656583	15.656583	0.9998748
Pabajo:V3- Jeringa:V1	-2.5	-20.656583	15.656583	0.9998748
Parriba:V3- Jeringa:V1	10	-8.1565831	28.156583	0.6040956
Parriba:V1- Pabajo:V1	-7.5	-25.656583	10.656583	0.864742
Jeringa:V2- Pabajo:V1	-2.5	-20.656583	15.656583	0.9998748
Pabajo:V2- Pabajo:V1	2.5	-15.656583	20.656583	0.9998748
Parriba:V2- Pabajo:V1	-7.5	-25.656583	10.656583	0.864742
Jeringa:V3- Pabajo:V1	5	-13.156583	23.156583	0.9847129
Pabajo:V3- Pabajo:V1	5	-13.156583	23.156583	0.9847129
Parriba:V3- Pabajo:V1	17.5	-0.6565831	35.656583	0.0639115
Jeringa:V2- Parriba:V1	5	-13.156583	23.156583	0.9847129
Pabajo:V2- Parriba:V1	10	-8.1565831	28.156583	0.6040956
Parriba:V2- Parriba:V1	-3.55E- 15	-18.156583	18.156583	1
Jeringa:V3- Parriba:V1	12.5	-5.6565831	30.656583	0.3341651
Pabajo:V3- Parriba:V1	12.5	-5.6565831	30.656583	0.3341651

Parriba:V3- Parriba:V1	25	6.8434169	43.156583	0.0033715
Pabajo:V2- Jeringa:V2	5	-13.156583	23.156583	0.9847129
Parriba:V2- Jeringa:V2	-5	-23.156583	13.156583	0.9847129
Jeringa:V3- Jeringa:V2	7.5	-10.656583	25.656583	0.864742
Pabajo:V3- Jeringa:V2	7.5	-10.656583	25.656583	0.864742
Parriba:V3- Jeringa:V2	20	1.8434169	38.156583	0.0246217
Parriba:V2- Pabajo:V2	-10	-28.156583	8.156583	0.6040956
Jeringa:V3- Pabajo:V2	2.5	-15.656583	20.656583	0.9998748
Pabajo:V3- Pabajo:V2	2.5	-15.656583	20.656583	0.9998748
Parriba:V3- Pabajo:V2	15	-3.1565831	33.156583	0.1548884
Jeringa:V3- Parriba:V2	12.5	-5.6565831	30.656583	0.3341651
Pabajo:V3- Parriba:V2	12.5	-5.6565831	30.656583	0.3341651
Parriba:V3- Parriba:V2	25	6.8434169	43.156583	0.0033715
Pabajo:V3- Jeringa:V3	7.105E- 15	-18.156583	18.156583	1
Parriba:V3- Jeringa:V3	12.5	-5.6565831	30.656583	0.3341651
Parriba:V3- Pabajo:V3	12.5	-5.6565831	30.656583	0.3341651