



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO**

**DIVISIÓN DE CIENCIAS FORESTALES**

**“EVALUACIÓN DE TRES DOSIS AGROHOMEOPÁTICAS, PARA DETERMINAR SU EFECTIVIDAD EN EL CONTROL DE *Fusarium oxysporum* Schlecht SOBRE *Pinus pseudostrobus* Lindl.”**

**TESIS PROFESIONAL**

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**INGENIERO EN RESTAURACIÓN FORESTAL**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO  
CENTRO DE SERVICIOS ESCOLARES  
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES

**PRESENTA:**

**RUIZ GARCÍA VÍCTOR HIGINIO**


Chapingo, México Junio de 2013



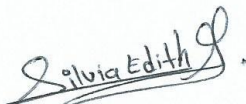
La presente investigación titulada “Evaluación de tres dosis agrohombopáticas, para determinar su efectividad en el control de *Fusarium oxysporum* Schlecht sobre *Pinus pseudostrobus* Lindl.”, fue realizada bajo la dirección del Dr. Felipe de Jesús Ruiz Espinoza, misma que fue revisada y aprobada por el siguiente jurado examinador como requisito parcial para obtener el título de:

### INGENIERO EN RESTAURACIÓN FORESTAL

PRESIDENTE

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Felipe de Jesús Ruiz Espinoza

SECRETARIO

  
\_\_\_\_\_  
M.C. Silvia Edith García Díaz

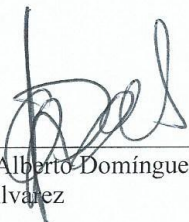
VOCAL

  
\_\_\_\_\_  
Dr. David Cibrián Tovar

SUPLENTE

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Dante Arturo Rodríguez Trejo

SUPLENTE

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Francisco Alberto Domínguez  
Álvarez

## **AGRADESIMIENTOS**

A la Universidad Autónoma Chapingo, mi alma mater, ejemplo único de las instituciones de educación pública en América Latina, por brindarme las herramientas necesarias para alcanzar mis metas mediante una educación de excelente calidad.

Al comité revisor, por su tiempo y apoyo en el desarrollo de esta investigación. En especial al Dr. Felipe de Jesús Ruiz Espinoza por la enseñanza del método agrohomeopático, una de alternativas de mayor impacto y sustentabilidad en el control de plagas y enfermedades.

A los maestros de la División de Ciencias Forestales por haber mostrado sus mejores esfuerzos en elevar la enseñanza educativa de los alumnos.

## ÍNDICE GENERAL

<b>I. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>1</b>
<b>II. OBJETIVOS .....</b>	<b>3</b>
2.1. Objetivo general.....	3
2.2. Objetivos particulares .....	3
<b>III. HIPÓTESIS.....</b>	<b>3</b>
<b>V. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>4</b>
5.1. <i>Fusarium oxysporum</i> Schlecht.....	4
5.1.1. Descripción morfológica.....	4
5.1.2. Distribución .....	4
5.1.3. Hospedantes.....	5
5.1.4. Signos y síntomas .....	5
5.1.5. Desarrollo de la enfermedad.....	7
5.1.6. Importancia .....	9
5.2. Control .....	9
5.2.1. Control Preventivo .....	9
5.2.2. Control biológico .....	10
5.2.3. Control Químico .....	11
5.2.4. Control alternativo .....	12
5.3. Homeopatía .....	12
5.3.1. Principios de la homeopatía.....	12
5.3.1.1. Ley de los semejantes .....	12
5.3.1.2. Principio de las dosis mínimas.....	13
5.3.1.3. Principio de la individualidad morbosa .....	14
5.3.1.4. Principio de la individualidad medicamentosa .....	14
5.4. Agrohomeopatía.....	14
5.4.1. Importancia de la agrohomeopatía.....	15
5.4.2. Agronosode .....	16
5.4.3. Reglas de preparación .....	17
5.4.4. Dinamización y Dilución .....	18
5.4.5. Escalas .....	19
5.4.6. Frecuencia de aplicación .....	20
5.4.7. Agrohomeopatía - Sustentabilidad .....	20
5.4.8. Antecedentes .....	21
5.4.9. Perspectivas de la agrohomeopatía .....	23
5.5. <i>Pinus pseudostrabus</i> Lindl.....	24
5.5.1. Descripción morfológica.....	24
5.5.2. Distribución .....	25
5.5.3. Hábitat.....	25
5.5.4. Importancia .....	26
<b>VI. METODOLOGÍA .....</b>	<b>27</b>
6.1. Obtención de muestras .....	27
6.2. Aislamiento de muestras .....	28
6.3. Identificación de hongos presentes en los aislamientos e incremento del inóculo ....	28
6.4. Conservación del inóculo.....	29

6.5. Concentración del inóculo .....	29
6.6. Inoculación del patógeno y aplicación de las dosis sobre semillas. ....	29
6.7. Elaboración de agronosodes .....	32
6.8. Diseño de los tratamientos .....	33
6.9. Preparación del sustrato .....	34
6.10. Establecimiento de las unidades experimentales y siembra .....	36
6.11. Frecuencia y aplicación de las dosis .....	36
6.12. Diseño experimental .....	37
6.13. Variables a evaluar.....	38
6.13.1. Porcentaje de germinación .....	39
6.13.2. Altura y diámetro .....	39
6.13.3. Fibrosidad y peso seco de la raíz.....	39
6.13.4. Porcentaje de supervivencia .....	40
6.14. Inoculación de las plántulas .....	40
6.15. Riegos .....	40
6.16. Re-aislamientos e identificación del agente causal de la muerte de plántulas.....	41
<b>VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>42</b>
7.1. Inoculaciones post-emergentes .....	42
7.2. Sintomatología de plántulas enfermas .....	43
7.3. Aislamiento e identificación del patógeno.....	45
7.4. Porcentaje de germinación.....	47
7.5. Altura y diámetro después de la primera inoculación post-emergente. ....	49
7.5.1. Altura 1.....	49
7.5.2. Diámetro 1.....	51
7.6. Altura y diámetro después de la segunda inoculación post-emergente. ....	52
7.6.1. Altura 2.....	52
7.6.2. Diámetro 2.....	54
7.7. Fibrosidad de la raíz.....	56
7.8. Peso seco de la raíz .....	59
7.9. Porcentaje de supervivencia.....	60
<b>VIII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>64</b>
<b>IX. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>66</b>
<b>X. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>67</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>CUADRO</b>	<b>PÁGINA</b>
<b>Cuadro 1.</b> Reglas de preparación de la dinamizaciones homeopáticas. ....	<b>18</b>
<b>Cuadro 2.</b> Cantidad de sustrato utilizado para el llenado de 40 charolas.....	<b>34</b>
<b>Cuadro 3.</b> Análisis de varianza para el porcentaje de germinación. ....	<b>47</b>
<b>Cuadro 4.</b> Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable porcentaje de germinación. ....	<b>48</b>
<b>Cuadro 5.</b> Análisis de varianza para la variable altura.....	<b>50</b>
<b>Cuadro 6.</b> Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable altura (primera inoculación post-emergente).....	<b>50</b>
<b>Cuadro 7.</b> Análisis de varianza para la variable diámetro.....	<b>51</b>
<b>Cuadro 8.</b> Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable diámetro (primera inoculación post-emergente).....	<b>52</b>
<b>Cuadro 9.</b> Análisis de varianza para la variable altura.....	<b>53</b>
<b>Cuadro 10.</b> Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable altura (segunda inoculación post-emergente). ....	<b>54</b>
<b>Cuadro 11.</b> Análisis de varianza para la variable diámetro.....	<b>55</b>
<b>Cuadro 12.</b> Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable diámetro (segunda inoculación post-emergente). ....	<b>56</b>
<b>Cuadro 13.</b> Análisis de varianza para la variable fibrosidad de la raíz. ....	<b>56</b>
<b>Cuadro 14.</b> Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable fibrosidad de la raíz.....	<b>57</b>
<b>Cuadro 15.</b> Análisis de Varianza de la variable peso seco de la raíz. ....	<b>59</b>
<b>Cuadro 16.</b> Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable peso seco de la raíz. ....	<b>60</b>
<b>Cuadro 17.</b> Análisis de varianza para la variable porcentaje de supervivencia. ....	<b>61</b>
<b>Cuadro 18.</b> Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable porcentaje de supervivencia. ....	<b>62</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
<p><b>Figura 1.</b> Siembra bajo condiciones adversas para la obtención de muestras. <b>A:</b> Siembra con exceso de humedad, poca ventilación, exceso de sombra, mal drenaje y sustrato sin desinfectar. <b>B:</b> Germinación bajo condiciones adversas. <b>C:</b> Plántula con síntomas por infección del patógeno. <b>D:</b> Semilla y radícula cubiertas con micelio del hongo patógeno.....</p>	27
<p><b>Figura 2. A:</b> Aislamiento de las plántulas infectadas y crecimiento de micelio del hongo en PDA. <b>B:</b> Incremento del patógeno en PDA. <b>C:</b> Conservación de la cepa de <i>Fusarium oxysporum</i>. <b>D:</b> Remojo de las semillas por tratamiento. <b>E:</b> Concentración del inoculo. <b>F:</b> Inoculación de <i>F. oxysporum</i> mediante aspersión sobre semillas de <i>Pinus pseudostrobus</i> Lindl.....</p>	31
<p><b>Figura 3. A:</b> Medición de cantidades exactas para la elaboración de los agronosodes. <b>B:</b> Trituración de azúcar de caña y cortes de tejido infectado con <i>Fusarium</i>. <b>C:</b> Dosis: 1C, 2C, 3C ya trituradas. <b>D:</b> Agronosodes: dosis de interés 10C, 30C y 200C. ....</p>	33
<p><b>Figura 4. A:</b> Lavado y desinfección de charolas. <b>B:</b> Charolas con 40 cavidades, 35 cm de largo, 22 cm de ancho, diámetro superior de la cavidad 4 cm. <b>C:</b> Altura de charolas 8.5 cm, diámetro inferior de la cavidad 2cm. <b>D:</b> Mezcla de sustrato. <b>E:</b> Llenado de las charolas. <b>F:</b> Charolas llenas con humedad a capacidad de campo listas para la siembra.....</p>	35
<p><b>Figura 5. A:</b> Establecimiento de las unidades experimentales. <b>B:</b> Aplicación de las dosis por tratamiento mediante aspersión. <b>C:</b> Malla sombra para evitar depredación de las semillas por pájaros. <b>D:</b> Cubierta de papel pellón sobre las plántulas para evitar los daños por heladas. ....</p>	37
<p><b>Figura 6. A:</b> Amarillamiento general de la plántula y enrollamiento de hojas. <b>B:</b> Semillas con crecimiento de micelio en la testa. <b>C:</b> Infección en etapa pre-emergente. <b>D:</b> Empardecimiento general y constricción en la base del tallo. <b>E:</b> Infección descendente y doblamiento del ápice. <b>F:</b> Muerte de brinjal por infección de patógeno. <b>H:</b> Pudrición y muerte de la raíz. <b>I:</b> Reducción del sistema radical por infección del patógeno. ....</p>	44
<p><b>Figura 7. A:</b> Crecimiento de <i>F. oxysporum</i> en PDA a partir de una raíz infectada. <b>B:</b> Crecimiento del patógeno a partir de tallo infectado. <b>C:</b> <i>F. oxysporum</i> en crecimiento a partir de una semilla infectada. <b>D:</b> Micelio en crecimiento con coloración purpura típica <b>E:</b> . Micelio blanco algodonoso característico de <i>F. oxysporum</i>. <b>F:</b> Micro-conidios. <b>G:</b> Medio de cultivo Agua-Agar con hojas de clavel para promover el crecimiento de macro-conidios. <b>H:</b> Macro-conidios.....</p>	46
<p><b>Figura 8.</b> Comparación de germinación entre los tratamientos. <b>A:</b> Tratamiento con alto porcentaje de semillas germinadas. <b>B:</b> Tratamiento con bajo porcentaje de semillas germinadas. ....</p>	49
<p><b>Figura 9.</b> Comparación de la cantidad de raíces laterales (Fibrosidad) entre los tratamientos. <b>A:</b> T6 (A: 30C). <b>B:</b> T1 (A: 10C + <i>F. oxysporum</i>). <b>C:</b> T5 (A: 10C). <b>D:</b> T3 (A: 200C + <i>F.oxysporum</i>). <b>E:</b> T2 (A: 30C + <i>F. oxysporum</i>). <b>F:</b> T7 (A: 200C). <b>G:</b> T8 (Testigo). <b>H:</b> T4 (<i>F.oxysporum</i> sin tratamiento).....</p>	58
<p><b>Figura 10.</b> Comparación de los porcentajes de sobrevivencia entre los tratamientos. <b>A:</b> Tratamiento con altos porcentajes de sobrevivencia. <b>B:</b> Tratamiento con bajo porcentaje de sobrevivencia. <b>C y D.</b> Vista general de sobrevivencia. ....</p>	63

**“EVALUACIÓN DE TRES DOSIS AGROHOMEOPÁTICAS, PARA  
DETERMINAR SU EFECTIVIDAD EN EL CONTROL DE *Fusarium  
oxysporum* Schlecht SOBRE *Pinus pseudostrobus* Lindl.”**

**RESUMEN**

Se evaluaron tres dosis agrohomoepáticas: 10 C, 30 C y 200 C para determinar su efectividad en el control de *Fusarium oxysporum* sobre *Pinus pseudostrobus* producido en vivero de forma tradicional. La investigación se realizó en el vivero forestal de la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo.

Se establecieron 40 unidades experimentales, esta cantidad corresponde a 8 tratamientos: dosis 10C, 30C y 200C con y sin la inoculación de *F. oxysporum*, más un testigo y *F. oxysporum* inoculado sin tratamiento y cinco repeticiones cada uno mediante un diseño experimental completamente al azar, de los cuales se evaluaron las variables: porcentaje de germinación y supervivencia, altura, diámetro, fibrosidad y peso seco de la raíz. Los datos se analizaron en SAS mediante el ANOVA con un nivel de significancia de  $\alpha=0.05$  y la prueba de comparación de medias de Tukey. Se realizó una inoculación del patógeno sobre las semillas antes de la siembra y dos inoculaciones post-emergentes sobre las plántulas.

Los análisis estadístico mostraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) para la variable altura (primera inoculación post-emergente) estímulo generado por la aplicación de la dosis 10C. Se presentaron diferencias altamente significativas ( $p < 0.01$ ) en las variables diámetro (segunda inoculación post-emergente) estímulo generado mediante la aplicación de la dosis 30C; en la fibrosidad de la raíz sobresalieron las dosis 10C y 30C; y en el porcentaje de supervivencia presentaron un control efectivo sobre el patógeno las dosis 10C y 200C. Se obtuvo un porcentaje general de supervivencia de 94%. Por lo tanto se concluye que la aplicación de las dosis agrohomoepáticas probadas tienen un control efectivo sobre *F. oxysporum* y promueven el crecimiento y desarrollo de las plántulas.

**Palabras clave:** vivero, patógeno, agrohomoepátia, *Pinus pseudostrobus*, estimulación.



**"AGROHOMEOPATHIC EVALUATION OF THREE DOSES TO DETERMINE  
ITS EFFECTIVENESS IN CONTROL *Fusarium oxysporum* Schlecht ON *Pinus  
pseudostrobus* Lindl."**

**ABSTRACT**

We evaluated three doses agrohomoepathic: 10C, 30C and 200C, to determine their effectiveness in the control of *Fusarium oxysporum* on *Pinus pseudostrobus* produced in traditional nursery. The research was conducted in the forest nursery of the Department of Forestry, University of Chapingo.

40 experimental units were established, this amount corresponds to 8 treatments: 10C, 30C and 200C with and without inoculation of *F. oxysporum*, plus a control and *F. oxysporum* inoculated untreated and five repetitions each using a completely randomized design, in which the variables were evaluated: percentage of germination and survival, height, diameter, woodiness and root dry weight. Data were analyzed in SAS using ANOVA with a significance level of  $\alpha = 0.05$  and comparison test of Tukey. Was performed pathogen inoculation on the seeds before sowing and two post-emergent inoculations on seedlings.

The statistical analysis showed significant differences ( $p < 0.05$ ) for the variable height (first inoculation post-emergent) stimulus generated by the application of 10C dose. There were highly significant differences ( $p < 0.01$ ) in diameter variables (second inoculation post-emergent) stimulus generated by applying 30C dose, in the root woodiness doses excelled 10C and 30C, and the percentage of survival had effective control of the pathogen doses 10C and 200C. Was obtained overall survival rate of 94%. Therefore it is concluded that the application of the doses tested agrohomoepáticas have effective control over *F. oxysporum* and promote the growth and development of seedlings.

**Keywords:** nursery, pathogen, agrohomoepatía, *Pinus pseudostrobus*, stimulation.

## I. INTRODUCCIÓN

Los marchitamientos vasculares están entre las enfermedades de las plantas más difíciles de controlar. El hecho de que una sola infección de una planta por una espora es suficiente para introducir al patógeno en ella (en la que se desarrolla y propaga internamente), hace que la prevención de la infección y su posterior control con fungicidas de contacto sea prácticamente imposible (Agrios, 1998).

*Fusarium oxysporum* es uno de los hongos más comunes y dañinos en los viveros. Causa la muerte de un porcentaje significativo de planta, en ocasiones rebasa al 40% de toda la producción, además provoca morbilidad en plantas (Cibrián *et al.*, 2007). *F. oxysporum* se desarrolla con mayor rapidez en suelos con exceso de humedad, drenaje deficiente, falta de ventilación, pH alto, exceso de sombra, densidad alta de siembra, alta cantidad de materia orgánica, temperaturas altas y la reutilización de sustratos que ya han presentado infestaciones con anterioridad. Las semillas infectadas no germinan y llegan a pudrirse; en las plántulas afectadas se observan manchas marrones justo por encima y por debajo de la línea del suelo, las hojas muestran clorosis y pierden la turgencia; la parte basal del tallo se estrecha y ablanda, al no tener soporte en los tejidos de la base para mantener su peso se dobla, se marchita y muere; el sistema radicular se reduce y se pudre, con muy pocas o ninguna raíz secundaria.

Aun cuando se apliquen tratamientos preventivos, la infección se puede agudizar como consecuencia de una práctica de manejo mal aplicada, o bien, por la presencia de condiciones ambientales favorables para el desarrollo de los hongos (Peterson, 1992).

El creciente interés por un control seguro de plagas que protejan el ambiente y el problema de desarrollo de resistencia, que ocasiona el incremento de las dosis de plaguicidas, implica muchos esfuerzos para desarrollar métodos de control biológico de patógenos de plantas (Rivera, 2009).

Por esta razón esta investigación está enfocada en controlar las infecciones de *Fusarium oxysporum* evaluando la efectividad del tratamiento agrohomeopático, alternativa totalmente sustentable para la erradicación de los síntomas provocados por plagas y

enfermedades. La sustentabilidad de la agrohomeopatía, está basada en su bajo costo de elaboración, no daña al medio ambiente, genera resistencia en la planta ante el ataque de futuras infecciones y representa la independencia productiva de viveros forestales en comunidades de bajos recursos.

La importancia de *Pinus pseudostrobus* Lindl. es la siguiente: su madera es de buena calidad se usa en aserrío, triplay, chapa, para cajas de empaque, molduras, en la construcción, en la fabricación de ventanas y muebles finos, artesanías, ebanistería y pulpa para papel. Es una especie recomendable para plantaciones comerciales, también para su uso ornamental en campos deportivos y parques, debido a que su follaje semicolgante desprende un aroma agradable a resina (INIFAP, 2011).

## II. OBJETIVOS

### 2.1. Objetivo general

- Evaluar las dosis agrohomeopáticas: 10C, 30C, 200C, para determinar su efectividad en el control de *Fusarium oxysporum* sobre *Pinus pseudostrobus* Lindl.

### 2.2 Objetivos particulares

- Obtener la dosis agrohomeopática de mayor efectividad para el control de *Fusarium oxysporum* en plántulas de *Pinus pseudostrobus* Lindl.
- Evaluar el porcentaje de germinación, altura y diámetro de las plántulas, fibrosidad y peso seco de la raíz y determinar el porcentaje de supervivencia de las plántulas después de ser tratadas con las dosis establecidas.

## III. HIPÓTESIS

Las dosis agrohomeopáticas aplicadas presentaran efectividad en el control de *Fusarium oxysporum* sobre plántulas de *Pinus pseudostrobus*, producido en vivero de forma tradicional.

## V. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

### 5.1. *Fusarium oxysporum* Schlecht.

#### 5.1.1. Descripción morfológica

Posee un micelio extenso y algodonoso de color blanco al principio, pero conforme madura adquiere una pigmentación crema o amarillo pálido, rosa claro, salmón, violeta o purpura (Martínez, 2000).

Microconidios originados sobre fialides simples, variables, de ovales a elipsoidales cilíndricos, de rectos a curvados, con un tamaño de 5-12 X 2.2-3.5  $\mu$ . Macroconidios con 3 a 5 septas, fusoides terminando en puntas ambos lados, de diferentes tamaños según el número de septas presentes: con 3 septas, 27-46 X 3-5  $\mu$ ; las septas son las más fácilmente encontradas. Las clamidiosporas generalmente son abundantes, son terminales e intercalares, generalmente solitarias pero ocasionalmente formadas en pares o grupos de tres (Holliday, 1980).

#### 5.1.2. Distribución

*Fusarium oxysporum* está distribuido en Distrito Federal, Estado de México, Jalisco, Michoacán, y Querétaro (Cibrián *et al.*, 2007).

La enfermedad es más destructiva en climas cálidos y en suelos cálidos y arenosos de las regiones templadas. En México se ha observado su presencia en los Estados de Guanajuato, Morelos, México y Michoacán (Mendoza, 1996).

Los marchitamientos por *Fusarium* son mucho más comunes y destructivos en las regiones templadas más cálidas y en los trópicos y subtropicos llegando a ser menos dañinos o raros en climas más fríos, excepto en el caso de cultivos de invernadero de esas áreas (Agrios, 1998).

Romero (1988) menciona que *Fusarium oxysporum* es la especie del genero *Fusarium* más ampliamente distribuida y perjudicial para la agricultura.

### 5.1.3. Hospedantes

*Fusarium oxysporum* es un hongo cosmopolita que existe en muchas formas patogénicas, parasitando más de 100 especies de plantas Gimnospermas y Angiospermas, gracias a los diversos mecanismos que tiene el hongo para vencer las defensas de muchas plantas (Garcés, 2011).

La mayoría de las especies de coníferas son susceptibles a la enfermedad de la raíz causada por *Fusarium* sp. Debido a que las especies de este género de hongos, son formas patogénicas específicas a un hospedante determinado (Peterson, 1992). *Fusarium oxysporum* afecta a un gran número de especies de árboles, coníferas y angiospermas (Cibrián *et al.*, 2007).

### 5.1.4. Signos y síntomas

*F. oxysporum* produce la pudrición de las semillas y plántulas (ahogamiento), pudriciones de raíces, tallos inferiores, coronas, cormos, bulbos, tubérculos, etc. (Agrios, 1998).

Las semillas que se tienen en el almacén del vivero pueden estar afectada por hongos en la testa; principalmente *F. oxysporum*. Las plántulas germinan, pero a los pocos días, de la cubierta que aun cubre el brote de crecimiento y las pequeñas hojas en formación, se forma un micelio blanco que pasa hacia el nuevo tejido y lo infecta. Dicho micelio mata la punta e incluso puede bajar al cuello de la plántula (Cibrián *et al.*, 2007).

Las plantas enfermas muestran clorosis, achaparramiento, coloración café del xilema y, lo más común Marchitez. *F. oxysporum* es un excelente habitante del suelo, por lo que una vez establecido en el permanece ahí indefinidamente (Romero, 1988).

Las hojas o partes infectadas de la planta pierden su turgencia, se debilitan, adquieren una tonalidad que va del verde claro al amarillo verdosos, decaen y finalmente se marchitan, se tornan amarillas, empardecen y mueren. Las hojas marchitas pueden estar extendidas o bien enrollarse. Los retoños tiernos y jóvenes también se marchitan y mueren (Agrios, 1998).

En el vivero de contenedor, es frecuente encontrar que planta de varios meses de edad presenta muerte descendente, inicialmente muere la yema y luego las acículas inmediatas;

con frecuencia, la base de las acículas afectadas tiene una coloración violácea, con el transcurso de pocos días muere toda la planta. Esta planta, desde un inicio de los síntomas externos, tiene pudrición en sus raíces, son afectadas de la periferia hacia el cuello (Cibrián *et al.*, 2007).

Los cortes transversales que se hacen de tallos y ramitas infectados muestran varias zonas café decoloradas dispuestas en forma de anillo completo o interrumpido que consta de tejidos vasculares decolorados. Algunos de los vasos xilemicos son obstruidos por el micelio del hongo; esto produce una decoloración café de los tejidos vasculares afectados esto se debe a la oxidación y translocación de algunos de los productos de degradación. En los tallos jóvenes recién infectados, el número de vasos xilemicos formados disminuye y sus paredes celulares se adelgazan más de lo normal. Con frecuencia, las células parenquimatosas en torno a los vasos xilemicos son estimuladas por las secreciones del patógeno para que se dividan excesivamente y, esto aunado a las paredes adelgazadas y debilitadas de los vasos, da como resultado la disminución del diámetro o el colapso total de los vasos. Las toxinas pueden ser llevadas también hacia las hojas, en las que hacen que disminuya la síntesis de clorofila de sus nervaduras (ocasionando el aclaramiento de éstas), que disminuya la tasa fotosintética y se altere la permeabilidad de las membranas celulares de la hoja, así como su habilidad para controlar la pérdida de agua a través de la transpiración, lo cual da como consecuencia epinastia, marchitamiento, necrosis internerval, empardecimiento y muerte de las hojas (Agrios, 1998).

Los marchitamientos se deben a la presencia y actividades del patógeno en los tejidos vasculares xilemicos de las plantas. En pocas semanas el patógeno puede ocasionar la muerte de plantas completas o de sus órganos que se localizan por arriba del punto de invasión vascular en la mayoría de las plantas anuales o perennes, aunque algunas plantas de este último grupo no mueren sino hasta después de varios años a partir del momento en que fueron infectadas por el hongo (Agrios, 1998).

En el caso de pudriciones de la raíz las plantas jóvenes muestran al principio una mancha ligeramente rojiza, que más tarde adquiere una tonalidad que va de rojo oscuro a pardo y que se extiende hasta cubrir más o menos (sin un contorno bien definido) la raíz principal y la porción del tallo que se encuentra por debajo de la superficie del suelo, o bien aparece en

forma de rayas que se extienden por arriba de ella. En la raíz principal aparecen fisuras longitudinales, en tanto que las pequeñas raíces laterales son destruidas. Por lo general el crecimiento de la planta se retarda y cuando el clima es seco las hojas pueden tomarse amarillas e incluso desprenderse de la planta (Agrios, 1998).

#### **5.1.5. Desarrollo de la enfermedad**

Aun cuando se apliquen tratamientos preventivos, la infección se puede agudizar como consecuencia de una práctica de manejo mal aplicada, o bien, por la presencia de condiciones ambientales favorables para el desarrollo de los hongos. Por ejemplo, cuando los suelos de los viveros están excesivamente húmedos, frecuentemente la enfermedad es más severa y las plántulas aparentemente sanas, pueden presentar una infección aguada de ahogamiento, después de tan solo uno o dos días de lluvia (Peterson, 1992).

Es importante considerar al pH del suelo, ya que las pérdidas son por lo general mayores cuando este es elevado, y mínimas, cuando es de 5.5 (Peterson, 1992).

Las condiciones que favorecen la enfermedad son suelos pesados con deficiencia de drenaje, alta humedad en el ambiente, temperaturas de medias a altas y sombra continua durante varias horas o días (Cibrián *et al.*, 2007).

El patógeno inverna en el suelo en forma de micelio y en cualquiera de sus formas de esporas, pero lo hace con mayor frecuencia en forma de clamidospora. Se propaga a cortas distancias a través del agua y el equipo agrícola contaminado, y a grandes distancias principalmente en los trasplantes infectados o en el suelo que va en ellos. Es frecuente que una vez que una área haya sido infectada por *Fusarium* se mantenga así por tiempo indefinido (Mendoza, 1996).

La germinación de las clamidosporas es estimulada por el exudado de la raíz de la planta, que a su vez le abastece de nutrimentos. Después de la germinación, el hongo se desarrolla sobre la superficie de la raíz, penetrando entre dos células de la epidermis y propagándose intracelularmente a lo largo de la corteza, colonizando a esta ya la región del xilema, en la planta infectada (Peterson, 1992).



Cuando las plantas sanas se desarrollan en un suelo contaminado, los tubos germinales de las esporas o el micelio penetran directamente en las puntas de las raíces o entran en estas últimas a través de heridas a nivel de la zona donde se forman las raíces laterales. El hongo se propaga intercelularmente a través de la corteza de la raíz y mantiene entonces exclusivamente en los vasos y viaja a través de la corteza de punteaduras. Se mantiene entonces exclusivamente en los vasos y viaja a través de ellos, principalmente en sentido ascendente hacia los tallos y la corona de la planta. Cuando se encuentra en los vasos dicho micelio se ramifica y produce microconidios que son desprendidos y llevados hacia la parte superior de la planta en el torrente de savia. Los microconidios germinan en el punto donde cesa su movimiento ascendente, el micelio penetra en la pared superior del vaso y el hongo produce más microconidios en el siguiente vaso. El micelio del hongo avanza también lateralmente en los vasos adyacentes, en los que penetra a través de punteaduras (Mendoza, 1996).

Una combinación de los procesos tratados anteriormente, la obstrucción de los vasos por el micelio, esporas, geles, gomas y tilosas, así como la presión que ejerce la proliferación de las células parenquimatosas adyacentes se deba la alteración en la economía del agua de las plantas infectadas. Cuando el volumen del agua disponible para las hojas es inferior al mínimo requerido para su funcionamiento, las estomas se cierran, las hojas se marchitan y mueren, y como consecuencia, muere el resto de la planta. El hongo invade entonces a gran escala los tejidos parenquimatosos de la planta, llega a la superficie de los tejidos muertos y ahí esporula profusamente. Las esporas son diseminadas hacia nuevas plantas o áreas por medio del viento, el agua y otros factores (Mendoza, 1996).

En tanto la planta infectada continúe viviendo, el hongo se limita a los tejidos vasculares (xilema) y a algunas células circunvecinas y nunca sale a la superficie de la planta –incluso tampoco produce esporas. Solo cuando la enfermedad ocasiona la muerte de una planta infectada, el hongo se propaga hacia otros tejidos y esporula en la planta muerta o sobre la superficie de estas. (Agrios, 1998)

Agrios 1998, menciona que *Fusarium* es un hongo que habita en el suelo e infecta a las plantas a través de sus raíces en las que penetran directamente o a través de heridas.

*Fusarium* inverna en el suelo o en restos de plantas en forma de esporas asexuales de pared gruesa denominadas clamidosporas, o bien en forma de micelio o esporas en los restos vegetales (Agrios, 1998).

#### **5.1.6. Importancia**

*Fusarium oxysporum* causa una de las enfermedades más comunes en el mundo, que ataca a las plántulas de coníferas. Además de causar la enfermedad de la raíz, *F. oxysporum* y otras especies de este género, son frecuentemente responsables del ahogamiento en las primeras etapas de desarrollo de las plántulas (Peterson, 1992).

Los marchitamientos vasculares son enfermedades que se encuentran ampliamente distribuidas y son muy destructivas, espectaculares y alarmantes (Agrios, 1998).

*Fusarium oxysporum* es uno de los hongos más comunes y dañinos en los viveros. Causa la muerte de un porcentaje significativo de planta, en ocasiones rebasa al 40% de toda la producción, además provoca morbilidad en plantas (Cibrián *et al.*, 2007).

*F. oxysporum* afecta una amplia gama de plantas en todo el mundo y es ampliamente difícil de erradicar una vez que se establece en un lugar, debido a que sobreviven en el suelo durante muchos años en forma de estructuras de latencia –clamidosporas- (Deacon, 1990).

### **5.2. Control**

#### **5.2.1. Control Preventivo**

En el almacén, las infecciones se previenen al mantener un ambiente fresco y seco, con una humedad menor al 13% y temperaturas de 3 y 5 °C. las paredes, pisos y estantería se desinfectan al pasar trapeadores humedecidos con una solución de hipoclorito de sodio.

Para la prevención de la infección, el viverista debe atender varios aspectos, el primero tiene que ver con el sustrato, este debe estar formulado para que tenga buen drenaje y pH neutro o ligeramente ácido. Se sugiere que el sustrato para almacigo sea esterilizado antes de la siembra de la semilla, se pueden utilizar métodos físicos o químicos. En el primer

caso, el sustrato para almacigo se debe llevar a temperaturas de pasteurización, lo cual se logra, entre otros métodos, por solarización; en este caso el sustrato recién humedecido, se coloca en capa que garantice la máxima temperatura en la parte más profunda de la capa, de preferencia el suelo a esterilizar se coloca sobre una plancha de concreto, se cubre con un plástico impermeable y transparente. La solarización se mantiene durante 21 días, dependiendo de la frecuencia de días soleados. Otra opción es utilizar agua hirviendo pero solo es útil cuando el volumen de sustrato es pequeño. En el mercado existen nuevos gases fumigantes que son menos tóxicos que el bromuro de metilo, hasta hace poco tiempo utilizado, y ofrecen resultados similares. Los fumigantes metam-sodio y dazomet pueden ser usados (Cibrián *et al.*, 2007).

Tratamientos preventivos:

- Prevenir usando sustratos limpios, evitar el exceso de agua en suelo que despierte el inóculo.
- Bandejas, herramientas y estructuras limpias.
- Incorporar estiércol con antelación suficiente.
- Mezclar bien, uniformemente.
- Utilización de estiércol bien fermentado.
- Solarización en el caso de siembra directa.
- Utilizar semillas certificadas.
- No poner una elevada densidad de plantas.
- No sobrepasar 27-30°C de temperatura dentro del semillero.
- Evitar el exceso de riego. Regar a primera o última hora del día.
- Tratamiento específico según el hongo que esté actuando, aplicando alrededor del cuello de las plantas

### **5.2.2. Control biológico**

Cibrián *et al.* (2007) menciona que para la prevención de infecciones, se recomienda cubrir a la testa de las semillas con esporas del hongo *Trichoderma*, este funciona como inhibidor de la mayoría de los hongos que están en la superficie de la testa.

Para el control biológico de estos patógenos se sugiere utilizar el hongo antagonista, *Trichoderma*, de este hongo existen al menos dos especies, *T. harzianum* y *T. lignorum*, con varias razas que están disponibles en el mercado, ambos son inhibidores y parásitos de estos y otros patógenos. Existen formulaciones de esporas para aplicarlas en líquido o en polvo en el primer caso, las esporas se pueden adicionar al sistema de riego y aplicar en viveros automatizados; para el segundo caso, las esporas se mezclan en el sustrato, su aplicación se puede hacer cuando se prepara la mezcla con que se llenan los envases (Cibrián *et al.*, 2007).

### **5.2.3. Control Químico**

Cibrián *et al.* (2007) sugiere para la protección de semilla, usar TCMTB se utiliza 2% del peso de la semilla, la semilla tratada con este producto se puede almacenar y la protección permanece por varios meses.

Mendoza (1990) recomienda los fungicidas de contacto Captan y el Thiram para la protección de las semillas.

Los fungicidas sistémicos como Benomyl y Tiabendazol pueden controlar el marchitamiento, pero en la mayoría de los casos los fungicidas no tienen éxito para erradicarlo. Se recomienda la aplicación de Benomyl sobre suelos infestados antes de la plantación ofosfuro de aluminio para disminuir la población del patógeno. Tratar las plantas antes de trasplante con un fungicida sistémico como Tecto o Benlate (por inmersión de la raíz de la planta) así como la esterilización del suelo o sustratos de invernadero con fungicidas (Roldán, 2008).

Los fungicidas, como el Benlate, solo abaten temporalmente la población, ya sea porque muchas de las esporas son capaces de evadir la acción fungicida, o porque los mismos fungicidas pueden actuar como agentes mutagénicos, dan como resultado que varias esporas adquieran resistencia (Romero, 1988).

#### **5.2.4. Control alternativo**

El control alternativo se caracteriza por ser aquel en el que se busca omitir el uso de sustancias de origen sintético, pero que permita mantener a la plaga o enfermedad por debajo del umbral económico, recurriendo así: a moléculas de origen natural, interferir en el comportamiento de la plaga o enfermedad, el uso de atrayentes, repelentes, selección de líneas resistentes, entre otros (Flores, 2005).

### **5.3. Homeopatía**

La homeopatía es una rama de la medicina, es un método médico científico terapéutico de aplicación en seres vivos y con ello se incluye al hombre, a los animales y a las plantas (Flores, 2005). La homeopatía es una palabra griega que significa *Homois* semejante, *pathos* sufrimiento. La máxima de la homeopatía se resume en el “*Similia, Similibus curantur*”, los semejantes son curados por los semejantes. Es una terapéutica implementada por el Dr. Samuel Cristiano Federico Hahnemann, hacia 1795 y que responde a la necesidad de buscar un método científico que pueda curar (Ruiz, 2003).

Si bien surgió como una forma de curar a los seres humanos, la homeopatía no reduce su aplicación a este ámbito, sino que también ha demostrado efectividad en su uso con animales, y actualmente comienza la investigación y uso en vegetales. Las posibilidades de la homeopatía en agronomía son amplias ya que su utilización abarca una gama amplia de conocimientos, por ejemplo: enraizamiento, control fitosanitario, germinación, crecimiento de biomasa, reguladores de crecimiento y otros que apenas comienza su estudio, como la fertilización hidropónica y el control de sales (Ruiz *et al.*, 2001).

#### **5.3.1. Principios de la homeopatía**

##### **5.3.1.1. Ley de los semejantes**

Esta ley indica que el similar se cura con el similar, es decir; que la aplicación de una sustancia en dosis cuantificables genera determinados síntomas o efectos en un organismo sano, pero al aplicar la misma sustancia en dosis mínimas dinamizadas los síntomas o efectos que produce se inhiben, reducen o invierten (Ruiz, 2003; Ruiz, 2007).

El parecido que existe entre los preparados homeopáticos, particularmente con los nosodes<sup>1</sup> y las vacunas es muy alto, ya que ambas parten del organismo patógeno que genera la enfermedad, se realiza un proceso de atenuación (dilución<sup>2</sup>) y posteriormente se aplica en organismos sanos para procurarles inmunidad, sin embargo existen diferencias en torno a que la homeopatía parte de la ley del similar, su método de preparación es muy específico y sencillo, y su uso no solo se reduce al uso de sustancias provenientes del organismo enfermo, sino que es más amplio ya que utiliza sustancias de los reinos vegetal, animal, mineral e incluso de micro organismos patógenos (Ruiz, 2003).

#### **5.3.1.2. Principio de las dosis mínimas**

La dilución extrema realza las propiedades curativas de una sustancia, al tiempo que elimina cualquier posible efecto secundario. Este es seguramente el principio más importante después del principio del similar, su base es la sucusión<sup>3</sup> que le da propiedades específicas y diferentes a las sustancias iniciales que se elaboran por el procedimiento homeopático. Los principios del similar y la dosis mínima dinamizada son fundamentales y en ellos radica la posibilidad de incidir en el proceso que se quiera en la aplicación de la homeopatía y la agrohomeopatía; sin ellos no existe la respuesta favorable del organismo enfermo o dañado.

Si una sustancia se aplica por el principio del similar, no tendrá ningún efecto si no se sucusiona. Se sabe que la sucusión eleva la temperatura de las preparaciones y las hace viscosas, que modifica su potencial de hidrógeno, absorbe parte del aire del recipiente y se modifica la presión atmosférica de la sustancia sucusionada, hay una menor evaporación y en la medida que el soluto de una sustancia se va disminuyendo hasta desaparecer, la dinamización<sup>4</sup> elaborada ya sin soluto aumenta su efecto sobre un organismo vivo. (Ruiz, 2007).

---

<sup>1</sup> Nosode: termino que significa de la misma enfermedad.

<sup>2</sup> Dilución: es difundir o dividir una cantidad dada de medicamento, en diez, cien o más veces, la misma cantidad de agua

<sup>3</sup> Sucusión: movimiento vigoroso ascendente-descendente, que consiste en golpear sobre una superficie firme la mezcla durante 2 min o 200 agitaciones.

<sup>4</sup> Dinamización: termino que se refiere a la elaboración de un medicamento homeopático que de lo ponderable a lo infinitesimal.

#### **5.3.1.3. Principio de la individualidad morbosa**

En relación con la individualidad morbosa, hay que señalar que las plantas son organismos que responden de manera específica a una dinamización homeopática. Por ello la respuesta particular a cada dinamización se debe conocer por medio de la experimentación (Ruiz, 2003).

#### **5.3.1.4. Principio de la individualidad medicamentosa**

Este principio indica que cada dinamización tiene una incidencia específica, es decir, que cada sustancia que se elabora solo tiene un ámbito específico donde actúa (Ruiz, 2003).

Ruiz (2003) menciona que finalmente la *experimentación pura* es la forma más sencilla de conocer el efecto de una sustancia homeopática, ya que un exceso de la misma dará síntomas negativos o incluso la muerte, sin embargo esa sustancia aplicada en forma infinitesimal dará una respuesta positiva, eliminando o inhibiendo los daños o síntomas causados por el exceso de la misma.

### **5.4. Agrohhomeopatía**

La agrohhomeopatía se define como un conocimiento científico que utiliza dosis infinitesimales en la producción agrícola, conforme a los principios de la homeopatía. La agrohhomeopatía cuenta con los principios de la homeopatía, con un método, reglas de preparación, con un procedimiento de experimentación y aplicación. Garantiza que la aplicación de la misma sustancia en forma homeopática incidirá para inhibir o eliminar los síntomas negativos causados por las grandes dosis. Este conocimiento se está desarrollando por la Universidad Autónoma de Chapingo, como parte de su quehacer académico y de investigación. La agrohhomeopatía puede incidir en los procesos biológicos de las plantas al controlar problemas de salud causada por hongos, virus y bacterias, así como contribuir al control de plagas e incidir sobre el crecimiento o decrecimiento de los cultivos (Ruiz, 2003).

#### **5.4.1. Importancia de la agrohomeopatía**

En este sentido la agrohomeopatía representan en este momento los cimientos de una nueva revolución verde, pero que a diferencia con la anterior esta revolución no es contaminante, no es contra la vida, y que servirá de apoyo a los productores, particularmente los de bajos ingresos; fortaleciendo la producción promovida por la agroecología, la agricultura orgánica y ecológica y aún de la agricultura tradicional, que ha servido de base a las modalidades teóricas ocupando un papel importante en la solución de diversos problemas de la agricultura (Ruiz y Castro, 2003).

Las diluciones y sucusiones, son dos partes indispensables para potencializar a las sustancias, además, se trata de una aportación muy importante ya que no arremete ni afecta al medio ambiente, ayudando a restablecer el equilibrio ecológico (Radko, 2006).

Radko (2006) afirma que existen resultados científicamente comprobados en los cultivos que validan su capacidad de modificar al crecimiento, comportamiento de la planta, cantidad, forma de frutos, abundancia del follaje entre otros y puede controlar la mayoría de plagas y enfermedades conocidas.

Ruiz (2003) menciona que una de las ventajas de la homeopatía es que su uso es individualizado, ya que un mismo síntoma y una misma enfermedad toman características particulares en cada individuo, por lo que su tratamiento debe contemplar dicha individualidad, para garantizar que la curación sea real.

La agrohomeopatía será en el futuro muy cercano una de las herramientas de mayor expansión en el campo, atendiendo sobre todo a las mayorías que no alcancen acceder a los costos de la “biotecnología verde” y del enfoque alopático en la agricultura (Radko, 2006).

Hoy en día la agrohomeopatía se concentra hasta ahora entre los pequeños productores en sistemas de agricultura alternativa y de subsistencia (Ruiz y Castro, 2003).

Ruiz (2003) menciona que la agrohomeopatía incluso puede revertir el daño ya efectuado a los suelos por el uso de fertilizantes o pesticidas o de salinidad excesiva. En cada caso, las



experimentaciones ya comprobadas, indicarán la pertinencia de aplicar la dinamización sobre la planta antes de la siembra, durante la siembra o directamente al terreno.

Los fármacos homeopáticos al igual que los plaguicidas botánicos y los microbianos, constituyen una alternativa en la defensa de los cultivos agrícolas encaminados a la producción de vegetales libres de agrotóxicos, al preservar los recursos naturales y reducir los costos de producción (Fajardo *et al.*, 2005).

Radko (2006) menciona que la agrohomeopatía permite tratamientos constitutivos, que actúan con más profundidad sobre los organismos vivos, y permiten estimular la adaptación autoreglativa de los organismos a las nuevas condiciones sin crear una dependencia de la planta frente a las repetidas intervenciones del hombre o crecientes costos de producción.

El creciente interés por un control seguro de plagas que protejan el ambiente y el problema de desarrollo de resistencia, que ocasiona el incremento de las dosis de plaguicidas, implica muchos esfuerzos para desarrollar métodos de control biológico de patógenos de plantas (Rivera, 2009). De acuerdo con lo anterior, es necesario buscar alternativas de control para marchitez, una de ellas es la agrohomeopatía se ha reportado que tiene el potencial de incidir en el proceso agrícola de forma directa a través de la aplicación en el agua de riego de dosis mínimas infinitesimales (Ruíz, 2001), tiene dos estrategias para el control de las plagas y enfermedades e incremento de biomasa, una de ellas es el uso de los fitonosodes, la otra es el uso de sustancias que en dosis cuantificables generen determinados síntomas, los cuales podrán revertirse con el uso en dosis infinitesimales dinamizadas (Ruíz *et al.*, 2001).

#### **5.4.2. Agronosode**

El agronosode es una dinamización homeopática elaborada de una planta enferma, un insecto o un animal, las secreciones de un organismo vivo son el similar más adecuado para eliminar los síntomas (Ruiz, 2003).

Ruíz (2003) señala que el agronosode es la manera más inmediata que los productores pueden contrarrestar los problemas de plagas y sobre todo las enfermedades sin depender

del mercado de agroquímicos, porque en su misma parcela tiene la solución para el control de plagas y enfermedades.

La posibilidad de trabajar con agrosodes, plantas y materiales de cada región facilita su aplicación incluso en lugares aislados donde la gente no tiene acceso a una farmacia homeopática o a un laboratorio especializado y facilita hacer preparados homeopáticos prácticamente a partir de cualquier sustancia. (Ruiz y Castro, 2003).

Las dinamizaciones agrohomoepáticas pueden utilizarse de manera preventiva; por lo que tan luego se tenga el agrosode, podrá utilizarse en el cultivo dañado en ese momento y en los cultivos de los siguientes años para erradicar el daño (Ruiz, 2003).

Brizzi *et al.* (2011) menciona que la misma sustancia que causa la enfermedad puede ser utilizada en dosis bajas o altas diluciones para tratar la misma enfermedad.

Ruiz (2001) señala que hay gran similitud en el uso de organismo patógenos que tiene un nosode y las vacunas, ya que ambos protegen al organismo del daño que puedan generar en los mismos organismos patógenos, ya que el nosode al igual que las vacunas pueden conferirle cierta inmunidad al individuo sano.

Betti *et al.* (2012) menciona que la misma sustancia que causa la enfermedad puede ser utilizada en dosis bajas o altas diluciones para el tratamiento de la enfermedad en sí mismo.

#### **5.4.3. Reglas de preparación**

El método de preparación se retoma de las reglas de elaboración de las dinamizaciones, en total son 9, de las cuales las 6 primeras son para elaborar dinamizaciones líquidas y las 3 restantes para trituraciones de sustancias no solubles en agua, alcohol y agua-alcohol (Sandoval, 1961, citado por Ruiz, 2007) (Cuadro 1).

**Cuadro 1. Reglas de preparación de la dinamizaciones homeopáticas.**

Fuente	Regla	Características	Preparación	Cantidades	Ejemplo
Plantas verdes	1. 60% o más en jugo. Dinamización	Plantas verdes jugosas que no contengan sustancias alcanforosas, resinosas o etéreas.	Tinturas obtenidas de las plantas verdes, cuyo jugo se mezcla con partes iguales de alcohol.	50 – 50%	Belladona, Aconitum n., Allium cepa, Bryonia a., Conium m.
Plantas verdes	2. 60% o más de peso en jugo. Dinamización	Plantas verdes leñosas, frescas que contengan sustancias alcanforosas, resinosas o etéreas.	Se humedecen previamente con alcohol, para que el jugo condensado pase al estado líquido.	2 partes de la planta, 1 parte de alcohol.	Thuja
Plantas verdes	3. 45% o menos. Dinamización	Plantas verdes viscosas, frescas, alcanforosas, resinosas, etéreas.	Tintura obtenida con 2 partes de peso de alcohol.	1 parte de la planta, 2 partes de alcohol.	Árnica, Zábila, Ignatia amara
Plantas y animales	4. Dinamización	Plantas secas, animales secos o vivos.	Tintura preparada con 4 partes, en peso de alcohol	1 parte de la planta o animal, 4 partes de alcohol	Coffea, Apis m., Datura s.
Minerales en soluciones líquidas.	5. Dinamización	a) Soluciones acuosas. 1.- Muy solubles.  b) Soluciones acuosas. 2.- Poco solubles.	Sustancias minerales preparadas con agua.  Sustancias minerales preparadas con agua.	1 parte de la sustancia, 9 partes de agua destilada.  1 parte de la sustancia, 100 partes de alcohol.	Natrum muriaticum, Calcarea caustica, Chlorum
Minerales en soluciones líquidas.	6. Dinamización	a) Soluciones alcohólicas.  1.- Muy solubles.  b) Soluciones alcohólicas.  2.- Poco solubles.	Sustancias minerales preparadas con alcohol.  Sustancias minerales preparadas con alcohol.	1 parte de la sustancia mineral, 9 partes de alcohol.  1 parte de la sustancia mineral, 100 partes de alcohol.	Ferrum muriaticum, Iodum
Minerales y plantas secas.	7. Trituración	Sustancias insolubles en agua y alcohol.	Sustancias medicamentosas secas.	1 parte sustancia medicamentosa, 100 partes de azúcar.	Sulfato de aluminio, Café, Antimonium c.
Venenos animales y sustancias tóxicas	8. Trituración	Sustancias insolubles en agua y alcohol.	Sustancias medicamentosas líquidas	1 gota de la sustancia medicamentosa, 5 gramos de azúcar.	Lachesis t., Crótalus, curaré, Cuprum sulphuricum
Animales vivos, vegetales verdes	9. Trituración	Sustancias solubles en agua y alcohol.	Sustancias animales y vegetales verdes	2 partes en peso de la sustancia, 98 partes de azúcar.	Agrarius muscarius

#### 5.4.4. Dinamización y Dilución

Se denomina dinamización homeopática al preparado elaborado conforme a los principios, procedimiento y reglas de la homeopatía, cuyo proceso va de lo cuantificable a lo infinitesimal. Existen dos formas de dinamización, la sólida que se elabora por medio de la trituración y la líquida elaborada a partir de una tintura madre hidroalcohólica (Ruiz, 2007).

La dinamización es la elaboración del medicamento, y tiene por objeto el desarrollo de la fuerza medicamentosa, por medio de la sucusión (movimiento vigoroso, de forma ascendente y descendente sobre una superficie plana y dura).

Dinamización líquida. La dinamización líquida se elabora a partir de una tintura madre (es la base a partir de la cual se elaborará la dinamización homeopática y consiste en un preparado hidroalcohólico que contiene sustancias solubles en agua, alcohol o agua-alcohol y corresponde a una proporción en pesos del jugo de la sustancia a elaborar y una proporción en alcohol) hidroalcohólica o de sustancias solubles en agua o alcohol (Ruiz, 2007).

Dinamización sólida. En el caso de la trituración la tintura madre se elabora a partir de sustancias que no son solubles en líquidos como agua o alcohol-agua, en este caso se puede aplicar la trituración para hongos que dañan a las plantas más 5 gramos de azúcar de caña, que es la más accesible por ser un producto comercializado. La trituración implica la división molecular hasta la ionización de los cuerpos medicamentosos (Ruiz, 2007).

La dinamización permite que el medicamento se comporte en el organismo de tal modo que no produzca sólo los efectos de su acción farmacológica, sino también el efecto de reacción del organismo al estímulo que actúa de acuerdo a la Ley de la Semejanza, que se incrementa a medida que éste se dinamiza (Luna, 2004).

Dilución es difundir o dividir una cantidad dada de medicamento, en diez, cien o más veces, la misma cantidad de agua. Potencia significa lo mismo que dinamización (Ruiz, 2003).

#### **5.4.5. Escalas**

Existen diversas escalas para elaboración de dinamizaciones, como la decimal (X), la centesimal Hahnemannianna (C), la korsakoviana (K), la cincuenta milésimal (LM) de Hahnemann y la escala Chapingo o unitaria (Ruiz, 2007).

Para la dinamización de las sustancias homeopáticas, se usan básicamente dos escalas decimal y la centesimal. La escala centesimal se basa en que el medicamento (solutivo) debe

estar mezclado al vehículo en proporción 1:99 en todas las dinamizaciones o potencias. Solo hay una variación en la adición cuantitativa de la tintura madre para formar la unidad medicamentosa de las primeras potencias (Ruiz, 2003).

El llamar dosis infinitesimales a las dosis homeopáticas fue planteado por García (1984), para designar el proceso en el cual el soluto va desapareciendo paulatinamente en la medida que se elabora la preparación homeopática hasta desaparecer, sin embargo la dinamización aún en ausencia del soluto continúa teniendo un efecto, ya que las dinamizaciones posteriores a la 12 Centesimal Hahnemanniana y las dinamizaciones medias (30CH, 60CH) o altas (200 CH, 1,000 CH, 10,000 CH o más) ya no contienen el soluto inicial.

Se han observado efectos de potencias homeopáticas en los estudios de plantas, incluso en altas diluciones mucho más allá del número de Avogadro (Majewsky *et al.*, 2009)

En los niveles de dilución muy alta (más allá del límite de Avogadro) la probabilidad de la presencia de moléculas de la sustancia original es próximo a cero (Marschollek *et al.*, 2010).

#### **5.4.6. Frecuencia de aplicación**

La diferencia entre una dinamización baja, media y alta es la frecuencia de aplicación, ya que las dinamizaciones bajas deben aplicarse con mucha frecuencia, puede ser diariamente, en el caso de las dinamizaciones medias, la frecuencia de aplicación es cada 3 días (la 30C) y cada 4 días (la 60C), en el caso de la alta como al 200C, sería cada 15 días. Hay que señalar que como cada organismo es diferente se pueden modificar las frecuencias de aplicación, habrá que observar si el cultivo o el ganado responde adecuadamente a la frecuencia señalada, en caso contrario se puede reducir, incluso dinamizaciones como la 200C, se puede aplicar diariamente, si el organismo al que se aplica responde adecuadamente (Ruiz, 2003).

#### **5.4.7. Agrohomeopatía - Sustentabilidad**

Las ventajas de la aplicación de las dosis infinitesimales se resumen en tres ámbitos: el ecológico ya que las dinamizaciones homeopáticas carecen de toxicidad y por lo mismo no

se daña al ecosistema, ni a los productores y consumidores, se puede lograr la inhibición de una sustancia tóxica en los cultivos, incluso de los suelos, el uso preventivo redundará en un mayor control de las plagas y enfermedades, sobre todo para enfermedades ya conocidas anualmente en cada cultivo, se puede incidir en una mejor inocuidad alimentaria al controlar a los organismos patógenos en la producción pos-cosecha, la aplicación de dinamizaciones en los cultivos genera una resistencia natural a las plagas y enfermedades; el económico se da por el bajo costo de la elaboración de las dinamizaciones, sobre todo por los agronosodos los cuales se elaboran a partir de las plagas y enfermedades que afectan a los cultivos, logrando con ello la independencia del productor, ya que por este medio ya no dependería del mercado de agroquímicos; por último el social porque la aplicación de la agrohomeopatía le puede garantizar alimentos sanos, los cuales redundarán en beneficio de productores y consumidores, ya que al inhibirse el daño por plagas y enfermedades se posibilita mayores volúmenes del cultivo, incidiendo en una mejor calidad de vida y una mejor salud. La agrohomeopatía es una opción para contribuir en mejorar las condiciones de vida de la población (Ruiz, 2003).

La agrohomeopatía se constituye como apoyo a los productores de escasos recursos con la finalidad de obtener la sustentabilidad de las comunidades marginadas y empobrecidas y ofrecerles herramientas en contra de la vorágine capitalista (Ruiz, 2003).

#### **5.4.8. Antecedentes**

La homeopatía, como conocimiento científico, se aplica desde hace más de 200 años. La creó el médico alemán Samuel Cristiano Federico Hahnemann en 1796, partiendo de la experimentación directa, con el convencimiento de que la medicina de la época no funcionaba conforme a principios y de que era inhumana (Ruiz, 2007).

El principio del similar inicialmente lo planteó Hipócrates; consideraba que existían tres formas de curar la enfermedad: mediante los contrarios, mediante los similares y mediante otros. Paracelso recuperó el principio del similar en su práctica médica y planteó que con este principio las enfermedades podían curarse; por eso dijo que lo que produce la ictericia, cura la ictericia (Ruiz, 2007).

Es importante resaltar que los antecedentes se remontan a lo planteado por el padre de la medicina Hipócrates, quien mencionaba que una de las forma de curar era por medio de los similares, con lo que corresponde a él el merito de haberlo planteado, posteriormente fue Paracelso quien volvió a replantear el uso de similares como una forma de lograr la curación. Fue el genio del Dr. Hahnemann quien le dio cuerpo al planteamiento de los similares ya que por medio de “atenuaciones” (dilución), pudo lograr la respuesta del organismo a las sustancias que en cantidades cuantificables causaban determinados síntomas y que en forma atenuada lograba la recuperación del enfermo, aquí es importante resaltar que la atenuación de la sustancia y la dinamización a la que se sometió en cada atenuación hizo posible que la homeopatía tuviese resultado y que sea posible todavía hoy seguirla utilizando de manera segura en la curación de diversas enfermedades, sobre todo de las enfermedades crónicas, a las que la medicina alopática no puede contrarresta (Ruiz, 2003).

Ruiz (2007) menciona que corresponde a la señora Lili Kolisko el planteamiento y el desarrollo práctico de la investigación en agrohomeopatía que ella solamente llamó *La agricultura del futuro* y que es la base para la generación del conocimiento en agrohomeopatía por la posibilidad de utilizar dinamizaciones homeopáticas en plantas y animales.

El estudio preliminar sobre los efectos de los medicamentos homeopáticos en las plantas que se llevó a cabo en el Central Instituto para la Investigación del Algodón Tecnología, Mumbai encontró que los fármacos homeopáticos influyen en la actividad genética de las plantas agrícolas de una manera grande (Gangar, 2010).

La aplicación de la homeopatía por parte de los ingenieros agrónomos en Brasil fue legalizada a través de la agricultura orgánica. El 17 de mayo de 1999, fue publicada en el Diario Oficial de la Unión, por parte de la Secretaría de Agricultura, la Norma no. 007, que abarca a los productos denominados orgánicos, ecológicos, biodinámicos, naturales, sustentables, regenerativos, biológicos y agroecológicos, así como a la permacultura. Incluye medidas sobre la salud ambiental y humana y pretende asegurar la transparencia en todos los pasos de la producción y de la transformación La norma recomienda a la homeopatía para control de plagas y enfermedades (Rossi, 2008; Rossi *et al.*, 2005).

Los productos homeopáticos, de manera general, sí influyeron en el porcentaje de infestación de los patógenos que aparecieron en las semillas que se utilizaron. En la semilla de algarrobo indio se vio un efecto de control del porcentaje de infestación por parte de los productos homeopáticos hacia los patógenos fungosos, *Cladosporium* sp. y *Fusarium* sp. (Fajardo *et al.*, 2005).

En otro trabajo Ruiz *et al.* (2010) señalan que la aplicación del hongo de la roya del trigo (*Puccinia recondita*) es capaz de servir como promotor de crecimiento al aplicarse en forma homeopática a las mismas semillas de trigo.

Meuris (1959) citado por Ruiz *et al.* (2001) menciona que logró el control del pulgón en durazno, utilizando al propio insecto, pero en dosis infinitesimales dinamizadas, con lo que fue posible erradicada el ataque del pulgón de una manera natural.

En este mismo sentido Rodríguez (2000) señala que en el manejo alternativo del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) los productores de Brasil utilizan dinamizaciones homeopáticas de larvas del gusano cogollero, obteniendo que las larvas del gusano cogollero alimentadas con hojas de plantas de maíz tratadas con preparados homeopáticos (Spodoptera CH6, Spodoptera CH30: 10 gotas en 500 ml de agua) , alteran su desarrollo, disminuyen el peso de la larva y pupa y aumenta la velocidad de muerte. No matan; sin embargo, en primera instancia le provocan repelencia a la misma especie y por lo tanto disminuye la población o la plaga desaparece.

#### **5.4.9. Perspectivas de la agrohomeopatía**

Meneses (2011) resalta algunas de las perspectivas del uso de productos homeopáticos:

- Control de enfermedades virales, bacterianas y fungosas
- Control de plagas
- Control de la contaminación en laboratorios de cultivo in vitro.
- Mejoramiento de la absorción de nutrientes.
- Germinación de semillas



## **5.5. *Pinus pseudostrobus* Lindl.**

### **5.5.1. Descripción morfológica**

Este árbol, es uno de los mejores pinos de México que alcanza alturas de 30-40 m y de vez en cuando 45 m, los Árboles, en Michoacán llegan a medir más de 1 m de diámetro, aunque la mayoría de los árboles oscilan entre 40-80 cm de diámetro. El tronco suele ser recto y libre de ramas de 20-30 m en los árboles muy grandes. Las ramas son en su mayoría horizontales y en árboles maduros forman una copa redondeada. Los árboles jóvenes tienen un lugar abierto, forma piramidal con ramas muy separadas (Perry, 1991).

La corteza de los árboles maduros es una corteza gruesa, de color marrón oscuro dividido por profundas fisuras verticales en placas ásperas y escamosas. En la parte superior del tronco, cerca de la parte superior, la corteza se vuelve lisa y de color marrón rojizo. En árboles jóvenes la corteza es lisa y de color rojizo a gris-marrón (Perry, 1991).

Ramillas delgadas y ligeramente hacia arriba se vuelven suaves, bases de brácteas foliares no son decurrentes.

Hojas en fascículos de 5, principalmente delgado (alrededor de 0.7-0.9 mm de espesor) flexible, ligeramente inclinada, 20-25 (a 30) cm de largo, los márgenes finamente aserrados, presente estomas en las superficies dorsal y ventral; canales de resina 2-4 principalmente 3 medios; las paredes exteriores de los endodermo engrosadas haces fibrovasculares 2, contiguas pero distintas. Vainas fascículos marrón claro a oscuro, 12-15 mm de largo, persistente.

Conillos largos y cónicos, las pequeñas escamas gruesas, con una pequeña espina erecta; distribuidos por separado y en grupos de 2-3 sobre pedúnculos rígidos y escamosos.

Conos ovoides a largo-ovoides, ligeramente curvados, casi simétricos, no reflexos, 8-10 cm de largo y 5-7 de ancho (abierto). De color marrón claro, más bien brillantes, distribuidos individualmente y en grupos de dos o de tres en tres sobre pedúnculos cortos que, cuando el cono se cae, por lo general permanecen adheridas a la rama algunas escamas basales. Los conos se abren cuando maduran y caen rápidamente (Perry, 1991).

Escamas de los conos delgadas, dureza media, las apófisis ligeramente elevadas y la quilla ligeramente plana y transversalmente; el umbo dorsal, pequeño, a veces deprimido, no prominente, armado con una pequeña espina, escamas débiles caducifolias.

Semillas pequeñas, de unos 6 mm de largo, de color marrón oscuro, el ala de la semilla articular, 20-23 mm de largo; número de cotiledones 6-9, en su mayoría 8 (Perry, 1991).

### **5.5.2. Distribución**

*P. pseudostrobus* es ante todo un pino mexicano, aunque su alcance se extiende hacia el sur hasta Guatemala. En México se encuentra en Jalisco y hacia el este a lo largo de las montañas de la Cordillera de la Gran Cruz en los estados de Michoacán, México, el Distrito, Morelos, Puebla, Hidalgo, Tlaxcala, Veracruz, Oaxaca, Guerrero y Chiapas. en Guatemala, se ha encontrado en los departamentos de Tolonicapan, Quetzaltenango, Sololá, Chimaltenango, Sacatepéquez y Guatemala. Algunos botánicos indican colecciones de este taxón en Nuevo León, pero los árboles que se encontraron ahí todos tenían bases decurrentes de los brácteas de agujas y por lo tanto no forman parte del grupo *Pseudostrobus* (Perry, 1991).

### **5.5.3. Hábitat**

Esta especie se encuentra en las laderas montañosas a altitudes de 1600-3200 m. sobre las precipitaciones medias su área de distribución es muy variable, pero probablemente promedios 800-1500 mm anuales. Los árboles más grandes se encuentran en elevaciones de 2000-2400 m en el oeste de Michoacán: allí antes de que crece en un suelo profundo volcánico con una precipitación anual de unos 1500 mm. En todo su rango heladas son comunes en las zonas altas durante diciembre y enero. En muchos lugares de México, las especies asociadas son *Abies* spp., *P. montezumae*, *P. douglasiana*., *P. michoacana*, *P. maximinoi* y *P. pringlei* en el sur de México (Oaxaca y Chiapas) *P. pseudostrobus* aparece con menos frecuencia y su rango termina en el centro de Guatemala (Perry, 1991).

#### **5.5.4. Importancia**

Madera de color amarillo claro, bastante suave, pero fuerte y resinosa ligeramente. La madera es de buena calidad y sus largos fustes limpios permiten el uso en aserrío, madera terciada, chapa, triplay, pulpa para papel, caballetes, molduras, jaulas y envases, como barrera de calor y sonido, postes, pilotes, madera para minas, durmientes para ferrocarril, tejamaniles y largueros, combustibles, palillos y fósforos. Asimismo, es muy apreciada en artesanías, ebanistería y muebles finos o de producción seriada, como mesas, butacas, bancos, etc., en las zonas rurales tiene varios usos domésticos (Perry, 1991; INIFAP, 2011).

Es una especie recomendable para plantaciones comerciales, también para su uso ornamental en campos deportivos y parques, debido a que su follaje semicolgante desprende un aroma agradable a resina (INIFAP, 2011).

## VI. METODOLOGÍA

La presente investigación se desarrolló principalmente en el invernadero forestal de la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma Chapingo, en el laboratorio de patología forestal y laboratorio de semillas de la División de Ciencias Forestales y en el vivero forestal de la DICIFO de la UACH.

### 6.1. Obtención de muestras

En el invernadero de la División de Ciencias Forestales fueron sembradas semillas de *Pinus pseudostrabus* Lindl., bajo las siguientes condiciones: sustrato –arena de río- sin desinfectar, exceso de humedad, drenaje deficiente, exceso de sombra, falta de ventilación y alta densidad de siembra, necesarias para propiciar el desarrollo de los hongos patógenos de mayor importancia en el marchitamiento vascular de las plántulas. Esto se realizó con la finalidad de obtener muestras del principal hongo patógeno que está afectando a la especie en cuestión. Con las muestras obtenidas se identificó y se propició el incremento del hongo patógeno para su posterior inoculación y se elaboraron los agronosodes para controlar a *F. oxysporum* sobre *P. pseudostrabus* (Figura 1).



**Figura 1.** Siembra bajo condiciones adversas para la obtención de muestras. **A:** Siembra con exceso de humedad, poca ventilación, exceso de sombra, mal drenaje y sustrato sin desinfectar. **B:** Germinación bajo condiciones adversas. **C:** Plántula con síntomas por infección del patógeno. **D:** Semilla y radícula cubiertas con micelio del hongo patógeno.

## **6.2. Aislamiento de muestras**

En el laboratorio de patología forestal de la División de Ciencias Forestales se realizaron los aislamientos de las muestras para la obtención de la cepa del hongo patógeno para su posterior identificación.

De las muestras obtenidas se realizaron cortes de 1 cm de tejido infectado incluyendo una parte de tejido sano; se lavaron dos veces en cajas de Petri con agua destilada estéril; se desinfectaron en Hipoclorito de Sodio al 1.5% durante un minuto, y se volvieron a lavar dos veces más con agua destilada estéril esto con la finalidad de reducir o eliminar impurezas o contaminantes que pudieran interferir en el aislamiento del patógeno; se colocaron los cortes lavados sobre toallas de papel absorbente estériles durante diez minutos para su secado; con ayuda de una pinza esterilizada los cortes fueron sembrados en cajas de Petri con medio de cultivo PDA (papa- dextrosa-agar) bajo condiciones de asepsia y esterilidad; se sellaron las caja de Petri con papel parafilm para evitar la contaminación del aislamiento y fueron etiquetadas (Figura 2-A,B).

## **6.3. Identificación de hongos presentes en los aislamientos e incremento del inóculo**

Para la identificación de las cepas, se analizaron las características físicas –coloración del micelio y la forma de crecimiento– de los aislamientos. Con los aislamientos que presentaron mayores diferencias físicas se elaboraron preparaciones para su identificación. Las preparaciones se elaboraron bajo condiciones de asepsia, raspando parte del micelio de los aislamientos seleccionados, estas muestras se colocaron sobre portaobjetos y utilizando un microscopio electrónico y claves dicotómicas, se identificaron los macro y microconidios, las fiálides y clamidiosporas. Se comprobó que *Fusarium oxysporum* es el hongo patógeno que está generando los marchitamientos vasculares de las plántulas de *Pinus pseudostrobus* Lindl.

Se realizaron las transferencias necesarias a cajas de Petri con PDA para obtener la purificación de la cepa, con el objeto de incrementar la cantidad necesaria de *F. oxysporum* para inocular semillas y plántulas (Figura 2-C).

#### **6.4. Conservación del inóculo**

Para conservar el inóculo se utilizó una de las cepas puras de *F. oxysporum*, bajo condiciones de asepsia se procedió a tomar trozos de PDA con crecimiento de micelio de la cepa pura del patógeno y colocados en tubos de ensayo con PDA para propiciar su crecimiento y asegurar la conservación de *F. oxysporum*. La conservación se hizo para realizar inoculaciones posteriores a la germinación de las plántulas (Figura 2-D).

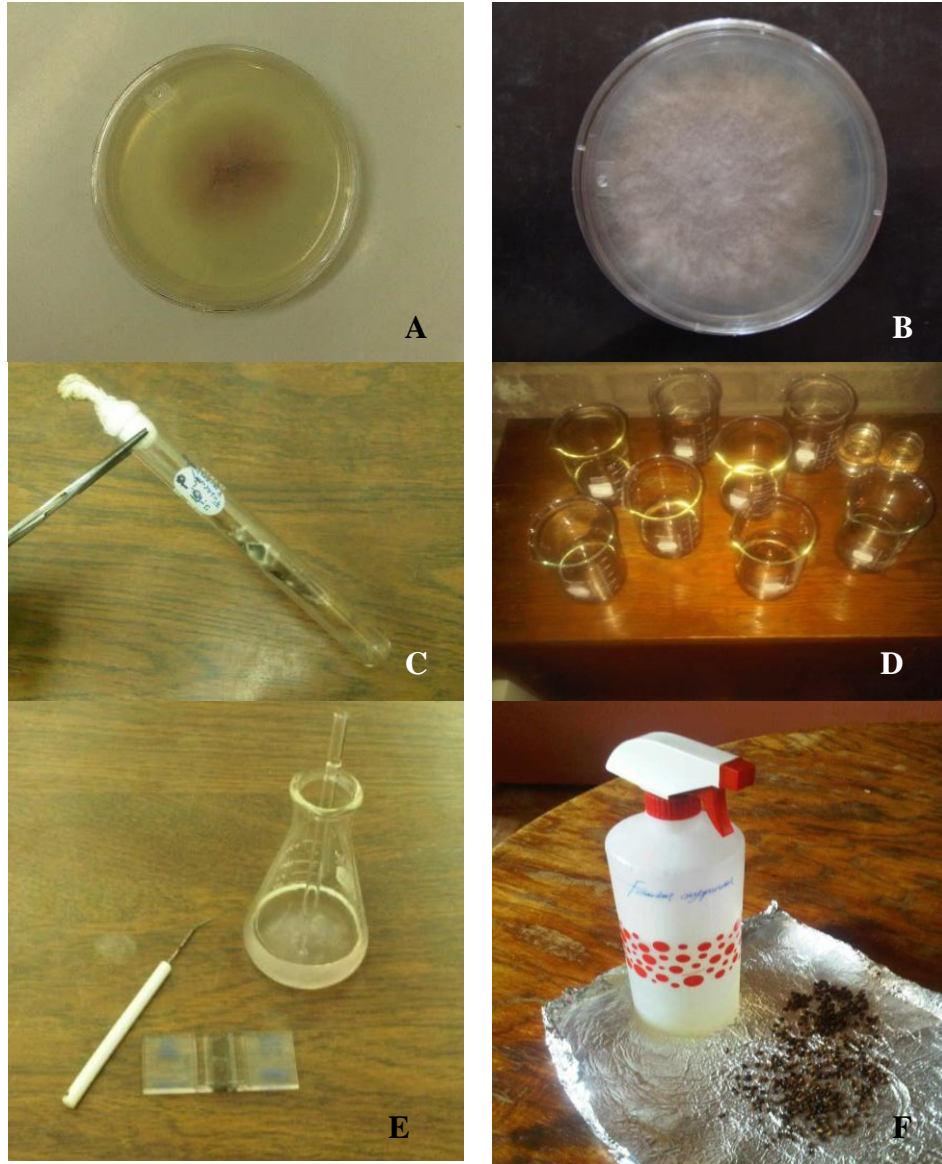
#### **6.5. Concentración del inóculo**

Para determinar la concentración de la mezcla del hongo patógeno para la inoculación de semillas, se utilizó el contenido de 6 cajas de Petri con el incremento *F. oxysporum*. Con una pipeta se agregó agua destilada en cada una de ellas y se raspó la superficie del medio de cultivo utilizando una aguja estéril para desprender los conidios. La suspensión obtenida de cada caja fue diluida en 300 ml de agua destilada estéril, esta cantidad equivale a 1 caja de Petri/50 ml de agua. La dilución se agitó durante un minuto para obtener una distribución homogénea de los conidios. Con una pipeta se colocaron dos gotas de la dilución del patógeno en la cámara de Neubauer con una calibración de 0.0025 mm<sup>2</sup>. Con ayuda del microscopio fue cuantificada la cantidad de micro y macroconidios y se determinó si en la concentración había clamidiosporas. Después de realizar el conteo de conidios por cuadrante se obtuvo un promedio y se multiplicó por un factor de 1000 para determinar la concentración de conidios por mililitro. La concentración aplicada sobre las semillas antes de la siembra fue de  $8.33 \times 10^4$  conidios por ml (Figura 2-E).

#### **6.6. Inoculación del patógeno y aplicación de las dosis sobre semillas.**

Antes de la inoculación del patógeno, las semillas de los tratamientos T1 (Agrohhomeopatía: 10C + *Fusarium oxysporum*), T2 (Agrohhomeopatía: 30C+ *F.oxysporum*), T3 (Agrohhomeopatía: 200C + *F. oxysporum*), T5 (Agrohhomeopatía: 10C), T6 (Agrohhomeopatía: 30C) y T7 (Agrohhomeopatía: 200C) fueron remojadas durante 24 h en una mezcla de agua destilada estéril y la dosis agrohhomeopática correspondiente por tratamiento, es decir, las semillas de los tratamientos T1 y T5 fueron remojadas en agua destilada estéril más la dosis agrohhomeopática 10C, las semillas de T2 y T6 fueron

remojadas en agua destilada estéril más la dosis 30C, las semillas de T3 y T7 se remojaron en agua destilada estéril y la dosis 200C; las semillas de los tratamientos T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) y T8 (Testigo) se remojaron durante 24 h sólo en agua destilada estéril. Después de esto y cuando las semillas estuvieron completamente secas, se aplicaron mediante aspersión, los tratamientos agrohomeopáticos: 10C sobre T1 y T5; 30C sobre T2 y T6, y 200C sobre T3 y T7. Posteriormente se realizó la inoculación de *F. oxysporum* mediante aspersión, utilizando un aspersor manual previamente esterilizado sobre los tratamientos establecidos: T1, T2, T3 y T4. Cuando las semillas estuvieron completamente secas se realizó la siembra (Figura 2-F).



**Figura 2.** A: Aislamiento de las plántulas infectadas y crecimiento de micelio del hongo en PDA. B: Incremento del patógeno en PDA. C: Conservación de la cepa de *F. oxysporum*. D: Remojo de las semillas por tratamiento. E: Concentración del inóculo. F: Inoculación de *F. oxysporum* mediante aspersión sobre semillas de *P. pseudostrobilus*.



## 6.7. Elaboración de agronosodes

Los agronosodes se elaboraron a partir de las muestras obtenidas de plántulas de *Pinus pseudostrobus* infectadas por el hongo patógeno: *Fusarium oxysporum*. Las muestras se obtuvieron de la primera siembra que estuvo bajo condiciones que favorecieron el desarrollo del patógeno. La preparación de los agronosodes estarán basados en los principios homeopáticos: ley de los semejantes y el principio de la dosis mínima, siguiendo la regla homeopática de preparación número siete que consiste en el proceso de trituración para sustancias insolubles en agua y alcohol y se utilizó la escala centesimal 1:99.

La elaboración del agronosode se realizó en dos fases: trituración y dinamización; en la primera fase fueron elaboradas las primeras tres dinamizaciones (1C, 2C y 3C) cuya base consiste en la trituración de azúcar de caña y cortes de tejido infectado por *F. oxysporum*. La primera dosis (Trituración 1C) se elaboró de la siguiente forma: en un mortero fueron agregados 0.05 gramos de plántulas de *P. pseudostrobus* afectadas con *F. oxysporum* (se realizaron cortes de tejido infectado, incluida una parte de tejido sano y raíz) y la tercera parte de 5 g de azúcar, para su posterior trituración durante 6 minutos, después con una cuchara se rasparon las paredes del mortero para desprender la mezcla (4 min), se trituro nuevamente por 6 min y se raspo de igual forma y tiempo, a este primer tercio triturado con el hongo, se agregó el segundo tercio de los 5 g de azúcar, se realizó el mismo procedimiento trituración 6 min, raspado 4 min, repitiendo la trituración y el raspado y finalmente se hace lo mismo con el último tercio. Para elaborar la trituración 2C se tomaron 5 centigramos de 1C se molieron y rasparon, de igual forma y tiempo que el procedimiento anterior, junto con 5 g de azúcar de caña divididos en tres partes; la trituración 3C se elaboró siguiendo método anterior. Para elaborar la dosis 4C se tomaron 5 centigramos de 3C, y se disolvieron en un frasco con 50 gotas de agua destilada estéril y 50 gotas de alcohol de 70°, esta mezcla se sucusionó durante 2 min y se dejó reposar dos minutos más. La segunda fase (dinamizaciones) se realizó con el procedimiento siguiente: para elaborar 5C, con un gotero se tomó una gota de la dinamización anterior -4C- y se mezcló con 99 gotas de alcohol, se sucusionó durante 2 min y se dejó reposar 2 min. Este procedimiento fue repetido hasta obtener las dosis de interés (10C, 30C y 200C) tomando siempre una

gota de la dinamización anterior inmediata y sucusionandola en 99 partes de alcohol para obtener la nueva dosis (Figura 3).



**Figura 3.** A: Medición de cantidades exactas para la elaboración de los agnosodes. B: Trituración de azúcar de caña y cortes de tejido infectado con *Fusarium*. C: Dosis: 1C, 2C, 3C ya trituradas. D: Agnosodes: dosis de interés 10C, 30C y 200C.

## 6.8. Diseño de los tratamientos

Se evaluaron las dosis agrohomeopáticas 10C, 30C y 200C sobre la especie de *P. pseudostrobis* con y sin la inoculación de *F. oxysporum*, más un testigo y *F. oxysporum* inoculado sin tratamiento; cada uno con 5 repeticiones. Las unidades experimentales estuvieron bajo las mismas condiciones de riego, sustrato, fertilización, humedad y temperatura. El diseño de los tratamientos quedó conformado de la siguiente forma:

- T 1 = Agrohomeopatía, Dosis baja: 10 Centesimal + *Fusarium oxysporum*  
 T 2 = Agrohomeopatía, Dosis media: 30 Centesimal + *Fusarium oxysporum*  
 T 3 = Agrohomeopatía, Dosis alta: 200 Centesimal + *Fusarium oxysporum*  
 T 4 = *Fusarium oxysporum* sin tratamiento  
 T 5 = Agrohomeopatía, Dosis baja: 10 Centesimal  
 T 6 = Agrohomeopatía, Dosis media: 30 Centesimal  
 T 7 = Agrohomeopatía, Dosis alta: 200 Centesimal  
 T 8 = Testigo

## 6.9. Preparación del sustrato

Para la preparación del sustrato se utilizaron los siguientes materiales con sus respectivas proporciones: 40% de Peat-moss (turba de musgo), 40% de corteza de pino, 15% de vermiculita y 5% de agrolita, el conjunto de los materiales se revolvió hasta tener una mezcla homogénea, después de esto se agregó 1 kg de osmocote (fertilizante compuesto por Nitrógeno, Fosforo y Potasio de liberación lenta, con la formulación 15-9-12) y se procedió a revolver nuevamente para lograr la distribución homogénea del fertilizante. Después se diluyeron 10 g de micorrizas PHC en 150 L de agua, incorporando la cantidad necesaria de esta dilución sobre el sustrato hasta que estuvo a capacidad de campo (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Cantidad de sustrato utilizado para el llenado de 40 charolas**

Sustrato	Volumen (Litros)	Porcentaje (%)
Peat-moss	90	40
Corteza de pino	90	40
Vermiculita	15	15
Agrolita	5	5
Osmocote	1	-
Total	201	100

Inmediatamente después se procedió al llenado de 40 charolas de 35 cm de largo por 22 cm de ancho, con 40 cavidades por charola y cada cavidad con un diámetro de 4 cm en la parte superior, 2 cm en la parte inferior y 8.5 cm de altura. (Figura 4).



**Figura 4.** **A:** Lavado y desinfección de charolas. **B:** Charolas con 40 cavidades, 35 cm de largo, 22 cm de ancho, diámetro superior de la cavidad 4 cm. **C:** Altura de charolas 8.5 cm, diámetro inferior de la cavidad 2 cm. **D:** Mezcla de sustrato. **E:** Llenado de las charolas. **F:** Charolas llenas con humedad a capacidad de campo listas para la siembra.

### **6.10. Establecimiento de las unidades experimentales y siembra**

En el vivero forestal de la División de Ciencias Forestales se establecieron 40 unidades experimentales, (en cada unidad se sembraron 40 semillas de *Pinus pseudostrabus* Lindl.) esta cantidad corresponde a los 8 tratamientos con 5 repeticiones cada uno.

La siembra se realizó el 10 de Noviembre de 2012. Inmediatamente después del llenado de las charolas con el sustrato con humedad a capacidad de campo, se sembró una semilla por cavidad con una profundidad equivalente a dos veces el tamaño de la semilla. Fueron sembradas 200 semillas por tratamiento, esta cantidad corresponde a una charola de 40 cavidades con cinco repeticiones por tratamiento. Se aplicó un riego ligero después de concluir con la siembra. Las unidades experimentales fueron colocadas completamente al azar en una cama rectangular de 1 m de altura, 1.50 m de ancho y 7 m de largo y las unidades experimentales tenían una separación entre ellas de 30 x 20 cm. Para evitar daños por factores medio ambientales externos como heladas principalmente, que pudieran modificar los resultados esperados, las charolas fueron cubiertas con papel pellón. Está cubierta fue colocada en los días en que presentaron descensos repentinos de temperatura. Para evitar las pérdidas de semillas por depredación de pájaros y daños a las plántulas por vientos extremos se colocó malla sombra sobre la totalidad del experimento (Figura 5).

### **6.11. Frecuencia y aplicación de las dosis**

La aplicación de los tratamientos se realizó con ayuda de aspersores manuales, uno por dosis, los tratamientos fueron preparados de la siguiente forma: se diluyó una gota del agronosode correspondiente en un litro de agua, se sucusionó durante dos minutos y se aplicaron por aspersión, las dinamizaciones fueron realizadas cada vez que se aplicó un tratamiento. La dosis 10C fue aplicada diariamente, la dosis 30C se aplicó cada tercer día y la dosis 200C fue aplicada en un inicio cada quince días pero la continua infección de las plántulas obligo a reducir la frecuencia de aplicación a 7 días entre aplicaciones. Los tratamientos agrohomeopáticos se incorporaron al riego una vez que las semillas fueron sembradas, y se aplicaron sobre el follaje de las plántulas cuando estas empezaron a germinar siguiendo las frecuencias establecidas.



**Figura 5.** **A:** Establecimiento de las unidades experimentales. **B:** Aplicación de las dosis por tratamiento mediante aspersión. **C:** Malla sombra para evitar depredación de las semillas por pájaros. **D:** Cubierta de papel pellón sobre las plántulas para evitar los daños por heladas.

## 6.12. Diseño experimental

Se establecieron 40 unidades experimentales, que corresponden a los 8 tratamientos más cinco repeticiones de cada uno bajo el diseño experimental completamente al azar.

El diseño experimental completamente al azar es el diseño más simple y se usa cuando las unidades experimentales son homogéneas entre sí, es decir cuando, cuando la variación entre ellas es pequeña. Se utiliza preferentemente en experimentos de laboratorio o invernadero porque es posible, en estos casos, mantener en condiciones homogéneas las unidades experimentales que intervienen en el experimento. Aunque se puede utilizar en campo si se tiene la seguridad que las condiciones en la cuales se encuentran las unidades experimentales son básicamente las mismas. Los tratamientos se asignan a las unidades experimentales mediante un mecanismo aleatorio y todos los tratamientos pueden tener un número igual o diferente de repeticiones (Castillo, 2001).

El modelo lineal del diseño completamente al azar:

$$Y_{ij} = \mu + T_i + E_{ij} \quad i = 1, 2, \dots, t \quad j = 1, 2, \dots, r$$

Dónde:

$Y_{ij}$  = Variable respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento

$\mu$  = Media general

$T_i$  = Efecto del tratamiento i.

$E_{ij}$  = Error aleatorio

$t$  = Número de tratamientos

$r$  = Número de repeticiones

Se realizará el análisis de la varianza para el modelo lineal con la finalidad de determinar si existen diferencias entre los tratamientos. Tomando en cuenta la siguiente hipótesis:

$$H_0: T_1 = T_2 = T_3 = \dots T_n$$

vs.

$H_a$ : Al menos el efecto de un tratamiento es diferente al de los demás.

### 6.13. Variables a evaluar

De cada unidad experimental se evaluó el porcentaje de germinación, altura, diámetro de las plántulas, fibrosidad y peso seco de la raíz y se determinó el porcentaje de supervivencia. Todas las variables fueron analizadas mediante el procedimiento PROC GLM del paquete estadístico SAS. Cuando el análisis de varianza (confiabilidad del 95%) indicó que había diferencia significativa en al menos un tratamiento se procedió a realizar la prueba de comparación de medias de Tukey para determinar las agrupaciones estadísticas de los tratamientos. En el caso de las variables binomiales que arrojaron porcentajes, se hizo la transformación angular o de arco seno, para normalizar su distribución antes de realizar el análisis estadístico.

### **6.13.1. Porcentaje de germinación**

El periodo de germinación comenzó el 24 de Noviembre de 2012 y termino el 4 de Enero de 2013, una vez concluido este periodo se realizó la evaluación de todas las unidades experimentales. Para determinar el porcentaje de germinación de forma general y por tratamiento se contabilizaron todas las plántulas de cada unidad experimental por tratamiento añadiendo a la suma total las plántulas extraídas por presentar síntomas y muerte por la infección del patógeno inoculado. Para el análisis estadístico de los porcentajes de germinación, se utilizó la transformación angular o arco seno, esta transformación se aplica a datos binominales representados como porcentajes entre 0 y 100 o proporciones de la muestra total.

### **6.13.2. Altura y diámetro**

Para obtener los datos de la medición de la altura de las plántulas se utilizó una regla graduada en centímetros, la medición se realizó desde la base del tallo hasta el ápice de cada plántula. Para la medición del diámetro se utilizó un vernier electrónico para tener una medición exacta de los incrementos por plántula, las lecturas se tomaron en la base del tallo de las plántulas.

### **6.13.3. Fibrosidad y peso seco de la raíz**

Para obtener los datos de forma y peso seco de la raíz se analizaron 15 plántulas por tratamiento extraídas completamente al azar, en total se extrajeron 120 plántulas de cuatro meses y medio de edad. El análisis se realizó en laboratorio de semillas de la DICIFO.

El análisis de la forma consistió en determinar la fibrosidad de la raíz de las plántulas, para determinar esto se procedió a retirar el sustrato de las raíces para contabilizar el número de raíces laterales mayores a un centímetro de longitud.

Después de haber contabilizado el número de raíces laterales se lavó la parte radical con agua destilada estéril con la finalidad de eliminar partículas de sustrato, después de retirar el exceso de humedad con papel absorbente estéril se realizó un corte en la base del tallo con la finalidad de separar la parte aérea del sistema radical, después de esto las raíces



fueron colocadas en sobres individuales de papel -etiquetados por tratamiento- dentro del horno de secado con una temperatura de 75 °C durante tres días. Una vez que las raíces estuvieron totalmente secas se pesaron individualmente en una báscula para determinar las diferencias entre los tratamientos.

#### **6.13.4. Porcentaje de supervivencia**

La fase en vivero finalizó el 25 de Marzo de 2013, después de haber hecho la segunda medición de altura y diámetro. Se contabilizaron todas las plántulas existentes por tratamiento para determinar el porcentaje general de supervivencia y por tratamiento y con esto determinar la efectividad de las dosis aplicadas para el control de *F. oxysporum*. Para el análisis estadístico de los porcentajes de supervivencia, se utilizó la transformación angular o arco seno, esta transformación se aplica a datos binominales representados como porcentajes entre 0 y 100 o proporciones de la muestra total.

#### **6.14. Inoculación de las plántulas**

Se realizaron dos inoculaciones post-emergentes sobre las plántulas para evaluar la efectividad de los tratamientos. En el laboratorio se realizaron transferencias de una de las colonias puras de *F. oxysporum*, y propiciar su crecimiento en medios de cultivo PDA. Una vez se obtuvo el crecimiento del patógeno se utilizaron 6 cajas de Petri con crecimiento micelial por inoculación, cada una de las cajas del medio de cultivo fue raspada con una aguja estéril y agua destilada estéril para desprender los conidios y fueron diluidas en 300 ml de agua destilada estéril. Se determinó la concentración de la dilución con la cámara de Neubauer que tiene una calibración de 0.0025 mm<sup>2</sup>. Las inoculaciones se aplicaron mediante el método de inyección directa al sustrato utilizando una aguja esterilizada para asegurar que las esporas estuvieran lo más cerca posible del sistema radical de las plántulas. Se realizó el mismo procedimiento para ambas inoculaciones.

#### **6.15. Riegos**

Se realizaron riegos diarios hasta que termino la etapa de germinación, después se aplicaron dependiendo de los requerimientos de humedad del sustrato, en lo general se realizaron cada tres días.

### **6.16. Re-aislamientos e identificación del agente causal de la muerte de plántulas.**

Para determinar si el patógeno inoculado fue el que infectó a las plántulas enfermas, fueron registrados los síntomas observados en las infecciones y muerte de plantas. Todos las plántulas que presentaron síntomas fueron extraídas, clasificadas y etiquetadas dependiendo de la unidad experimental donde se presentó el caso y fueron trasladadas en bolsas individuales de plástico al laboratorio para realizar los aislamientos y posteriormente identificar al agente causal del daño.

Los re-aislamientos se realizaron siguiendo la metodología descrita al principio de este capítulo donde se describe la parte de aislamientos. Se analizaron las características físicas del patógeno como la coloración del micelio en el medio de cultivo y la forma de crecimiento de los hongos. Se identificaron los micro, macroconidios, fialides y clamidosporas; para esto se elaboraron preparaciones para el análisis de las muestras y con un microscopio compuesto y con el programa *Leica Application Suite V3* se midieron las estructuras reproductivas y fueron comparadas con las claves dicotómicas para verificar los resultados. También se tomaron fotografías de las estructuras con el microscopio óptico y la cámara DFC295.

## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1. Inoculaciones post-emergentes

Se aplicaron dos inoculaciones post-emergentes sobre las plántulas para evaluar la efectividad de las dosis agrohomeopáticas en el control de *Fusarium oxysporum*, siguiendo los tratamientos establecidos.

La primera inoculación se aplicó el 10 de Enero de 2013. La concentración aplicada fue de  $5.86 \times 10^4$  conidios por mililitro. La inoculación se realizó inyectando directamente al sustrato 10 ml de solución por plántula utilizando una jeringa esterilizada, con la finalidad de asegurar la cercanía del patógeno con las raíces e incrementar la posibilidad de infección de las plántulas, siguiendo los tratamientos establecidos. Todas las plantas que manifestaron síntomas después de esta inoculación fueron extraídas y llevadas al laboratorio para determinar el agente causal del daño.

La segunda inoculación post emergente se aplicó el 14 de Febrero de 2013 siguiendo la metodología de la inoculación anterior. Aunque la concentración aplicada en esta inoculación fue de  $8.56 \times 10^4$  conidios por mililitro. De igual forma se inyectaron 10 ml de solución por plántula de forma directa al sustrato. Toda plántula con manifestación de daños fue etiquetada por tratamiento y extraída para determinar al agente causal de los síntomas.

La inoculación del patógeno que tuvo un mayor impacto en las plántulas fue la que se aplicó directamente sobre las semillas antes de ser sembradas. En los primeros días después de la primera inoculación post-emergente los casos por infección se mantuvieron constantes, pero fueron disminuyendo gradualmente en tratamientos que recibieron la aplicación de alguna de las tres dosis. Después de la segunda inoculación post-emergente las infecciones disminuyeron drásticamente en todos los tratamientos a excepción del tratamiento T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) que siguió presentado plántulas enfermas con regularidad. Aunque cabe mencionar que los tratamientos T3 (A: 200C + *F. oxysporum*) y T7 (A: 200C) presentaron la mayoría de sus infecciones cuando la dosis se estuvo aplicando con una frecuencia de 15 días pero en cuanto fue modificada a cada 7 días

entre aplicación disminuyeron en gran número la cantidad de plántulas enfermas. T2 (A: 30C + *F. oxysporum*) fue el tratamiento de los que recibieron dosis que mostró una mayor regularidad de infecciones en todo el tiempo que duro la fase en vivero. Y la dosis 10C mantuvo un nivel bajo de infecciones en toda la fase experimental. Todos los tratamientos incluyendo al testigo presentaron plántulas con síntomas de infección por *F. oxysporum*.

## **7.2. Sintomatología de plántulas enfermas**

En cuanto las semillas comenzaron a germinar comenzaron a manifestarse daños característicos del patógeno inoculado, todos los tratamientos establecidos presentaron plántulas con síntomas. En las infecciones pre-emergentes se observó estrangulamiento exactamente por debajo de la cubierta donde se desarrollan las hojas, constricción en la base del tallo, caída de plántulas, marchitamiento y muerte. En las plántulas post-emergentes se observó amarillamiento y empardecimiento general de la plántula, enrollamiento de las hojas, manchas marrones en la parte baja del tallo, constricción de los tejidos en la base del tallo y justo por encima y debajo de él, caída de plántulas, marchitamiento y muerte. En las plántulas con infección descendente se observó amarillamiento de las hojas cercanas al ápice, marchitamiento del ápice y muerte comenzando en la parte superior de la plántula, y reducción del sistema radical por la pudrición de raíces. Al dar por concluido el periodo de germinación se realizó un muestreo para determinar la causa de la muerte de semillas no germinadas en varios casos se observó pudrición y muerte de la radícula justo después de la germinación, el resto de las semilla muestreadas fue llevada al laboratorio de patología para su análisis (Figura 6). Los síntomas observados coinciden con los descritos por Agrios (1998); Cibrián *et al.* (2007); García (2007); Navarro y Rodríguez (2010); Roldan (2008) y Romero (1988).

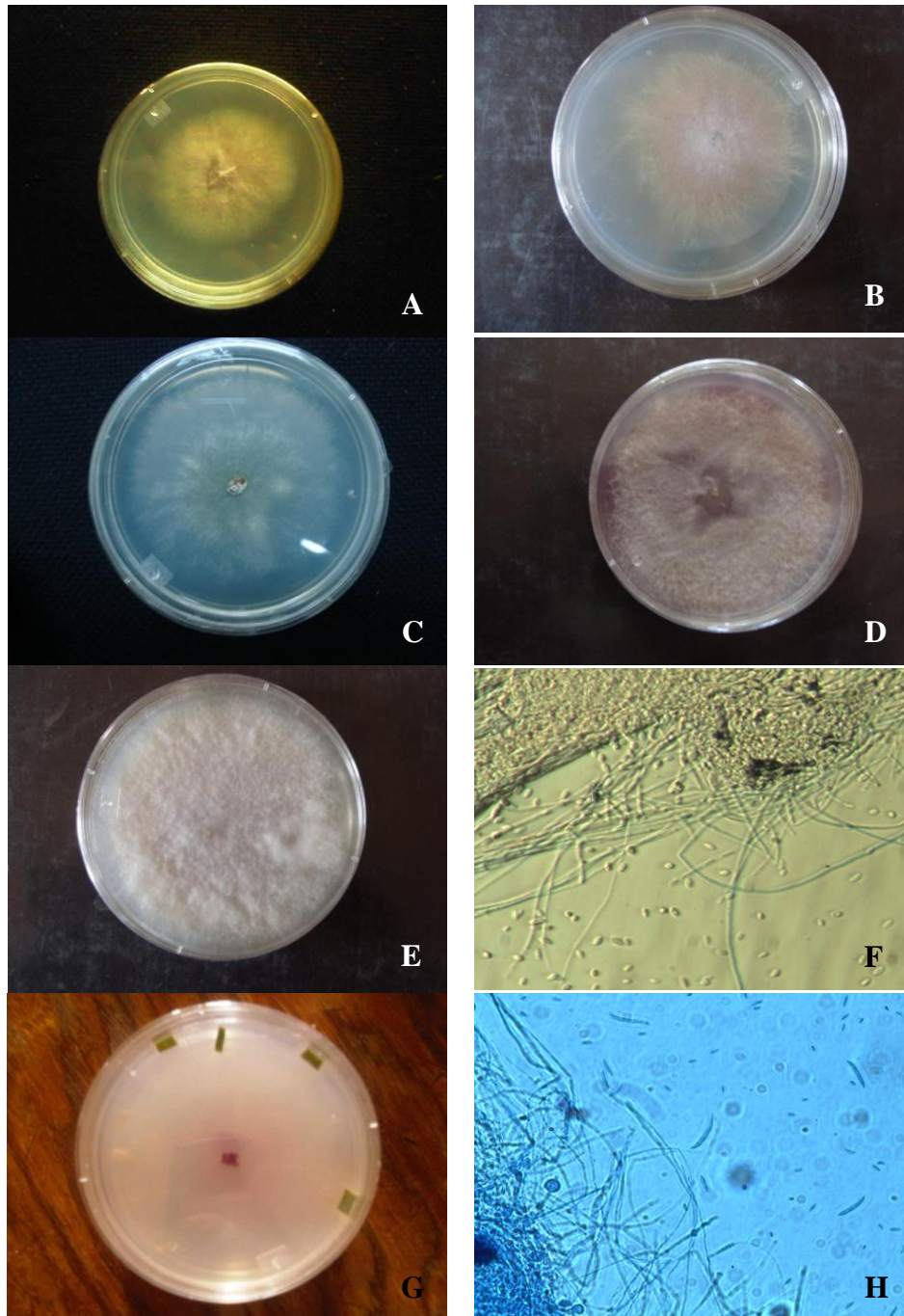


**Figura 6.** **A:** Amarillamiento general de la plántula y enrollamiento de hojas. **B:** Semillas con crecimiento de micelio en la testa. **C:** Infección en etapa pre-emergente. **D:** Empardecimiento general y constricción en la base del tallo. **E:** Infección descendente y doblamiento del ápice. **F:** Muerte de brinjal por infección de patógeno. **H:** Pudrición y muerte de la raíz. **I:** Reducción del sistema radical por infección del patógeno.

### 7.3. Aislamiento e identificación del patógeno

Las plántulas extraídas por presentar síntomas dañinos fueron aisladas en el laboratorio de patología forestal, se realizaron cortes en las partes de la plántula donde se observaron las características típicas de infección por el patógeno, es decir, se aislaron raíces, la base y partes constreñidas del tallo, y radículas de plántulas pre-emergentes, también fueron aisladas las semillas extraídas de las cavidades en las que no se mostraron plántulas germinadas. Los cortes fueron colocados en cajas de Petri con PDA para propiciar el desarrollo del patógeno.

Los re-aislamientos formaron colonias de *Fusarium oxysporum* en las que se observó micelio de color blanco con textura algodonosa en un principio, conforme maduraron adquirieron una coloración desde salmón, rosa claro, violeta y purpura, estas características físicas coinciden con las reportadas por García (2007) y Roldan (2008), con estas cepas se elaboraron preparaciones fijas en las que se observaron las fialides, número de septas. y micro-conidios. Para estimular la esporulación del hongo y obtener macro-conidios y clamidosporas se utilizó el medio de cultivo agua-agar más cortes de hoja de clavel. Con ayuda de un microscopio compuesto y el programa *Leica Application Suite V3* se identificaron las características y dimensiones de las estructuras reproductivas (Figura 7). Las características coinciden con las descritas por García (2007); Rivera (2009); y Holliday (1980).



**Figura 7.** **A:** Crecimiento de *F. oxysporum* en PDA a partir de una raíz infectada. **B:** Crecimiento del patógeno a partir de tallo infectado. **C:** *F. oxysporum* en crecimiento a partir de una semilla infectada. **D:** Micelio en crecimiento con coloración púrpura típica **E:** . Micelio blanco algodonoso característico de *F. oxysporum*. **F:** Micro-conidios. **G:** Medio de cultivo Agua-Agar con hojas de clavel para promover el crecimiento de macro-conidios. **H:** Macro-conidios

#### 7.4. Porcentaje de germinación

Después de promediar los resultados del porcentaje de germinación de los tratamientos, se obtuvo un porcentaje general de germinación de 80.7%, cabe mencionar que en los datos de procedencia del germoplasma utilizado indicaba 90% de porcentaje de germinación.

El mayor porcentaje de germinación se presentó en el tratamiento T5 (Agrohhomeopatía: dosis 10C) con 88.5 %, seguido del tratamiento T8 (Testigo) con 85.5%. Los porcentajes más bajos se obtuvieron en los tratamientos T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento), T3 (A: dosis 200C + *F. oxysporum*) y T6 (A: dosis 30C) que igualaron en porcentaje con 78% respectivamente, el menor porcentaje fue el del tratamiento T7 (A: dosis 200 Centesimal) con 77.5% (Cuadro 4).

Para realizar el análisis estadístico del porcentaje de germinación se realizó la transformación angular o arcoseno de los porcentajes obtenidos. Una vez realizada la transformación de los datos, fueron analizados con una confiabilidad de 95 %. Esta evaluación nos permitirá aceptar o rechazar las hipótesis planteadas para el diseño experimental completamente al azar. De acuerdo con los resultados del ANOVA no existen diferencias significativas entre los tratamientos por lo que se acepta  $H_0$ : todos los tratamientos tienen efectos iguales y se rechaza  $H_1$ : al menos un tratamiento tiene efectos diferentes (Cuadro 3).

**Cuadro 3. Análisis de varianza para el porcentaje de germinación.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	F tabulada	
					0.05	0.01
Modelo	7	0.01791357	0.00255908	1.93 <sup>NS</sup>	2.31	3.26
Error	32	0.04236040	0.00132376			
Total	39	0.06027397				

<sup>NS</sup> No significativo; \* Significativo (P < 0.05); \*\* Altamente significativo (P < 0.01)

Los resultados de la prueba de Tukey confirman la evaluación del análisis de varianza, y nos muestran que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Cuadro 4).



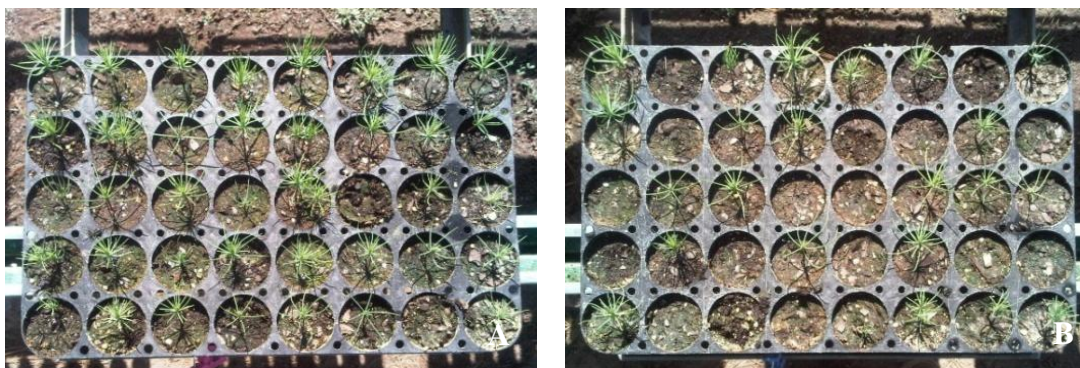
Aunque los resultados de la prueba de Tukey no muestran las diferencias entre los tratamientos se puede observar que el tratamiento T5 (A: dosis 10C) presenta una media de germinación superior al resto de los tratamientos, sin duda es el tratamiento que presenta una mayor influencia en la estimulación de las semillas para germinar, seguido del testigo - T8- que sin tener la influencia de alguna dosis nos muestra la media natural de germinación del germoplasma utilizado. T1 (A: dosis 10C + *F. oxysporum*) tiene una media de germinación aceptable y presenta la mejor respuesta de los tratamientos con inoculación del patógeno además de tener un efecto superior a tratamientos sin patógenos inoculados. Es recomendable la aplicación de la dosis agrohomeopática 10C como tratamiento antes y después de la siembra para la estimulación de la germinación de las semillas (Figura 8).

En este caso se obtuvieron porcentajes de germinación superiores a los obtenidos por Roldán (2008) que reporta para *Pinus pseudostrabus* porcentajes de germinación desde 59% en el mejor tratamiento hasta 32% en el tratamiento más bajo. La media general de germinación obtenida en esta investigación estuvo cercana a la reportada por Don Juan (2006) que tuvo un porcentaje general de germinación de 82.85%.

**Cuadro 4. Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable porcentaje de germinación.**

Tratamiento	Descripción del tratamiento	Media (%)	Agrupación estadística
5	Agrohhomeopatía: dosis 10C	88.5	A
8	Testigo	85.5	A
1	Agrohhomeopatía: dosis 10C + <i>F. oxysporum</i>	81	A
2	Agrohhomeopatía: dosis 30C + <i>F. oxysporum</i>	79	A
3	Agrohhomeopatía: dosis 200C + <i>F. oxysporum</i>	78	A
4	<i>F. oxysporum</i> sin tratamiento	78	A
6	Agrohhomeopatía: dosis 30C	78	A
7	Agrohhomeopatía: dosis 200C	77.5	A

Tratamientos con la misma letra o agrupación no son significativamente diferentes entre sí.



**Figura 8.** Comparación de germinación entre los tratamientos. **A:** Tratamiento con alto porcentaje de semillas germinadas. **B:** Tratamiento con bajo porcentaje de semillas germinadas.

## 7.5. Altura y diámetro después de la primera inoculación post-emergente.

### 7.5.1. Altura 1

La primera medición de altura se realizó el 29 de Enero de 2013, veinte días después de la primera inoculación post-emergente. La altura promedio general fue de 2.64 cm, el tratamiento que presentó mayor crecimiento en altura fue T5 (A: dosis 10 Centesimal) con 2.84 cm, seguido del tratamiento T7 (A: dosis 200C) con 2.70 cm. Los promedios más bajos en altura se presentaron en los tratamientos T3 (A: 200C + *F. oxysporum*) y T2 (A: 30C + *F. oxysporum*) con 2.57 y 2.46 cm respectivamente (Cuadro 6).

Para determinar si existía una diferencia estadística significativa entre los tratamientos, los datos de altura fueron evaluados con el programa SAS con una confiabilidad de  $\alpha=0.05$ .

El análisis del ANOVA nos muestra que existen diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los tratamientos por lo que se rechaza la hipótesis nula en la que todos los tratamientos son iguales y se acepta la hipótesis alternativa que menciona que al menos un tratamiento tiene efectos distintos del resto (Cuadro 5).

**Cuadro 5. Análisis de varianza para la variable altura.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	F tabulada	
					0.05	0.01
Modelo	7	0.42551000	0.06078714	2.69*	2.31	3.26
Error	32	0.72428000	0.02263375			
Total	39	1.14979000				

NS No significativo; \* Significativo (P < 0.05); \*\* Altamente significativo (P < 0.01)

Como se detectó que al menos un tratamiento era diferente del resto se procedió a realizar una prueba de comparación de medias de Tukey.

La prueba de Tukey nos permitió determinar que el mejor tratamiento en la variable altura es T5 (A: 10C) con una media de 2.84 cm, presenta diferencia significativa respecto a T2 (A: 30C + *F. oxysporum*), por tener el mayor incremento de altura. El tratamiento T2 (A: 30C + *F. oxysporum*) presenta el incremento más bajo y se encuentra por debajo del resto de los tratamientos, aunque cabe mencionar que este tratamiento muestra la mejor respuesta en la variable diámetro como se muestra más adelante. El resto de los tratamientos no muestran diferencias significativas entre ellos por lo que se encuentran dentro de la misma agrupación estadística (Cuadro 6). En este caso se recomienda la aplicación de la dosis 10C para estimular el crecimiento en altura.

**Cuadro 6. Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable altura (primera inoculación post-emergente).**

Tratamiento	Descripción del tratamiento	Media (cm)	Agrupación estadística
5	Agrohomeopatía: dosis 10C	2.848	A
7	Agrohomeopatía: dosis 200C	2.706	AB
8	Testigo	2.666	AB
1	Agrohomeopatía: dosis 10C + <i>F. oxysporum</i>	2.640	AB
6	Agrohomeopatía: dosis 30C	2.616	AB
4	<i>F. oxysporum</i> sin tratamiento	2.610	AB
3	Agrohomeopatía: dosis 200C + <i>F. oxysporum</i>	2.570	AB
2	Agrohomeopatía: dosis 30C + <i>F. oxysporum</i>	2.464	B

Tratamientos con la misma letra o agrupación no son significativamente diferentes entre sí.

### 7.5.2. Diámetro 1

La primera medición de la variable diámetro se realizó el 30 de Enero de 2013. El diámetro promedio general fue de 0.91 mm, el tratamiento con mayor diámetro fue T2 (A: 30C + *F. oxysporum*) con 0.95 mm, seguido del tratamiento T3 (A: 200C + *F. oxysporum*) con 0.93 mm. Los promedios más bajos de esta variable se obtuvieron en los tratamientos T8 (Testigo) y T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) con 0.89 y 0.86 mm respectivamente (Cuadro 8).

Para determinar si existe una diferencia estadística significativa entre los tratamientos, los datos de diámetro fueron evaluados con el programa SAS con una confiabilidad de 95 %.

El análisis de varianza nos indica que no existen diferencias significativas entre los tratamientos por lo que se acepta la hipótesis nula en la que todos los tratamientos son iguales y se rechaza la hipótesis alternativa que menciona que al menos un tratamiento tiene efectos distintos del resto (Cuadro 7).

**Cuadro 7. Análisis de varianza para la variable diámetro.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	F tabulada	
					0.05	0.01
Modelo	7	0.02283000	0.00326143	1.22 <sup>NS</sup>	2.31	3.26
Error	32	0.00267250	0.00267250			
Total	39	0.10835000				

<sup>NS</sup> No significativo; \* Significativo (P < 0.05); \*\* Altamente significativo (P < 0.01)

Los resultados de la prueba de Tukey confirman la evaluación del análisis de varianza y nos muestran que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Cuadro 8).

Aunque los resultados de la prueba de Tukey no muestran las diferencias entre los tratamientos se puede observar que el tratamiento T2 (A: 30C + *F. oxysporum*) tiene un mayor incremento en diámetro superando al resto de los tratamientos que tienen medias similares entre ellos, T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) es claramente el tratamiento con el promedio más bajo, aquí puede observarse que la presencia del patógeno sin tratamiento

comienza a influir negativamente en el incremento en esta variable (Cuadro 8). Al realizar la comparación los resultados de las variables altura y diámetro posterior a la primera inoculación post-emergente se observa que los promedios más bajos en cuanto a altura son los más altos en la variable de diámetro.

**Cuadro 8. Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable diámetro (primera inoculación post-emergente).**

Tratamiento	Descripción del tratamiento	Media (mm)	Agrupación estadística
2	Agrohomeopatía: dosis 30C + <i>F. oxysporum</i>	0.950	A
3	Agrohomeopatía: dosis 200C + <i>F. oxysporum</i>	0.932	A
1	Agrohomeopatía: dosis 10C + <i>F. oxysporum</i>	0.922	A
6	Agrohomeopatía: dosis 30C	0.922	A
7	Agrohomeopatía: dosis 200C	0.914	A
5	Agrohomeopatía: dosis 10C	0.902	A
8	Testigo	0.890	A
4	<i>F. oxysporum</i> sin tratamiento	0.868	A

Tratamientos con la misma letra o agrupación no son significativamente diferentes entre sí.

## 7.6. Altura y diámetro después de la segunda inoculación post-emergente.

### 7.6.1. Altura 2

La segunda medición de altura se realizó el 23 de Marzo de 2013 un mes después de haber aplicado la segunda inoculación post-emergente del patógeno. La altura promedio general fue de 6.13 cm, este promedio presenta un incremento de 3.49 cm respecto a la media general de la primera medición de altura que fue de 2.64 cm. T5 (A: 10C) es el tratamiento que presenta un mayor incremento con 6.51 cm, seguido de T7 (A: 200C) con 6.40 cm y T6 (A: 30C) con 6.21 cm, estos tres tratamientos presentan una media superior al promedio general de esta variable. Los tratamientos con menor incremento fueron T2 (A: 30C + *F. oxysporum*) y T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) con 5.86 y 5.85 cm respectivamente (Cuadro 10).

Después de evaluar los datos con una confiabilidad de 95 %, el análisis de varianza nos indica que no existen diferencias significativas entre los tratamientos por lo que se acepta la hipótesis nula en la que todos los tratamientos tienen efectos iguales (cuadro 9).

**Cuadro 9. Análisis de varianza para la variable altura.**

<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Suma de cuadrados</b>	<b>Cuadrados medios</b>	<b>F calculada</b>	<b>F tabulada</b>	
					<b>0.05</b>	<b>0.01</b>
<b>Modelo</b>	7	2.01655750	0.28807964	1.27 <sup>NS</sup>	2.31	3.26
<b>Error</b>	32	7.26108000	0.22690875			
<b>Total</b>	39	9.27763750				

<sup>NS</sup> No significativo; \* Significativo (P < 0.05); \*\* Altamente significativo (P < 0.01)

Los resultados de la prueba de Tukey confirman la evaluación del análisis de varianza, y nos muestran que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Cuadro 10).

Aunque el análisis estadístico en esta variable no muestra diferencias puede observarse que la mayoría de los tratamientos con aplicación agrohomeopática tienen medias superiores al testigo -T8-, solo el tratamiento T2 con aplicación de la dosis 30C más *F. oxysporum* está por debajo de este, esto se debe a que este tratamiento influye en la variable diámetro como se verá más adelante. T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) sigue manifestándose como el tratamiento con menor incremento en altura. Aunque el análisis estadístico no indique diferencia se recomienda la aplicación de las dosis 10C y 200C para la estimulación de crecimiento en altura.

**Cuadro 10. Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable altura (segunda inoculación post-emergente).**

Tratamiento	Descripción del tratamiento	Media (cm)	Agrupación estadística
5	Agrohhomeopatía: dosis 10C	6.514	A
7	Agrohhomeopatía: dosis 200C	6.404	A
6	Agrohhomeopatía: dosis 30C	6.210	A
3	Agrohhomeopatía: dosis 200C + <i>F. oxysporum</i>	6.144	A
1	Agrohhomeopatía: dosis 10C + <i>F. oxysporum</i>	6.088	A
8	Testigo	5.974	A
2	Agrohhomeopatía: dosis 30C + <i>F. oxysporum</i>	5.866	A
4	<i>F. oxysporum</i> sin tratamiento	5.850	A

Tratamientos con la misma letra o agrupación no son significativamente diferentes entre sí.

### 7.6.2. Diámetro 2

La segunda medición de diámetro se realizó el 24 de Marzo de 2013 aproximadamente un mes después de haber aplicado la segunda inoculación post-emergente. El diámetro promedio general fue de 1.41 mm, la segunda medición presento un incremento de 0.50 mm con respecto a la media general de la primera medición de diámetro que fue de 0.91 mm. En este caso T2 (A: 30C + *F. oxysporum*) es el tratamiento que presenta un mayor incremento en diámetro con 1.57 mm, seguido de T3 (A: 200C + *F. oxysporum*) y T1 (A: 10C + *F. oxysporum*) con 1.49 y 1.48 respectivamente y presentan una media superior al promedio general de esta variable. Los tratamientos más bajos en diámetro fueron T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) y el testigo - T8 - con 1.29 y 1.26 mm respectivamente (Cuadro 12).

Después de realizar el análisis de varianza con una confiabilidad  $\alpha=0.05$  se rechaza la hipótesis nula en la que todos los tratamientos son iguales y se acepta la hipótesis alternativa en la que al menos un tratamiento tiene efectos diferentes al resto (Cuadro 11).

**Cuadro 11. Análisis de varianza para la variable diámetro.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	F tabulada	
					0.05	0.01
<b>Modelo</b>	7	0.37319000	0.05331286	7.03**	2.31	3.26
<b>Error</b>	32	0.24276000	0.00758625			
<b>Total</b>	39	0.61595000				

<sup>NS</sup> No significativo; \* Significativo (P < 0.05); \*\* Altamente significativo (P < 0.01)

Como se detectó que al menos un tratamiento era diferente del resto se procedió a realizar la prueba Tukey para comparar las medias de esta variable.

La prueba de Tukey nos permitió determinar que el mejor tratamiento en la variable diámetro es T2 (A:30C + *F. oxysporum*) que se presenta diferencias altamente significativas con respecto a el testigo - T8 - y T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento), siendo además el mejor tratamiento con inoculación del hongo patógeno, los tratamientos T3 (A:200C + *F. oxysporum*) y T1 (A:10C + *F. oxysporum*) son estadísticamente similares y también presentan diferencias altamente significativas con respecto a el testigo - T8 - y T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) por presentar un incremento aceptable a pesar lidiar con la inoculación de patógenos. Por debajo de ellos se encuentra T5 (A: 10C) que es el mejor tratamiento de los que no recibieron inoculación. T7 (A: 200C) y T6 (A: 30C) respondieron de forma similar y presentan medias por debajo del promedio general. Los tratamientos más bajos pertenecen a la misma agrupación estadística y fueron aquellos que no recibieron alguna de las dosis aplicadas, en esta agrupación están el testigo - T8 - y T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) (Cuadro 12). En conclusión se recomienda la aplicación de la dosis 30C que estimula el crecimiento en diámetro al evitar que los patógenos infecten y detengan el desarrollo de las plántulas. Al realizar comparación con la variable altura se puede observar que el tratamiento T2 (A: 30C + *F. oxysporum*) tiene una de las medias más bajas en incremento de altura, sin embargo es el que presenta el mayor incremento en diámetro.



**Cuadro 12. Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable diámetro (segunda inoculación post-emergente).**

Tratamiento	Descripción del tratamiento	Media (mm)	Agrupación estadística
2	Agrohhomeopatía: dosis 30C + <i>F. oysporum</i>	1.572	A
3	Agrohhomeopatía: dosis 200C + <i>F. oysporum</i>	1.492	AB
1	Agrohhomeopatía: dosis 10C + <i>F. oysporum</i>	1.486	AB
5	Agrohhomeopatía: dosis 10C	1.426	ABC
7	Agrohhomeopatía: dosis 200C	1.386	BC
6	Agrohhomeopatía: dosis 30C	1.378	BC
4	<i>F. oysporum</i> sin tratamiento	1.292	C
8	Testigo	1.268	C

Tratamientos con la misma letra o agrupación no son significativamente diferentes entre sí.

### 7.7. Fibrosidad de la raíz

Se realizó la cuantificación de la cantidad de raíces laterales de las plántulas para determinar la fibrosidad de cada tratamiento. El número promedio general de raíces laterales mayores a 1 cm de longitud fue de 35/planta, el mayor número de raíces se presentó en el tratamiento T6 (A: 30C) con 39.6, seguido de T1 (A: 10C + *F. oxysporum*) con 39.4, la menor cantidad de raíces se presentaron en los tratamientos T8 (testigo) y T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) con 30 y 24.6 respectivamente (Cuadro 14).

Para determinar si existe una diferencia estadística significativa los datos fueron evaluados con una confiabilidad de 95 %. De acuerdo con los resultados del análisis de varianza se acepta la hipótesis alternativa en la que al menos un tratamiento es diferente al resto y se rechaza la hipótesis nula (Cuadro 13).

**Cuadro 13. Análisis de varianza para la variable fibrosidad de la raíz.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	F tabulada 0.05	F tabulada 0.01
Modelo	7	891.100000	127.300000	4.19**	2.31	3.26
Error	32	972.800000	30.400000			
Total	39	1863.900000				

<sup>NS</sup> No significativo; \* Significativo (P < 0.05); \*\* Altamente significativo (P < 0.01)

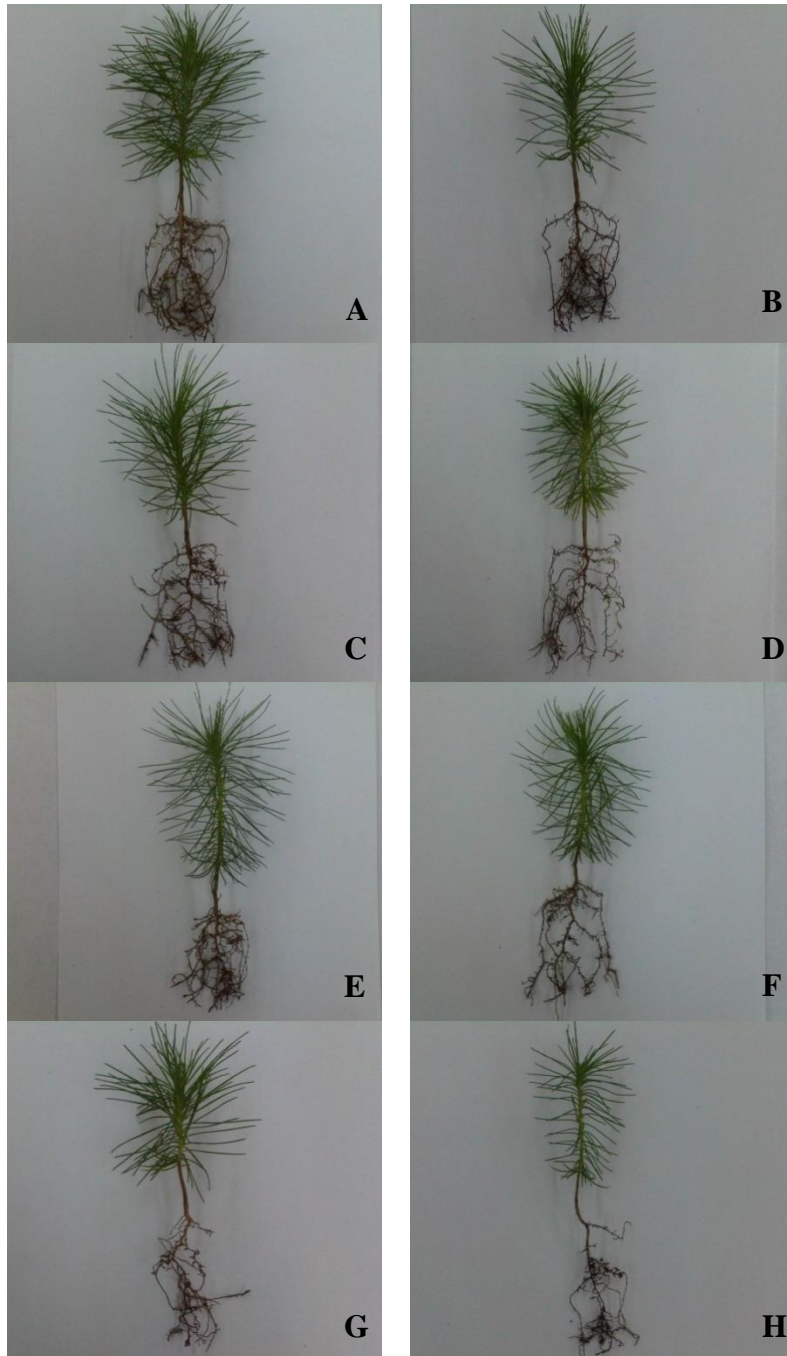
Como se detectó que al menos un tratamiento era diferente del resto se procedió a realizar una prueba de comparación de medias de Tukey.

Los resultados de la comparación de medias de Tukey nos permitieron determinar los mejores tratamientos para esta variable. En este caso T6 (A: 30C), T1 (A: 10C + *F. oxysporum*) y T5 (A: 10C) presentan diferencias altamente significativas con respecto al tratamiento T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) por ser los que presentan un mayor número de raíces laterales en su sistema radical. T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) es el tratamiento que tuvo la menor cantidad de raíces laterales por lo que está por debajo de todos los tratamientos. Los tratamientos T3 (A: 200C + *F. oxysporum*), T2 (A: 30C + *F. oxysporum*), T7 (A: 200C) y T8 (Testigo) que no son significativamente diferentes entre ellos, pero están por arriba de T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) (Cuadro 14). La presencia del patógeno cerca del sistema radical afecta directamente el desarrollo de nuevas raíces y reduce la presencia de las ya existentes al pudrir las. Un sistema radicular fibroso tiene una mayor área de absorción de nutrientes y un gran número de puntas de raíces activas, que benefician el establecimiento de plántulas en el campo (Davis y Douglass, 2005). En conclusión se recomienda la aplicación de las dosis 30C y 10C que al evitar los daños por *F. oxysporum* en el sistema radical propiciarán el crecimiento de raíces laterales en las plántulas (Figura 9).

**Cuadro 14. Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable fibrosidad de la raíz.**

Tratamiento	Descripción del tratamiento	Media (número)	Agrupación estadística
6	Agrohhomeopatía: dosis 30C	39.6	A
1	T1. Agrohhomeopatía: dosis 10C + <i>F. oxysporum</i>	39.4	A
5	Agrohhomeopatía: dosis 10C	37.4	A
3	Agrohhomeopatía: dosis 200C + <i>F. oxysporum</i>	35.6	AB
2	T2. Agrohhomeopatía: dosis 30C + <i>F. oxysporum</i>	35.0	AB
7	Agrohhomeopatía: dosis 200C	34.8	AB
8	Testigo	30.0	AB
4	<i>F. oxysporum</i> sin tratamiento	24.6	B

Tratamientos con la misma letra o agrupación no son significativamente diferentes entre sí.



**Figura 9.** Comparación de la cantidad de raíces laterales (fibrosidad) entre los tratamientos. **A:** T6 (A: 30C). **B:** T1 (A: 10C + *F. oxysporum*). **C:** T5 (A: 10C). **D:** T3 (A: 200C + *F.oxysporum*). **E:** T2 (A: 30C + *F. oxysporum*). **F:** T7 (A: 200C). **G:** T8 (Testigo). **H:** T4 (*F.oxysporum* sin tratamiento).

## 7.8. Peso seco de la raíz

El promedio general de peso seco de la raíz fue de 0.075 g, los tratamientos que registraron el mayor peso fueron T6 (A: 30C) y T7 (A: 200C) que igualaron con 0.086 g, seguidos de los tratamientos T1 (A: 10C + *F. oxysporum*) y T5 (A: 10C) que registraron de igual forma 0.082 g, los pesos más bajos se encontraron en el tratamiento T2 (A: 30C + *F. oxysporum*) y T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) con 0.063 y 0.060 g respectivamente (Cuadro 16).

Después de evaluar los datos de altura con una confiabilidad  $\alpha = 0.05$ , el análisis de varianza nos indica que no existen diferencias significativas entre los tratamientos por lo que se acepta la hipótesis nula en la que todos los tratamientos tienen efectos iguales (cuadro 15).

**Cuadro 15. Análisis de Varianza de la variable peso seco de la raíz.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	F tabulada	
					0.05	0.01
<b>Modelo</b>	7	0.00394550	0.00056364	2.93 <sup>NS</sup>	2.31	3.26
<b>Error</b>	32	0.00615440	0.00019232			
<b>Total</b>	39	0.01009990				

<sup>NS</sup> No significativo; \* Significativo (P < 0.05); \*\* Altamente significativo (P < 0.01)

Los resultados de la prueba de Tukey confirman la evaluación del análisis de varianza, y muestran que no existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos (Cuadro 16).

Aunque no se resalten las diferencias en la comparación de medias de Tukey, puede observarse que los tratamientos T7 (A: 200), T6 (A: 30C), T5 (A: 10C) y T1 (A: 10 C + *F. oxysporum*) presentan medias superiores al testigo por lo que tuvieron una mayor ganancia en la densidad de sus raíces, los tres primeros tratamientos no tuvieron patógenos inoculados cerca del sistema radical lo que permitió que las raíces ganaran volumen. T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) presenta el peso más bajo de todos, sin duda la presencia de *F. oxysporum* sin tratamiento afecta directamente el desarrollo óptimo de la raíz. En conclusión se recomienda aplicar las dosis 200C y 30C que proporcionaron volumen y densidad en las raíces.

**Cuadro 16. Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable peso seco de la raíz.**

Tratamiento	Descripción del tratamiento	Media (gr)	Agrupación estadística
7	Agrohhomeopatía: dosis 200C	0.0856	A
6	Agrohhomeopatía: dosis 30C	0.0856	A
5	Agrohhomeopatía: dosis 10C	0.0824	A
1	Agrohhomeopatía: dosis 10C + <i>F. oysporum</i>	0.0822	A
8	Testigo	0.0714	A
3	Agrohhomeopatía: dosis 200C + <i>F. oysporum</i>	0.0662	A
2	Agrohhomeopatía: dosis 30C + <i>F. oysporum</i>	0.0630	A
4	<i>F. oysporum</i> sin tratamiento	0.0600	A

Tratamientos con la misma letra o agrupación no son significativamente diferentes entre sí.

### 7.9. Porcentaje de supervivencia

Una vez concluida la toma de datos de altura y diámetro después de la segunda inoculación post-emergente se contabilizaron 1209 plántulas existentes en total lo que representa un promedio general de supervivencia de 93.6%. El mayor porcentaje de supervivencia se presentó en los tratamientos T5 (A: 10C) y T7 (A: 200C) con 97.2 y 96.8 respectivamente, seguido del tratamiento T8 (Testigo) con 95.9%. Los porcentajes más bajos se obtuvieron en los tratamientos T2 (A: 30C + *F. oxysporum*) y T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) con 93 y 83.3 % respectivamente (Cuadro 18).

Para poder realizar el análisis estadístico del porcentaje de sobrevivencia se realizó la transformación angular o arcoseno de los porcentajes obtenidos. Una vez realizada la transformación de los datos, fueron analizados con una confiabilidad de 95 %. De acuerdo con el análisis de varianza se rechaza  $H_0$  y se acepta  $H_1$ : al menos un tratamiento es distinto del resto (Cuadro 17).

**Cuadro 17. Análisis de varianza para la variable porcentaje de supervivencia.**

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	F tabulada	
					0.05	0.01
<b>Modelo</b>	7	0.01927797	0.00275400	7.29**	2.31	3.26
<b>Error</b>	32	0.01209600	0.00037800			
<b>Total</b>	39	0.03137397				

<sup>NS</sup> No significativo; \* Significativo (P < 0.05); \*\* Altamente significativo (P < 0.01)

Como se detecto que al menos un tratamiento era diferente del resto se procedió a realizar una prueba Tukey para la comparación de medias de los tratamientos.

Los resultados de la prueba de Tukey indican que existen diferencias altamente significativas. Todos los tratamientos presentan diferencias altamente significativas respecto al tratamiento T4 (*F. oxysporum* sin tratamiento) que se encuentra por debajo de ellos por tener el porcentaje más bajo en esta variable. Esto nos muestra que la presencia de *Fusarium oxysporum* sin recibir los tratamientos que eviten su propagación disminuirá en altos porcentajes la población total de plántulas. En este caso en solo 4 meses y medio la cantidad de plántulas se redujo en un 17%. En el resto de los tratamientos no tienen diferencias significativas entre ellos lo que nos indica que todas las dosis aplicadas tuvieron un efecto positivo en el control del patógeno igualándose con el testigo que nos muestra la media natural de supervivencia del germoplasma utilizado (Cuadro 18). Se aprecia un mejor control del hongo patógeno con las dosis 10C por lo que se recomienda su aplicación para evitar daños por la infección de *F. oxysporum*. Cabe mencionar que la aplicación de la dosis 200C mostro una franca recuperación cuando se modificó la frecuencia de aplicación de quince a siete días, después de esto disminuyeron casi en su totalidad las infecciones que se venían presentando en T3 (A: 200C + *F. oxysporum*) y T7 (A: 200C) por lo que también se recomienda para el control efectivo de *F. oxysporum* (Figura 10).

Roldan (2008) reporto que el porcentaje de sobrevivencia del número de plántulas de *Pinus pseudostrobus* Lindl. germinadas que recibieron inoculaciones post-emergentes del patógeno *F. oxysporum* hasta el momento de concluir la fase de vivero fue de 80%.

La efectividad del control de *F. oxysporum* con métodos agrohombopáticos coinciden con los resultados obtenidos por Rivera (2009) que afirma que el método alternativo

agrohomeopático para el control de marchitez provocado por *F. oxysporum* en chile poblano permite la sobrevivencia de las plantas en igual porcentaje de severidad e incidencia que el tratamiento químico y resalta la capacidad de la agrohomeopatía para modificar el crecimiento, comportamiento de la planta y el control de enfermedades conocidas.

Navarro y Rodríguez (2010) reportan que a nivel general en el experimento se tuvo una sobrevivencia promedio de 8.2 plantas por charola, lo que nos indica que *F. oxysporum* afecta severamente la producción de *P. patula* a todo lo largo del ciclo de producción en vivero, provocando una mortandad promedio de 73.2 % en los tratamientos en que se inoculó.

**Cuadro 18. Prueba de Tukey para determinar las diferencias entre los tratamientos en la variable porcentaje de supervivencia.**

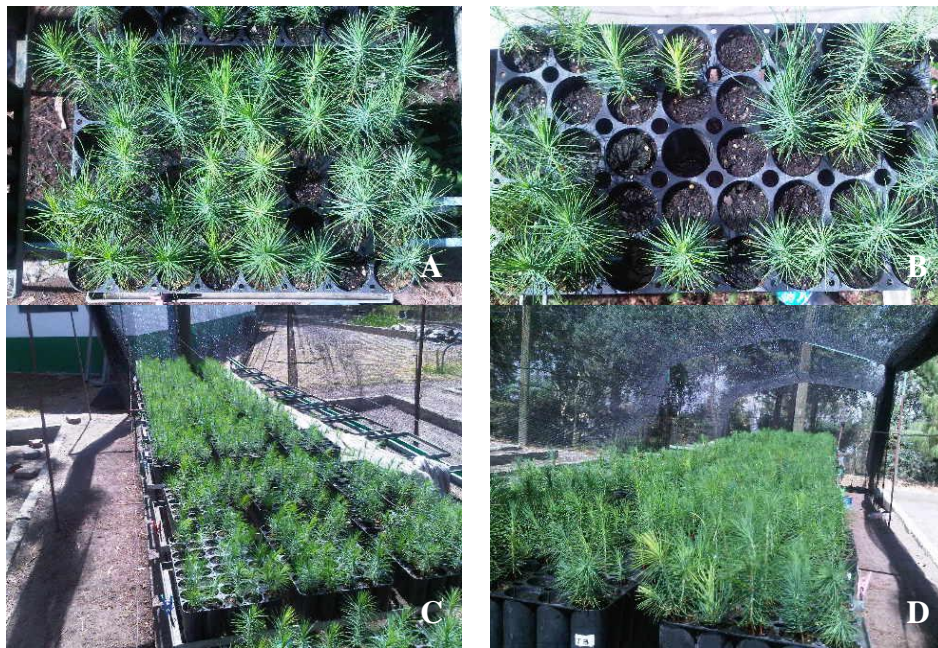
Tratamiento	Descripción del tratamiento	Media (%)	Agrupación estadística
5	Agrohomeopatía: dosis 10C	97.2	A
7	Agrohomeopatía: dosis 200C	96.8	A
8	Testigo	95.9	A
1	T1. Agrohomeopatía: dosis 10C + <i>F. oxysporum</i>	94.4	A
6	Agrohomeopatía: dosis 30C	94.2	A
3	Agrohomeopatía: dosis 200C + <i>F. oxysporum</i>	93.6	A
2	Agrohomeopatía: dosis 30C + <i>F. oxysporum</i>	93.0	A
4	<i>F. oxysporum</i> sin tratamiento	83.3	B

Tratamientos con la misma letra o agrupación no son significativamente diferentes entre sí.

Dentro del contexto de saber cómo es que funciona la agrohomeopatía dentro de las plantas, Rivera (2009) menciona que se desconoce el mecanismo de defensa que la planta desarrolla a través de las aplicaciones periódicas del tratamiento, pero es posible que una vez que el patógeno inicia la infección en las plantas de chile poblano tratadas con agrohomeopatía, esta podría activar en la planta mecanismos genéticos de resistencia o desarrollar cambios en su estructura anatómica, engrosando su cutícula o produciendo más ceras, que detuvieran el crecimiento intercelular de las hifas, se sugiere realizar análisis fisiológicos para saber si la planta produce tales reacciones genéticas y anatómicas a partir

de la aplicación de agrohomeopatía que reduzcan la patogenicidad y estudios morfológicos e histológicos en el tejido de plantas inoculadas para determinar si produce cambios estructurales en cutícula, epidermis u algún otro órgano vegetal.

Una de las razones de la relativa marginación de la agrohomeopatía consiste en que se basa en experiencias prácticas, aunque se han realizado varios intentos, no existe aún una teoría generalmente aceptada, que pueda explicar su funcionamiento (Guajardo, 1996).



**Figura 10.** Comparación de los porcentajes de sobrevivencia entre los tratamientos. **A:** Tratamiento con altos porcentajes de sobrevivencia. **B:** Tratamiento con bajo porcentaje de sobrevivencia. **C y D.** Vista general de sobrevivencia.



## VIII. CONCLUSIONES

Las dosis agrohoméopáticas manifestaron un control efectivo sobre las infecciones provocadas por *Fusarium oxysporum* en plántulas de *Pinus pseudostrobus* Lindl. mostrando una supervivencia superior al 92% en todos los tratamientos en los que se aplicó alguna de las dosis establecidas, siempre y cuando se sigan los principios homeopáticos, reglas de preparación planteadas en la elaboración de los agrosodes, así como la frecuencia de aplicación de las dosis para mantener la efectividad alcanzada.

Los contagios por *Fusarium oxysporum* disminuyeron gradualmente en todos los tratamientos en los que se aplicó alguna dosis establecida, hasta el punto de ya no presentarse infecciones en los tratamientos en los que se aplicó la dosis 10C y 200C, esto nos indica que las plántulas están generando resistencia ante el ataque de futuras infecciones.

Los tratamientos que recibieron la aplicación de las dosis agrohoméopáticas manifestaron un mejor desarrollo de las plántulas que se reflejó con mayor contundencia en la variable altura (después de la primera inoculación post-emergente) en la que se encontraron diferencias significativas. En las variables diámetro (segunda inoculación post-emergente), fibrosidad de la raíz y porcentaje de supervivencia en las que se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos.

De forma general las dosis aplicadas influyeron en las plántulas de la siguiente forma: la dosis 10C actuó como tratamiento preventivo protegiendo a la semilla ante el ataque del patógeno, influyendo directamente en la estimulación de la germinación del germoplasma, el incremento en altura, el crecimiento y desarrollo de raíces laterales y en el porcentaje de supervivencia; la dosis 30C incidió en el incremento en diámetro y crecimiento y desarrollo de raíces laterales; y la dosis 200C incidió en el porcentaje de supervivencia de las plántulas.

La presencia de *F. oxysporum* de manera natural es altamente destructivo, por lo que toda producción en vivero manifestara daños y pérdidas si no poseen un método capaz de controlar de forma efectiva al hongo, cabe mencionar que en esta investigación se manifestaron infecciones en todos los tratamientos sin inoculación del patógeno.

El método agrohomeopático se presenta como la alternativa de mayor sustentabilidad para el control de *F. oxysporum*. Propuesta que se verá reflejada en la producción de los viveros forestales de comunidades de bajos recursos, por la disminución de los costos de producción, al tener control sobre los daños provocados por el patógeno. El beneficio también se verá reflejado en un mayor incremento de la biomasa de las plantas, lo que representa tener planta de calidad resistente al ataque de futuras infecciones. La importancia del método también se encontrara en la nula toxicidad de las dinamizaciones.

## **IX. RECOMENDACIONES**

Realizar recorridos diarios dentro de la producción para detectar si se están acumulando condiciones favorables para el desarrollo del hongo patógeno, como exceso de humedad, altas temperaturas, exceso de sombra, mal drenaje, falta de ventilación entre otros.

Disminuir todo lo posible el porcentaje de materia orgánica en el sustrato, ya que un alto porcentaje de esta favorecerá el desarrollo de *F. oxysporum*, así como evitar utilizar sustrato en el que se hayan presentado infecciones con anterioridad.

El tratamiento preventivo es fundamental para disminuir las condiciones que favorecen la propagación de los patógenos.

El agronosode necesariamente tiene que ser elaborado con los patógenos que estén afectando directamente a la especie en la que será aplicado el tratamiento.

Para asegurar la efectividad de los agronosodes, estos deberán realizarse siguiendo estrictamente los principios y reglas de preparación de la homeopatía.

La frecuencia recomendada en la aplicación de las dosis, puede ser modificada si es que no se observan los resultados esperados en el control del patógeno.

Para evitar los daños por heladas se recomienda cubrir las plántulas con papel pellón, siempre que se detecten condiciones ambientales adversas como disminuciones bruscas de la temperatura.

Promover y continuar con las investigaciones sobre agrohhomeopatía dentro del ámbito forestal como una herramienta básica y complementaria en el control de plagas y enfermedades.

## **X. LITERATURA CITADA**

Agrios, G. N. 1998. Fitopatología. Ed. UTHEA. 2<sup>da</sup> Ed. 3<sup>ra</sup> Reimpresión. México, D. F. 838 p.

Betti, L., Elia, V., Napoli, E., Trebbi, G., Zurla, M., Nani, D., Peruzzi, M., & Brizzi, M. 2012. Biological effects and physico-chemical properties of extremely diluted aqueous solutions as a function of aging-time. *Frontiers in Life Science*, DOI: 10.1080/21553769.2011.638986. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.1080/21553769.2011.638986>

Brizzi, M., Elia, V., Trebbi, G., Nani, D., Peruzzi, M., and Betti, L: 2011. The Efficacy of Ultra molecular Aqueous Dilutions on a Wheat Germination Model as a Function of Heat and Aging-Time. Hindawi Publishing Corporation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. Vol. 2011, Article ID 696298, 11 p. doi:10.1093/ecam/nep217

Castillo, M. L. E. 2003. Introducción a la estadística experimental. 2<sup>da</sup> Ed. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. México. 277 p.

Cibrián, T. D., Alvarado, D., García, S. E. (Eds.). 2007. *Enfermedades Forestales en México/ Forest Diseases in México*. Universidad Autónoma Chapingo; CONAFOR-SEMARNAT, México; Forest Service USDA, EUA; NRCAN Forest Service, Canadá y Comisión Forestal de América del Norte. Chapingo, México. 587 p.

Davis, S. A., Douglass, J. F. 2005. La cuantificación de la calidad del sistema radicular de las plántulas de vivero y su relación con el rendimiento del transplante al campo. Center, Purdue University, Departamento de Silvicultura y Recursos Naturales. EE.UU. 17 p.

Deacon, J. W. 1990. Introducción a la micología moderna. Ed. Limusa. México, D. F. 350 p.

Don Juan, M. B. 2006. Efectividad biológica de *Trichoderma* spp. contra hongos causantes de Damping-off en viveros forestales. Tesis de Maestría, División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 67 p.

Fajardo, G. C.E., Cruz M. M., Alemán, M., y Meneses N. 2005. Efecto de productos homeopáticos sobre hongos fitopatógenos en semillas. Centro Agrícola, año 32, no. 4. Centro de Investigaciones Agropecuarias Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Cuba. pp. 83-86. Recuperado de: [http://www.biblioteca.idict.villaclara.cu/userFiles/File/ciencia/10\(1\).pdf](http://www.biblioteca.idict.villaclara.cu/userFiles/File/ciencia/10(1).pdf)

Flores, S. I. D. 2005. Evaluación de la dinamización homeopática de Cola de Caballo (*Equisetum arvense*) para el control del ácaro (*Varroajacobsoni*) en abejas (*Apis mellifera*). Tesis de Licenciatura, Departamento de Agroecología. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 67 p.

Garcés de G. A., Orozco de A. M., Hernando, V. G. R. V. 2001. *Fusarium oxysporum*: el hongo que nos falta conocer. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Experiments Acta Biológica Colombiana, Vol. 6. no. 1. Recuperado de: <http://www.virtual.unal.edu.co/revistas/actabiol/PDF's/V6N1/Art1V6N1.pdf>

García, D. S. E. Damping-off y Pudrición de raíz por *Fusarium*/Damping-off and root rot by *Fusarium*. *Fusarium oxysporum* Schldt. (Moniliales, Moniliaceae) 502-505 p. In: Cibrián T. D., D. Alvarado R. y S.E. García D. (Eds.). 2007. Enfermedades forestales en México/ Forest diseases in Mexico. Universidad Autónoma Chapingo; CONAFOR-SEMARNAT, México; Forest Service USDA, EUA; NRCAN Forest Service, Canadá y Comisión Forestal de América del Norte, COFAN, FAO. Chapingo, México. 587 p.

- García, T. E. 1984. Compendio de la Materia Médica Homeopática. 4<sup>ta</sup> Ed. Ed. Propulsora de Homeopatía. México. Pp. 14-16.
- Gangar, H. U. 2010. Management of genetic activity through homoeopathy. International Journal of Pharma and Bio Sciences. Vol. 1. Central Institute for Research on Cotton Technology (Indian Council of Agricultural Research). Mumbai, India. Recuperado de: [http:// www.ijpbs.net](http://www.ijpbs.net)
- Guajardo, B. G. 1996. Modelos biocibernéticos para explicar la curación en homeopatía. Boletín Mexicano de Homeopatía. Vol. 29, no. 1.
- Luna, R. R. 2004. Actualización en Homeopatía Teoría y Práctica. Memoria. 1er. Foro Interinstitucional sobre Control Homeopático de la Toxicidad en Humanos, Animales y Plantas. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo México. pp. 3-15.
- Holliday, P. 1980. Fungus Diseases of Tropical Crops. Ed. Cambridge University Press. London, England. 607 p.
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). 2011. Libro Técnico Núm. 10 ISBN: 978-607-425-646-8. Centro de Investigación Regional Pacífico Centro Campo Experimental Uruapan. Uruapan, Michoacán, México. Recuperado de: <http://biblioteca.inifap.gob.mx>
- Majewsky, V., Arlt, S., Shah, D., Scherr, C., Ja'ger, T., Betti, L., Trebbi, G., Bonamin, L., Klocke, P., and Baumgartner, S. 2009. Use of homeopathic preparations in experimental studies with healthy plants. The journal of the Faculty of Homeopathy. Vol. 98. No. 4. ISSN1475-4916. Institute of Organic Agriculture FiBL, Suiza. Recuperado de <http://www.sciencedirect.com>

- Martínez, R. A. 2000. *Fusarium oxysporum* Schil. como agente causal del estrangulamiento de tallo *Pseudotsuga macrolepis* Flous y *Pinus ayacahuite* var. *veitchii* Shaw en plantas de vivero. Tesis de Licenciatura. División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 89 p.
- Mendoza, Z. C. 1996. Enfermedades fungosas de Hortalizas. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 85 p.
- Meneses, M. N. 2011. Agrohomeopatía una opción para la agricultura. Recuperado de: [http://www.comenius.edu.mx/Agrohomeopatía\\_una\\_opcion\\_para\\_la\\_agricultura.pdf](http://www.comenius.edu.mx/Agrohomeopatía_una_opcion_para_la_agricultura.pdf)
- Navarro, S. J. L., Rodríguez, J. M. I. 2010. Métodos alternativos para el manejo de plagas en la producción en vivero de *Pinus patula* Schl. et Cham. y su efecto en la calidad de planta. Tesis de Licenciatura. División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 105 p.
- Peterson, G.W. 1992. “Principales enfermedades de la raíz en vivero”. Folleto Universidad del Estado de Puebla. (UPAEP), 34 P.
- Perry, J. P. 1991 .The Pines of México and Central América. Ed. Timber Press. Portland, Oregon, E.U.A. 231 p.
- Radko, T. 2006. Perspectivas de la agrohomeopatía. Recuperado de: [http://www.comenius.du.mx/Perspecticas\\_de\\_la\\_agrohomeopatía.pdf](http://www.comenius.du.mx/Perspecticas_de_la_agrohomeopatía.pdf)
- Rivera, J. M. N. 2009. Marchitez del chile poblano (*Capsicum annuum* L.): identificación molecular del agente causal, detección en semillas, histopatología y alternativas de control. Tesis Doctorado. Recursos Genéticos y Productividad Producción de Semillas. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 98 p.

- Rodríguez, H. C. 2000. Alternativas de manejo de gusano cogollero *Spodoptera frugiperda*. Programa de entomología y acarología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. México. p. 1.
- Roldán, C. M. A. 2008. Control biológico de *Fusarium oxysporum* en dos especies de Pino. Tesis de Maestría. División de Ciencias Forestales. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 115 p.
- Romero, C. S. 1988. Hongos fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. Patronato Universitario A. C. Chapingo, México. 160p.
- Rossi, F., Ambrosano, E. J., Guirado N., Tavares de Melo, P.C. 2005. Agricultura vitalista: El Arte de la homeopatía en la agricultura. Departamento de Fitotecnia, Piracicaba. Recuperado de: [http://www.comenius.edu.mx/AGRICULTURA\\_VITALISTA.pdf](http://www.comenius.edu.mx/AGRICULTURA_VITALISTA.pdf)
- Rossi, F. 2008. Agricultura Vitalista A Ciência da Homeopatia Aplicada na Agricultura. I Encontro Sobre Estudos em Homeopatia, Medicina – Veterinária – Farmácia – Agronomia. Centro de Estudos Avancados em Homeopatia. pp. 22-33. Recuperado de: <http://www.cesaho.com.br>
- Ruiz, E. F. de J. 2001. Los Fitonosodes. Coloquio de Investigación III, coordinado por el Dr. Gerardo Gómez González. Doctorado en Ciencias Agrarias. Departamento de Sociología Rural. UACH. Junio 2001. P. 7.
- Ruiz, E. F. de J. 2003. La agrohomeopatía una alternativa ecológica, tecnológica y social. Tesis doctoral. Departamento de Sociología Rural. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 381 p.
- Ruiz E. F. de J. y Castro I. S. 2003. Fitoexperimentación Pura con Refrescos. Memoria. Seminario de Avances y Resultados de Investigación del Programa de Agricultura Orgánica. Universidad Autónoma Chapingo, México. pp. 47-51.



Ruiz, E. F. de J. 2007. Sustentabilidad en la agricultura: alternativas para la producción agropecuaria: una la agrohomeopatía. Extensión al campo. No 06. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp 13-22.

Ruiz, E. F. de J., Betancourt V. J. G., Tinajero, A. S., Ruiz, E. L. 2010. La roya (*Puccinia recondita*) homeopática como promotor de crecimiento en trigo. Memoria del XII Congreso Nacional de Ciencias Agronómicas. Protección vegetal. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 304-305.