



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA INSTITUTO DE HORTICULTURA POSTGRADO EN HORTICULTURA

DESINFESTACIÓN DE SUTRATO Y SOLUCIÓN NUTRITIVA
CONTAMINADOS CON *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

PRESENTA:

ATONALTZIN GARCÍA JIMÉNEZ

Chapingo, Estado de México. Julio de 2012.



DIRECCION GENERAL ACADEMICA
DIRECCION DE SERVICIOS ESCOLARES
COMISION DE EXAMENES PROFESIONALES

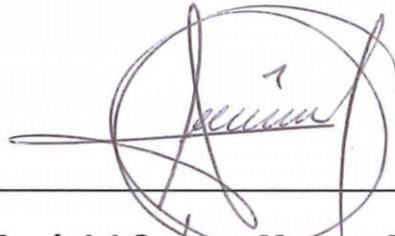


DESINFESTACIÓN DE SUTRATO Y SOLUCIÓN NUTRITIVA
CONTAMINADOS CON *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Tesis realizada por Atonaltzin García Jiménez, bajo la dirección del Dr. Esaú del Carmen Moreno Pérez y asesoría del Dr. Felipe Sánchez del Castillo y Dr. Marcelo Acosta Ramos, aprobada y aceptada por los mismos como requisito parcial para obtener el título de:

“MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA”

DIRECTOR:



Dr. Esaú del Carmen Moreno Pérez

ASESOR:



Dr. Felipe Sánchez del Castillo

ASESOR:



Dr. Marcelo Acosta Ramos

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco al CONACYT, a la Universidad Autónoma Chapingo, a los profesores que fueron parte de mi formación académica y que contribuyeron a la realización de la presente investigación.

DATOS BIOGRÁFICOS

Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola.
Universidad Autónoma Chapingo (1997-2001).

Maestría en Ciencias en Horticultura (2010-2011).
Universidad Autónoma Chapingo.

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	<i>i</i>
ÍNDICE DE FIGURAS	<i>ii</i>
RESUMEN	<i>iv</i>
SUMMARY	<i>vi</i>
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISION DE LITERATURA	4
2. 1. La agricultura protegida	4
2. 2. Cultivo sin suelo o hidroponía	5
2. 2. 1. Sustrato hidropónico.....	6
2. 2. 2. Solución nutritiva.....	7
2. 2. 5. Fitosanidad en cultivos sin suelo o hidroponía.....	8
2. 3. El cultivo de tomate en invernadero	10
2. 4. Marchitez del tomate (<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>)	10
2. 4. 1. Importancia y distribución.....	10
2. 4. 2. Características morfológicas.....	11
2. 4. 3. Ciclo biológico.....	11
2. 4. 4. Condiciones que favorecen su desarrollo.....	12
2. 4. 5. Síntomas.....	12
2. 5. Desinfestación de sustratos y solución nutritiva	13
2. 5. 1. Hipoclorito de sodio.....	14
2. 5. 2. Cuaternarios de amonio.....	16
2. 5. 2. Extracto de semillas de toronja.....	18
2. 5. 3. Peróxido de hidrógeno.....	18
2. 5. 4. Radiación Ultravioleta.....	18
2. 5. 5. <i>Trichoderma</i> sp y <i>Bacillus</i> sp.....	19
III. MATERIALES Y MÉTODOS	21
3. 1. Localización	21
3. 2. Procedencia del inóculo	21
3. 3. Fase de laboratorio	21
3. 3. 1. Aislamiento del hongo.....	21
3. 3. 2. Medio de cultivo.....	21
3. 3. 3. Preparación del material vegetal.....	22
3. 3. 4. Purificación de la cepa.....	22
3. 3. 5. Preparación y cuantificación del inóculo.....	23
3. 3. 6. Prueba de patogenicidad.....	24

3.4 Fase de campo.....	24
3. 4. 1. Ensayo en sustrato.....	25
3. 4. 1. 1. Infestación del sustrato.....	25
3. 4. 1. 2. Aplicación de tratamientos en sustrato.....	26
3. 4. 1. 3. Establecimiento del cultivo.....	27
3. 4. 1. 4. Diseño experimental.....	27
3. 4. 1. 5. Variables y método de evaluación.....	28
3. 4. 1. 6. Análisis de datos.....	30
3. 4. 2. Ensayo en solución nutritiva.....	31
3. 4. 2. 1. Infestación de la solución nutritiva.....	31
3. 4. 2. 2. Aplicación de tratamientos en solución nutritiva.....	32
3. 4. 2. 3. Establecimiento del cultivo.....	32
3. 4. 2. 4. Diseño experimental.....	33
3. 4. 2. 5. Variables y método de evaluación.....	34
3. 5. 1. 6. Análisis de datos.....	34
 IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	 35
4.1. Análisis de varianza de las variables evaluadas.....	35
4. 2. Identificación del patógeno y prueba de patogenicidad.....	36
4. 3 Evaluación de métodos de desinfestación en sustrato.....	36
4. 3. 1. Unidades formadoras de colonia (UFC).....	36
4. 3. 2. Incidencia y severidad de la marchitez del tomate.....	40
4. 4. Evaluación de métodos de desinfestación en solución nutritiva.....	44
4. 4. 1. Unidades formadoras de colonia (UFC).....	44
4. 4. 2. Incidencia y severidad de la marchitez del tomate.....	45
4. 4. 3. Fitotoxicidad.....	49
 V. CONCLUSIONES.....	 53
 VI. LITERATURA CITADA.....	 54

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Tratamientos evaluados en la desinfestación de tezontle rojo, contaminado con <i>F.oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (10,000 microconidios gramo ⁻¹ de sustrato).	26
Cuadro 2. Escala para evaluar grado de infección en plantas de tomate por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	29
Cuadro 3. Escala de puntuación propuesta por la European Weed Research Society (EWRS) para evaluar el posible efecto fitotóxico.....	30
Cuadro 4. Tratamientos evaluados en la desinfestación de una solución nutritiva, contaminada con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (10,000 microconidios mL ⁻¹ de solución nutritiva).	32
Cuadro 5. Cuadrados medios de diferentes variables evaluadas en tezontle.	35
Cuadro 6. Cuadrados medios de la variable unidades formadoras de colonia evaluada en solución nutritiva.	35
Cuadro 7. Cuadrados medios de la incidencia y severidad evaluada en solución nutritiva.....	35
Cuadro 8. Unidades formadoras de colonia de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> por g ⁻¹ de sustrato y porcentaje de eficacia de los tratamientos, en diferentes fechas de muestreo.	38
Cuadro 9. Incidencia y severidad de la marchitez del tomate <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en plantas de tomate sembradas en tezontle rojo contaminado con 10,000 microconidios g ⁻¹ de sustrato, a los 80 días después del trasplante.....	41
Cuadro 10. Unidades formadoras de colonia de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> por mL ⁻¹ de solución nutritiva y porcentaje de eficacia de los tratamientos, en diferentes fechas de muestreo.	46
Cuadro 11. Incidencia y severidad de la marchitez del tomate <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en plantas de tomate sembradas en solución nutritiva contaminada con 10,000 microconidios mL ⁻¹ , a los 80 días después del trasplante.....	48

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Material vegetal de tomate con síntomas inducidos por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (pudrición café-rojiza de los haces vasculares).	22
Figura 2. Cepa pura de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>lycopersici</i> (coloración rosácea).	23
Figura 3. Microconidios de <i>F.oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	24
Figura 4. Muestreo previo a la aplicación de tratamientos para determinar unidades formadoras de colonia de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> g ⁻¹ de tezontle.....	25
Figura 5. Contenedores utilizados en la evaluación de tratamientos para la desinfestación de tezontle rojo, contaminado con <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (10,000 microconidios g ⁻¹ de sustrato).	27
Figura 6. Preparación de muestras para determinar unidades formadoras de colonia g ⁻¹ de sustrato.	28
Figura 7. Muestreo previo a la aplicación de tratamientos en solución nutritiva para determinar unidades formadoras de colonia de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> mL ⁻¹	31
Figura 8. Siembra del cultivo de tomate en solución nutritiva (oxigenación con bombas), contaminada con 10,000 microconidios de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> mL ⁻¹	33
Figura 9. Bandeja con solución nutritiva contaminada con <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	33
Figura 10. Preparación de muestras para determinar unidades formadoras de colonia mL ⁻¹ de solución nutritiva.	34
Figura 11. Síntomas y aislamiento de <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>licopersici</i> . A) Marchitamiento y amarillamiento de las hojas basales, B) Necrosis de los haces vasculares, C) Colonia color rosa púrpura en medio PDA, de ocho días de edad y D) Microconidios.....	37
Figura 12. Unidades formadoras de colonia de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> por g ⁻¹ de sustrato, en el muestreo previo y a los 15, 30 y 45 días después de la aplicación de los tratamientos.	39

Figura 13. Crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en medio de cultivo PDA, a partir de la solución nutritiva drenada en las unidades experimentales del testigo.....	40
Figura 14. Síntomas de marchitez en las hojas basales y necrosis de los haces vasculares en plantas de tomate sembradas en el testigo (tezontle rojo contaminado con 10,000 microconidios de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> g ⁻¹). ...	42
Figura 15. Unidades formadoras de colonia de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> por mL ⁻¹ de solución nutritiva, en el muestreo previo y a las 12, 24 y 48 horas después de la aplicación de los tratamientos.	47
Figura 16. Síntomas de marchitez en las hojas basales y necrosis de los haces vasculares en plantas de tomate sembradas en el testigo (solución nutritiva contaminada con 10,000 microconidios de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> mL ⁻¹). 49	49
Figura 17. Síntomas de fitotoxicidad causada por sulfato de cobre, en plantas de tomate sembradas en solución nutritiva. A) Fitotoxicidad a los 15 días después del trasplante, B) Fitotoxicidad a los 80 días después del trasplante, C) Tratamiento con sales cuaternarias + sulfato de cobre (lado izquierdo) y tratamiento de sales cuaternarias (lado derecho); D) Raíz con crecimiento raquíptico.....	52

RESUMEN

DESINFESTACIÓN DE SUSTRATO Y SOLUCIÓN NUTRITIVA CONTAMINADOS CON *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

La producción de hortalizas en sistemas hidropónicos que utilizan un sustrato inerte y/o una solución nutritiva como medio de cultivo, tienen el inconveniente de que ambos componentes son vulnerables a la contaminación por patógenos, motivo por el cual se evaluaron métodos de baja toxicidad para la desinfestación de tezontle y solución nutritiva, contaminados con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. El sustrato y solución nutritiva fueron infestados con 10,000 microconidios por gramo y mililitro, respectivamente. En tezontle los tratamientos fueron (dosis en ingrediente activo): cuaternarios de amonio de cuarta (20 y 40 mg L⁻¹) y de quinta generación (15 y 30 mg L⁻¹), monopersulfato de potasio (10 y 20 mg L⁻¹), hipoclorito de sodio (25 y 50 mg L⁻¹), peróxido de hidrógeno (1000 y 2000 mg L⁻¹), *Bacillus subtilis* (10 y 20 mg L⁻¹), *Trichoderma harzianum* (10 y 20 mg L⁻¹) y metam sodio (1000 mg L⁻¹) como testigo comercial; en la solución nutritiva se evaluaron (dosis en ingrediente activo) cuaternarios de amonio de quinta generación (1 y 2 mg L⁻¹), cuaternarios de amonio de quinta generación + sulfato de cobre (1+5 y 1+8 mg L⁻¹), hipoclorito de sodio (4 y 6 mg L⁻¹), peróxido de hidrogeno (500 y 1000 mg L⁻¹), extractos de semilla de cítricos (10 y 20 mg L⁻¹), permanganato de potasio (10 y 15 mg L⁻¹) y radiación ultravioleta (250 mJ·cm²). Las variables evaluadas fueron: Unidades formadoras de colonia (UFC), incidencia y severidad de la enfermedad. Las UFC se evaluaron a los 15, 30 y 45 días en tezontle y a las 12, 24 y 48 horas en la solución nutritiva. La incidencia y severidad se evaluó en plantas de tomate a los 80 días después del trasplante. Se usó un diseño experimental de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones en sustrato y tres en solución nutritiva. La unidad experimental consistió de una maceta rellena con 20 kg de tezontle y una bandeja con 20 L de solución nutritiva. Los tratamientos que lograron mayor control de UFC en tezontle fueron el hipoclorito de sodio a 50 mg L⁻¹ y peróxido de hidrógeno a 2,000 mg L⁻¹, y en solución nutritiva fueron la radiación ultravioleta a 250 mJ cm⁻², hipoclorito de sodio a 6 mg L⁻¹ y peróxido de hidrógeno a 1000 mg L⁻¹.

PALABRAS CLAVE ADICIONALES: hidroponía, tezontle rojo, peróxido de hidrógeno, hipoclorito de sodio, radiación ultravioleta.

SUMMARY

DISINFESTATION SUBSTRATE AND NUTRIENT SOLUTION CONTAMINATED BY *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Vegetable production in hydroponic systems that use an inert substrate and/or a nutrient solution as culture medium, has the disadvantage of both components that are vulnerable to contamination by pathogens, that is why were evaluated low toxicity methods for disinfestation of tezontle and nutrient solution, both contaminated by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. The substrate and nutrient solution were infested with 10,000 microconidia per gram and milliliter, respectively. In tezontle treatments were (dose active ingredient): quaternary ammonium fourth (20 and 40 mg L⁻¹) and fifth generation (15 and 30 mg L⁻¹), potassium monopersulfate (10 and 20 mg L⁻¹), sodium hypochlorite (25 and 50 mg L⁻¹), hydrogen peroxide (1000 and 2000 mg L⁻¹), *Bacillus subtilis* (10 and 20 mg L⁻¹), *Trichoderma harzianum* (10 and 20 mg L⁻¹) and metam sodium (1000 mg L⁻¹) as commercial samples; in the nutrient solution were evaluated (dose active ingredient) quaternary ammonium fifth generation (1 and 2 mg L⁻¹), quaternary ammonium fifth generation + copper sulfate (1+5 and 1+8 mg L⁻¹), sodium hypochlorite (4 and 6 mg L⁻¹), hydrogen peroxide (500 and 1000 mg L⁻¹), citrus seed extract (10 and 20 mg L⁻¹), potassium permanganate (10 and 15 mg L⁻¹) and radiation ultraviolet (250 mJ cm⁻²). The variables evaluated were: colony forming units (CFU), incidence and severity of the disease. The CFU were evaluated at 15, 30 and 45 days in tezontle and 12, 24 and 48 hours in the nutrient solution. The incidence and severity was evaluated at 80 days after transplantation. A randomized complete block design was use with four replications in substrate and three in nutrient solution. The experimental unit consisted of a pot filled with 20 kg of tezontle and a tray with 20 L of nutrient solution. The treatments achieved greater control of CFU in tezontle were sodium hypochlorite 50 mg L⁻¹ and hydrogen peroxide 2,000 mg L⁻¹, and in nutrient solution was ultraviolet radiation at 250 mJ cm⁻², sodium hypochlorite 6 mg L⁻¹ and hydrogen peroxide 1000 mg L⁻¹.

ADDITIONAL KEY WORDS: hydroponics, tezontle, hydrogen peroxide, sodium hypochlorite, ultraviolet radiation.

I. INTRODUCCIÓN

En la agricultura a campo abierto, los factores ambientales bióticos y abióticos condicionan la producción, por lo que este sistema de producción es de alto riesgo. Un sistema más seguro es el cultivo bajo condiciones protegidas, principalmente haciendo uso de invernaderos, dentro de los cuales es posible manipular el ambiente para proporcionar las mejores condiciones ambientales al cultivo y con ello lograr alta productividad y calidad de la cosecha (Garza y Molina, 2008). En México la superficie de agricultura protegida ha tenido un crecimiento vertiginoso; en 2001 se reportó una superficie de 1,200 ha (AMHPAC, 2012), mientras que para 2012 de 20,000 ha (SAGARPA, 2012).

A pesar de que los invernaderos ayudan a proteger a los cultivos de varios factores del ambiente, resulta difícil evitar la incidencia de patógenos y la contaminación del suelo dentro de las instalaciones (Chávez *et al.*, 2008). Los patógenos del suelo son un problema difícil de erradicar, lo que ha hecho que algunos productores opten por cambiar de la producción en suelo hacia la hidroponía o cultivo sin suelo (Resh, 1992).

La hidroponía o cultivo sin suelo, tiene como objetivo eliminar o disminuir los factores limitantes del crecimiento vegetal relacionados con las propiedades del suelo, al sustituirlo por un sustrato inerte o por una solución nutritiva (Resh, 1992). Bajo este sistema de producción se producen comercialmente hortalizas y flores en casi todo el mundo (FAO, 2002); en México, su uso es cada vez mayor (Castellanos y Borbón, 2009). Una de sus ventajas radica en que se reducen los problemas de patógenos que atacan a la base del tallo y raíz de las plantas, al emplear sustratos inertes fácil de esterilizar (Resh, 1992; Baixauli y Aguilar, 2002); sin embargo, cuando se utiliza agua de riego contaminada, material vegetal enfermo y el mismo sustrato por varios ciclos de cultivo, éstos pueden ser nuevamente contaminados (Baixauli y Aguilar, 2002). Utilizar un sustrato nuevo después de cada ciclo incrementaría notablemente los costos de producción

(Boodley, 1998), por lo que normalmente se recurre a la desinfestación del mismo antes de iniciar un ciclo de cultivo.

Por otro lado, en el manejo de cultivo sin suelo, se hace uso de una solución nutritiva, la cual puede drenar libremente (sistema abierto) o bien puede ser reutilizada (sistema cerrado). Los sistemas cerrados también incluyen al cultivo en solución nutritiva o hidroponía profunda, y tienen la ventaja de hacer un uso más eficiente del agua, un mejor aprovechamiento de los fertilizantes y evitan el daño ambiental que se da por la acumulación de nitratos y fosfatos en los mantos freáticos (García y Urrestarazu, 1999). Sin embargo, dicho sistema tiene como inconveniente la fácil transmisión de enfermedades (Jarvis, 1992; Baixauli y Aguilar, 2002), por lo que la desinfestación de la solución nutritiva resulta necesaria antes de ser reutilizada (García y Urrestarazu, 1999). En algunos casos incluso la desinfección del agua es necesaria antes de usarse por primera vez, ya que puede ser fuente de contaminación (Van Os, 2010).

La presente investigación se realizó con tezontle rojo, por ser un sustrato hidropónico que comúnmente se utiliza en el país, de fácil disponibilidad y bajo costo (Castellanos y Vargas, 2009). Como especie vegetal se utilizó al tomate (*Lycopersicon lycopersicon* Mill.), ya que es una de las principales hortalizas que se maneja en invernadero e hidroponía en México (Castellanos y Borbon, 2009; AMHPAC, 2012; SAGARPA, 2012) y como patógeno se consideró a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, por inducir una de las principales enfermedades que afectan al cultivo de tomate en invernadero (Messiaen *et al*, 1995), dicho patógeno puede infectar los sustratos fácilmente y diseminarse a través del agua o solución nutritiva (Mendoza, 1996; Agrios, 2007).

En lo que respecta a la desinfección de sustratos se recomiendan varios métodos físicos y algunos productos químicos altamente residuales. Plaguicidas alternativos al bromuro de metilo como el metam sodio, dazomet y dicloropropeno ya no se incluyen en la lista de los pesticidas autorizados por la unión europea (Yuce *et al.*, 2011). Para el control de patógenos en sistemas con recirculación se citan varios métodos de desinfestación de tipo físico, químico y biológico; sin

embargo, la información es todavía escasa (Gómez, 2004) y en algunos casos no está bien definida. En años recientes se están probando para la protección de cultivos agrícolas desinfectantes de uso médico, veterinario y en procesos industriales de higiene, los cuales son interesantes para la horticultura, por ser de baja toxicidad y tener un efecto contra varios hongos, bacterias y virus (Slusarski, 2000).

Con base en lo anterior y considerando que actualmente los sistemas de cultivo no sólo exigen ser altamente productivos, si no que sus productos posean una elevada calidad, además de ser respetuosos con el medio ambiente y con la salud tanto de productores como de consumidores, se planteó como objetivo evaluar la efectividad biológica de diferentes métodos para la desinfestación de sustratos y solución nutritiva en un sistema hidropónico contaminado con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, alternos al uso de productos residuales y compatibles con el manejo integrado de enfermedades y esquemas de inocuidad; que además permitan usar y reutilizar una solución nutritiva con el menor riesgo en la transmisión de patógenos.

II. REVISION DE LITERATURA

2. 1. La agricultura protegida.

La agricultura protegida se define como el sistema de producción que permite propiciar el ambiente adecuado, en el cual desarrollan los cultivos hortícolas, con el propósito de alcanzar un crecimiento óptimo y con ello, un alto rendimiento. Este sistema permite ofrecer productos de alta calidad, con mejores precios de venta y con mayores niveles de inocuidad (Castellanos y Bórbon, 2009). Moreno *et al.* (2011) la definen como un sistema de producción realizado bajo diversas estructuras, para proteger a los cultivos, minimizar las restricciones y efectos que imponen los fenómenos climáticos, dando protección contra los riesgos inherentes a esta actividad.

Lo que en un principio inició como una tecnología adaptada para tener productos alimenticios frescos, en lugares donde las condiciones ambientales lo impedían, ha venido evolucionando, multiplicándose y ganando terreno frente a la agricultura convencional (incluso en lugares donde es posible producir a campo abierto), por representar una alternativa rentable de producción y de menor riesgo (Garza y Molina, 2008).

Castellanos y Borbón (2009) indican que la agricultura protegida en México se ha venido desarrollando bajo condiciones muy heterogéneas, desde costosos invernaderos de vidrio, hasta instalaciones económicas como la casa sombra. Las primeras instalaciones comerciales se iniciaron en 1990; sin embargo, fue hasta la presente década que se dio un crecimiento notable presentándose las mayores tasas de crecimiento en 2004 y 2005; Zonas como Baja California, aquejadas por problemas de agua y plagas aceleraron su conversión hacia cultivos protegidos, así también, otras regiones agrícolas como Sinaloa y la zona del centro, norte y pacífico del país han iniciado una reconversión; así para fines de 2006 se alcanzaron 6,600 ha con horticultura protegida (AMHPAC, 2012). Para el 2008 se reportan 8,934 ha de invernadero y casa sombra, destacando los estados de Sinaloa, Baja California Norte, Baja California Sur, Sonora y Jalisco con 75 % de la

superficie (Castellanos y Borbón, 2009). Para 2012 la SAGARPA (2012) reporta cerca de 20,000 ha de agricultura protegida (invernaderos y casa sombra) y menciona que entre las ventajas de este sistema están la creación de ocho empleos de tiempo completo por hectárea, el incremento de la producción hasta en cinco veces más con relación a la producción a campo abierto y producción durante todo el año, lo que permite aprovechar las ventanas de mercado y obtener precios competitivos.

En el año 2000, las exportaciones de tomate (*Lycopersicum lycopersicon* Mill.), una de las hortalizas más importantes en nuestro país, provenían del campo en 90 %; mientras que en 2007 el tomate en invernadero representó el 35% de las exportaciones (Cook, 2007; citado por Castellanos y Borbón, 2009). Este incremento en el cultivo de tomate bajo invernadero se debe a que, al usar de forma eficiente las herramientas de la agricultura protegida, se puede planificar la producción para cosecharse en un periodo determinado de manera rentable. Este sistema de producción, ha sido importante en algunas regiones del mundo, un ejemplo claro lo es la provincia de Almería, España, la cual exporta anualmente cerca de un millón de toneladas de hortalizas producidas bajo este sistema, gracias al avance que tienen en la horticultura protegida (Castellanos y Borbón, 2009).

2. 2. Cultivo sin suelo o hidroponía.

Por cultivo sin suelo o hidroponía, se entiende cualquier sistema que no emplea el suelo para el desarrollo de las plantas, pudiéndose cultivar en una solución nutritiva, o sobre cualquier sustrato con adición de solución nutritiva (Baixauli y Aguilar, 2002). Tiene como objetivo eliminar o disminuir los factores limitantes del crecimiento vegetal relacionados con las características del suelo, al sustituirlo por un sustrato inerte o por una solución nutritiva (Resh, 1992).

Bajo este sistema se producen comercialmente hortalizas y flores en casi todo el mundo. En Holanda por ejemplo, el 90 % de los cultivos son manejados con sistema hidropónico (9,000 hectárea). Los cultivos sin suelo ocupan actualmente

superficies muy importantes en los países del centro y norte de Europa, a pesar de que este sistema exige costos altos y un nivel de tecnificación elevado. En México alrededor del 20 % de la producción hortícola en invernadero se lleva a cabo en cultivo sin suelo (Ojodeagua *et al.*, 2008).

La tendencia actual en la producción es el establecimiento de cultivo sin suelo con distintos sustratos (lana de roca, fibra de coco, perlita, entre otros) o en sistemas de cultivo en agua (Baixauli y Aguilar, 2002).

Las ventajas del cultivo sin suelo frente al tradicional en suelo, son el mejor control de problemas fitosanitarios y nutricionales de la planta, ahorro de agua, mayores rendimientos, mayor calidad y respeto al medio ambiente (García y Urrestarazu, 1999; Baixauli y Aguilar, 2002; Pallares y Duran, 2006).

En muchos casos la contaminación de los suelos por patógenos, un problema difícil de erradicar, ha provocado que los productores opten por cambiar del cultivo en suelo por el uso de sustratos hidropónicos, los cuales son más fáciles de esterilizar (Resh, 1992).

2. 2. 1. Sustrato hidropónico.

El sustrato es un factor clave para la producción de hortalizas, plántulas y flores en invernadero. En México hay una amplia variedad de materiales (polvo de coco, tezontle, perlita, pumacita, tepezil, compostas, turba, corteza de pino, cascarilla de arroz, entre otros) que se emplean como sustratos (Vargas *et al.*, 2008). La elección de un determinado material como sustrato hidropónico depende de la disponibilidad del mismo, de la finalidad de la producción, de la especie a cultivar, de sus propiedades físico químicas, del costo, de la experiencia de manejo, homogeneidad, entre otros factores (Ojodeagua *et al.*, 2008). El sustrato puede ser químicamente activo o inerte en el proceso de nutrición de la planta (Abad, *et al.*, 2004).

En México, la roca volcánica conocida como tezontle es ampliamente utilizada como sustrato para la producción de hortalizas y flores en cultivos sin suelo. Este

sustrato es un material procedente de la erupción de volcanes y está constituido por silicatos de aluminio, formando fragmentos de lava porosa, redondos e irregulares. Es un excelente material como sustrato; sin embargo, su principal inconveniente es su variabilidad, problema que puede resolverse usando una mezcla granulométrica adecuada mediante el uso de tamices (Castellanos y Vargas, 2009).

El tezontle es un material considerado como inerte, desde el punto de vista químico, cuyo extracto de saturación tiene un pH próximo a la neutralidad, su capacidad de intercambio catiónico es muy baja, tiene buena aireación y retención de humedad que varía con el diámetro de las partículas; generalmente está libre de sustancias tóxicas y tiene buena estabilidad física (Ojodeagua *et al.*, 2008).

2. 2. 2. Solución nutritiva.

En los sistemas hidropónicos, se usa una solución nutritiva, entendida ésta como el agua con oxígeno (O₂) y todos los nutrientes esenciales para las plantas, disueltos en una forma inorgánica completamente dissociada, aunque en la solución pueden existir formas orgánicas disueltas, procedentes de los microelementos en forma de quelato (Baixauli y Aguilar, 2002). Castellanos y Ojodeagua (2009) la definen como una mezcla de elementos nutritivos en solución, a una cierta concentración y relación entre los elementos, de tal forma que favorecen la absorción nutrimental por parte del cultivo. Como en una solución nutritiva ocurren todos los nutrimentos considerados esenciales para las plantas, el cultivo no tiene ninguna restricción desde el punto de vista de su nutrición.

De acuerdo al uso que se le dé a la solución nutritiva, García y Urrestarazu (1999) la clasifican en sistemas abiertos y cerrados. Los sistemas abiertos, son aquéllos en los que la solución nutritiva sobrante drena, percola, se infiltra en el subsuelo o simplemente sufre escorrentía fuera del suelo o contenedor de cultivo, sin que el cultivo vuelva a tener ningún contacto con la misma. En los sistemas cerrados, la solución nutritiva vuelve a incorporarse, total o parcialmente, como suministro a la fertirrigación del mismo cultivo. Este sistema también incluye los casos en donde la solución nutritiva es “estática” (cultivo en agua o hidroponía profunda).

En los sistemas abiertos, la solución nutritiva drenada representa una pérdida total de ésta, mientras que en los sistemas cerrados es reutilizada; sin embargo, no siempre resulta una cuestión tan simple, ya que algunas sustancias que salen del sistema pueden ser fitotóxicas (García y Urrestarazu, 1999); así mismo, se pueden dispersar fitopatógenos fácilmente a través de la solución nutritiva (Van Os, 2010).

Todos los denominados cultivos en agua responden en realidad al concepto de sistemas cerrados, por lo tanto los sistemas cerrados de cultivos sin suelo podrían ser agruparlos en cultivos en agua y cultivos en sustratos con reutilización del drenaje (García y Urrestarazu, 1999).

2. 2. 5. Fitosanidad en cultivos sin suelo o hidroponía.

En realidad no existe patología exclusiva para los sistemas de cultivo sin suelo, pero las circunstancias microclimáticas y ambientales en las que se desarrollan los cultivos en este sistema pueden arrojar una especial problemática fitopatológica (Santos *et al.*, 2004).

Los sustratos utilizados en hidroponía pueden ser colonizados por microfloras imprevistas e inestables, en el seno de las cuales pueden estar presentes microorganismos patógenos capaces de provocar daños aún más severos que aquéllos que causan sobre un suelo natural, ya que al usar sustratos inertes, la presencia de cualquier patógeno producto de contaminación, puede tener un efecto drástico al no existir competidores o controladores naturales (Resh, 1992; Sandoval, 2004). Una forma de evitar enfermedades causadas por patógenos se podría lograr renovando el sustrato cada año; sin embargo, esta práctica trae como consecuencia un incremento en los costos de producción, ya que todos los sustratos hidropónicos son vulnerables a ser contaminados por patógenos del suelo, por lo que es necesario contar con métodos efectivos de esterilización para tratar a estos materiales antes de ser utilizados (Resh, 1992; Slusarski, 2000, Sandoval, 2004; Gullino *et al.*, 2005).

La dispersión de los patógenos, de la que dependen los brotes de las enfermedades, se lleva a cabo pasivamente mediante la participación de agentes

de dispersión tales como el aire, agua, insectos, otros animales y el hombre (Agrios, 2007).

En los sistemas hidropónicos con recirculación, la solución nutritiva en contacto con raíces puede transmitir hongos, bacterias y virus. El agua de lluvia captada puede ser contaminada por *F. oxysporum* f. sp. *radicis- lycopersici* (Runia, 1994). Por lo que en sistemas de recirculación es muy recomendable la desinfección de la solución nutritiva para minimizar los riesgos de dispersión de patógenos (Runia y Boonstra, 2004; Van Os, 2010).)

Jenkins y Averre (1983) reportan la transmisión de cuatro especies de *Phyium* en la solución nutritiva utilizada en un sistema hidropónico, por lo que indican que para evitar riesgo de dispersión del patógeno es necesaria la esterilización de la solución nutritiva, sobre todo en los sistemas de recirculación.

Baixauli y Aguilar (2002), indican que la solución nutritiva puede transmitir hongos adaptados a los medios acuáticos como pueden ser el Pythium y Phytophthora o bacterias que se adaptan a los medios ácidos como *Agrobacterium tumefaciens*.

El agua de riego, suele ser en la mayoría de los lugares, la principal fuente de contaminación de los cultivos sin suelo (Urrestarazu *et al.*, 2006; Van Os, 2010). Cuando los tanques que captan el agua de lluvia no están cubiertos, se corre el riesgo de que ésta sea contaminada, por lo que, en ocasiones se recomienda desinfectar el agua antes de ser utilizada por primera vez, al igual que cuando es reutilizada (Van Os, 2010). Palmero *et al.* (2009) reportan la presencia de especies de *Fusarium* en agua de río y agua de mar.

Gómez (2004) menciona que el agua de riego y solución nutritiva usadas en explotaciones comerciales son objeto de estudio en estaciones experimentales; señala que en un experimento desarrollado en tomate en donde se diseminó *Pytophthora spp* mediante el riego, se observó que en las parcelas regadas con agua sin desinfectar, se tuvo 25.6 % de plantas muertas.

2. 3. El cultivo de tomate en invernadero.

En México el principal cultivo que se produce en invernadero es el tomate cuya superficie representa 75 % y uno de los más cultivados sin suelo (Castellanos y Borbón, 2009). Las técnicas de cultivo de tomate han experimentado cambios rápidos y notables durante los últimos años. La utilización de invernaderos con cobertura plástica, sistemas sencillos de control climático, equipos de riego y fertilización automatizada, se han difundido ampliamente a fin de mejorar el crecimiento y desarrollo de las plantas de tomate y consecuentemente, aumentar la productividad e incrementar la calidad de los frutos. Aunado a estos cambios tecnológicos, se viene produciendo una sustitución gradual del cultivo tradicional en el suelo por el cultivo en sustrato. La principal razón de esta situación ha sido la existencia de factores limitantes para la continuidad del cultivo intensivo del tomate en el suelo natural, particularmente por la salinización y enfermedades (García y Urrestarazu, 1999).

2. 4. Marchitez del tomate (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*).

2. 4. 1. Importancia y distribución

La marchitez del tomate causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* es una de las enfermedades más prevalentes y destructivas de los cultivos intensivos de tomate; se ha reportado su presencia en más de 32 países (Mendoza, 1996). Agrios (2007) señala que la marchitez causada por *Fusarium spp* es una de las enfermedades más dañinas en las principales regiones productoras del mundo. En México, Mendoza (1996) reportó su presencia en Sinaloa, Morelos, Estado de México, San Luis Potosí, Michoacán, el Bajío y otras áreas de menor importancia agrícola.

Este patógeno ataca exclusivamente al cultivo de tomate. Se han descrito tres razas. La raza 1, es la más ampliamente distribuida y se ha detectado su presencia en la mayoría de las áreas en donde se cultiva tomate. La raza 2 se identificó en 1940 en Ohio, pero no provocó pérdidas económicas hasta su descubrimiento en Florida en 1961; posteriormente esta raza se identificó en otros

países como EEUU, Australia, Brasil, Gran Bretaña, Israel, Marruecos, México, entre otros. La raza 3 se reportó en Brasil en 1966 (Agrios, 2007). En muestreos realizados en el valle de Culiacán, Carrillo *et al.* (2003), reporta la presencia de la raza 1 y 2.

2. 4. 2. Características morfológicas.

Mendoza (1996) indica que tienen conidióforos alargados con microconidios hialinos, pequeños y elípticos; clamidosporas de 1 a 2 células; macroconidios finos, alargados con 3 a 5 células y pared delgada; la masa de esporas es ocre, rosa o amarillo.

Las colonias de *Fusarium oxysporum* se caracterizan por ser de rápido crecimiento, con una tasa diaria cercana a un centímetro en medio de cultivo PDA (papa dextrosa agar) a 26 °C y pH de 6. La morfología de las colonias puede variar. El crecimiento de tipo micelial se caracteriza por la producción abundante de micelio aéreo, algodonoso y coloración que varía de blanco a rosa, pero con un tinte púrpura más intenso en la superficie del agar y pocos microconidios (Mendoza, 1996).

2. 4. 3. Ciclo biológico

Generalmente el ciclo empieza con la presencia de macroconidios, microconidios, micelio y/o clamidosporas en el suelo infestado; éstos germinan y penetran por heridas o aberturas naturales, atacando el xilema e invadiéndolo, con lo cual éste adquiere una tonalidad amarillo-ocre a café, la cual externamente se manifiesta como una clorosis; el micelio sigue desarrollándose y llega a invadir las células adyacentes al xilema; después se presenta una marchitez y la muerte de la planta. El patógeno excreta enzimas pectolíticas que destruyen la lámina del parénquima del xilema. Las células parenquimatosas mueren y se tornan color café lo cual se observa como un anillo al hacer un corte transversal. El hongo sobrevive en restos de cultivo de una temporada a otra y posee estructuras de resistencia que le permiten perdurar en el suelo por periodos de hasta 6 años. El hongo puede estar

en la semilla o el suelo y puede ser diseminado por labores culturales, plantas infectadas y por el agua de riego (Romero, 1988; Mendoza, 1996; Agrios, 2007).

2. 4. 4. Condiciones que favorecen su desarrollo

Su mayor desarrollo se presenta de 21 a 33 °C; con menos de 21 °C o superiores a 33°C, el hongo se desarrolla más lentamente. Su crecimiento y reproducción son mayores con temperaturas del suelo alrededor de 27 a 29 °C, las plantas mueren 2 a 4 semanas después de la infección. Este hongo ataca preferentemente durante los periodos cálidos del año. Prefiere particularmente los suelos arenosos y ácidos. Las plantas parecen ser más sensibles cuando carecen de nitrógeno, fósforo y calcio, y cuando están sometidas a días cortos y poco luminosos. Aun las variedades con mayor resistencia manifiestan síntomas de esta enfermedad, especialmente durante ataques severos de nemátodos (*Meloidogyne spp*) o cuando las plantas han sufrido asfixias radiculares. Otras condiciones que favorecen su desarrollo son la baja humedad del suelo, días cortos, alto contenido de nitrógeno combinado con bajo contenido de potasio (Mendoza, 1996; Agrios, 2007).

2. 4. 5. Síntomas.

El primer indicio aparece al inicio de la floración o formación de primeros frutos; es un amarillamiento de las hojas inferiores, las cuales gradualmente se marchitan y mueren adheridas a la planta y posteriormente caen al suelo. Los síntomas pueden aparecer de un solo lado de la planta. Al hacer un corte transversal principalmente en la parte baja del tallo, se puede observar una coloración café oscura del tejido vascular (xilema). Si el corte es longitudinal se puede observar la tonalidad café del tejido vascular a lo largo de todas las ramas, tallos y raíces. Las plantas en estas condiciones presentan un achaparramiento; las hojas se marchitan, mueren y caen al suelo, finalmente puede morir la planta y producir algunos frutos de baja calidad (Messiaen *et al.*, 1995; Mendoza, 1996; Agrios, 2007).

2. 5. Desinfestación de sustratos y solución nutritiva.

Cuando los cultivos se manejan durante periodos muy largos de tiempo, sea cual fuera el medio de cultivo, se acumulan una serie de microorganismos patógenos en dicho medio y se eleva la posibilidad de que aparezca una enfermedad en cada una de las cosechas sucesivas; si bien, puede ser posible establecer ciclos de cultivo sucesivos sin necesidad de esterilización entre ellas, es recomendable, aplicar una esterilización entre cada ciclo, para evitar cualquier posibilidad de transmisión de enfermedades (Resh, 1992).

Para la desinfección de sustratos se recomiendan métodos físicos, como el vapor de agua o métodos químicos usando el bromuro de metilo, el cual está restringido por los daños que puede causar al medio ambiente; productos comúnmente usados, como el metam sodio, dazomet y diclombiarpropeno, que son comúnmente utilizados, ya no se incluyen en la lista de los pesticidas autorizados por la unión europea (Yuce *et al.*, 2011), lo cual obliga a buscar nuevas alternativas de desinfección, ya que, muchos productores que comercializan sus productos hacia los países de esta región, tienen que regirse por la legislación del país importador. Asimismo, se recomienda dentro de un manejo integrado, el uso de agentes de biocontrol como *Trichoderma sp* y *Bacillus sp* (Fernandez-Larrea, 2001; Gullino *et al.*, 2005). La producción en invernadero presenta condiciones ideales para estrategias de *biocontrol*, ya que es posible tener control del medio ambiente; sin embargo, no deben ser considerados una alternativa a los químicos de gran espectro, pero si pueden ser un método útil en el manejo integrado de patógenos del suelo (Vannaci y Gullino, 2000; Fernández-Larrea, 2001; Gullino *et al.*, 2005).

En años recientes se están probando para la protección de cultivos agrícolas desinfectantes de uso médico, veterinario y en procesos industriales de higiene, los cuales son interesantes para la horticultura porque son de baja toxicidad y tienen un efecto contra varios hongos, bacterias y virus (Slusarski, 2000). Entre los diferentes compuestos que se vienen utilizando como agentes desinfectantes destacan los compuestos clorados (cloro, sales de hipoclorito y dióxido de cloro),

cuaternarios de amonio, peróxidos y ácidos paracéticos, para la desinfestación de sustratos y soluciones nutritivas (Urrestarazu *et al.*, 2006; Urrestarazu *et al.*, 2007), los cuales son motivo de esta investigación.

Para eliminar o disminuir la densidad y/o actividad de los microorganismos patógenos de los lixiviados y reducir los riesgos patológicos asociados a la recirculación, se pueden utilizar varios métodos de desinfección de tipo físico (desinfección térmica, ozonización, radiación ultravioleta, filtración por membrana y filtros de arena con flujos de baja velocidad), químico (usando el ozono, peróxido de hidrogeno, cloro y yodo) y biológico (usando *Trichoderma sp* y *Bacillus sp*) (Baixauli y Aguilar, 2002; Runia, 1994; Runia, 1995; Runia y Boonstra, 2004; Urrestarazu *et al.*, 2006; Urrestarazu *et al.*, 2007).

García y Urrestarazu (1999) mencionan que el procedimiento para la reutilización de una solución nutritiva en el centro de Europa consta de dos fases: una primera de filtración y otra segunda de desinfección. La fase de filtración se hace con filtros físicos, normalmente de arena y con una capacidad de filtrado variable. La de desinfección del agua que drena se puede hacer mediante la ionización, con rayos ultravioleta y agua oxigenada. Runia y Boonstra (2004) reportan el uso de otra tecnología que consiste en inyectar peróxido de hidrógeno a la solución nutritiva y posteriormente hacerla pasar por las lámparas de rayos ultravioleta, para producir radicales hidroxilos los cuales son biocidas con alto poder oxidante.

2. 5. 1. Hipoclorito de sodio.

El cloro tiene un gran poder oxidante, que permite la desinfección. Su capacidad para destruir patógenos con bastante rapidez y su amplia disponibilidad lo hacen muy adecuados para la desinfección. El hipoclorito de sodio es un compuesto que tiene diferentes nombres comerciales con diferentes concentraciones, pero con la misma estructura química (NaOCl). Se utiliza ampliamente para el tratamiento del agua. Cuando se añade al agua, el hipoclorito de sodio se descompone para formar HOCl[•] y NaOH⁻, el HOCl[•] se descompone en Cl⁻ y O para realizar la oxidación, el poder del cloro es de 1.36 voltios (Rick, 2010).

En cultivos en grava puede utilizarse como desinfectante al hipoclorito de calcio o sódico, o bien el ácido clorhídrico que se utiliza normalmente en las piscinas. Para la esterilización se prepara una solución de 10 ppm de cloro comercial en el depósito de nutrientes, inundando el sustrato por espacio de veinte minutos, tres o cuatro veces; posteriormente es necesario lavar varias veces el sustrato con agua hasta eliminar todos los residuos de cloro. Los invernaderos deben airearse durante uno o dos días antes de efectuar la plantación siguiente. Con cada una de las cosechas se irán quedando en el medio algunas raíces y al cabo de los años la desinfección con hipoclorito perderá su efectividad a menos que puedan eliminarse dicho material vegetal (Resh, 1992), ya que pierde su poder biocida en presencia de materia orgánica (Runia, 1995; Cayanan *et al.*, 2009).

Runia (1995) indica que la cloración a una concentración de 1 a 5 mg Cl libre L⁻¹ y un tiempo de exposición de 2 horas lograron una reducción de 90 a 99.9 % de *Fusarium oxysporum*, pero algunas esporas sobrevivieron a estas concentraciones.

Poncet *et al.* (2001) llevaron a cabo dos experimentos utilizando hipoclorito de sodio a una dosis de 4 mg L⁻¹ de cloro activo contra *Phytophthora cryptogea*. En el primero observaron que a los tres meses todas las plantas de gerbera regadas con solución nutritiva desinfectada estaban sanas, mientras que 90 % de las plantas regadas con solución no desinfectada presentaron síntomas de la enfermedad. En el segundo observaron que seis meses después las plantas regadas con solución nutritiva reciclada y desinfectada, el 100 % de las gerberas estaban sanas, mientras que 50 % de las plantas de regadas con solución nutritiva no desinfectada mostraron síntomas de la enfermedad o estaban muertas. En ambos casos no observaron síntomas de fitotoxicidad.

Canayan *et al.* (2009) reportaron que las concentraciones de cloro libre de 1, 0.3 y 2 mg L⁻¹ eliminan las zoosporas de *Pythophthora. infestans*, *P. cactorum*, y *Phytium aphanidermatum*, respectivamente. Señalan también que con 14 mg L⁻¹ de cloro libre se eliminan conidios de *Fusarium oxysporum* y *Rizoctonia solani*, pero a esta concentración, se puede dañar la parte radical del cultivo, por lo que

se puede eliminar el cloro por aireación con el uso de carbón activado, sulfito de sodio y dióxido de sodio, en aguas para riego. Asimismo, señalan que una opción para el control de *Phytophthora*, *Phytium*, *Rizoctonia* y *Fusarium*, puede darse utilizando una dosis de 2 mg L^{-1} y aumentar el tiempo de exposición para el control *F. oxysporum* y *R. solani*. Sin embargo, se requiere más investigación para determinar qué tiempo de contacto es suficiente para eliminar a *F. oxysporum* y *R. solani* a 2 mg L^{-1} de cloro libre.

2. 5. 2. Cuaternarios de amonio.

Los cuaternarios de amonio representan una familia de compuestos antimicrobianos considerados como agentes activos catiónicos potentes en cuanto a su actividad desinfectante, ya que son activos para eliminar bacterias grampositivas y gramnegativas, aunque estas últimas en menor grado. Son bactericidas, fungicidas y viricidas. Su actividad la desarrollan tanto sobre el medio ácido como alcalino, aunque en este último muestra mejores acciones. Son compatibles con tensoactivos catiónicos, no iónicos y anfotéricos (Negroni, 2009)

Nel *et al.* (2007) reporta que ciertos compuestos de amonio cuaternario son eficaces como desinfectantes en contra de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*.

Los cuaternarios de amonio se clasifican de la manera siguiente:

Primera generación: Cloruro de benzalconio, también denominado como cloruro de n-alquil dimetil bencil amonio, donde la cadena alquílica puede tener variaciones en la composición de número de carbonos. Las cadenas alquílicas de 12 y 14 carbonos, son los que presentan mayor poder antibacterial. Esta primera generación surgida hace más de 50 años, es la que presenta más baja actividad biocida y dado que tiene muchos años en el mercado, pueden existir ya resistencias bacterianas al producto. Sin embargo, esta molécula sigue utilizándose ampliamente en la desinfección hospitalaria y veterinaria.

Segunda generación: Es un producto cuya denominación química es: cloruro de n-alquil dimetil etil bencil amonio, es decir, tiene un radical etil en el anillo aromático.

Tercera generación: Es la mezcla de las dos primeras generaciones. La mezcla de estos dos cuaternarios resulta tener un incremento en la actividad biocida y baja toxicidad. El uso de la mezcla evita la resistencia bacteriana al uso constante de una sola molécula.

Cuarta generación: Denominados “Twin or Dual Chain Quats” o cuaternarios de “cadena gemela”, son productos cuaternarios con cadenas dialquílicas lineales y sin anillo bencénico como: cloruro de didecil dimetil amonio o cloruro de dioctil dimetil amonio o cloruro de octil decil amonio, cada uno aislado. Estos cuaternarios son superiores en cuanto a actividad germicida, son de baja espuma y tienen una alta tolerancia a las cargas de proteína y al agua dura. Se recomiendan para desinfección en industria alimenticia y de bebidas, ya que se pueden aplicar por su baja toxicidad.

Quinta generación: Es una mezcla de la cuarta con la segunda generación. La quinta generación tiene un desempeño germicida mayor en condiciones hostiles y es de uso seguro.

Los cuaternarios de amonio son agentes no oxidantes, su acción biocida es por contacto y se da alterando el metabolismo de la célula. La acción bactericida de los cuaternarios de amonio ha sido atribuida específicamente a la ruptura de la membrana, la reactivación de las enzimas productoras de energía y a la desnaturalización de las proteínas esenciales de la célula (Negroni, 2009).

Los cuaternarios de amonio se consideran generalmente como desinfectantes de acción rápida y son activos a bajas concentraciones (Tanner, 1989; citado por Nel *et al.*, 2007). En una investigación realizada por Nel *et al.* (2007) observaron que la eficacia contra conidios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* se presentó en un tiempo de exposición de 30 segundos.

Algunos desinfectantes comerciales que contienen compuestos de cuaternario de amonio han sido eficientes contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicys-lycopersici* y *Clavibacter michiganensis* (Vanachter *et al.*, 1991; citado por Slusarski, 2000).

2. 5. 2. Extracto de semillas de toronja.

El extracto de semilla de toronja es un compuesto antimicrobiano de amplio espectro, no tóxico, rico en bioflavonoides, elaborado a base de semillas y pulpa de toronja (*Citrus paradisi*). El ácido ascórbico y el ácido cítrico son componentes que se encuentran en el extracto de semilla de pomelo, las cuales poseen una conocida actividad antimicrobiana (García, 2008).

Ruiz *et al.* (2005) indican que los extractos de semilla de toronja pueden ser una alternativa viable y segura para el control de *Fusarium roseum* en frutos de melón, ya que en una investigación realizada observaron que se redujo el daño hasta en 75 %. Asimismo Rodríguez y Montilla (2002) reportan efectos de control sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

2. 5. 3. Peróxido de hidrógeno.

El uso de los peróxidos es muy amplio en distintas industrias y sectores de la vida cotidiana, que van desde las áreas de la salud humana hasta la industria textil. Es un fuerte e inestable agente oxidante que reacciona para formar H₂O y O radical. Es común añadir a la solución activadores para estabilizar la solución original y aumentar la eficacia. Los principales activadores son el ácido fórmico o ácido acético, que disminuyen el pH en la solución nutritiva. Para el control de patógenos se recomiendan diferentes dosis. Para *Fusarium* se recomienda una concentración de 0.05 % (Van Os, 2010).

Urrestarazu *et al.* (2006) indican que el peróxido de hidrógeno puede ser utilizado para la desinfección de soluciones nutritivas y como aporte de oxígeno al sistema radicular de la planta. En experimentos que se llevaron a cabo se encontró que la aplicación de peróxido de hidrógeno aumentó el rendimiento del cultivo.

2. 5. 4. Radiación Ultravioleta.

Este método consiste en hacer pasar la solución nutritiva por una lámpara con luz incandescente de cuarzo o de vapor de mercurio. La radiación UV afecta la estructura química del ADN de los microorganismos esterilizándolos. Es letal para

la mayoría de los microorganismos, bacterias, esporas de hongos, virus, protozoos, nematodos y algas. Pierde eficacia con la turbidez del agua. La eficacia contra hongos y virus depende de la dosis, empleándose 100 mJ cm^{-2} para control de hongos y 250 mJ cm^{-2} para una completa desinfección (Baixauli y Aguilar, 2002).

Pallares y Duran (2006) indican que la radiación ultravioleta es una radiación electromagnética de longitud de onda entre 100 y 400 nm; siendo la longitud de onda eficaz como germicida de 254 nm. Su acción desinfectante se debe a que provoca alteraciones en el ADN de los microorganismos, originando su muerte.

La radiación ultravioleta puede ser efectiva contra diversos patógenos, muchos productores usan este sistema para la desinfección de la solución nutritiva en sistemas cerrados (Runia y Boonstra, 2004). Runia (1994) indica que con una dosis de 70 mJ cm^{-2} se logra la mortalidad del cien por ciento de conidios de *F. oxysporum* f. sp *lycopersici* y 74 % de conidios y micelio de *Verticillium* en una solución nutritiva. Este mismo autor indica que este método de desinfección no representa riesgo para las plantas, animales y humanos; su costo de inversión y de consumo de energía son relativamente bajos.

2. 5. 5. *Trichoderma* sp y *Bacillus* sp

El género *Trichoderma* es uno de los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades causadas por patógenos del suelo como *Phytophthora*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Fusarium*. Su acción como antagonista se da por parasitismo, producción de metabolitos antifúngicos, competencia por nutrientes y espacio, producción de enzimas hidrolíticas que causan cambios estructurales a nivel celular (Howell, 2003).

Un agente de control biológico que es incapaz de competir por espacio y nutrientes es difícil que se pueda establecer en el suelo. *Trichoderma* es una especie que crece fácilmente junto al sistema de raíces de la planta dándole protección a estas contra los fitopatógenos. Las enzimas y antibióticos producidos por *Trichoderma* implicados en el control biológico están fuertemente influenciadas

por condiciones ambientales como la temperatura, el tipo de suelo, pH, la humedad del ambiente de la planta y por la microflora, motivo por el cual, lo idóneo es aislar al potencial agente de biocontrol de las zonas en donde se planea utilizar (Howell, 2003)

Obzay y Newman (2004) indican que con la aplicación de *T. harzianum* al momento del trasplante en cultivos hidropónicos bajo invernadero, se redujo la incidencia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en un 79 % en fibra de coco y en 73 % en lana de roca, con una severidad de 45 y 48 %, respectivamente.

Las bacterias del grupo de *Pseudomonas fluorescens* y las del genero *Bacillus* son consideradas las más eficaces para controlar enfermedades foliares y de las raíces. Con respecto a *B. subtilis*, se ha estudiado la liberación de compuestos con propiedades antifúngicas como la subtilina y otros antibióticos de la familia de las iturinas. Estas iturinas son polipéptidos que actúan sobre la pared celular de los hongos (Fernandez-Larrea, 2001).

III.MATERIALES Y MÉTODOS

3. 1. Localización

La investigación de campo se desarrolló en un invernadero de vidrio del Instituto de Horticultura de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado a 19° 20´ latitud norte y 98° 53´ longitud oeste, a 2240 msnm. En esta zona la temperatura media anual es de 15 °C y la precipitación de 644.8 mm, con un clima templado subhúmedo con lluvias en verano (García, 1981).

3. 2. Procedencia del inóculo

Las muestras de material vegetal con síntomas de marchitez del tomate fueron colectadas en una parcela comercial de tomate ubicada en Culiacan, Sinaloa, México.

3. 3. Fase de laboratorio.

3. 3. 1. Aislamiento del hongo.

A partir de material vegetal con síntomas de marchitez del tomate, se obtuvo una cepa de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en el laboratorio de fitopatología de la Maestría de Protección Vegetal de la Universidad Autónoma Chapingo. La purificación e identificación del hongo se realizó con base en las características morfológicas que presentó en los medios de cultivo, con ayuda de un microscopio compuesto y con el apoyo de claves taxonómicas (Romero, 1994).

3. 3. 2. Medio de cultivo.

El medio de cultivo utilizado en todas las etapas del experimento fue papa-dextrosa-agar PDA (producto sintético formulado con el nombre comercial de BIOXON). Se formuló una solución con 39 g de PDA L⁻¹ de agua destilada, la cual se esterilizó a 121 °C por 15 minutos en autoclave. Se dejó enfriar y una vez que la solución alcanzó una temperatura de aproximadamente 20 °C, se agregaron antibióticos a base de ampicilina (0.05 g L⁻¹) y la solución se transfirió a cajas petri.

3. 3. 3. Preparación del material vegetal.

De la raíz y tallo de las muestras (Figura 1) se seleccionaron áreas con síntomas de la enfermedad. El tejido enfermo y sano se cortó en secciones de 1.0 x 0.5 cm (parte enferma y sana), se lavó con agua destilada esterilizada y se colocaron en una solución de hipoclorito de sodio al 2 % durante dos minutos, a fin de eliminar microorganismos contaminantes; posteriormente se realizó otro lavado con agua destilada estéril para eliminar el exceso de hipoclorito y finalmente se secaron con toallas absorbentes esterilizadas. Se colocaron cinco secciones de material enfermo en cada caja de petri y se incubaron a 28 °C por una semana.



Figura 1. Material vegetal de tomate con síntomas inducidos por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (pudrición café-rojiza de los haces vasculares).

3. 3. 4. Purificación de la cepa.

Cuando el crecimiento micelial alcanzó un desarrollo definido, se tomaron porciones de medio de cultivo con crecimiento micelial y se transfirieron a cajas petri que contenían medio de cultivo PDA. Una vez que el micelio alcanzó a cubrir toda el área de la caja petri, se procedió a la obtención de la cepa pura por medio de la técnica de cultivo monoconidial. Para ello se tomó una porción (0.3 x 0.3 cm) del medio de cultivo con micelio y se diluyó en un tubo de ensaye con 10 mL de

agua destilada esterilizada, se agitó por cinco minutos y se tomó 1 mL de la solución, el cual se adicionó a otro tubo de ensaye que contenía 9 mL de agua destilada esterilizada. Este procedimiento se repitió hasta lograr cinco diluciones. De la quinta dilución se tomó 1 mL y se depositó en cajas petri con medio de cultivo PDA (1 mL por cada caja); con ayuda de un triángulo de vidrio se distribuyó uniformemente y se incubaron a 28 °C por tres días, periodo en el cual ocurrió la germinación y crecimiento del micelio. De estos crecimientos miceliales se tomó una sección (0.5 x 0.5 cm) de medio de cultivo con micelio (conidio germinado) y se sembró en una nueva caja petri para obtener la cepa pura (Figura 2).



Figura 2. Cepa pura de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (coloración rosácea).

3. 3. 5. Preparación y cuantificación del inóculo.

A partir de la cepa pura, el hongo se sembró en cajas petri con medio PDA; cuando el micelio cubrió la superficie total de las cajas (tres semanas después de la siembra) se procedió a preparar la solución madre a inocular bajo el procedimiento siguiente: primeramente se agregaron 10 mL de agua destilada esterilizada + tween 20 al 0.1 % en cada caja y con ayuda de un cubreobjetos se raspó el micelio y la solución se filtró a través de una manta de cielo. Posteriormente, se tomó 1 mL con una micropipeta esterilizada, la cual se

depositó en la cámara de Neubauer y con la ayuda del microscopio compuesto se determinó el número de microconidios mL^{-1} (Figura 3) y mediante dilución se ajustó la solución madre a una concentración de 10^6 microconidios mL^{-1} .



Figura 3. Microconidios de *F.oxysporum* f. sp. *lycopersici*

3. 3. 6. Prueba de patogenicidad.

Con la finalidad de corroborar la capacidad patogénica de la cepa de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, se llevó a cabo la prueba de patogenicidad, con base en los postulados de Koch. El aislamiento del hongo y preparación del inóculo se realizó como se indica en los puntos anteriores. La inoculación se realizó de la manera siguiente: se eliminó el cepellón de la planta, se realizaron pequeñas heridas a la raíz y fueron sumergidas en la solución con inóculo, durante una hora. Se inocularon 12 plantas y se dejaron cuatro como testigo (sin inocular). Posteriormente se realizó el reaislamiento del hongo a partir de las plantas que mostraron síntomas típicos de marchitez y pudrición café-rojiza en la raíz y finalmente se corroboró e identificó el patógeno.

3.4 Fase de campo.

El estudio en campo consistió de dos ensayos. Uno en sustrato y otro en solución nutritiva (cultivo en solución nutritiva). En cada uno se evaluaron diferentes métodos de desinfestación.

3. 4. 1. Ensayo en sustrato.

Como sustrato se utilizó tezontle rojo nuevo, el cual se desinfestó previamente con vapor de agua, para evitar la posible presencia de microorganismos que pudieran afectar el desarrollo del hongo bajo estudio, y así también garantizar la uniformidad de las unidades experimentales. La plántula utilizada se produjo cuidadosamente a fin de evitar el trasplante de material enfermo que pudiera influir en los resultados de la evaluación. La semilla se sembró en sustrato y charolas desinfectadas previamente y las plantas en semillero fueron manejadas durante 35 días, periodo durante el cual alcanzaron las condiciones óptimas para su trasplante.

3. 4. 1. 1. Infestación del sustrato.

Con ayuda de una aspersora se aplicaron 10,000 microconidios de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* gramo⁻¹ de sustrato. La concentración utilizada fue de 10⁶ microconidios mL⁻¹. Durante la aspersión, el sustrato se removió continuamente a fin de lograr una distribución homogénea del inóculo. Para asegurar la sobrevivencia del patógeno y la uniformidad de las unidades experimentales, se realizó un muestreo previo (Figura 4) en cada unidad experimental a los siete días, para determinar las unidades formadoras de colonia g⁻¹ de sustrato.



Figura 4. Muestreo previo a la aplicación de tratamientos para determinar unidades formadoras de colonia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* g⁻¹ de tezontle.

3. 4. 1. 2. Aplicación de tratamientos en sustrato.

A los 15 días después de la infestación, se llevó a cabo la aplicación de los tratamientos. Se evaluaron siete productos a diferentes dosis, un testigo comercial comúnmente utilizado en la desinfestación y un testigo absoluto (sin aplicación). Los tratamientos se indican en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Tratamientos evaluados en la desinfestación de tezontle rojo, contaminado con *F.oxysporum* f. sp. *lycopersici* (10,000 microconidios gramo⁻¹ de sustrato).

Tratamiento	Dosis (mg L⁻¹ de ia)
Cuaternarios de amonio de cuarta generación (Cloruro de Didecil Dimetil Amonio)	20 y 40
Cuaternarios de amonio de quinta generación (Didecil Dimetil Cloruro de Amonio + Alquil Dimetil Benzil Cloruro de Amonio)	15 y 30
Monopersulfato de potasio	10 y 20
Hipoclorito de sodio	25 y 50
Peróxido de hidrógeno	1000 y 2000
<i>Bacillus subtilis</i>	10 y 20
<i>Trichoderma harzianum</i>	10 y 20
Metan sodio (<i>Testigo comercial</i>)	1000
Testigo (sin aplicación)	-

ia: ingrediente activo.

Antes de la aplicación de tratamientos se realizó un riego hasta humedecer completamente el sustrato. Posteriormente se aplicaron los tratamientos con un gasto de 2.5 L por maceta. El orificio de las macetas para el drenaje de la solución nutritiva fueron cerrados por lo que los tratamientos no drenaron, los cuales se abrieron hasta el momento de la siembra un día después. La aplicación se realizó con una regadera. Para el caso de las unidades experimentales tratadas con hipoclorito de sodio se dio un segundo riego al siguiente día a fin de eliminar residuos del producto.

3. 4. 1. 3. Establecimiento del cultivo.

En cada unidad experimental se trasplantaron seis plantas de tomate Variedad Rio Grande, un día después de la aplicación de los tratamientos, excepto en las unidades experimentales tratadas con el testigo comercial (metam sodio), en las cuales el trasplante se realizó a los 15 días después de la aplicación.

El cultivo se condujo durante 80 días, periodo durante el cual se llevaron a cabo las labores de tutoro, podas y fertiirrigación como se realiza de manera convencional. Las plagas y enfermedades se monitorearon y en su caso se aplicaron métodos preventivos de control. Cabe señalar que no se utilizaron fungicidas que pudieran afectar la evaluación de los tratamientos objeto del presente estudio.

3. 4. 1. 4. Diseño experimental.

Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con cuatro repeticiones. La unidad experimental estuvo conformada por un contenedor con 20 kilogramos de tezontle (Figura 5), en el cual se establecieron seis plantas.

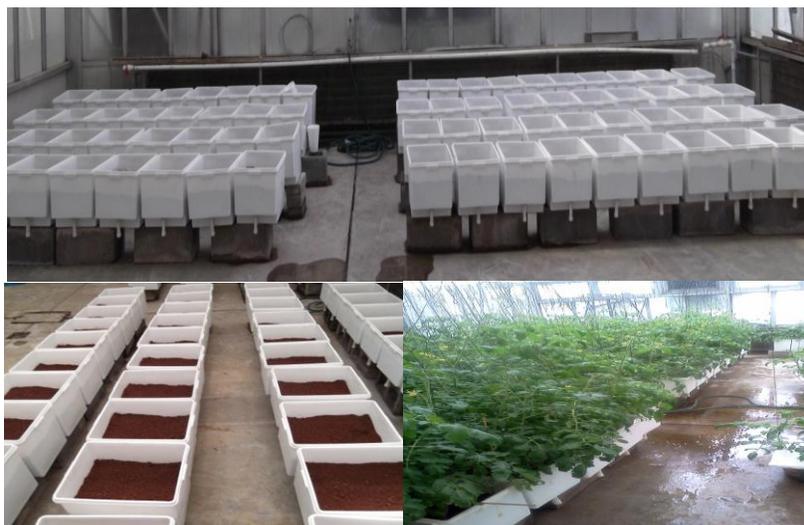


Figura 5. Contenedores utilizados en la evaluación de tratamientos para la desinfestación de tezontle rojo, contaminado con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (10,000 microconidios g⁻¹ de sustrato).

3. 4. 1. 5. Variables y método de evaluación.

Los parámetros evaluados fueron: unidades formadoras de colonia por g^{-1} de sustrato, así como la incidencia y severidad de la enfermedad en las plantas de tomate.

Unidades formadoras de colonia.

Se tomó una muestra compuesta de 300 g de sustrato (100 g de la parte superior, 100 g de la parte media y 100 gr de la parte inferior) en cada unidad experimental, a los 15, 30 y 45 días después de la aplicación de los tratamientos.

De la muestra compuesta se tomaron 10 g de sustrato y se diluyeron en 90 mL de agua destilada estéril (Figura 6), posteriormente se realizó una dilución de 10^3 y se tomó 1 mL de esa solución la cual se sembró en cajas petri con medio de cultivo PDA. Después de siete días se contabilizaron las colonias formadas en dicho medio.

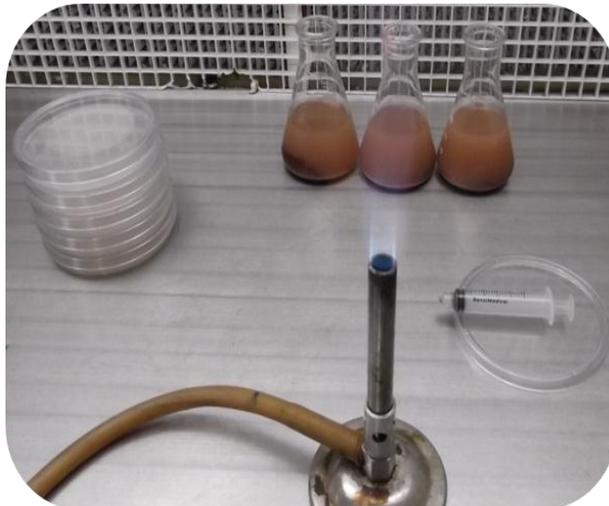


Figura 6. Preparación de muestras para determinar unidades formadoras de colonia g^{-1} de sustrato.

Incidencia y severidad

La evaluación se realizó a los 80 días después de la siembra (maduración del primer racimo). Todas las plantas se arrancaron completamente y con ayuda de una navaja se abrieron el tallo y la raíz.

Para determinar la incidencia, se contabilizaron plantas con síntomas de la enfermedad y se calculó el porcentaje de incidencia de la siguiente manera:

$$PI = \frac{PT - PS}{PT} \times 100$$

PI: Porcentaje de incidencia

PT: Plantas totales

PS: Plantas con síntomas

Para evaluar la severidad, se utilizó la siguiente escala de evaluación (Cuadro 2):

Cuadro 2. Escala para evaluar grado de infección en plantas de tomate por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Índice	Síntoma
0	Sin síntomas visibles
1	Pudrición de la raíz
2	Pudrición de la raíz y de 0.1-2 cm de necrosis interna del tallo
3	Pudrición de raíz y de 2.1-6 cm de necrosis interna del tallo
4	Pudrición de la raíz y de 6.1-15 cm o más de necrosis interna del tallo

Fuente: Apodaca *et al.*, 2002.

Los datos obtenidos con la escala se transformaron a grado de infección o porcentaje de severidad mediante la fórmula de Townsend y Hauberger.

$$P = \frac{\Sigma(n*V)}{\text{Categoría mayor} * N} \times 100$$

P= Porcentaje de severidad

n= número de planta en cada categoría

V= Valor numérico de cada categoría

N= Número total de plantas en la muestra

Fitotoxicidad.

La evaluación de fitotoxicidad se realizó con la escala siguiente (Cuadro 3).

Cuadro 3. Escala de puntuación propuesta por la European Weed Research Society (EWRS) para evaluar el posible efecto fitotóxico.

Valor	Efectos sobre el cultivo	% de fitotoxicidad
1	Sin efecto	0.0 a 1.0
2	Síntomas muy ligeros	1.1 a 3.5
3	Síntomas ligeros	3.6 a 7.0
4	Síntomas que no se reflejan en el rendimiento	7.1 a 12.5
Límite de aceptabilidad		
5	Daño medio	12.6 a 20.0
6	Daños elevados	20.1 a 30.0
7	Daños severos	30.1 a 50.0
8	Daños muy severos	50.1 a 99.0
9	Muerte completa	99.1 a 100

3. 4. 1. 6. Análisis de datos.

La eficacia de los tratamientos se obtuvo con la fórmula de Abbott:

$$\% E = \frac{IT - it}{IT} \times 100$$

% E = Porcentaje de eficacia

IT = Infección en el testigo.

it = Infección en el tratamiento.

Los resultados obtenidos fueron analizados con pruebas estadísticas incluyendo análisis de varianza y comparaciones de medias con la prueba de Tukey ($P=0.05$), con el paquete estadístico SAS (SAS, 2002).

3. 4. 2. Ensayo en solución nutritiva.

Se utilizó la solución nutritiva de Steiner al 50 % (Steiner, 1984), la cual se usa comúnmente en la nutrición de los cultivos. Se empleó agua esterilizada a fin de evitar la posible presencia de microorganismos que pudieran afectar el desarrollo del hongo bajo estudio, y así también garantizar la uniformidad de las unidades experimentales. La plántula utilizada se produjo bajo las mismas condiciones que la utilizada en la evaluación en sustrato (3.4.1).

3. 4. 2. 1. Infestación de la solución nutritiva

Se diluyeron 10,000 microconidios de *F. oxysporum* f. sp. *Lycopersici* mL^{-1} de solución nutritiva. La concentración utilizada fue de 10^6 microconidios mL^{-1} . Para asegurar la sobrevivencia del patógeno y la uniformidad de las unidades experimentales, se realizó un muestreo previo (Figura 7) a los cinco días, en cada unidad experimental para determinar las unidades formadoras de colonia mL^{-1} en la solución nutritiva.



Figura 7. Muestreo previo a la aplicación de tratamientos en solución nutritiva para determinar unidades formadoras de colonia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* mL^{-1}

3. 4. 2. 2. Aplicación de tratamientos en solución nutritiva.

A los 15 días después de la inoculación, se llevó a cabo la aplicación de los tratamientos. Los productos y métodos evaluados se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Tratamientos evaluados en la desinfección de una solución nutritiva, contaminada con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (10,000 microconidios mL⁻¹ de solución nutritiva).

Tratamiento	Dosis mg L⁻¹ de ia
Cuaternarios de amonio de quinta generación (Didecil Dimetil Cloruro de Amonio + Alquil Dimetil Benzil Cloruro de Amonio)	1 y 2
Cuaternarios de amonio de quinta generación + Sulfato de Cobre Pentahidratado	1+5 y 1+8
Permanganato de potasio	10 y 15
Hipoclorito de sodio	4 y 6
Peróxido de hidrógeno	500 y 1000
Extracto de semillas de toronja (<i>Citrus paradisi</i>)	10 y 20
Radiación ultravioleta	250 mJ cm ⁻²
Testigo (sin aplicación)	

ia: Ingrediente activo.

Las dosis de los tratamientos se diluyeron directamente en la solución nutritiva considerando el volumen de solución nutritiva de la unidad experimental (20 L).

3. 4. 2. 3. Establecimiento del cultivo.

En cada unidad experimental se trasplantaron cinco plantas de tomate Variedad Rio Grande, tres días después de la aplicación de tratamientos. El trasplante se hizo en bandejas con solución nutritiva la cual se oxigenó con ayuda de bombas utilizadas en la oxigenación de peceras (Figura 8); el cultivo se condujo durante 80 días, periodo durante el cual se llevaron a cabo labores de tutorado, podas y control de plagas y enfermedades. Cabe señalar que no se utilizaron fungicidas que pudieran afectar la evaluación de los tratamientos objeto del presente estudio.



Figura 8. Siembra del cultivo de tomate en solución nutritiva (oxigenación con bombas), contaminada con 10,000 microconidios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* mL⁻¹.

3. 4. 2. 4. Diseño experimental.

Se utilizó un diseño de bloques completamente al azar con tres repeticiones. El tamaño de la unidad experimental fue una bandeja (Figura 9) con 20 litros de solución nutritiva, en la cual se sembraron cinco plantas de tomate.



Figura 9. Bandeja con solución nutritiva contaminada con *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

3. 4. 2. 5. Variables y método de evaluación.

Los parámetros evaluados fueron: unidades formadoras de colonia mL^{-1} de solución nutritiva, así como la incidencia y severidad de la enfermedad en las plantas de tomate.

Unidades formadoras de colonia

Se tomó una muestra de 100 mL en cada unidad experimental a las 6, 24 y 48 horas después de la aplicación de los tratamientos. De la muestra se tomaron 10 mL de solución nutritiva y se diluyeron en 90 mL de agua destilada estérilizada (Figura 10), posteriormente se hizo una dilución de 10^3 y se tomó 1 mL de esa solución la cual se sembró en cajas petri con medio de cultivo PDA. Después de siete días se contabilizaron las colonias formadas en el medio de cultivo.



Figura 10. Preparación de muestras para determinar unidades formadoras de colonia mL^{-1} de solución nutritiva.

Incidencia y severidad.

Para la evaluación de la incidencia y severidad se procedió de la misma forma que para el ensayo en sustrato (3.4.1.5)

3. 5. 1. 6. Análisis de datos.

La metodología de análisis se hizo tal como se indicó en el punto 3.4.1.6.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. Análisis de varianza de las variables evaluadas.

El análisis de varianza indicó que en las tres fechas de evaluación, a los 15, 30 y 45 días después de la aplicación, todas las variables evaluadas en el sustrato (Cuadro 5) y en la solución nutritiva (Cuadro 6 y 7) fueron altamente significativos (diferencia entre tratamientos).

Cuadro 5. Cuadrados medios de diferentes variables evaluadas en tezontle.

FV	GL	UFC Primera evaluación	UFC Segunda evaluación	UFC Tercera evaluación	Incidencia (%)	Severidad (%)
Tratamiento	15	21.86**	18.69**	17.11 **	1403.05 **	1403.05**
Bloque	3	1.18	0.35	3.09	1258.98	1258.98
Error	45	0.40	0.44	0.21	94.15	94.15

.: Altamente significativo; **FV.: Fuente de variación; **GL**: Grados de libertad; **UFC**: Unidades formadoras de colonia.

Cuadro 6. Cuadrados medios de la variable unidades formadoras de colonia evaluada en solución nutritiva.

Fuente de variación	GL	UFC 1 ^{era} Evaluación	UFC 2 ^{da} Evaluación	UFC 3 ^{era} Evaluación
Tratamiento	13	15.62**	15.51**	14.55**
Bloque	2	0.50	0.30	0.16
Error	26	0.19	0.23	0.24

.: Altamente significativo; **GL: Grados de libertad; **UFC**: Unidades formadoras de colonia.

Cuadro 7. Cuadrados medios de la incidencia y severidad evaluada en solución nutritiva.

Fuente de variación	GL	Incidencia (%)	Severidad (%)
Tratamiento	9	145.18**	85.83**
Bloque	2	1554.07	1200
Error	18	693.33	52.5

.: Altamente significativo; **GL: Grados de libertad.

4. 2. Identificación del patógeno y prueba de patogenicidad.

El hongo aislado de las muestras de tomate con síntomas de marchitez y pudrición de raíz y cuello, se identificó como *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, con base en las características descritas por Romero (1992) y Mendoza (1996). El patógeno mostró un periodo de incubación de 45 días, evidenciando epinastia y amarillamiento de las hojas basales (Figura 11A), y a los 65 días se presentó un marchitamiento general. El porcentaje de incidencia en las plantas inoculadas fue de 100 %, lo que demostró la gran capacidad patogénica del hongo. Asimismo, al realizar un corte transversal y longitudinal del tallo, se observó una necrosis café rojiza de los tejidos vasculares (Figura 11B). Por otro lado, la cepa se tornó de color rosa púrpura (Figura 11C); con la presencia abundante de microconidios hialinos y elípticos (Figura 11D), características que coinciden con las descritas por Romero (1992) y Mendoza (1996) para *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

4. 3 Evaluación de métodos de desinfestación en sustrato.

4. 3. 1. Unidades formadoras de colonia (UFC).

Los resultados del muestreo previo y en la primera, segunda y tercera evaluación, correspondiente a los 15, 30 y 45 días, respectivamente después de la aplicación de los tratamientos, se indican en el Cuadro 8 y la tendencia de los mismos se ilustra en la Figura 12. En el muestreo previo, las UFC de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* g⁻¹ de sustrato, fueron estadísticamente iguales en todas las unidades experimentales, lo que confirmó una presencia homogénea del patógeno antes de la aplicación de los tratamientos. En las evaluaciones realizadas a los 15, 30 y 45 días después de la aplicación de los tratamientos, se notó una diferencia significativa entre éstos (Cuadro 8). En las tres fechas de evaluación, el mayor control del patógeno se dio con los tratamientos a base de hipoclorito de sodio (25 y 50 mg L⁻¹) y peróxido de hidrógeno (1000 y 2000 mg L⁻¹), alcanzando porcentajes de control de 78 % con la dosis más alta de ambos productos, siendo estadísticamente igual al testigo comercial (metam sodio a 1000 mg L⁻¹), el cual logró 81 % de control. Cabe mencionar que los mejores porcentajes de eficacia se presentaron desde la primera evaluación (Cuadro 8).

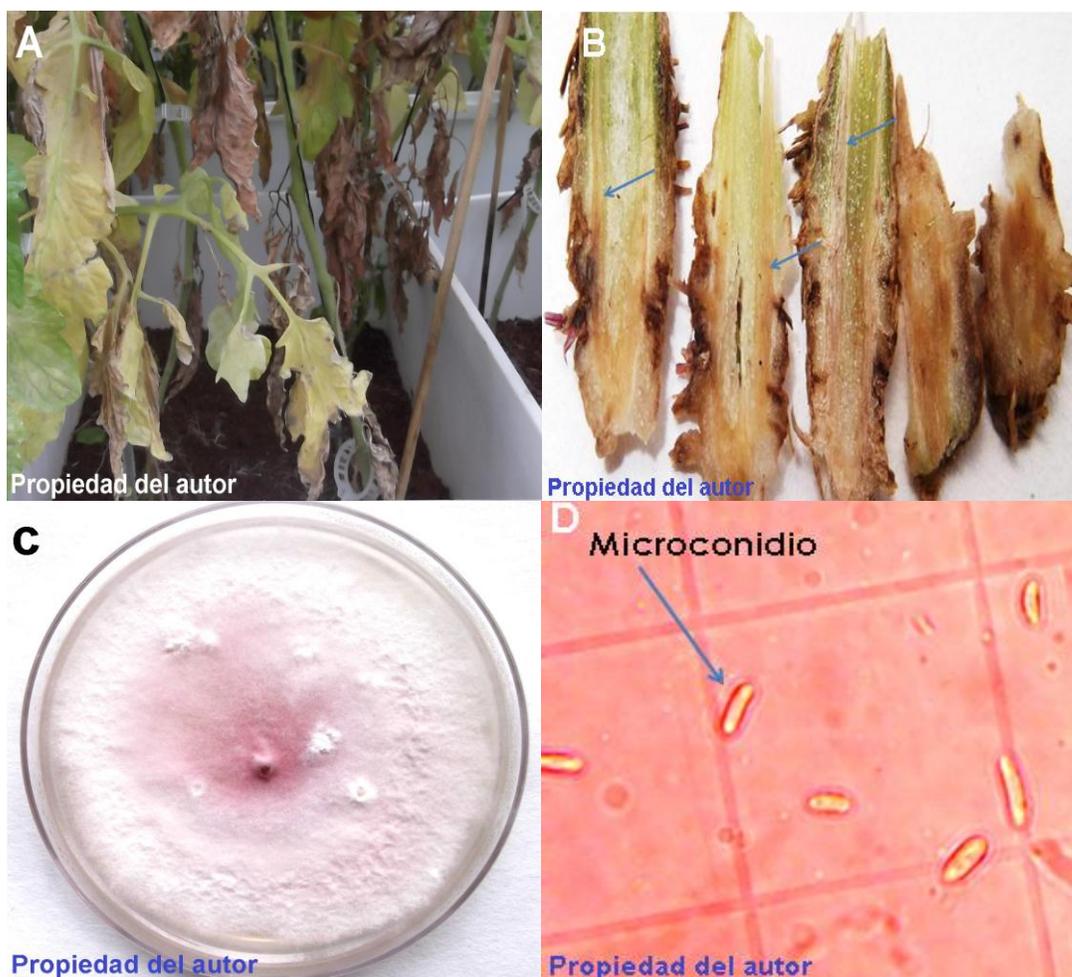


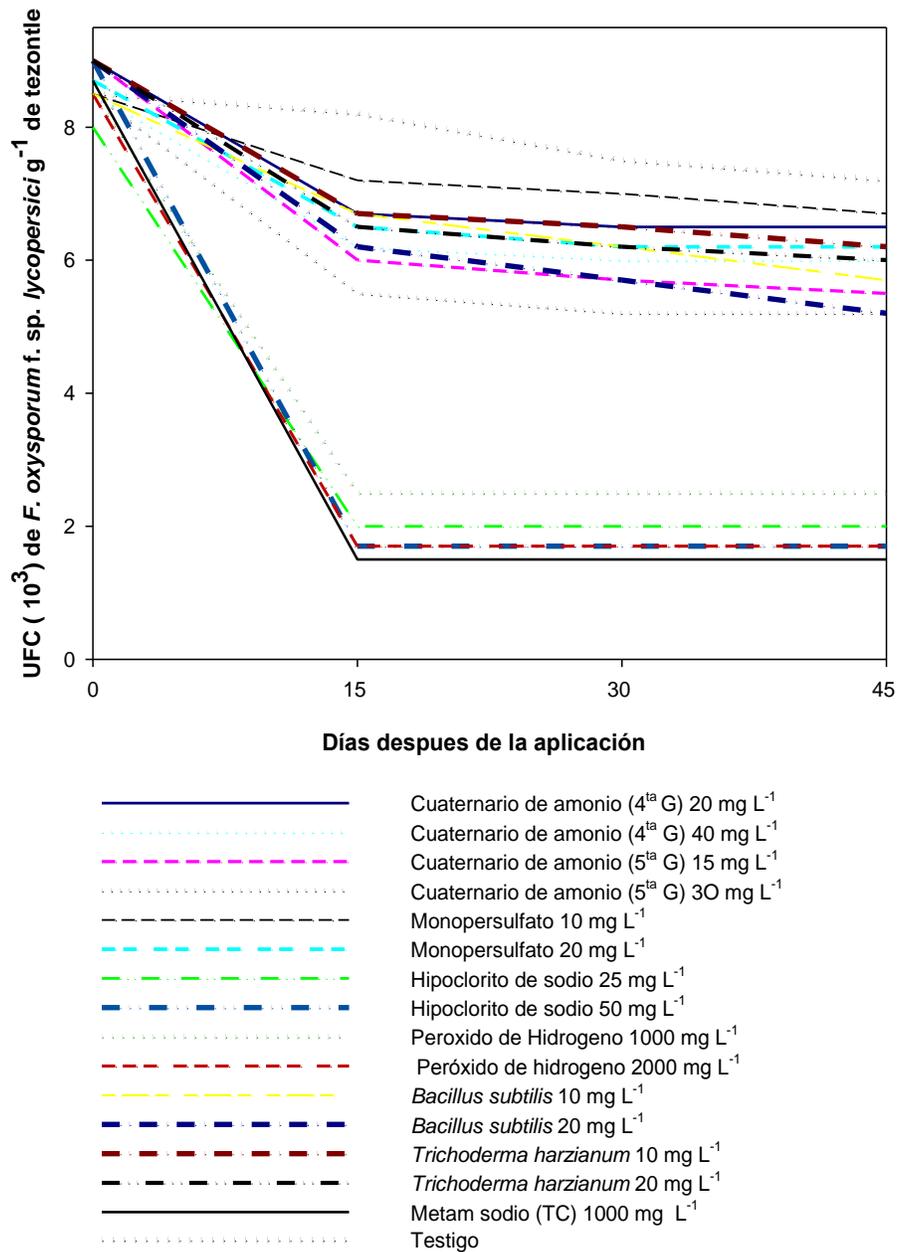
Figura 11. Síntomas y aislamiento de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*. A) Marchitamiento y amarillamiento de las hojas basales, B) Necrosis de los haces vasculares, C) Colonia color rosa púrpura en medio PDA, de ocho días de edad y D) Microconidios.

Cuadro 8. Unidades formadoras de colonia de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* por g⁻¹ de sustrato y porcentaje de eficacia de los tratamientos, en diferentes fechas de muestreo.

Tratamiento	Dosis mg L ⁻¹ de ia	MP UFC 1 x 10 ³	1 ^{era}		2 ^{da}		3 ^{era}	
			Evaluación 15 DDA		Evaluación 30 DDA		Evaluación 45 DDA	
			UFC 1 x 10 ³	E %	UFC 1 x10 ³	E %	UFC 1 x10 ³	E %
Cuaternarios de amonio (4 ^{ta} G.)	20	9 a ²	6.7 c	18	6.5 c	13	6.5 c	10
	40	8.5 a	6.2 d	24	6 c	20	6 d	17
Cuaternarios de amonio (5 ^{ta} G.)	15	9 a	6 d	27	5.7 d	23	5.5 d	24
	30	8.5 a	5.5 e	33	5.2 e	30	5.2 e	27
Monopersulfato de potasio	10	8.5 a	7.2 b	12	7 b	6	6.7 b	6
	20	8.7 a	6.5 d	21	6.2 c	16	6.2 c	13
Hipoclorito de sodio	25	8 a	2 f	75	2 f	74	2 f	72
	50	9 a	1.7 f	78	1.7 f	76	1.7 f	75
Peróxido de hidrógeno	1000	8.5 a	2.5 f	69	2.5 f	66	2.5 f	65
	2000	8.5 a	1.7 f	78	1.7 f	76	1.7 f	75
<i>Bacillus subtilis</i>	10	8.5 a	6.7 c	18	6.2 c	16	5.7 d	20
	20	9 a	6.2 d	24	5.7 d	23	5.2 e	27
<i>Trichoderma harzianum</i>	10	9 a	6.7 c	18	6.5 c	13	6.2 c	13
	20	9 a	6.5 d	21	6.2 c	16	6 d	17
Metam sodio (TC)	1000	8.7 a	1.5 f	81	1.5 f	80	1.5 f	79
Testigo sin aplicación		8.5 a	8.2 a		7.5 a		7.2 a	
DMS		1	0.5		0.6		0.4	

²Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales; **DDA**: Días después de la aplicación; **E**: Eficacia; **G**: generación; **ia**: Ingrediente activo; **MP**: Muestreo previo; **UFC**: Unidades formadoras de colonia; **TC**: Testigo comercial (fumigante registrado para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*).

En la Figura 12, se observa que el número de UFC de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* por g⁻¹ de sustrato en el testigo fue a la baja en los diferentes muestreos, lo cual se puede deber a que durante este periodo se realizaron fertirriegos que pudieron arrastrar a los microconidios hacia la parte inferior de las macetas y ser acarreados hacia el exterior del sistema por medio de la solución nutritiva drenada. Lo anterior se corroboró, al sembrar esta solución nutritiva drenada en medio de cultivo PDA, en el cual se observó el crecimiento de dicho hongo (Figura 13). Cabe señalar que lo anterior no es un factor que haya afectado la evaluación de los tratamientos, ya que todas las unidades experimentales fueron tratadas de la misma forma (el fertirriego fue similar en todos los tratamientos).



Nota: La dosis están en mg de ingrediente activo; **G:** Generación; **TC:** Testigo comercial.

Figura 12. Unidades formadoras de colonia de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* por g⁻¹ de sustrato, en el muestreo previo y a los 15, 30 y 45 días después de la aplicación de los tratamientos.



Solución nutritiva drenada en el Testigo



Crecimiento de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* en medio PDA

Figura 13. Crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en medio de cultivo PDA, a partir de la solución nutritiva drenada en las unidades experimentales del testigo.

4. 3. 2. Incidencia y severidad de la marchitez del tomate.

El porcentaje de incidencia y severidad de la marchitez del tomate se observa en el Cuadro 9. El testigo alcanzó una incidencia de 70.8 % y una severidad del 41.6 %, corroborándose el carácter patogénico de la cepa utilizada, cuyos síntomas pueden observarse en la Figura 14. Asimismo, se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos. También se apreció que los datos obtenidos fueron congruentes y/o similares con los valores de la variable UFC de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* g⁻¹ de sustrato, es decir, de manera general la menor incidencia y severidad se presentó en los tratamientos a base de metam sodio (1000 mg L⁻¹), hipoclorito de sodio (25 y 50 mg L⁻¹) y peróxido de hidrógeno (1000 y 2000 mg L⁻¹), que fueron tratamientos en donde se ejerció el mejor control de UFC g⁻¹ (Cuadro 9).

Cuadro 9. Incidencia y severidad de la marchitez del tomate *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en plantas de tomate sembradas en tezontle rojo contaminado con 10,000 microconidios g⁻¹ de sustrato, a los 80 días después del trasplante.

Tratamiento	Dosis mg L ⁻¹ de ia	Incidencia (%)	Eficacia (%)	Severidad (%)	Eficacia (%)
Sales cuaternarias (4 ^{ta} G)	20	45.8 ^z c	35	29.1 a	30
	40	41.7 c	41	26 c	37
Sales cuaternarias (5 ^{ta} G)	15	41.7 c	41	26.2 c	37
	30	37.5 c	47	23.9 d	42
Monopersulfato de Potasio	10	50 b	29	31.2 a	25
	20	45.8 c	35	27 c	35
Hipoclorito de sodio	25	12.5 d	82	9.3 e	77
	50	8.3 d	88	6.2 f	85
Peróxido de hidrógeno	1000	12.5 d	82	10.4 e	75
	2000	8.3 d	88	6.2 f	85
<i>Bacillus subtilis</i>	10	45.8 c	35	28.1 b	32
	20	41.7 c	41	23.9 d	42
<i>Trichoderma harzianum</i>	10	45.8 c	35	30.2 a	27
	20	37.5 c	47	23.9 d	42
Metam sodio (TC)	1000	8.3 d	88	7.2 f	82
Testigo		70.8 a		41.6 a	
DMS		24.8		6.8	

^zTratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales; **G**: Generación; **ia**: Ingrediente activo; **TC**: Testigo comercial (fumigante registrado para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*).

Como ya se indicó en las diferentes variables evaluadas (UFC de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* g⁻¹ de sustrato, incidencia y severidad de la marchitez del tomate) el mejor control de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* se logró con los tratamientos a base de hipoclorito de sodio (25 y 50 mg L⁻¹) y peróxido de hidrogeno (1000 y 2000 mg L⁻¹), similar a la aplicación del metam sodio (1000 mg L⁻¹).



Figura 14. Síntomas de marchitez en las hojas basales y necrosis de los haces vasculares en plantas de tomate sembradas en el testigo (tezontle rojo contaminado con 10,000 microconidios de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* g⁻¹).

El hecho de que el hipoclorito de sodio haya mostrado un control aceptable contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, se puede deber a sus propiedades como agente oxidante que afecta la membrana celular, cuyo poder oxidativo es de 1.36 voltios; de hecho Resh (1992) lo recomienda para la desinfección de sustratos; sin embargo, por ser un producto que puede causar fitotoxicidad, se deben realizar riegos posteriores a su aplicación, a fin de eliminar los residuos. Es importante recalcar que en esta investigación, con 25 mg L⁻¹ de hipoclorito de sodio, se logró reducir las UFC de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* g⁻¹ de tezontle rojo hasta 75 % y con 50 mg L⁻¹ hasta 78 %, lo cual se logró realizando la aplicación bajo condiciones en que se usa comercialmente este sustrato (macetas de 20 kg); estos resultados fueron inferiores a los reportados por Cayanan (2009) quien a nivel laboratorio puso conidios de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en diferentes concentraciones de cloro, encontrando que una dosis de 14 mg L⁻¹ de cloro libre, logró una eficacia de 100 %; quizás dicha diferencia en la eficacia se deba a que los estudios se realizaron en condiciones diferentes al de esta investigación.

Por otra parte la eficacia aceptable de 78 % del peróxido de hidrógeno a dosis de 2000 ppm fue igual al hipoclorito de sodio (50 mg L⁻¹); dicha eficacia se pudo deber a que ambos son agentes oxidantes, aunque el poder oxidante del peróxido de hidrógeno es mayor al hipoclorito de sodio. El peróxido es utilizado en distintas actividades como desinfectante en la industria de los alimentos, de los cosméticos,

en actividades médicas, entre otras; además, Muñoz *et al.* (2009) llevaron a cabo la evaluación de este producto en la desinfección de semillas contra *Fusarium circinatum*, encontrando un control eficiente, el cual fue similar o mejor al de algunos fungicidas químicos, además de que favorece la germinación de las semillas. Asimismo, Yuce (2011) indicó que productos como el metam sodio, por si solos no logran una desinfestación satisfactoria en suelos contaminados por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, por lo cual, lo evaluó en mezcla con peróxido de hidrógeno, logrando una mayor eficacia. Si se considera que algunos de los fumigantes comúnmente utilizados ya no han sido incluidos en la lista de productos autorizados por la Unión Europea (Yuce, 2011) y que las exportaciones que se realizan a Europa bajo el esquema de inocuidad rigen el uso de plaguicidas en base a esa autorización, el peróxido de hidrógeno pudiera ser una herramienta útil dentro de un manejo integrado, ya que es un producto seguro para la salud humana (FDA, 2012).

En lo que respecta a los agentes de biocontrol evaluados, su eficacia contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* fue baja; ya que *Bacillus subtilis* (20 ppm) logró 24 % y *Trichoderma harzianum* (20 ppm) 21 % al ser aplicados en tezontle rojo, a pesar de que dichos productos biológicos se recomiendan para el control de *Fusarium* sp (Vannaci y Gullino, 2000; Fernandez-Larrea, 2001; Gullino *et al.*, 2005;), lo cual se puede atribuir a la forma y momento de la aplicación, ya que en este caso se realizó directamente a un sustrato sin contenido de materia orgánica y días antes del trasplante; cabe señalar que la materia orgánica es de vital importancia para el establecimiento, sobrevivencia, colonización e incremento de los organismos de biocontrol. En este sentido Ozbay y Newman (2004) encontraron que la aplicación de *Trichoderma harzianum* al momento del trasplante en cultivos hidropónicos redujo la incidencia de *Fusarium oxysporum* en un 79 % en fibra de coco y en un 73 % en lana de roca. Ambos resultados nos permiten considerar que la aplicación es recomendable después de la desinfestación, por lo que los agentes de biocontrol deben ser considerados como productos alternos al uso de fungicidas, pero no para desinfección de sustratos, por lo que podrían ser parte de un manejo integral de enfermedades en

combinación con otros métodos (Vannaci y Gullino, 2000; Gullino *et al.*, 2005). La aplicación de un producto desinfectante y posteriormente la aplicación de un agente de biocontrol pudiera ser una buena estrategia ya que brindarían una protección posterior, lo cual es importante si consideramos que *Fusarium* puede reinfestar fácilmente a los suelos desinfectados (Yuce, 2011).

Asimismo, los cuaternarios de amonio, presentaron eficacias relativamente bajas alcanzando como máximo un 33 % a dosis de 30 mg L⁻¹ con cuaternarios de quinta generación, a pesar de que su uso como desinfectante ha sido eficiente en el control de *Fusarium oxysporum* f. *ubense* y es ampliamente recomendado para la desinfección de superficies y herramientas (Nel *et al.*, 2007); por lo que para mejorar su eficacia, bajo los niveles de infestación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* establecidos en este experimento, una dosis más alta o tiempo mayor de exposición pudieran lograr una mayor eficacia, ya que es un producto no oxidante, cuyo mecanismo de acción se da por contacto afectando la membrana celular. Asimismo, por ser un producto no residual, quizás se podría usar dentro de un manejo integrado de enfermedades, ya que, también han demostrado eficacia contra *Clavibacter michiganensis* importante en el cultivo de tomate (Vanachter *et al.*, 1991; Slusarski, 2000).

4. 4. Evaluación de métodos de desinfección en solución nutritiva.

4. 4. 1. Unidades formadoras de colonia (UFC).

Los resultados obtenidos en el muestreo previo y en la primera, segunda y tercera evaluación correspondiente a las 12, 24 y 48 horas, respectivamente después de la aplicación de los tratamientos, se muestran en el Cuadro 10 y su tendencia en cada evaluación se ilustra en la Figura 15. En el muestreo previo, las UFC de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* mL⁻¹ de solución nutritiva fueron estadísticamente iguales en todos los tratamientos, lo que confirma una presencia homogénea del patógeno antes de la aplicación de los mismos. En las diferentes evaluaciones, los tratamientos que presentaron las mayores eficacias en el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* fueron: el uso de radiación ultravioleta

(250 mJ cm⁻²), hipoclorito de sodio (4 y 6, mg L⁻¹) y peróxido de hidrógeno (500 y 1000 mg L⁻¹), ya que redujeron el número de propágulos de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* de 8.7 x 10³ a 0, 1.7 y 1.7 x 10³ propagulos mL⁻¹ de solución nutritiva, respectivamente.

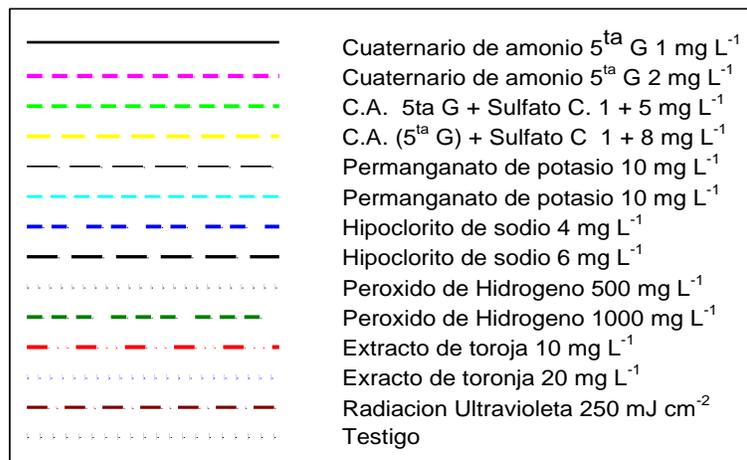
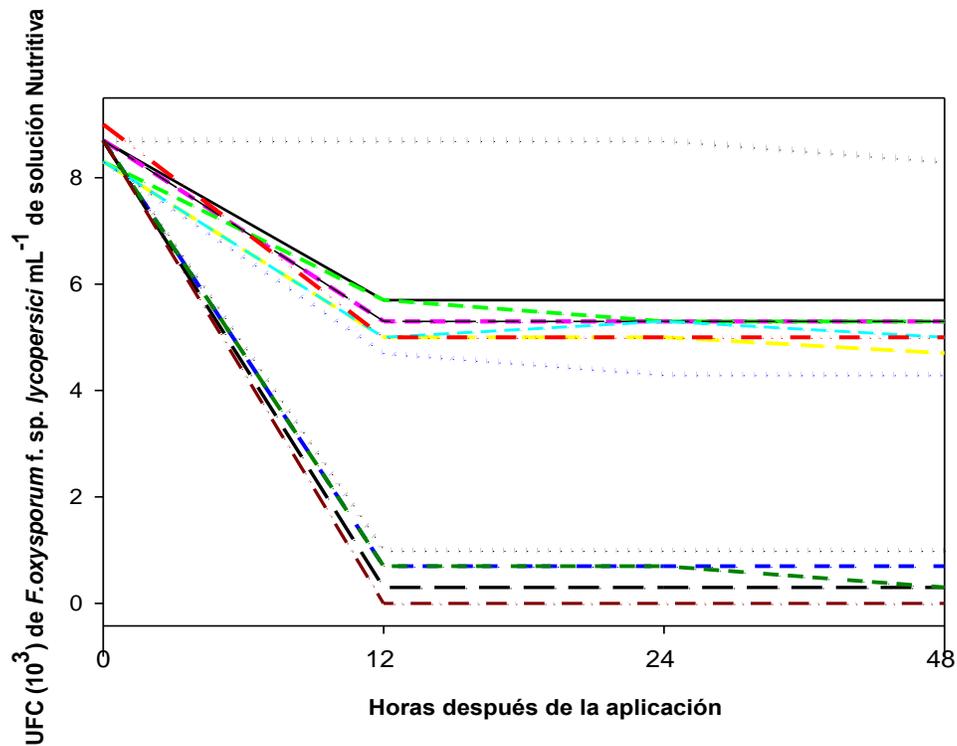
4. 4. 2. Incidencia y severidad de la marchitez del tomate.

El porcentaje de incidencia y severidad de la marchitez del tomate se observa en el Cuadro 11. Los tratamientos en donde se presentó menor incidencia y severidad de esta enfermedad, también fueron en los tratamientos a base de radiación ultravioleta (250 mJ cm⁻²), hipoclorito de sodio (6 y 8 mg L⁻¹) y peróxido de hidrógeno (500 y 1000 mg L⁻¹). De manera general, la menor incidencia y severidad se presentó en los tratamientos que lograron un mayor control respecto a la variable de UFC mL⁻¹ de solución nutritiva. En el testigo se alcanzó una incidencia de 73.3 % y una severidad de 63.3 %, lo que corrobora el carácter patogénico de la cepa utilizada (Cuadro 11) y los síntomas se pueden observar en la Figura 16. La evaluación de incidencia y severidad de dicha enfermedad en los tratamientos a base de cuaternarios de amonio de quinta generación + sulfato de cobre, no se llevaron a cabo, ya que se presentó fitotoxicidad en las plantas de tomate (Figura 17), un caso similar ocurrió con el permanganato de potasio. De igual forma, se presentó una ligera fitotoxicidad (alrededor de quince días) en el tratamiento a base de hipoclorito de sodio (6 mg L⁻¹), aunque después de aproximadamente dos semanas, estos síntomas desaparecieron.

Cuadro 10. Unidades formadoras de colonia de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* por mL⁻¹ de solución nutritiva y porcentaje de eficacia de los tratamientos, en diferentes fechas de muestreo.

TRATAMIENTO	DOSIS mg L ⁻¹ de ia	Muestreo Previo UFC 1 x 10 ³	1 ^{era}		2 ^{da}		3 ^{era}	
			Evaluación 12 HDA UFC 1 x 10 ³	% E	Evaluación 24 HDA UFC 1 x 10 ³	% E	Evaluación 48 HDA UFC 1 x 10 ³	% E
Cuaternarios de amonio (5 ^{ta} G)	1	8.7 a ²	5.7 b	34	5.7 b	34	5.7 b	31
	2	8.7 a	5.3 b	38	5.3 b	38	5.3 b	35
Cuaternarios de amonio (5 ^{ta} G) + sulfato de cobre	1+5	8.3 a	5.7 b	34	5.3 b	38	5.3 b	35
	1 + 8	8.3 a	5 b	41	5 b	41	4.7 b	43
Permanganato de potasio	10	8.7 a	5.3 b	38	5.3 b	38	5.3 b	35
	15	8.3 a	5 b	41	5.3 b	38	5 b	39
Hipoclorito de sodio	4	8.7 a	2.3 c	72	2.3 c	72	2.3 c	71
	6	8.7 a	1.7 c	80	1.7 c	80	1.7 c	79
Peróxido de hidrógeno	500	8.7 a	2 c	76	2 c	76	2 c	75
	1000	8.7 a	1.7 c	80	1.7 c	80	1.7 c	79
Extracto de semilla (toronja)	10	9 a	5 b	41	5 b	41	5 b	39
	20	8.3 a	4.7 b	45	4.3 b	49	4.3 b	47
Radiación UV	250 mJ cm ⁻²	8.7 a	0 d	100	0 d	100	0 d	100
Testigo (sin aplicación)		8.7 a	8.7 a		8.7 a		8.3 a	
DMS		0.5	0.4		0.4		0.4	

²Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales; **ia**: Ingrediente activo; **UFC**: Unidades formadoras de colonia; **HDA**: Horas después de la aplicación; **E**: Eficacia; **G**: Generación.



Nota: Las dosis son están en mg de ingrediente activo; **G:** Generación; **C:** Cobre;

Figura 15. Unidades formadoras de colonia de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* por mL⁻¹ de solución nutritiva, en el muestreo previo y a las 12, 24 y 48 horas después de la aplicación de los tratamientos.

Cuadro 11. Incidencia y severidad de la marchitez del tomate *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en plantas de tomate sembradas en solución nutritiva contaminada con 10,000 microconidios mL⁻¹, a los 80 días después del trasplante

Tratamiento	Dosis mg L ⁻¹ de ia	Incidencia (%)	Eficacia (%)	Severidad (%)	Eficacia (%)		
Cuaternarios amonio (5 ^{ta} G)	de 1	53.3	b ^z	27	41.6	b	24.2
	2	46.7	c	36	38.3	c	30.3
Cuaternarios amonio (5 ^{ta} G) sulfato de cobre	de 1+ 5	*	*	*	*	*	*
	+ 1 + 8	*	*	*	*	*	*
Permanganato potasio	de 10	*	*	*	*	*	*
	15	*	*	*	*	*	*
Hipoclorito de sodio	4	20	d	73	11.6	d	78.7
	6	13.3	f	82	10	f	81.8
Peróxido de hidrógeno	500	20	d	73	10	d	81.8
	1000	13.3	f	82	8.3	f	84.8
Extracto de toronja	10	46.7	c	36	35	c	36.3
	20	40	c	45	31.6	c	42.4
Radiación Ultravioleta	250 mJ cm ⁻²	0	g	100	0	g	100
Testigo		73.3	a		63.3	a	
DMS		13.7			10.5		

^zTratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales; *No se realizó evaluación, hubo presencia de fitotoxicidad; **ia**: Ingrediente activo; **G**: Generación.



Figura 16. Síntomas de marchitez en las hojas basales y necrosis de los haces vasculares en plantas de tomate sembradas en el testigo (solución nutritiva contaminada con 10,000 microconidios de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* mL⁻¹).

4. 4. 3. Fitotoxicidad.

Los tratamientos a base de cuaternarios de amonio de quinta generación + sulfato de cobre (1 ppm + 5 ppm; 1 ppm + 8 ppm) causaron un daño severo de fitotoxicidad en las plantas de tomate sembradas en solución nutritiva. La fitotoxicidad se pudo notar a partir de los cinco días después de la aplicación, la cual se incrementó durante el desarrollo de la planta, a pesar de que constantemente se adicionó solución nutritiva a las bandejas de acuerdo al consumo que la planta tenía, lo que hace suponer que después de cierto tiempo la concentración del producto se diluyó; sin embargo, el daño en la planta se incrementó. En la Figura 17, se puede observar la clorosis en la planta y el crecimiento raquíptico de la raíz. Al parecer la fitotoxicidad fue causada por el sulfato de cobre, ya que, cuando los cuaternarios de amonio fueron evaluados solos y a la misma concentración, no se presentaron síntomas de fitotoxicidad. Un caso similar de fitotoxicidad se presentó en los tratamientos con permanganato de potasio similar al ocasionado por sulfato de cobre. En el caso del hipoclorito de sodio, la dosis de 6 mg L⁻¹ presentó al inicio del trasplante en solución nutritiva una ligera fitotoxicidad, que con el tiempo desapareció; el comportamiento anterior coincide con lo señalado por Date *et al.* (1995); citado por García y Urrestarazu (1999), quienes mencionaron que los residuos del cloro han sido también descritos como causantes de importantes daños a las raíces de las plantas, sobre todo en cultivos de solución recirculante.

Al igual en el caso del peróxido de hidrogeno a 1000 mg L^{-1} se presentó una ligera toxicidad temporal.

Los resultados obtenidos indican que con una radiación de 250 mJ cm^{-2} se logra una desinfestación total de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopercisi*, por lo que la incidencia de la marchitez del tomate no se presentó en las plantas sembradas en solución nutritiva desinfestada con este método (Cuadro 11). El resultado anterior es congruente con lo indicado por Runia (1994) y Runia y Amsing (2001) quienes señalan una dosis de 100 mJ cm^{-2} para control de hongos; reportan que una dosis de 70 mJ cm^{-2} logró un porcentaje de 100 % de control sobre los conidios de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Por otra parte, el peróxido de hidrógeno (1000 mg L^{-1}) logró reducir a las UFC de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* mL^{-1} de solución nutritiva hasta 80 %, lo cual se atribuyó a su gran poder oxidativo; sin embargo, el control se podría considerar poco satisfactorio, si consideramos que la desinfección inicial tiene como objetivo lograr altos porcentajes de control y que la solución nutritiva es un medio de fácil dispersión de patógenos (Jarvis, 2001, Van Os, 2010). Quizás este producto se podría combinar con otros para aumentar la eficacia y disminuir los riesgos por presencia de patógenos. Al respecto, Runia y Boonstra (2004) llevaron a cabo un experimento en donde inyectaron peróxido a la solución nutritiva y posteriormente la hicieron pasar por radiación ultra violeta, obteniendo radicales hidroxilo los cuales tienen un poder oxidante de 2.8 voltios, el cual es mayor al hipoclorito de sodio y peróxido de hidrógeno (Rick, 2010). Asimismo, Urrestarazu *et al.* (2006) y Urrestarazu *et al.* (2007) citan al peróxido de hidrógeno como una buena alternativa, ya que no deja residuo alguno y cumple con su papel de desinfestante y puede ayudar a la oxigenación de la raíz; pero a pesar de ello, pueden llegar a producir fitotoxicidad, cuyos límites van a variar de acuerdo al cultivo en que sea aplicado. Mencionan que al aplicar peróxido de hidrógeno a la solución nutritiva, se aumentaba la oxigenación de la raíz y con ello se incrementa la producción. Con base a lo anterior, podríamos considerar al peróxido de hidrógeno como una alternativa viable para el manejo integrado de *F. oxysporum* f.

sp. *lycopercisi* en la desinfestación de la solución nutritiva. Cabe señalar que se presentó una ligera fitotoxicidad con la dosis más alta (1000 mg L⁻¹), por lo que es importante establecer futuros estudios a fin de determinar las causas y/o límites de uso para dicho producto.

Asimismo, el hipoclorito de sodio al igual que el peróxido de hidrógeno (1000 mg L⁻¹) logró reducir los propagulos de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* mL⁻¹ de solución nutritiva en 78 % a dosis de 6 mg L⁻¹; cabe indicar, que los resultados obtenidos en esta investigación son diferentes a los reportados por Canayan *et al.* (2009) quienes pusieron conidios de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en diferentes concentraciones de cloro, encontrando que una dosis de 14 mg L⁻¹ de cloro libre obtenido a partir de hipoclorito de sodio, logró una eficacia del 100 %; sin embargo, también señala que esta dosis puede dañar a la raíz de las plantas; dicha diferencia, posiblemente se debe a que las dosis utilizadas son diferentes y los experimentos se realizaron en condiciones distintas.

Con el extracto de semilla de toronja (*Citrus paradisi*), se logró un porcentaje de control bajo (49 % con la dosis de 20 mg L⁻¹) y diferente a lo reportado por Ruiz *et al.* (2005) quienes señalaron que los extractos de semilla de toronja pueden ser una alternativa viable y segura para el control de *Fusarium roseum* en frutos de melón, ya que en una investigación realizada observaron que se redujo el daño hasta en 75 % . De igual forma el control que ofrecieron los cuaternarios de amonio de quinta generación lograron un control bajo (38 % a dosis de 2 mg L⁻¹). A pesar del bajo control de estos productos, se podrían considerar dentro de un manejo integrado, ya que son poco residuales y su acción la realizan por contacto. Posiblemente con dosis más altas se pudiera obtener mayor control.

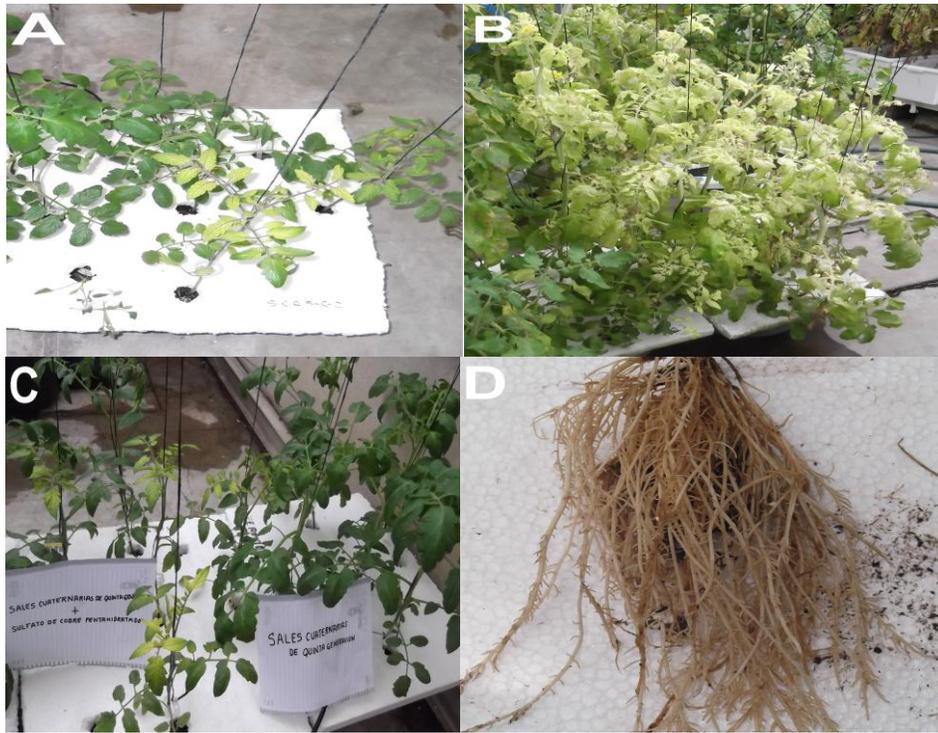


Figura 17. Síntomas de fitotoxicidad causada por sulfato de cobre, en plantas de tomate sembradas en solución nutritiva. A) Fitotoxicidad a los 15 días después del trasplante, B) Fitotoxicidad a los 80 días después del trasplante, C) Tratamiento con sales cuaternarias + sulfato de cobre (lado izquierdo) y tratamiento de sales cuaternarias (lado derecho); D) Raíz con crecimiento raquítico.

V. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos y bajo las condiciones en que se desarrolló la presente investigación, se concluye lo siguiente:

1. El hipoclorito de sodio (50 mg L^{-1} gramos de ingrediente activo) y peróxido de hidrógeno (2000 mg L^{-1} gramos de ingrediente activo) lograron reducir en 78 % las unidades formadoras de colonia de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en tezontle rojo contaminado con 10000 microconidios por g^{-1} , por lo que pudieran considerarse como una alternativa en la desinfestación de este sustrato contra dicho patógeno
2. La radiación ultravioleta a una dosis de 250 mJ cm^{-2} eliminó en 100 % los propágulos de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en una solución nutritiva contaminada con 10,000 microconidios mL^{-1} .
3. El hipoclorito de sodio (6 mg L^{-1} gramos de ingrediente activo) y peróxido de hidrógeno (1000 mg L^{-1} gramos de ingrediente activo) lograron reducir hasta 80 % las unidades formadoras de colonia de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, en una solución nutritiva contaminada con 10000 microconidios mL^{-1} , por lo que podrían utilizarse dentro de un manejo integrado, para el control de este patógeno; sin embargo, en ambos casos, su uso requiere definir los límites de toxicidad, ya que se presentó una ligera toxicidad temporal en las plantas tomate cultivadas en solución nutritiva.

VI. LITERATURA CITADA

ABAD, B.M. NOGUERA, M.P; CAMON, B.C. 2004. Los sustratos en los cultivos sin suelo, pp.113-158, *In: Tratado de Cultivo Sin Suelo*. URRESTARAZU GAVILAN, M. (ed.). Ediciones Mundi Prensa. Madrid, España.

AGRIOS, G.N. 2007. Fitopatología. Traducido al Español por GUZMAN ORTIZ, M. Limusa. 2da. Edición. 838 p.

AMHPAC. 2012. Asociación Mexicana de Horticultura Protegida, A.C. http://www.amhpac.org/portal/index.php?option=com_content&view=article&id=1&Itemid=3 (Fecha de consulta: abril 2012).

APODACA S. M.A.; ZAVALA M. E.; GARCÍA E. R. 2002. Frecuencia de campos infestados con *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* en Sinaloa México. Revista Mexicana de Fitopatología. 20: 01.

BAIXAULI S., C.; AGUILAR O., J.M. 2002. Cultivo sin Suelo de Hortalizas, Aspectos Prácticos y Experiencias. Ed. Generalitat Valenciana, Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación. Serie Divulgación Técnica. 110 p.

BOODLEY, J.W. 1998. The commercial greenhouse. Segunda edición. Ed. Delmar Publisher. USA. 612 p.

CARRILLO F., J.A.; MONTOYA R., T.J.; GARCÍA E., R.S.; CRUZ O., J.E.; MÁRQUEZ S., ISIDRO.; SAÑUDO B., A.J. 2003. Razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Snyder y Hausen, en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), en el valle de Culiacán, Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología 21(2): 123-127.

CASTELLANOS Z., J; BORBÓN M., C. 2009. Panorama de la agricultura protegida en México, pp.1-17, *In: Manual de Producción de Tomate en Invernadero*. CASTELLANOS Z., J. (ed.). Editado por Intagri, S.C., Celaya, Guanajuato, México.

CASTELLANOS Z., J; OJODEAGUA, J.L 2009. Formulación de la solución nutritiva, pp.131-156, *In: Manual de Producción de Tomate en Invernadero*. CASTELLANOS Z., J. (ed.). Editado por Intagri, S.C., Celaya, Guanajuato, México.

CASTELLANOS Z., J; VARGAS T., P. 2009. Los sustratos en horticultura protegida, pp.131-156, *In: Manual de Producción de Tomate en Invernadero*. CASTELLANOS Z., J. (ed.). Editado por Intagri, S.C., Celaya, Guanajuato, México.

CAYANAN, D.F.; ZHANG, P.; LIU, W; DIXON, M.; ZHENG. 2009. Efficacy of chlorine in controlling five common plant pathogens. *HortScience* 44 (1): 157-163.

CHÁVEZ A., N.; ROMANTCHIK K., E.; GRACIA L., C.; VELÁZQUEZ M., B. 2008. Desinfección de Suelos y Sustratos en la Agricultura, Métodos y Equipos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México, México.

FAO. 2002. El Cultivo Protegido en Clima Mediterraneo. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación. Roma, Italia. 320 p.

FDA. 2012. Food and Drug Administration. <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/fcnDetailNavigation.cfm?rpt=scogsListing&id=153> (Fecha de consulta: junio 2012).

FERNANDEZ-LARREA V. A. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo integrado de plagas (Costa Rica)* 62: 96-100.

GARCÍA, E. 1981. Modificaciones del Sistema de Clasificación Climática de Köppen para Adaptarla a las Condiciones de la República Mexicana. 3ra edición UNAM. México. 252 p.

GARCÍA L., M.; URRESTARAZU G., M. 1999. Recirculación de la Disolución Nutritiva en las Condiciones de los Invernaderos de La Europa del Sur. Edición Caja Rural de Granada. Granada, España. 171 p.

GARZA A., M.; MOLINA V., M. 2008. Manual de producción de tomate en invernadero en suelo en el estado de Nuevo León. SAGARPA y Gobierno del Estado de Nuevo León. Monterrey, Nuevo León, México. 183 p.

GÓMEZ V., J. 2004. La sanidad de los cultivos hortícolas sobre sustratos en el sur de España, pp. 523-537, *In: Tratado de Cultivo Sin Suelo*. URRESTARAZU G., M. (ed.). Ediciones Mundi Prensa, Madrid, España.

GULLINO, M.L.; SPADARO, D.; GARIBALDI, A. 2005. Integrated approaches for soil disinfestation. *Acta Horticulturae* 698: 91-98.

HOWELL, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* Species in the Biological Control of Plant Diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease* 87(1): 4-10.

JARVIS, R. W. 1992. Managing diseases in greenhouse crops. The American Phytopathological Society. Minesota, U.S.A. 288.

JENKINS, S.F; AVERRE, C. W. 1983. Root diseases of vegetables in hydroponic culture systems in North Carolina greenhouses. *Plant Disease* 67(9): 968-970.

MENDOZA Z., C. 1996. Enfermedades Fungosas de Hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 85 p.

MESSIAEN, C.M.; BLANCARD, F.; ROUXEL, F.; LAFON, R. 1995. Enfermedades de las Hortalizas. Traducido al español por MAROTO B., J.V.; PASCUAL E., B.; BORREGO P., V. Editorial Mundi Prensa. Madrid, España. 576 p.

GARCÍA ITURRIOZ, M. 2008. Extracto de semilla de pomelo el antimicrobiano natural. El mundo del bienestar. Buenos Aires, Argentina. 199 p.

MORENO R., A; AGUILAR D., J.; LUÉVANO G., A. 2011. Características de la agricultura protegida y su entorno en México. *Revista Mexicana de Agronegocios* 15 (29): 763-774.

MUÑOZ L., C; CUERVO S., E; AMPUDIA D., M; GASTON G., A; PEÑUELAS R., J.L; IGLESIAS S., S; HERRERO S., N. 2009. Control químico de *Fusarium circinatum* en semillas del género *Pinus*. Quinto Congreso Forestal Español. Ed. S.E.C.F. – Junta de Castilla y León. 12 p.

NEGRONI, M. 2009. Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica. 2a Ed. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires Argentina. 635.

NEL, B.; STEINBERG, C; LABUSCHAGNE, N; VILJOEN, A. 2007. Evaluation of fungicides and sterilants for potential application in the management of Fusarium wilt of banana. Crop Protection. 26 697-705.

OJODEAGUA A., J.L.; CASTELLANOS R., J.Z.; MUÑOZ R., J.J.; ALCANTAR G., G.; TIJERINA, C.; L.; VARGAS T., P.; ENRIQUEZ R., S. 2008. Eficiencia de suelo y tezontle en sistemas de producción de tomate en invernadero. Fitotecnia Mexicana. 31 (4) 367-374.

OZBAY, N.; NEWMAN, S.E. 2004. Evaluation of *Trichoderma harzianum* strains to control crown and root rot of greenhouse fresh market tomatoes. Acta Hort. 635:79-85

PALLARES C., D.; DURAN A., J.M. 2006. Aplicación de ozono en disoluciones nutritivas recirculantes. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España. 10 P.

PALMERO, D.; IGLESIAS, C.; DE CARA, M.; LOMAS, T., SANTOS; M.; TELLO, J. C. 2009. Species of *Fusarium* isolated from river and sea water of southeastern Spain and pathogenicity on four plant species. Plant Disease. 93:377-385.

PONCET, C; OFFROY, M; ANTONINI, C.; BETTACHINI, A.; BONNET, G; DRAPIER, J.M.; HERICHER, D.; JULIEN, P. 2001. Disinfection systems of recycled effluents in flower crops. Acta Horticulturae 554: 349-354.

RESH, H.M. 1992. Cultivos hidropónicos. Traducido al español por JAREN C., C.; GARCÍA P., E. Mundi-Prensa. Tercera edición. Madrid, España. 369 p.

RICK B., P.E. 2010. Advanced oxidation processes, pp. 976-1002, *In*: White's Handbook of Chlorination and Alternative Disinfectants. Black y Veatch Corporation (ed.). 5^{ta} edición. Editorial Wiley. New Jersey, USA.

RODRÍGUEZ, D.A.; MONTILLA, J.O. 2002. Disminución de la marchitez causada por tomate con extracto de *Citrus paradisi*. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 56: 43-60.

ROMERO C., S. 1994. Hongos Fitopatogenos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 347 p

RUIZ L., L.; TRONCOSO R.; SÁNCHEZ E., A.; AGUILAR A, F.B.; GUERRERO, R.C.; GARZA, O.S. 2005. Tratamiento postcosecha contra *Fusarium roseum* en melón reticulado (*Cucumis melo* L). Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha 6(2): 110-116.

RUNIA, W.T. 1994. Elimination of root-infecting pathogens in recirculation water from closed cultivation systems by ultra-violet radiation. Acta Horticulturae 361: 361-371.

Runia, W.Th. 1995. A review of possibilities for disinfection of recirculation water from soilless culture. Acta Horticulturae 382: 221-229.

RUNIA , W.T.; AMSING, J.J 2001. Disinfection of recirculation water from closed cultivation systems by heat treatment. Acta Horticulturae 548: 215-222.

RUNIA, W.T.; BOONSTRA.S. 2004. UV-oxidation technology for disinfection of recirculation water in protected cultivation. Acta Horticulturae 644: 549-555.

SAGARPA. 2012. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. <http://www.sagarpa.gob.mx/agricultura/Paginas/AgriculturaProtegida2012.asp>. (Fecha de consulta: abril, 2012).

SANDOVAL B. C. 2004. Manejo integrado de enfermedades en cultivos hidropónicos. Manual técnico. FAO – Universidad de Talca. 53 p.

SANTOS, M.; BLANCO, R.; DIANEZ, F; TELLO, J. 2004. Aspectos fitosanitarios generales de los cultivos, pp. 439-522, *In*: Tratado de Cultivo Sin Suelo. URRESTARAZU G., M. (ed.). Ediciones Mundi Prensa, Madrid, España.

- SAS. 2002. Statistical Analysis System. Paquete estadístico.
- SLUSARSKI, C. 2000. The use of disinfectants for controlling a soilborne foot and root rot disease complex on greenhouse tomatoes in the rockwool open culture system. *Acta Horticulturae* 532: 217-224.
- STEINER, A.A. 1984. The universal nutrient solution, pp. 633-650, *In*: Proceedings 6th International Congress on Soilless Culture. Wageningen. Holanda.
- URRESTARAZU, M.; SALAS S., M. DEL C.; CAROLINA M., P.; MORALES T., E. 2006. Bioseguridad a través del agua de riego en la horticultura protegida. *Vida Rural* 239: 56-58.
- URRESTARAZU, M.; GARCÍA, C.D.; MORENO, S.; ALVARO, J.E. 2007. Bioseguridad en la horticultura protegida a través de química verde. *Horticultura* 203: 38-42.
- VAN OS, E.A. 2010. Disease Management in Soilless Culture Systems. *Acta Horticulturae* 883: -393.
- VANNACCI, G.; GULLINO, M. 2000. Use of biocontrol agents against soil-borne pathogens: results and limitations. *Acta horticulturae* 532: 79-87.
- VARGAS T. P.; CASTELLANOS R., J. Z.; SÁNCHEZ G. P.; TIJERINA C. L.; LÓPEZ R. R.M.; OJODEAGUA A. J.L. 2008. Caracterización física, química y biológica de sustratos de polvo de coco. *Fitotecnia Mexicana* 31(4): 375-381.
- YUCE, E .K.; YIGIT, S.; TOSUN, E. 2011. Efficacy of solarization combined with metam sodium and hydrogen peroxide in control of *fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* and *clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato greenhouse. *Acta Horticulturae* 914: 385-392