



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA
AGRÍCOLA**

**EFFECTO DEL PREPARADO HOMEOPÁTICO 12C VMC EN EL
DESARROLLO DE CALABAZA zucchini INFECTADA CON
Squash mosaic virus.**

TESIS PROFESIONAL

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**INGENIERO AGRÓNOMO ESPECIALISTA EN
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**



**DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES**

PRESENTA:

NIVI CRUZ BETANZOS



CHAPINGO, EDO. DE MÉXICO. SEPTIEMBRE, 2011.

La presente tesis titulada “**EFFECTO DEL PREPARADO HOMEOPÁTICO 12C VMC EN EL DESARROLLO DE CALABAZA zucchini INFECTADA CON Squash mosaic virus**”, realizada por la **C. NIVI CRUZ BETANZOS** bajo la dirección y asesoría del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el título de “**INGENIERO AGRÓNOMO ESPECIALISTA EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**”.

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTOR:



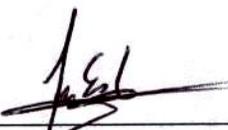
Dr. Cesáreo Rodríguez Hernández

ASESOR:



M.C. Camilo Hernández Juárez

ASESOR:



M.C. Luis Emilio Castillo Márquez

ASESOR:



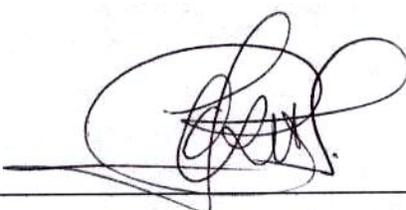
Dr. Felipe de Jesús Ruíz Espinoza

Chapingo, Edo. de México, Septiembre de 2011.

La tesis será presentada para su defensa en el Departamento de Parasitología Agrícola en el Examen Profesional que la **C. NIVI CRUZ BETANZOS** solicitó a la Dirección General Académica, misma que autorizó su ejecución con el siguiente jurado examinador.

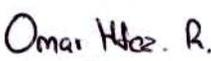
JURADO EXAMINADOR

PRESIDENTE: 
M.C. Camilo Hernández Juárez

SECRETARIO: 
Dr. Cesáreo Rodríguez Hernández

VOCAL: 
M.C. Luis Emilio Castillo Márquez

SUPLENTE: 
Dr. Felipe de Jesús Ruíz Espinoza

SUPLENTE: 
Ing. Omar Hernández Romero

Chapingo, Edo. de México, Septiembre de 2011.

AGRADECIMIENTOS

A mi *alma mater*, la Universidad Autónoma Chapingo, por otorgarme la oportunidad de formarme como profesionalista en la rama de la Parasitología Agrícola.

A todos aquellos maestros que durante mi estancia en la preparatoria y especialidad me transmitieron sus conocimientos y experiencias.

Al Dr. Cesáreo Hernández Rodríguez, por la dirección, asesoría y revisión de la presente tesis.

Al M.C. Camilo Hernández Juárez, por su confianza brindada, apoyo en la realización de este trabajo y sus todos sus consejos.

Al M.C. Luis Emilio Castillo Márquez, por su valiosa asesoría, sugerencias y revisiones dirigidas en la tesis.

Al Dr. Felipe de Jesús Ruíz Espinoza, por su contribución para el enriquecimiento del presente trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres Enrique Cruz López y Florentina Betanzos Sánchez por darme su amor y llevarme de la mano todos estos años de mi vida.

A mi hermana Anel, quién me fortalece y llena de alegría los momentos más difíciles.

A mi hermana Flor, por su amor y esa energía que transmite al ser una persona llena de emociones.

A mis apreciables amigos que han compartido momentos inolvidables y quienes llevo presente a pesar de la distancia: Reyna, Karen, Maricruz, Viridiana, Macrina, Zulema, Laura, Judith, Dana, Lucy, Ana, Fernanda, David, Hugo, Miguel, Ángel, Alfredo, Omar Hernández, Oscar Rodrigo, Eduardo Bermúdez, Alfredo Pérez, Salas, Dany, Tona, Paco, Rubén, Gil, Eduardo Cabrera, Omar Esteban, Victor, Diego y Josué.

CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS.....	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	2
3. HIPÓTESIS.....	3
4. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
4.1. Importancia agrícola del SqMV.....	4
4.2. Descripción del agente causal.....	4
4.3. Hospederas principales.....	5
4.4. Formas de transmisión.....	5
4.5. Síntomas.....	6
4.6. Manejo de la enfermedad.....	7
4.6.1. Selección de semilla.....	7
4.6.2. Desinfección de herramienta.....	7
4.6.3. Eliminación de plantas enfermas.....	7
4.6.4. Aplicación de insecticidas contra vectores.....	7
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	9
5.1. Elaboración del preparado homeopático.....	9
5.2. Bioensayo.....	10
5.3. Evaluación.....	11
5.4. Análisis de datos.....	12
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	14
6.1. Peso fresco de follaje-raíz.....	14
6.2. Área foliar.....	14
6.3. Longitud de raíz.....	15
6.4. Número de botones florales.....	16
6.5. Densidad óptica.....	16
6.6. Efectividad del preparado homeopático 12C VMC.....	18
7. CONCLUSIONES.....	20
8. LITERATURA CITADA.....	21

ÍNDICE DE CUADROS

Número	Título	Página
1.	Insecticidas recomendados para el control de coleópteros vectores del SqMV en calabaza.....	8
2.	Conformación de los tratamientos, considerando la edad de la planta en la que se realizó la inoculación del SqMV y el número de aplicaciones del producto homeopático 12C VMC.....	11
3.	Peso fresco de follaje-raíz de plantas de calabaza inoculadas con el SqMV y asperjadas con el producto homeopático 12C VMC.....	14
4.	Área foliar en plantas de calabaza inoculadas con el SqMV y asperjadas con el producto homeopático 12C VMC.....	15
5.	Longitud de raíz en plantas de calabaza inoculadas con el SqMV y asperjadas con el producto homeopático 12C VMC.....	16
6.	Número de botones florales en plantas de calabaza inoculadas con el SqMV y tratadas con el producto homeopático 12C VMC.....	17
7.	Densidad óptica del SqMV en plantas de calabaza inoculadas con el SqMV y asperjadas con el producto homeopático 12C VMC.....	17
8.	Densidad óptica del SqMV en plantas de calabaza asperjadas con el producto homeopático 12C VMC después de la inoculación mecánica.....	18

RESUMEN.

La necesidad de probar alternativas que sirvan para el manejo de las enfermedades virales en los cultivos agrícolas ha llevado a desarrollar investigación en el área de la homeopatía, por lo que en este trabajo se propuso evaluar el producto homeopático 12C VMC, elaborado a partir de follaje de calabaza infectado y con síntomas del Squash mosaic virus (SqMV), el cual se aplicó a plantas de calabaza *Cucurbita pepo* variedad zucchini de 10 y 13 d, antes, después y antes-después de la infección mecánica del SqMV, comparándose con dos testigos, con y sin virus. Estos tratamientos conformaron un diseño experimental completamente al azar, con cuatro y cinco repeticiones para plantas de 10 y 13 d, en condiciones de invernadero. A los 40 d después de la última aplicación del preparado homeopático se registró el peso fresco de la planta, área foliar de la hoja del tercer nudo descendente, longitud de raíz, número de botones florales y densidad óptica de la savia. Los resultados demuestran que el producto homeopático 12C VMC aplicado sobre plantas de calabaza de 10 y 13 d de edad, en pre, post y pre-post inoculación del SqMV, afecta la ganancia de peso fresco de la planta, el desarrollo del área foliar y la producción de botones florales. El crecimiento de la raíz es normal con los tratamientos pre y pre-post inoculación en plantas de 10 d; se inhibe en todas las plantas de 13 d; y se estimula con la aplicación post inoculación. La densidad óptica no se afecta con la aplicación pre inoculación, pero se disminuye con post inoculación, hasta inhibir en 73.3% el desarrollo del virus. Este porcentaje, hace posible que el uso de productos homeopáticos se apliquen para el manejo de enfermedades, ya sea incrementando la dosis o el número de aplicaciones.

Palabras clave: Squash mosaic virus, calabaza, alternativas.

ABSTRACT.

The need to test alternatives to serve for the management of viral diseases in agricultural crops has been developing research in the field of homeopathy, so in this study was to evaluate the 12C VMC homeopathic product, made from foliage pumpkin infected and symptoms of Squash mosaic virus (SqMV), which was applied to squash plants *Cucurbita pepo* variety zucchini of 10 and 13 d, before, after and before-after infection SqMV mechanics, comparing with two witnesses with and without virus. These treatments formed a completely randomized design with four and five replicates for plants 10 and 13 d in greenhouse conditions. At 40 d after the last application of homeopathic preparation was recorded on plant fresh weight, leaf area descending third knot, root length, number of flower buds and optical density of sap. The results show that 12C VMC homeopathic product applied squash plants 10 and 13 d of age, pre, post and pre-post inoculation SqMV affects the gain of fresh weight of plant, leaf area development and the production of flower buds. The root growth is normal with pre and pre-post inoculation 10 d plants, is inhibited in all plants of 13 d, and is stimulated by applying post inoculation. The optical density is not affected by pre-inoculation application, but decreases with post inoculation, 73.3% to inhibit the development of the virus. This percentage, enables the use of homeopathic products are applied to disease management, either by increasing the dose or number of applications.

Key words: Squash mosaic virus, pumpkin, alternatives.

1. INTRODUCCIÓN.

Los virus son nucleoproteínas submicroscópicas que tienen la capacidad de invadir células vivas, multiplicarse dentro de ellas y provocar enfermedades en animales, plantas, hongos y bacterias entre otros organismos vivos. Existen más de 2,000 tipos diferentes, de los cuales el 25%, que conforman 35 grupos, afecta a las plantas; donde un sólo tipo puede infectar a una o varias especies vegetales o varios de ellos pueden afectar una sola planta o a diversos cultivos al mismo tiempo (Agrios, 1998). Además, esto se suma a la carencia de productos que controlen a estos patógenos. Ante tal circunstancia la agricultura enfrenta pérdidas económicas que se reflejan en la disminución de calidad en la producción de cultivos al deteriorar raíces, tallos, hojas, semillas, polen y frutos. Su control es difícil, por estar éstos dentro de las células.

Considerando esta situación, se ha generado una corriente de investigación en el área de la homeopatía dedicada a aplicar sustancias a bajas dosis, elaboradas con plantas afectadas por las mismas plagas para inhibir, reducir o revertir el daño (Ruíz, 2003).

Dentro de las características que ofrece esta alternativa para el control de virus, destacan las facilidades de implementar la metodología, bajos costos de obtención de los preparados homeopáticos, no generan resistencia como los plaguicidas organosintéticos y permiten producir alimentos inocuos.

Por otro lado, la calabaza *Cucurbita pepo*, un cultivo importante en México, es dañada en sus hojas, frutos y semillas por el virus del mosaico de la calabaza, nombrado por el Comité Internacional de Taxonomía de Virus como Squash Mosaic Virus (SqMV). El manejo de éste se efectúa generalmente con medidas preventivas, control de insectos vectores y destrucción de plantas con síntomas, pues aún no se han encontrado viricidas o vacunas específicas.

Con base en lo anterior, el presente trabajo se realizó con la finalidad de evaluar el efecto del preparado homeopático 12C VMC en el desarrollo de la planta y contra el propio virus, antes y después de la infección mecánica, en plantas de calabaza *C. pepo* variedad zucchini, bajo condiciones de invernadero.

2. OBJETIVOS.

General.

- ❖ Determinar el efecto de la aplicación al follaje del producto homeopático 12C VMC, antes y después de la infección viral, para observar el desarrollo en dos edades de plantas de calabaza.

Específicos.

- ❖ Cuantificar el crecimiento de la planta de calabaza, infectada con el SqMV y tratada con el 12C VMC, a través del peso fresco de follaje-raíz, área foliar, longitud de raíz y número de botones florales.
- ❖ Comparar la densidad óptica de la savia de plantas con el SqMV, con otras infectadas con el SqMV y tratadas con el 12C VMC.

3. HIPÓTESIS.

El preparado homeopático 12C VMC, obtenido del follaje de plantas de calabaza enfermas con el SqMV, aplicado a plantas de calabaza de dos edades no afecta el desarrollo de éstas, en contraste disminuye o evita la infección viral.

4. REVISIÓN DE LITERATURA.

4.1. Importancia agrícola del SqMV.

En la producción del cultivo de calabaza existen pérdidas económicas en el rendimiento y la calidad al presentarse el SqMV, tales pérdidas se deben a diversos factores externos, como la falta de información, planeación y a las escasas alternativas de control que en conjunto hacen que el virus logre el éxito de invasión e incremente su desarrollo en las plantas. Para su manejo es necesario conocer al agente causal, las diversas plantas hospederas, y las formas de transmisión requeridas para su propagación, así como identificar los síntomas para cada especie vegetal y efectuar el control recomendado oficialmente, ésto permitirá seleccionar el mejor método de protección que se adecue a las condiciones del cultivo e integrar un manejo bioracional que considere la etiología de la enfermedad y la fenología del cultivo.

4.2. Descripción del agente causal.

El SqMV, reportado en 1916 en Cucurbitáceas (Astier *et al.*, 2007), pertenece al Orden Picornavirales, Familia Secoviridae, Subfamilia Comovirinae y Género *Comovirus* (ICTV, 2009).

En éste se han distinguido, mediante técnicas serológicas, dos grupos: el grupo 1 (SqMV-I), cepa de melón *Cucumis melo*, donde produce síntomas importantes, mientras que en sandía *Citrullus lanatus* y calabaza *C. pepo* ocasiona síntomas leves; y el grupo 2 (SqMV-II), cepa de calabaza, donde provoca síntomas evidentes, y que también ataca melón, provocando daños leves (Zitter *et al.*, 2004).

El punto de inactivación térmica es de 75° C y el punto final de dilución es de 1×10^{-6} ; su vida media *in vitro* es aproximadamente de 6 semanas a temperatura ambiente y de 6 meses a -17° C (Smith, 1972), manteniéndose con

alto grado de infección, mientras que la savia congelada persiste hasta por 5 años (Zitter *et al.*, 2004).

4.3. Hospederas principales.

Aunque el SqMV puede infectar a 15 especies de hospederas de 11 géneros, éstas se limitan a las Familias Chenopodiaceae y Cucurbitaceae; destacando en la primera el quelite cenizo *Chenopodium album*; y en la segunda sandía *C. lanatus*, melón *C. melo*, pepino *Cucumis sativus* y calabaza *C. pepo* (Brunt *et al.*, 1996).

4.4. Formas de transmisión.

Las principales formas de transmisión del SqMV son mecánicas, y por semilla e insectos vectores (Brunt *et al.*, 1996).

La forma mecánica se da por medio natural y artificial. La natural se basa en la provocación de heridas en la planta con el fin de permitir la introducción del agente viral; y la forma artificial consiste en extraer el jugo de una planta enferma y mediante frotación o inyección infectar una planta sana (Walker, 1975).

La transmisión directa de la savia a través del contacto de una planta con otra; aunque poco frecuente en la naturaleza, puede darse entre plantas próximas cuando el viento sopla fuerte, haciendo que las hojas se rocen, se provoquen heridas e intercambien parte de su savia, transmitiendo así al virus; también existe el caso en que las plantas son dañadas por el hombre en el campo o invernadero y se transporta accidentalmente savia con virus adherida a herramientas, manos o ropa (Agrios, 1998).

Respecto a la transmisión por semilla, ésta se da en las Familias Chenopodiaceae y Cucurbitaceae (Brunt *et al.*, 1996). En la primera, entre 20 y 25% (Lockhart *et al.*, 1985) y en la segunda de 10% en melón y 35% en calabaza (Brunt *et al.*, 1996).

Los insectos vectores que transmiten el SqMV pertenecen al Orden Coleoptera, principalmente a las Familias Chrysomelidae y Coccinellidae (Blancard *et al.*, 1991).

En la primera Familia se ha encontrado al escarabajo rayado *Acalymma thiemei thiemei*, al mayate rayado de las cucurbitáceas *Acalymma trivittata*, el escarabajo de las cucurbitáceas *Diabrotica bivittula*, el escarabajo del pepino *Diabrotica undecimpunctata howardi* y el escarabajo manchado del pepino *Diabrotica undecimpunctata undecimpunctata* (Blancard *et al.*, 1991).

En el caso de *D. undecimpunctata howardi*, se ha reportado en México que el virus se adquiere en un período de 5 min y lo conserva durante 20 d, no se multiplica en el vector pero se dispersa a partir del líquido de regurgitación, heces y hemolinfa (Zitter *et al.*, 2004).

En la Familia Coccinellidae, la vaquita *Epilachna chrysomelina* y la vaquita del melón *Epilachna paenulata* (Alvizo, 1982), transmiten el virus al alimentarse por 5 min de plantas enfermas; contaminan sus piezas bucales y después al comer hojas de plantas sanas transmiten el virus en períodos de 1 a 3 semanas (Blancard *et al.*, 1991).

4.5. Síntomas.

En calabaza infectada con el SqMV el crecimiento es lento, las hojas se distorsionan y se arrugan mostrando áreas de color verde oscuro, además se produce menos fruta y ésta es de coloración amarilla o moteada (Kurstak, 1981).

En las hojas de melón el virus ocasiona moteado y bandas verdes (Nelson y Knuhtsen, 1973), los frutos se deforman y por consiguiente el rendimiento se reduce (Blancard *et al.*, 1991).

En pepino las hojas desarrollan manchas cloróticas y aclaramiento de las nervaduras (Blancard *et al.*, 1991).

En sandía los síntomas que ocasiona el virus constan de evidente retraso en el crecimiento y distorsión de hojas, con clorosis y necrosis localizadas (Nelson y Knuhtsen, 1973).

4.6. Manejo de la enfermedad.

Las medidas de manejo del SqMV en invernadero y campo consisten en: selección de semilla, desinfección de herramienta, eliminación de plantas enfermas y aplicación de insecticidas contra vectores.

4.6.1. Selección de semilla.

Se ha encontrado tolerancia en semilla de tres especies de calabaza silvestre *Cucurbita* spp: *C. ecuadorensis*, *C. martinezii* y *C. okeechobensis* (Zitter *et al.*, 2004).

4.6.2. Desinfección de herramienta.

El uso de fosfato trisódico (Na_3PO_4) a 5-10% en herramientas reduce la posibilidad de transmisión mecánica del virus de planta a planta (Blancard *et al.*, 1991).

4.6.3. Eliminación de plantas enfermas.

En cuanto se observen los primeros síntomas se deben eliminar las plantas enfermas para detener el avance de la infección; éstos aparecen tras un período de incubación de 1 a 2 semanas, en el cual las plantas vecinas se siguen infectando por medio de transmisión mecánica o insectos vectores; las plantas eliminadas deben enterrarse lejos de las zonas agrícolas (Blancard *et al.*, 1991).

4.6.4. Aplicación de insecticidas contra vectores.

Para la eliminación de vectores del SqMV se considera el tiempo de migración de éstos y la densidad de siembra del cultivo, con lo cual puede

reducirse la aplicación de insecticidas (Matthews (1981)¹ citado por Hernández, 1994).

Los productos organosintéticos comerciales que se recomiendan oficialmente para el control de los coleópteros vectores del SqMV en cultivos de Cucurbitáceas, y las dosis recomendadas, se muestran en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Insecticidas recomendados para el control de coleópteros vectores del SqMV en calabaza.

Insecto plaga	Nombre común del insecticida	Grupo toxicológico	Recomendación ha ⁻¹
<i>A. thiemei thiemei</i>	Carbarilo	CC-MM	1.0-2.5 L
	Diazinon	FH-SE	1.0-2.5 L
	Paratión metílico	FC-SM	1.0-1.5 L
	Permetrina	PIRT	0.250-0.350 Kg
<i>A. trivittata</i>	Endosulfán	OC-Ci	1.5-3.0 L
	Metomilo	CA-MM	1.0-1.5 L
	Paratión metílico	FC-SM	1.0-1.5 L
	Permetrina	PIRT	0.250-0.350 Kg
<i>D. bivittula</i>	Carbarilo	CC-MM	1.0-2.5 L
	Diazinón	FH-SE	1.0-1.5 L
	Paratión metílico	FC-SM	1.0-1.5 L
<i>D. undecimpunctata howardi</i>	Diazinón	FH-SE	1.0-1.5 L
<i>D. undecimpunctata undecimpunctata</i>	Azinfos metílico	FH-SM	2.0-4.0 L
	Diazinón	FH-SE	1.0-1.5 L
<i>E. chrysomelina</i>	Endosulfán	OC-Ci	1.5-3.0 L
	Metomilo	CA-MM	1.0-1.5 L
<i>E. paenulata</i>	Carbarilo	CC-MM	1.0-2.5 L
	Metomilo	CA-MM	1.0-1.5 L
	Paratión metílico	FC-SM	1.0-1.5 L

Fuente: CICOPLAFEST (2004).

¹ Matthews, R.E.F. 1981. Plant virology. Second edition. Academic Press. New York, U.S.A. 897p.

5. MATERIALES Y MÉTODOS.

Esta investigación se realizó en el laboratorio de virología agrícola del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Municipio de Texcoco, Estado de México, México, de junio a diciembre de 2010.

5.1. Elaboración del preparado homeopático.

A una planta de calabaza enferma con el SqMV, extraída de la colección de Virología, se le quitó una hoja (2.6 g) de material enfermo y se extrajeron 2.6 mL de jugo con un extractor doméstico; luego de colocarlo en un frasco color ámbar con gotero se mezcló con 2.6 mL de alcohol etílico de 87°, en seguida se sucusionó² sobre una superficie firme por 2 min y después se dejó en reposo por 2 min.

Este proceso de sucusión y reposo, con los mismos lapsos de tiempo, se repitió nueve veces más y al termino se colocó una etiqueta con los datos del virus, fecha de elaboración y el símbolo \emptyset (que representa a la tintura madre).

De este preparado se extrajeron 0.055 mL de solución y se colocaron en un frasco ámbar con 2.6 mL de alcohol etílico de 87°, se sucusionó por 2 min y se dejó en reposo por 2 min, luego se etiquetó con el símbolo 1 C. En seguida se tomaron 0.027 mL de la preparación 1 C y se mezclaron en un frasco con 2.6 mL de alcohol etílico de 87°, se sucusionó por 2 min, se dejó en reposo por 2 min, y se etiquetó con el nombre de 2 C. Esta misma acción se repitió diversas veces para conformar las preparaciones 3 C, 4 C, 5 C y así sucesivamente hasta elaborar la 12 C (referenciada en lo sucesivo como preparado homeopático 12C VMC); potencia que se usó en esta investigación.

² Sucusión, es el proceso de agitación de cada una de las diluciones homeopáticas, para lo cual el frasco debe contener menos del 75% de su capacidad y consiste en golpear fuertemente la base del envase contra una superficie suave; así se facilita que el soluto se integre al solvente con todas su propiedades medicinales (Zepeda, 2002).

5.2. Bioensayo.

Se tomaron 0.027 mL del producto homeopático 12C VMC y se vertieron en 1 L de agua de la llave contenido en un envase de plástico de capacidad de 1.5 L y se sucusionó por 2 min, luego se procedió a la aspersion al follaje de la calabaza. Por otro lado, se maceraron dos hojas jóvenes de calabaza infectadas con el SqMV en 3 mL de buffer de fosfato + dietilcarbamato de sodio (DIECA), pH 7.2 y 0.025 M y el líquido resultante se filtró a través de una gasa y se aplicó a 16 plantas de calabaza de 10 d de edad; a cuatro de ellas se les aplicó previamente por tres veces seguidas el preparado homeopático 12C VMC, a los 7, 8 y 9 d de edad, y conformó el tratamiento pre inoculación del virus, a otras cuatro plantas de calabaza se les asperjó el producto homeopático a los 11, 12 y 13 d de edad de la planta, y se le nombró post inoculación del virus; a otras cuatro plantas de calabaza se les aplicó el preparado homeopático a los 7, 8, 9, y 11, 12 y 13 d de edad y se le denominó pre-post inoculación del virus. A otras cuatro plantas se les infectó con el SqMV a los 10 d y no se les aplicó la sustancia homeopática, y se tomó como testigo con virus de comparación; de igual manera se dispuso el último tratamiento, en el cual se utilizaron cuatro plantas de calabaza sin el producto homeopático y sin inoculación del SqMV, con lo que se conformó el tratamiento testigo sin virus.

Otro ensayo similar se realizó con plantas de calabaza que se inocularon con el SqMV a los 13 d de edad, considerando el mismo número de aspersiones y los mismos tiempos de aplicación del producto homeopático, conformándose los mismos tratamientos a otra edad de la planta. De esta manera el bioensayo consistió de cinco tratamientos para cada una de las dos edades de la calabaza (Cuadro 2).

En otro bioensayo se evaluó el tratamiento post inoculación. A 16 plantas de calabaza se les inoculó el SqMV; a ocho de ellas a los 10 d de edad y a otras ocho plantas se les infestó con el virus a los 13 d de edad. A cuatro plantas de cada una de las edades se les aplicó el preparado homeopático 12C VMC, de la misma manera como se detalló anteriormente; conformándose cuatro tratamientos

(post inoculación 10 d, post inoculación 13 d, testigo con virus 10 d y testigo con virus 13 d), los cuales se compararon con ocho plantas de calabaza sin virus (cuatro de 10 d y cuatro de 13 d).

Cuadro 2. Conformación de los tratamientos, considerando la edad de la planta en la que se realizó la inoculación del SqMV y el número de aplicaciones del producto homeopático 12C VMC.

Tratamientos	Edad (d) de la planta	No. de aplicaciones del 12C VMC	Repeticiones
Pre inoculación	10	3	4
Post inoculación	10	3	4
Pre-post inoculación	10	6	4
Testigo con virus	10	0	4
Testigo sin virus	10	0	4
Pre inoculación	13	3	5
Post inoculación	13	3	5
Pre-post inoculación	13	6	5
Testigo con virus	13	0	5
Testigo sin virus	13	0	5

5.3. Evaluación

A los 30 d, respecto a la edad de las plantas de calabaza, se les arrancó del contenedor y se lavó la raíz con agua para después secar por 10 min sobre papel sanita; en seguida se procedió a registrar el peso fresco de follaje-raíz de cada planta en una balanza electrónica (modelo C 305-S, marca Ohaus® y capacidad 300 x 0.1 g).

Luego a la hoja del tercer nudo descendente se le midió ancho y largo, mediante un planímetro óptico (modelo LI-3000 y marca LI-COR®), y se calculó el área foliar mediante la fórmula $A_f = (L \times A)/C$ (Sestak *et al.*, 1971), donde: A_f es la área foliar, L es el largo de la hoja, A es el ancho de la hoja y C es el coeficiente de área foliar para calabaza.

La longitud de raíz se midió con una regla métrica, desde el cuello de la planta hasta la cofia, y en el caso de los botones florales, éstos se contabilizaron visualmente sin considerar el tamaño.

Además se determinó la densidad óptica en la savia de plantas de calabaza tratadas con el preparado homeopático 12C VMC e infectadas con el virus SqMV, y en testigos con y sin virus, a los 40 d de edad de éstas, mediante una prueba de ELISA, utilizando anticuerpos y protocolos comerciales Agadia®; por lo que se tomaron hojas jóvenes que se guardaron en bolsas de plástico y después de pesar 0.2 g de tejido foliar, se maceraron en 2 mL de buffer de extracción.

De cada macerado se agregaron 100 mL a cada pozo de la placa previamente sensibilizada, y a continuación se incubó por 2 h a temperatura ambiente (20-30° C). Luego se eliminó el contenido de la placa al lavarse con buffer de lavado, proceso que se repitió por tres veces y se dejó secar durante 3 min, en seguida a cada pozo se le agregaron 100 µL de buffer de conjugado y se incubó por 2 h a temperatura ambiente. Posteriormente se lavó con buffer de lavado repitiéndose tres veces y se dejó secar por 3 min. Después se adicionaron 100 µL de buffer de fosfato a cada pozo de la placa, y se dejó incubar por 1 h a temperatura ambiente y en obscuridad.

En seguida se determinó la densidad óptica mediante un lector de placas ELISA Dynatech Minireader II a 405 nm, el cual detecta virus en plantas (Agrios, 1998).

En el segundo bioensayo solo se cuantificó la densidad óptica, con el mismo procedimiento descrito anteriormente.

5.4. Análisis de datos

El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con cinco tratamientos (pre, post, pre-post inoculación, testigo con virus y sin virus) de cuatro repeticiones en la edad 10 d y cinco repeticiones en la edad 13 d en el primer bioensayo, y con tres tratamientos (post inoculación, testigo con virus y testigo sin virus) de cuatro repeticiones en ambas edades de la planta en el segundo bioensayo, donde se tomó como unidad experimental una planta de calabaza en maceta, en condiciones de invernadero.

A todos los datos se les aplicó la prueba de Shapiro-Wilk para verificar la normalidad de errores y la prueba de Bartlett para conocer la homogeneidad de varianzas; supuestos básicos para determinar el tipo de análisis estadístico a realizar (Castillo, 2001).

En el caso del número de botones florales donde se cumplieron los supuestos se procedió a efectuar el ANOVA paramétrico y la prueba de Tuckey ($\alpha \leq 0.05$) para determinar la significancia de los tratamientos. En tanto que en peso fresco de follaje-raíz, área foliar, longitud de raíz y densidad óptica, donde no se cumplieron los supuestos, se utilizó estadística no paramétrica a través de la prueba de Wilcoxon, el equivalente no paramétrico al análisis de varianza bajo un diseño completamente al azar, con un nivel de confiabilidad del 95% ($\alpha \leq 0.05$), haciendo uso del programa estadístico SAS (SAS Institute, 1999).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

6.1. Peso fresco de follaje-raíz.

El peso (g) fresco del follaje-raíz de planta de calabaza, inoculada con el SqMV y tratada con el preparado homeopático 12C VMC, se muestra en el Cuadro 3, donde se aprecia que con la aplicación de los tres tratamientos se obtuvo menor peso fresco de la planta (respecto al testigo sin virus), lo que indica que la aplicación de este formulado homeopático antes, después y antes-después de la inoculación del SqMV a los 10 y 13 d de edad de la calabaza inhibe desde 34.3 a 69.6% la ganancia de peso fresco en las plantas; resultado que difiere de la aplicación del preparado homeopático del nematodo *Meloidogyne incognita* a la 30C, donde se encontró (Rodríguez *et al.*, 2010) que el peso seco del melón fue normal.

Cuadro 3. Peso fresco de follaje-raíz de plantas de calabaza inoculadas con el SqMV y asperjadas con el producto homeopático 12C VMC.

Tratamientos	Peso fresco de follaje-raíz			
	10 d		13 d	
	g	Rangos	g	Rangos
Pre inoculación	28.2	9.0±5.3 ab	19.9	9.4±4.0 b
Post inoculación	21.5	6.5±5.1 b	25.0	13.8±3.6 b
Pre-post inoculación	18.5	6.0±1.5 b	18.0	7.6±5.4 b
Testigo con virus	47.1	16.0±3.5 a	22.4	11.6±7.7 b
Testigo sin virus	42.9	15.0±2.7 a	59.3	22.6±2.0 a
C.V. (%)		20.09		17.99

Valores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente, de acuerdo a la prueba de Wilcoxon ($\alpha \leq 0.05$).

6.2. Área foliar.

El área (cm²) de la hoja del tercer nudo descendente de las plantas de calabaza inoculadas con el SqMV en dos edades y asperjadas con 12C VMC se observa en el Cuadro 4, en el cual se evidencia que el virus afecta este parámetro y que los tratamientos obtuvieron menor área foliar con respecto al testigo sin

virus, lo que indica que la aplicación del producto homeopático antes y después de la inoculación del virus, a los 10 y 13 d de edad de la calabaza, inhibe desde 51.5 a 82.1% el desarrollo foliar, siendo el peor tratamiento el pre-post inoculación a los 13 d, lo que se contrapone a lo encontrado por Meneses y González (2004) quienes indican que el banano dañado por sigatoka negra *Mycosphaerella fijiensis* y tratado con Tabacum a la 30C se recupera a los 75 d postratamiento.

Cuadro 4. Área foliar en plantas de calabaza inoculadas con el SqMV y asperjadas con el producto homeopático 12C VMC.

Tratamientos	Área foliar de plantas de calabaza			
	10 d		13 d	
	cm ²	Rangos	cm ²	Rangos
Pre inoculación	22.8	11.5±2.6 ab	14.1	15.0±5.5 b
Post inoculación	14.4	9.9±5.4 b	8.9	9.8±5.0 bc
Pre-post inoculación	9.6	7.9±3.9 b	7.3	6.4±3.4 c
Testigo con virus	7.1	5.5±5.0 b	5.1	11.2±5.8 bc
Testigo sin virus	47.0	17.8±1.4 a	40.7	22.6±2.0 a
C.V. (%)		19.75		19.04

Valores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente, de acuerdo a la prueba de Wilcoxon ($\alpha \leq 0.05$).

6.3. Longitud de raíz.

La longitud (cm) de la raíz de plantas de calabaza, a las que se les infectó con el SqMV y se les aplicó el 12C VMC, se muestra en el Cuadro 5, donde se constata que en plantas de 10 d de edad la raíz se desarrolló normal en los tratamientos pre y pre-post inoculación y tuvo mayor longitud radicular en post inoculación (respecto al testigo sin virus), en tanto que en plantas con 13 d de edad los tratamientos con la sustancia homeopática inhibieron desde 12.6 a 24.9% el crecimiento; de esta manera, para las plantas jóvenes el preparado homeopático, aplicado después de la inoculación artificial del SqMV, promueve en 31.1% el crecimiento de la longitud de raíz, lo cual coincide con lo observado por Rojas (1994) en raíces de plantas de crisantemo *Chrysanthemum* spp., clavel *Dianthus caryophyllus* y nochebuena *Euphorbia pulcherrima*, donde se estimuló el crecimiento con el uso del ácido indolbutírico a 9 y 12C.

En otras investigaciones también se ha demostrado que los productos homeopáticos no afectan ni benefician el crecimiento de organismos, como la aplicación de *Apis mellificus* 200C en el hongo *Aspergillus parasiticus* (Misra *et al.*, 1980), y otras inhiben el crecimiento, como las “aguas negras tratadas” a 174C o 181C en plantas de trigo *Triticum aestivum* (Castro *et al.*, 2001).

Cuadro 5. Longitud de raíz en plantas de calabaza inoculadas con el SqMV y asperjadas con el producto homeopático 12C VMC.

Tratamientos	Longitud de raíz de plantas de calabaza			
	10 d		13 d	
	cm	Rangos	cm	Rangos
Pre inoculación	32.7	10.6±8.2 b	27.9	10.5±5.9 b
Post inoculación	37.1	13.2±4.8 a	29.8	13.4±6.5 ab
Pre-post inoculación	28.6	9.6±4.9 b	25.6	6.7±2.3 b
Testigo con virus	30.7	10.6±4.6 b	30.1	14.3±6.6 ab
Testigo sin virus	28.3	8.4±3.6 b	34.1	20.2±5.7 a
C.V. (%)		15.38		15.33

Valores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente, de acuerdo a la prueba de Wilcoxon ($\alpha \leq 0.05$).

6.4. Número de botones florales.

El número de botones florales formados en plantas de calabaza inoculadas con el SqMV en dos edades (10 y 13 d) y asperjadas con el 12C VMC es menor en los tratamientos pre, post, y pre-post inoculación (Cuadro 6), respecto a la producción normal (testigo sin virus); en general se inhibe de 18 a 46.7% la formación de botones florales. Del mismo modo, el CuSO_4 3C inhibe el crecimiento de las bacterias *Edwardsiella tarda*, *Enterobacter cloacae*, *Listeria monocytogenes* y *Streptococcus bovis* (Scofield, 1984).

6.5. Densidad óptica.

La densidad óptica de la savia de plantas de calabaza, con síntomas provocados por el SqMV en dos edades, y registrada después de la aplicación del 12C VMC, denota (Cuadro 7) que en plantas de 10 d es menor en el tratamiento post inoculación, en comparación al testigo con virus; en tanto que en plantas de

13 d es aún menor la densidad óptica en los tratamientos post y pre-post inoculación. De forma que la sustancia homeopática aplicada después de la inoculación inhibe en 38.6% el desarrollo de virus en plantas jóvenes y 52.2-64.3% en plantas viejas, en contraste con la disminución del 5% de daño provocado por el Virus del mosaico del tabaco en plantas de tabaco al aplicar el mismo virus de forma homeopática a la 2C (Ruíz *et al.*, 1998).

Cuadro 6. Número de botones florales en plantas de calabaza inoculadas con el SqMV y tratadas con el producto homeopático 12C VMC.

Tratamientos	Número de botones florales	
	10 d	13 d
Pre inoculación	9.2±2.8 b	10.4±1.0 bc
Post inoculación	6.5±0.8 b	9.6±1.2 c
Pre-post inoculación	10.0±1.8 ab	9.8±0.4 c
Testigo con virus	9.2±0.8 ab	12.8±1.9 ab
Testigo sin virus	12.2±1.2 a	15.2±1.7 a
C.V. (%)	21.03	13.23

Valores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente, de acuerdo a la prueba de Tuckey ($\alpha \leq 0.05$).

Cuadro 7. Densidad óptica del SqMV en plantas de calabaza inoculadas con el SqMV y asperjadas con el producto homeopático 12C VMC.

Tratamientos	Densidad óptica del SqMV			
	10 d		13 d	
	Lectura	Rangos	Lectura	Rangos
Pre inoculación	0.529	10.5±3.5 ab	0.521	15.0±1.5 a
Post inoculación	0.361	7.0±2.1 b	0.210	6.7±2.5 bc
Pre-post inoculación	0.659	14.0±1.8 a	0.281	9.0±3.0 b
Testigo con virus	0.588	12.0±3.0 a	0.588	16.5±1.5 a
Testigo sin virus	0.190	3.2±0.7 c	0.190	6.0±1.0 bc
Testigo blanco	0.011	1.7±0.7 c	0.011	1.5±0.5 c
C.V. (%)		22.99		22.92

Valores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente, de acuerdo a la prueba de Wilcoxon ($\alpha \leq 0.05$).

Los resultados de la aplicación del homeopático 12C VMC en post inoculación del SqMV en plantas de calabaza, segundo bioensayo, muestran (Cuadro 8) que la densidad óptica es normal en plantas jóvenes, en tanto que en plantas de 13 d de edad ésta es menor, respecto al testigo con virus. Demostrándose así, que la aspersion del producto 12C VMC después de la

inoculación mecánica del SqMV en plantas de mayor edad, es el mejor tratamiento por inhibir en 73.3% el desarrollo del virus.

Cuadro 8. Densidad óptica del SqMV en plantas de calabaza asperjadas con el producto homeopático 12C VMC después de la inoculación mecánica.

Tratamientos	Densidad óptica del SqMV			
	10 d		13 d	
	Lectura	Rangos	Lectura	Rangos
Post inoculación	0.379	13.0±0.27 a	0.084	8.7±0.11 b
Testigo con virus	0.272	11.5±0.39 a	0.315	19.5±0.10 a
Testigo sin virus	0.008	3.5±0.45 b	0.008	6.5±0.14 b
Testigo blanco	0.001	1.0±0.65 b	0.001	2.2±0.11 c
C.V. (%)	17.64		11.82	

Valores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente, de acuerdo a la prueba de Wilcoxon ($\alpha \leq 0.05$).

Esto confirma que tres aplicaciones del preparado homeopático 12C VMC en los 3 d subsecuentes a la inoculación del SqMV en el cultivo de calabaza inhibe el desarrollo del virus hasta 38.6% en plantas de 10 d, y de 52.2 a 73.3% en plantas de 13 d.

6.6. Efectividad del preparado homeopático 12C VMC.

Los resultados de la presente investigación muestran que la aplicación del producto homeopático 12C VMC en plantas de calabaza infectadas con el SqMV en edades de 10 y 13 d, afecta el desarrollo de éstas al inhibir la ganancia de peso fresco de follaje-raíz y disminuye la superficie foliar y la producción de botones florales, de la misma manera otros productos homeopáticos han afectado la producción agrícola; la utilización de Arsenicum album 200C, Calcarea carbonica 200C, Dioscorea villosa 200C y Sulphur 200C inhiben la germinación de semillas del cactus de barril *Ferocactus histrix* (Casas, 2008); la aplicación de “aguas negras tratadas” a la 97C inhibe en 59% el crecimiento de plántulas de trigo (Ruiz *et al.*, 2001); y el uso de Arsenicum álbum 30CH, Calcarea carbonica 30CH y Pulsatilla 30CH inhiben la germinación de semillas de frijol *Phaseolus vulgaris* (Martínez, 2006).

La aplicación del producto homeopático 12C VMC a plantas de calabaza infectadas con el SqMV provoca respuestas variables en el desarrollo de la raíz; en plantas de 13 d inhibe el crecimiento, en tanto que en plantas de 10 d los tratamientos pre y pre-post inoculación crece normal, en contraste con post inoculación, donde se estimula el crecimiento.

El producto homeopático 12C VMC no estimula el desarrollo del SqMV en plantas de calabaza, en cambio con los tratamientos de pre inoculación (en ambas edades de la planta) y en pre-post inoculación (a los 10 d), así como en post inoculación (a los 10 d) en el segundo experimento, crece normal; en contraste, con los tratamientos post inoculación (en ambas edades de la planta), y en plantas viejas en el segundo experimento, y pre-post inoculación (a los 13 d) se inhibe el desarrollo del virus.

En general, la aplicación del producto homeopático 12C VMC en post infestación del SqMV, independientemente de la edad de la planta de calabaza, puede inhibir hasta en 73.3% el desarrollo del virus, sin haber diferencias claras en los síntomas con otros tratamientos menos efectivos. En otras investigaciones se han obtenido resultados similares, incluso hasta mejor efecto contra virus. Verma *et al.* (1969) reportan que la aplicación de Chimaphila 7D, Lachesis 7D y Variolinum 7D en tabaco *Nicotiana tabacum*, a las 24 h después de la entrada del virus del mosaico del tabaco, disminuye en 98, 76 y 67% el contenido del virus. Khurana (1971) señala que el uso de Thuja 30C y Sulphur 30C en papaya *Carica papaya* inhibe en 80% el daño producido por el virus del mosaico del tabaco.

La aplicación de los preparados homeopáticos de virus fitopatógenos para el manejo del mismo virus, es permitido en agricultura orgánica, y debe formar parte de un esquema bioacional de manejo, donde se integre a otras alternativas, como la aplicación de extractos acuosos y preparados homeopáticos de plantas no hospederas del patógeno (Rodríguez, 2010).

7. CONCLUSIONES.

La aplicación del producto homeopático 12C VMC sobre el follaje de plantas de calabaza de 10 y 13 d de edad, en pre, post y pre-post inoculación del SqMV, afecta la ganancia de peso fresco de la planta y el desarrollo del área foliar, así como la producción de botones florales.

En la raíz, este preparado alternativo, provoca respuestas variables; en plantas de 13 d inhibe el crecimiento, en tanto que en plantas de 10 d con los tratamientos pre y pre-post inoculación ésta crece normal, en contraste con la aplicación post inoculación del virus, se estimula el crecimiento.

La densidad óptica (que denota la incidencia del virus) de la savia de plantas de calabaza de 10 y 13 d, tratadas con el preparado homeopático e inoculadas con el virus, no se afecta con la aplicación pre inoculación, en contraste, se disminuye con post inoculación; inhibiéndose hasta 73.3% el desarrollo del virus.

8. LITERATURA CITADA.

- Agrios, G.N. 1998. Fitopatología. Segunda Edición. Editorial Limusa. México, D.F. 838p.
- Alvizo V., H.F. 1982. Identificación del virus mosaico de la calabaza en *Cucurbita* spp. y sus vectores. Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 51p.
- Astier, S., J. Albouy, Y. Mauri, C. Robaglia and H. Lecoq. 2007. Principles of plant virology genome, pathogenicity and ecology. Science Publisher. New York, USA. 472p.
- Blancard, D., H. Lecoq, H. Pitrat, y M. Javoy. 1991. Enfermedades de las cucurbitáceas. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 301p.
- Brunt, A., K. Crabtree, M. Dallwit, A. Gibbs and L. Watson. 1996. Virus of plants: description and lists from the VIDE Database. CAB International. Cambridge University Press. USA. 1484p.
- Casas R., N. 2008. Dinamizaciones homeopáticas (*Dioscorea villosa*, *Calcarea carbonica*, *Arsenicum album*, *Sulphur*) como promotores de la germinación en *Ferocactus histrix*. Departamento de Agroecología, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 52p.
- Castillo M., L.E. 2001. Introducción al SAS para Windows. Primera edición. Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 210p.
- Castro I., S., F.J. Ruíz E., y J. F. Curtis. 2001. Aguas negras homeopáticas en la germinación de trigo (*Triticum aestivum*). Memorias del Seminario de Avances de Investigación 2001. Programas Universitarios de Investigación en Diagnóstico, Conservación y Recuperación del Suelo; Recursos Naturales y Ecología; Agricultura Orgánica, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 88p.
- CICOPLAFEST. 2004. Catalogo de Plaguicidas. Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias

- Tóxicas. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México, Distrito Federal. 478p.
- Hernández V., B.A. 1994. Estrategias para el control de virosis en sandía *Citrullus vulgaris* en la Costa de Guerrero, México. Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 82p.
- ICTV. 2009. Virology Division. International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). En línea: <http://www.ictvonline.org/virusTaxonomy.asp>. Fecha de consulta: 28 de enero de 2011.
- Khurana, P. 1971. Effect of homeopathic drugs on plant viruses. *Planta Médica* 20(2):142-6.
- Kurstak, E. 1981. Handbook of plant virus infections: comparative diagnosis. Editorial Elsevier. Amsterdam, Netherlands. 943p.
- Lockhart, B.E.L., F. Jebbour, and A.M. Lennon. 1985. Seed transmission of squash mosaic virus en *Chenopodium* spp. *Plant Disease* 69(11):946-7.
- Martínez V., Y. 2006. Influencia de tres medicamentos homeopáticos en la germinación de frijol *Phaseolus vulgaris*. Memoria del III Foro Interinstitucional Efectos de la Homeopatía sobre los sistemas vivos. Universidad Autónoma Chapingo, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Politécnico Nacional, Secretaria de Salud. Chapingo, México. 83p.
- Meneses M., N. y L.R. González A. 2004. Influencia de dos medicamentos homeopáticos en el control de la sigatoka negra del plátano. Facultad Agropecuaria de Montaña del Escambray, Tope de Collante. Trinidad, Cuba. 12p.
- Misra, R. S., K.K. Sinha and P. Singha. 1980. Evaluation of some homeopathic drugs against Aflatoxin production and growth of *Aspergillus parasiticus*. *Journal National Academy of Science letters* 3(10):290-1.
- Nelson, M.R. and H.K. Knuhtsen. 1973. Squash mosaic virus variability: review and serological comparison of six biotypes. *Phytopathology* 63:920-6.

- Rodríguez G. D., Chavarría, V. M. y Ruíz E., F.J. 2010. Alternativas agrohomeopáticas y biológicas para el control de *Meloidogyne incognita* en el cultivo de melón a nivel invernadero. *Extensión al campo* 3(17):9-12.
- Rodríguez H., C. 2010. Extractos vegetales para el manejo de virus fitopatógenos. Libro de Resúmenes. Foro Regional de Agricultura Sostenible. Díaz R., R, J.F. Álvarez G. y A. Huerta P. (eds). Disco electrónico. Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible y Colegio de Postgraduados Campus Puebla. p.112-5.
- Rojas A., E. 1994. Uso de soluciones de tipo homeopático de AIB (ácido indolbutírico) en el enraizamiento de estacas de clavel, crisantemo y nochebuena. Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 62p.
- Ruíz E., F.J. 2003. Agrohomeopatía: una alternativa ecológica, tecnológica y social. Departamento de Sociología Rural, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 381p.
- Ruíz E., F.J., S.I. Castro y B. Pinto C. 1998. Control homeopático del virus mosaico del tabaco (VMT) en tabaco *Nicotiana tabacum*. Centro Regional del Anáhuac, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 26p.
- Ruíz E., F.J., S.I. Castro y J.F. Curtis. 2001. Aguas negras homeopáticas en la germinación de trigo *Triticum aestivum*. Memorias del Seminario de Avances de Investigación 2001. Programas Universitarios de investigación en Diagnóstico, Conservación y Recuperación del Suelo; Recursos Naturales y Ecología; Agricultura Orgánica, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 88p.
- SAS Institute. 1999. SAS Companion for Microsoft Windows, relase 8. SAS Institute, Cary. N.C., USA.
- Scofield, A.M. 1984. Homeopathy and its potential role in Agricultural. *Biological, British Homeopathic Journal* 73(3):161-80.
- Sestak, Z., J. Catshy, and P.G. Jarvis. 1971. Plant photosynthetic production manual of methods. Editorial Junk N-V. The Hague, Netherlands. 818p.

- Smith, M.K. 1972. A textbook of plant virus diseases. Academic Press. New York, USA. 684p.
- Verma, H.N., G.S. Verma, V.K. Verma, and K.N. Srivastava. 1969. Homeopathic and pharmacopoeial drugs as inhibitors of tobacco mosaic virus. *Indian Phytopatology* 22:183-93.
- Walker, C.J. 1975. *Patología vegetal*. Editorial Omega. Barcelona, España. 818p.
- Zepeda, C.L. 2002. *Diccionario médico homeopático ilustrado*. Editorial Porrúa. México, D.F. 349p.
- Zitter, T.A., D.L. Hopkins y C.E. Thomas. 2004. *Plagas y enfermedades de las cucurbitáceas*. Editorial Mundi-Prensa. Madrid, España. 88p.