

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
FACULTAD DE AGRONOMÍA
MAESTRÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS**



TESIS

**“EFECTO DE LA TEMPERATURA Y PRESIÓN OSMÓTICA EN EL
CRECIMIENTO *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*”**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS
AGROPECUARIAS**

PRESENTA:

KYNZÚ BERENICE CASTRO VALDEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. CARLOS ALFONSO LÓPEZ ORONA

CO-DIRECTORA DE TESIS:

DRA. MITZI DAYANIRA ESTRADA ACOSTA

CULIACÁN, SINALOA; ENERO DE 2020

Esta Tesis titulada “**EFFECTO DE LA TEMPERATURA Y PRESIÓN OSMÓTICA EN EL CRECIMIENTO *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici***” fue realizada por la **C. Kynzú Berenice Castro Valdez**, bajo la dirección del Consejo Particular que se indica, ha sido **Aprobada** por el mismo y **Aceptada** como Requisito Parcial para obtener el Título de:

MAESTRA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

CONSEJO PARTICULAR

Director:_____

DR. CARLOS ALFONSO LÓPEZ ORONA

Co-Directora:_____

DRA. MITZI DAYANIRA ESTRADA ACOSTA

Asesor:_____

DR. GUADALUPE ALFONSO LÓPEZ URQUÍDEZ

Asesor:_____

DR. FELIPE AYALA TAFOYA

Asesor:_____

DR. LUIS ALFONSO AMARILLAS BUENO

Culiacán, Sinaloa, enero de 2020



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
FACULTAD DE AGRONOMÍA CULIACÁN
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL FUERTE
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
FACULTAD DE AGRONOMÍA VALLE DEL CARRIZO

En la Ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, el día 20 de enero del año 2020, la que suscribe Kynzú Berenice Castro Valdez, alumna del Programa de Maestría en Ciencias Agropecuarias, con número de cuenta 0622809-7, de la Unidad Académica Facultad de Agronomía Culiacán, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la UAS, manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Carlos Alfonso López Orona y de la Dra. Mitzi Dayanira Acosta Estrada y cede los derechos del trabajo titulado “Efecto de la temperatura y presión osmótica en el crecimiento *in vitro* de *Fusarium Oxysporum* f. sp. *lycopersici*”, a la Facultad de Agronomía Culiacán, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales, todo esto en apego al artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ATENTAMENTE

Kynzú Berenice Castro Valdez

ÍNDICE

	Página
I.INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	2
2.1. Origen e historia del tomate.....	2
2.2. Importancia Económica del cultivo.....	2
2.3. Descripción botánica de la especie.....	3
2.4. Requerimientos edafoclimáticos.....	3
2.5. Clasificación taxonómica.....	4
2.6. Problemas fitosanitarios del tomate.....	5
2.6.1. Aspectos Generales del Género <i>Fusarium</i>	5
2.6.2. Aspectos Biológicos y Patológicos de la Especie <i>Fusarium oxysporum</i>	6
2.6.3. Variación de los hongos del género <i>Fusarium</i> y de la especie <i>Fusarium oxysporum</i>	7
2.6.4. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> Vs. <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i>	7
2.6.5. Marchitamiento vascular del tomate por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	8
2.7. Efecto de la salinidad en el suelo sobre el género <i>Fusarium</i>	9
III. JUSTIFICACIÓN.....	13
IV. HIPÓTESIS.....	15
V.OBJETIVOS.....	16
5.1 Objetivo general.....	16
5.2 Objetivos específicos.....	16
VI. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
6.1. Aislados utilizados en los ensayos de salinidad y temperatura.....	17
6.2. Elaboración de medios de cultivo.....	17
6.3. Determinación del crecimiento micelial.....	19
6.3.1. Medición del crecimiento micelial.....	20
6.4. Germinación conídica.....	21
6.4.1. Ensayos de viabilidad.....	23

6.5. Análisis estadístico de los datos.....	24
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	25
7.1. Frecuencias de crecimiento.....	25
7.1.1. Frecuencias de crecimiento en función del tipo de sal.....	25
7.1.2. Frecuencias de crecimiento en función la temperatura.....	27
7.1.3. Frecuencias de crecimiento en función de la presión osmótica.....	29
7.1.4. Frecuencias de crecimiento en función de la temperatura y la presión osmótica.....	31
7.2. Magnitud del crecimiento.....	34
7.2.1 Magnitud del crecimiento en función del tipo de sal.....	35
7.2.2. Magnitud del crecimiento en función de la temperatura.....	36
7.2.3. Magnitud del crecimiento en función de la presión osmótica.....	37
7.2.4. Magnitud del crecimiento en función del tipo de raza.....	38
7.3. Germinación conídica.....	41
7.3.1. Análisis realizados a las 0 horas con todas las razas.....	43
7.3.2. Análisis realizados a las 24 horas con todas las razas.....	44
7.3.3. Análisis realizados a las 48 horas con todas las razas.....	45
7.4. Ensayos de viabilidad.....	45
7.4.1. Análisis realizados a las 24 horas con todas las razas.....	48
7.4.2. Análisis realizados a las 48 horas con todas las razas.....	48
VIII. CONCLUSIONES.....	50
IX. LITERATURA CITADA.....	53

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Aislamientos de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> estudiados y sus códigos	17
Cuadro 2. Relaciones entre el potencial osmótico del medio (ψ) y las concentraciones de NaCl y KCl	18
Cuadro 3. Relaciones entre el potencial osmótico del medio (ψ) y las concentraciones de NaCl y KCl	22
Cuadro 4. Frecuencias de crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función del tipo de sal (%)	25
Cuadro 5. Análisis de varianza de los datos sobre el crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en la sal KCl	26
Cuadro 6. Análisis de varianza de los datos sobre el crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en la sal NaCl	26
Cuadro 7. Frecuencias de crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función de la temperatura considerando KCl y NaCl (%)	27
Cuadro 8. Grupos formados de las comparaciones por pares para Crecimiento por Temperatura (Tukey (HSD)) KCl	28
Cuadro 9. Grupos formados de las comparaciones por pares para Crecimiento por Temperatura (Tukey (HSD)) NaCl	28
Cuadro 10. Frecuencias de crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función de la presión osmótica considerando KCl y NaCl (%)	29
Cuadro 11. Grupos formados de las comparaciones por pares para Crecimiento por Presión Osmótica (Tukey (HSD)) KCl	30
Cuadro 12. Grupos formados de las comparaciones por pares para Crecimiento por Presión Osmótica (Tukey (HSD)) NaCl	30
Cuadro 13. Frecuencias de crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función de la temperatura y presión osmótica considerando KCl y NaCl (%)	32
Cuadro 14. Análisis de varianza de los datos sobre el crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en KCl en función de la temperatura y presión osmótica	32

Cuadro 15. Análisis de varianza de los datos sobre el crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en la sal NaCl en función de la temperatura y presión osmótica	32
Cuadro 16. Grupos formados de las comparaciones por pares para Crecimiento por Temperatura y Presión Osmótica (Tukey (HSD)) KCl	33
Cuadro 17. Grupos formados de las comparaciones por pares para Crecimiento por Temperatura y Presión Osmótica (Tukey (HSD)) NaCl	34
Cuadro 18. Descriptivos del crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> según el tipo de sal	35
Cuadro 19. Descriptivos del crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> según la temperatura y el tipo de sal	36
Cuadro 20. Descriptivos de crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función de la presión osmótica y tipo de sal	37
Cuadro 21. Descriptivos de crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función de la raza y tipo de sal	39
Cuadro 22. Presiones osmóticas y soluciones salinas estudiadas	41
Cuadro 23. Análisis de varianza de los datos sobre la germinación de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en los tres periodos de incubación	42
Cuadro 24. Análisis de varianza de los datos sobre la viabilidad de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en en los tres periodos de incubación	46

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Preparación de medio de cultivo	18
Figura 2. Repicado de cepas de medio <i>Komada</i> a <i>PDA</i>	19
Figura 3. Incubación de los aislados a 15 °C durante 4 días	20
Figura 4. Medición del tamaño de la colonia, se tomaron dos diámetros perpendiculares	21
Figura 5. Cámara de Neubauer	22
Figura 6. Vista al microscopio óptico de la germinación conídica de <i>Fusarium</i> en la cámara de conteo	23
Figura 7. Lectura de las unidades formadoras de colonias (U.F.C.)	24
Figura 8. Frecuencias de crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función del tipo de sal	26
Figura 9. Frecuencias de crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función de la temperatura considerando KCl y NaCl	27
Figura 10. Frecuencias de crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función de la presión osmótica (bares) considerando KCl y NaCl	29
Figura 11. Comparación de medias de presión osmótica en función de sales KCl y NaCl	31
Figura 12. Crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función del tipo de sal	35
Figura 13. Crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función de la temperatura y tipos de sal	37
Figura 14. Crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función de presión osmótica y tipo de sal	38
Figura 15. Crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función de la raza y tipo de sal	39

Figura 16. Comparación de medias de crecimiento por cepa en función de sales KCl y NaCl	40
Figura 17. Medias de Germinación de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función del periodo de incubación	42
Figura 18. Medias de Germinación de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función del periodo de incubación y cantidad de sal (g de NaCl/litro)	43
Figura 19. Medias de Germinación de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función cantidad de sal (gr. NaCl/litro) a las 0 horas	44
Figura 20. Medias de Germinación de <i>Fusarium Oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función cantidad de sal (gr. NaCl/litro) a las 24 horas	44
Figura 21. Medias de Germinación de <i>Fusarium Oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función cantidad de sal (gr. NaCl/litro) a las 48 horas	45
Figura 22. Medias (UFC ml-1) de <i>Fusarium Oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función del periodo de incubación	47
Figura 23. UFC ml-1 de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función del periodo de incubación y la cantidad de sal (gr. De NaCl/litro)	47
Figura 24. UFC ml-1 de <i>Fusarium Oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función de cantidad de sal (gr. NaCl/litro) a las 24 horas	48
Figura 25. UFC ml-1 de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en función de cantidad de sal (gr. NaCl/litro) a las 48 horas	49

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para mis estudios de maestría.

A la Universidad Autónoma de Sinaloa por haberme formado y adquirir nuevos conocimientos además de gozar como alumna de esta noble Institución.

A mi director Dr. Carlos Alfonso López Orona, por su apoyo, asesoramiento y amabilidad durante este tiempo, agradezco su tiempo y sus consejos para resolver mis dudas. Así mismo, agradezco a mis asesores de tesis y a todos los profesores por apoyarme en todo momento en la realización de mis estudios de maestría.

A la Junta de Sanidad del Valle del Fuerte, especialmente a la Unidad Tecnológica Fitosanitaria Integral (UTEFI) que, a través de sus representantes y directivos institucionales, de manera desinteresada autorizaron el consentimiento y los recursos necesarios para la elaboración del trabajo de laboratorio. Un especial reconocimiento a todo el equipo del Laboratorio de diagnóstico, porque me trataron muy bien durante mi estancia y por haberme dado la oportunidad de convivir con ustedes dentro y fuera.

A todos ustedes, mi mayor reconocimiento y gratitud.

DEDICATORIA

A Dios

Por qué me dio la fe, la fortaleza, la salud y la esperanza para concluir con mi objetivo.

A mi esposo

Jesús González, quien me brindó su amor, su cariño, su estímulo y su apoyo constante.
¡Gracias!

A mis padres

Héctor Fernando y Teresita de Jesús por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este. Me formaron con reglas y con algunas libertades, pero al final de cuentas, me motivaron para alcanzar mis metas.

A mis hermanos

Frida Monserrat y Héctor Fernando por su cariño y por estar en los momentos más importantes de mi vida.

RESUMEN

El tomate (*Solanum lycopersicum* L.) es una de las hortalizas más consumidas en el mundo y es atacada por numerosas enfermedades, entre las cuales, está la marchitez vascular, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. El patógeno, por ser habitante del suelo, es difícil de manejar. Una vez que el suelo se infesta puede permanecer con el patógeno por tiempo indefinido. Debido al cultivo sucesivo de tomate en el mismo lugar, la población del hongo aumenta y, por ende, la incidencia de la enfermedad. Aún no se han establecido umbrales de daño económico ni sistemas de predicción, pero se conocen algunas condiciones del suelo y bajo distintas temperaturas, se puede disminuir la incidencia de la enfermedad. El objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de la temperatura y presión osmótica en el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en medios sólidos y líquidos. Para los medios sólidos se sembró (Fol) en PDA con adición de 2 tipos de sales (KCl y NaCl) y seis presiones osmóticas diferentes (0, 13.79, 41.79, 70.37, 99.56, 114.54 bares) posteriormente se incubaron a 15°, 25° y 35°, a los 4 días de incubación se realizó medición perpendicular considerándose como resultado la media de las 5 repeticiones, para los medios líquidos se realizaron lavados con las mismas concentraciones de presiones osmóticas en medios previamente cultivados en PDA+KCl, se realizaron pruebas de germinación conídica y conteo de esporas a las 0, 24 y 48 horas. Se utilizó un diseño bloques al azar con arreglo factorial. Se encontró que la frecuencia de crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* fue superior en KCl en comparación con NaCl. Así mismo, se observó que la temperatura de 25 °C fue la temperatura óptima de las tres ensayadas en el presente estudio en cuanto a la frecuencia de aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* crecidos. Las presiones osmóticas más favorables para el desarrollo micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* son de -1.50 bares y -13.79 bares para ambas sales. Se determinó que a mayor periodo de incubación de los conidios en las soluciones salinas resultaba en un menor número de conidios viables.

SUMMARY

Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) is one of the most consumed vegetables in the world and is attacked by numerous diseases, including the vascular wilt, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. The pathogen, being an inhabitant of the soil is difficult to manage. Once the soil is infested, it can remain with the pathogen indefinitely. Due to the successive cultivation of tomato in the same field the population of the fungus increases and, consequently, the incidence of the disease. The objective of this study was to analyse the effect of temperature and osmotic pressure on the in vitro growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* in solid and liquid media. For the solid media was sown (Fol) in PDA with addition of 2 types of salts (KCl and NaCl) and six different osmotic pressures (0, 13.79, 41.79, 70.37, 99.56, 114.54 bars) were subsequently incubated at 15 °, 25 ° and 35 °, at 4 days of incubation was carried out perpendicular measurement considering as a result the average of the 5 replicates, for the liquid means were washed with the same concentrations of osmotic pressures in previously cultivated media in PDA+KCl, Conídica germination and spore count tests were performed at 0, 24 and 48 hours. A random blocks design with factorial arrangement was used. It was found that the frequency of growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* was superior in KCl compared to NaCl. Likewise, it was observed that the temperature of 25 ° C was the optimum temperature of the three tested in the present study regarding the frequency of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. The most favorable osmotic pressures for the mycelial development of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* are -1.50 bars and -13.79 bars for both salts. It was determined that the longer incubation period of the conidia in the saline solutions resulted in a smaller number of viable conidia.

I. INTRODUCCIÓN

El tomate (*Solanum lycopersicum*) es una de las hortalizas más cultivadas a nivel mundial. El principal consumidor es E.U.A, por lo cual las importaciones a este país son de gran importancia. En 2015 Sinaloa sembró 12,937.17 ha obteniendo una producción de 849,341.95 t, ocupando el primer lugar a nivel nacional (SIAP, 2016). En el mercado internacional, durante el 2016 el tomate mexicano cubrió el 90.67 % de las importaciones de Estados Unidos y 65.31 % de Canadá (SIAP, 2017). México a nivel nacional en el año 2016 tuvo una superficie cosechada de 23,175.95 ha obteniendo un rendimiento promedio de 64.53 t¹ y un precio medio rural de \$6,628. En Sinaloa el cultivo se establece principalmente en los municipios de Ahome, Culiacán y Guasave.

En los últimos años, la superficie dedicada al cultivo de tomate ha disminuido progresivamente, debido a diversos factores; entre ellos, la incidencia creciente de plagas y enfermedades radicales (Sánchez, 1998). *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* destaca por su agresividad en el cultivo de tomate.

El ciclo de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* comienza con la presencia del inóculo en el suelo o en residuos de cosecha. El inóculo es constituido por hifas, esporas o clamidiosporas que germinan cuando son activadas por los exudados producidos en las raíces fibrosas del tomate.

Los patógenos se adaptan mediante algún mecanismo de variación para sobrevivir en clima definido y determinado hospedero, por lo que generan variantes patogénicas con nueva capacidad de virulencia para poder sobrevivir (Agrios, 2004).

Actualmente el exceso de salinidad en el suelo afecta el cultivo de tomate, ocasionando serios daños tanto al suelo como a la producción de este. El presente ensayo pretende contribuir a elaborar una estrategia para el manejo de la marchitez del tomate, utilizando como referencia el comportamiento del hongo en dos sales diferentes bajo distintas temperaturas y presiones osmóticas para actuar oportunamente contra el fitopatógeno causante de esta enfermedad.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Origen e historia del tomate

El tomate es procedente de América del Sur, de la región Andina, principalmente de Perú, Ecuador, Bolivia y Chile (Warnock, 1991). No obstante, su domesticación se realizó en México. El nombre de jitomate tiene su origen del náhuatl *xictli*, ombligo y *tomatl*, tomate, que significa tomate de ombligo (Williams, 1990). El tomate pertenece a la familia de las Solanáceas, cuya especie básica es *Solanum lycopersicum* (Ascencio, 2006).

A nivel mundial, México ocupa el segundo lugar en la exportación de este producto hortofrutícola. Durante el periodo 2009 a 2016 la exportación de tomate a Estados Unidos aumentó en 9 % (SAGARPA, 2017).

2.2. Importancia Económica del cultivo

Según la FAO (2016), el 52 % de la superficie destinada al cultivo de tomate en 2013 se concentró en cuatro países: China (20.9 %), India (18.8 %), Turquía (6.6 %) y Nigeria (5.8 %). México ocupa la décima posición mundial, con el 1.9 % de la superficie cosechada de esta hortaliza.

La producción de tomate en México creció a una tasa promedio anual de 3.3 % entre 2005 y 2015, para ubicarse en 3.1 millones de toneladas. Durante ese período, la superficie total destinada a este cultivo disminuyó a una tasa promedio anual de 3.8 %. En 1980 se sembraron 85,500 ha, en el 2000 se sembró un área de 75,900 ha y en 2015 la superficie establecida fue 50,596 ha. La producción de este cultivo está altamente concentrada; en 2015 cinco entidades produjeron el 54.1 % del total nacional, de los cuales Sinaloa aportó el 27.4 %, Michoacán y San Luis Potosí con 7.2 %, Baja California contribuyó con 7.1 % y Jalisco con 5.2 %. En el mismo año, el 51 % de la cosecha se obtuvo durante el ciclo Primavera-Verano (P-V) y el 49 % en el ciclo Otoño-Invierno (O-I) (FIRA, 2016).

2.3. Descripción botánica de la especie

Salinas (2006), define a la planta de tomate como una planta perenne, de porte arbustivo, que se cultiva como anual. Su desarrollo puede ser de forma rastrera, semi erecta o erecta. Su sistema radical está compuesto por una raíz principal corta y débil, raíces secundarias (numerosas y potentes) y raíces adventicias. En el tallo principal, de 2.0 a 4.0 cm de diámetro se desarrollan hojas, tallos secundarios de ramificación simpodial e inflorescencias.

La hoja es compuesta e imparipinnada, con foliolos peciolados, lobulados y borde dentado. La flor es simétrica, regular e hipógina y se consta de 5 o más sépalos y el mismo número de pétalos, estos últimos de color amarillo (Salinas, 2006).

Los estambres, unidos lateralmente, forman un cono estaminal que envuelve el gineceo, este último portador de un ovario bi o plurilocular. Las flores se agrupan en inflorescencias de tipo racimoso (dicasio) y se unen al tallo de la inflorescencia por medio de un pedicelo articulado que contiene la zona de abscisión, distinguible como un engrosamiento con un pequeño surco originado por una reducción del espesor del córtex (Salinas, 2006).

La temperatura óptima de desarrollo se sitúa en 23 °C durante el día y entre 13 - 17 °C durante la noche (Salinas, 2006).

2.4. Requerimientos edafoclimáticos

El manejo adecuado de los factores climáticos de forma conjunta es fundamental para el funcionamiento del cultivo, ya que todos se encuentran fuertemente relacionados y la actuación sobre uno de estos incide sobre el resto.

La humedad relativa óptima fluctúa entre un 60 % y un 80 %. Humedades relativas muy elevadas favorecen el desarrollo de enfermedades aéreas y el agrietamiento del fruto y dificultan la fecundación, debido a que el polen se compacta, abortando parte de las flores. El rajado del fruto se puede deber a un exceso de humedad edáfica o riego abundante tras un período de estrés hídrico. También una humedad relativa baja impide la fijación del polen al estigma de la flor.

Luminosidad: al tener valores reducidos de luminosidad puede incidir de manera negativa en la fase de floración, así como también en el desarrollo vegetativo de la planta. En los momentos críticos de éste desarrollo resulta primordial la interrelación existente entre la temperatura diurna-nocturna y la luminosidad.

Suelo: el cultivo del tomate se adapta a la mayoría de los suelos, excepto en lo referente al drenaje, aunque prefiere suelos sueltos de textura silíceo-arcillosa y ricos en materia orgánica. A pesar de eso se desarrolla perfectamente en suelos arcillosos enarenados. En relación al pH, pueden ser desde ligeramente ácidos hasta levemente alcalinos cuando están enarenados. El tomate, es la especie cultivada bajo condiciones protegidas que tolera mejor las condiciones de salinidad del suelo y del agua de riego.

2.5. Clasificación taxonómica

El tomate es una especie dicotiledónea que pertenece a la familia de las Solanáceas, y aunque recientemente ha tenido algunas modificaciones, la clasificación actual del tomate dada por la Integrated Taxonomic Information System (ITIS, 2016) es la siguiente:

Reino: Plantae

División: Traqueophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: Solanum

Especie: *Solanum lycopersicum* L.

La exportación de este cultivo a los Estados Unidos de América, genera anualmente ganancias mayores a un millón de dólares. Sin embargo, Medina-Ríos (2011) menciona que en los últimos años la superficie dedicada al cultivo de tomate tuvo un decremento gradual debido a diversos factores; entre ellos, la incidencia creciente de plagas y enfermedades. Dentro de esta última, en la

región, los problemas son principalmente de origen fungoso los cuales provocan grandes pérdidas de rendimiento y calidad de la cosecha como el caso de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Este patógeno se caracteriza por su potencial destructivo, su facilidad de propagación local y persistencia en el suelo. La enfermedad provocada por este hongo está considerada como una de las más devastadoras en todas las regiones del mundo donde se cultiva tomate (Marlatt *et al.*, 1996).

2.6. Problemas fitosanitarios del tomate

Los problemas fitosanitarios constituyen uno de los aspectos más importantes en el proceso productivo del cultivo de *Solanum lycopersicum*. A nivel mundial el tomate es afectado por diferentes patógenos que dañan tanto la parte aérea como el área radicular, constituyendo un factor limitante en la producción, las enfermedades son ocasionadas por bacterias, virus, hongos, entre otros; además de las variaciones climáticas que afectan a este cultivo. Dentro del complejo de hongos, destaca en importancia el género *Fusarium*, por las pérdidas de producción que ocasiona y las complicaciones en su control

2.6.1. Aspectos Generales del Género *Fusarium*

Según Booth (1971), los hongos del género *Fusarium* tienen una amplia distribución en el mundo y una gran importancia desde el punto de vista agrícola y económico. Su ocurrencia es cosmopolita y las diversas especies son comunes en el suelo, en el aire y en el agua. Diversas especies de *Fusarium* tienen una gran capacidad de causar enfermedades en distintos tipos de cultivos. Algunas especies pueden causar infecciones y otras pocas producen toxinas; todas afectando al hombre y animales. Las enfermedades de las plantas ocasionadas por especies del género *Fusarium* consisten en marchitamientos vasculares, manchas y añublos de las hojas, pudrición de raíces y de tallos, pudrición de frutos, granos y semillas (Nelson, 1990).

2.6.2. Aspectos Biológicos y Patológicos de la Especie *Fusarium oxysporum*

Leslie y Summerell (2006), mencionan que *F. oxysporum* es el responsable del marchitamiento vascular en muchas especies de plantas en todo el mundo. Se caracteriza por ser un saprófito común del suelo. También es la especie más importante desde el punto de vista económico en el género *Fusarium*, dado sus numerosos hospedantes y las pérdidas que puede ocasionar al infectar cultivos.

El hongo *F. oxysporum* produce tres clases de esporas, mismas que se describen a continuación:

Microconidios: esporas generalmente unicelulares, sin septas, hialinas, elipsoidales a cilíndricas, rectas o curvadas; se forman sobre fiálides laterales, cortas, simples o sobre conidióforos poco ramificados. Las microconidias tienen 5-12 µm de largo por 2.5- 3.5 µm de ancho (Nelson, 1981).

Macroconidios: esporas de paredes delgadas, fusiformes, largas, moderadamente curvadas en forma de hoz, con varias células y de tres a cinco septas transversales, con la célula basal elongada y la célula apical atenuada; las macroconidias tienen un tamaño de 27 a 46 µm de largo por 3.0 a 4.5 µm de ancho (Nelson, 1983).

Clamidosporas: esporas formadas a partir de la condensación del contenido de las hifas o de los conidios, de paredes gruesas. Se forman simples o en pares, terminales o intercalares: poseen un tamaño de 5 a 15 µm de diámetro (Nelson, 1983). El hongo sobrevive en condiciones ambientales desfavorables gracias a ellas y en el suelo como saprófito de vida libre en ausencia de plantas hospedantes (Garret, 1977).

La especie tiene la capacidad de atacar un gran número de plantas de importancia agrícola y ocasiona principalmente marchitamientos vasculares, seguidos de la muerte de la planta (Nelson, 1981). Algunas especies pueden provocar pudrición de corona y raíces de algunas plantas (Farr *et al.*, 1989; Jones *et al.*, 1997).

2.6.3. Variación de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*

Una de las dificultades encontradas para la identificación de las especies es la frecuente variación analizada en las características culturales de las colonias del hongo y en el tamaño de las esporas tanto del género *Fusarium*, como de la especie *F. oxysporum* (Kistler, 1997). Una de las posibilidades de modificar diversos aspectos patológicos es mediante la ocurrencia de mutaciones, pero la frecuencia observada en las formas especiales de *F. oxysporum* es muy baja. La recombinación genética examinada en la especie *Fusarium oxysporum* es bastante baja, ya que no se le conoce fase sexual y, por lo tanto, no se presenta recombinación genética por este método de reproducción (Kistler, 1997). Otras especies de *Fusarium* si tienen formas sexuales conocidos y tienen mayores posibilidades de variación (Booth, 1971).

2.6.4. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Vs. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*

Fusarium oxysporum f. sp. *radicis-lycopersici* (Forl) es el agente causal de la pudrición de la corona y la raíz en el tomate. Primero se describió en Japón como una nueva raza de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol.), se informó posteriormente en varias áreas de cultivo de tomate en todo el mundo. Ambos patógenos pueden ocurrir simultáneamente en la misma planta de tomate, causando síntomas superpuestos. Sin embargo, los dos hongos presentan diferencias considerables en la susceptibilidad del huésped y el comportamiento epidemiológico. En consecuencia, la distinción precisa entre las dos formas especiales tiene implicaciones esenciales de diagnóstico y control. Razas fisiológicas de Forl no se ha informado, pero la distribución de los grupos de compatibilidad vegetativa y del polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción nuclear (Balmas, 2005; Scherm *et al.*, 2005).

Pudrición de raíces y pies de tomate (TFRR) causada por *Fusarium oxysporum* (Shlect) f.sp. *radicis-lycopersici* (Forl) es una de las enfermedades del tomate más dañinas transmitidas por el suelo y disminuye los rendimientos de las plantas de tomate cultivadas bajo condiciones de invernadero y de campo abierto en todo el mundo. El uso de fungicidas y cultivares resistentes son métodos ineficaces para controlar la enfermedad (Cakir, Gul *et al.*, 2014).

2.6.5. Marchitamiento vascular del tomate por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

El ciclo de la enfermedad ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* se inicia con la presencia del inóculo en el suelo o en residuos de cosecha. El inóculo es constituido por hifas, esporas o clamidiosporas que germinan cuando son activadas por los exudados producidos en las raíces fibrosas del tomate. La marchitez del tomate se debe a que el hongo invade la planta bien sea de forma activa a través de las raíces o pasivamente a través de orificios en la zona callosa esquejes jóvenes. Después de la penetración el patógeno se desarrolla dentro del sistema vascular de la planta. Los vasos, en especial del xilema, son bloqueados y destruidos de manera que el transporte del agua y nutrientes del mismo se dificulta, que conduce al marchitamiento parcial o total de la planta. El micelio que desarrolla en las lesiones de la base del tallo, genera una gran cantidad de conidios que son diseminados por el viento y el agua para iniciar nuevos puntos de infección (Haglund y Kraft, 2001).

Los patógenos se adaptan mediante algún mecanismo de variación a sobrevivir en clima definido y determinado hospedero, por lo que generan variantes patogénicas con nueva capacidad de virulencia para poder sobrevivir. Se sabe que los patógenos están constituidos por razas fisiológicas y que estas pueden aparecer después de la introducción de nuevos cultivares resistentes, como es el caso de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Agrios, 2004). Para identificar las razas fisiológicas de una forma especial se utilizan juegos de variedades diferenciales (Garcés, 2001).

La temperatura es uno de los factores ambientales con mayor influencia en el desarrollo de la enfermedad y la manifestación de los síntomas (Baker, 1988). La temperatura óptima para el desarrollo del patógeno oscila entre 25 y 30 °C, una temperatura mínima de 5 °C y una temperatura máxima de 37 °C, el punto termal de muerte en el suelo es de 57.5 a 60 °C durante 30 minutos. La esporulación óptima ocurre entre 20 y 25 °C, con 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. El pH óptimo es de 7.7 y puede desarrollarse entre 2.2 y 9.0. (Fletcher y Martín, 1972; Nelson, 1981; Tramier *et al.*, 1983). El hongo es aerobio y sus poblaciones se reducen con la saturación de agua en el suelo.

2.7. Efecto de la salinidad en el suelo sobre el género *Fusarium*

El estrés hídrico implica un debilitamiento de las plantas debido a un aporte inadecuado de agua, aunque su causa no es únicamente la falta del elemento líquido. Es decir, de cómo retienen el agua las diferentes partículas que componen el suelo y de cuantos solutos están disueltos en la solución acuosa libre del suelo, siendo ambos negativos (Cook, 1973).

El potencial hídrico de las células vegetales es la suma del potencial osmótico (negativo) y del potencial de presión, que puede ser positivo o negativo.

En relación a los hongos, el potencial del agua será la suma del potencial osmótico y de turgencia.

Cook (1973) clasificó el efecto de los bajos potenciales hídricos sobre los patógenos edáficos en tres categorías diferentes, que son:

1. Efectos restrictivos en el crecimiento del patógeno
2. Efectos en la interacción patógeno-antagonistas
3. Efectos en la interacción patógeno-hospedantes

En cuanto a los efectos que restringen el crecimiento del patógeno, existe una relación entre la influencia del potencial hídrico sobre la enfermedad y su influencia sobre el crecimiento del patógeno (Cook y Papendick, 1970). Patógenos vasculares como *F. oxysporum* (Papendick *et al.*, 1971) parecen tener la capacidad de crecer a potenciales menores de -100 bares.

El estrés salino es uno de los principales factores negativos a los que están sometidas las raíces de las plantas, la toxicidad se produce como consecuencia de la absorción y acumulación de iones salinos. Los iones Na^+ o Cl^- pueden acumularse en las hojas, raíces y otros tejidos de las plantas afectando gravemente las reacciones metabólicas, así como propiciando la aparición de manchas necróticas o necrosis marginales de las hojas (Bernstein *et al.*, 1969, 1975).

El efecto inicial y principal de la salinidad, especialmente de concentraciones bajas a moderadas, es debido a su efecto osmótico (Jakoby, 1994). Los solutos disueltos en la zona radicular producen un desequilibrio hídrico entre la planta y el suelo que provoca una disminución de su capacidad para absorber agua y en la asimilación de nutrientes minerales. Otra consecuencia de los altos contenidos salinos de los sustratos es la inhibición de la absorción de nitrato (NO_3^-). La influencia de la salinidad se debe a la interferencia aniónica con la entrada de nitrato a las células de la raíz. Además, el estrés salino impide la absorción y transporte del potasio (K^+), calcio (Ca^+) y fósforo (P), nutrientes esenciales en el crecimiento celular (Flores *et al.*, 2001). En general, los efectos adversos de la salinidad se traducen en una disminución del desarrollo que se refleja en un menor tamaño de la hoja y una menor altura final de la planta. Por lo tanto, se especula que el estrés salino predispone a las plantas a sufrir infecciones fúngicas (Beech, 1949; Mac Donald, 1982).

Se señala que la principal consecuencia de la salinidad, son los desórdenes en la nutrición de las plantas, algunos autores apuntan que dichas infecciones son causadas, no solo por el efecto negativo de las altas concentraciones salinas sobre las plantas, sino que, las condiciones de salinidad del medio, tienen impacto sobre el desarrollo y patogenicidad de los hongos del suelo (Nachmias, 1993).

Las poblaciones de *Fusarium oxysporum* aumentan cuando se aplican riegos con aguas salinas o con la propia salinidad del suelo, también incrementa la esporulación del hongo dentro de los propios vasos xilemáticos de las plantas afectadas. Besri (1980) comunicó que *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* tolera

potenciales hídricos muy bajos (-144 bares) y que a 35 °C el crecimiento micelial se veía inhibido, aunque la adición de NaCl al medio provoca que el hongo se desarrolle con normalidad. El mismo autor menciona que el aumento de la salinidad del medio incrementaba el número de macroconidias y clamidosporas formadas.

Por otro lado, Besri (1981) afirmaba que los riegos con agua salina podrían anular la presión de la resistencia de cultivares de tomate a la infección por las razas 1 y 2 (actualmente razas 0 y 1) de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. El autor demuestra la interacción entre la temperatura y el potencial osmótico, de forma que bajos potenciales permiten el crecimiento de *F. oxysporum* a 35 °C, mientras que, en medios con salinidad normal, dicho crecimiento quedaría inhibido a esa temperatura, corroborando así la tesis propuesta por Cook (1981). Estos resultados nunca han sido corroborados en otros estudios.

Por otra parte, el papel del calcio podía ser modificado, según sugerían Davet, *et al.* (1966) para tomate y *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*: la acción de la galacturonasa (“cemento” celular) es más fuerte cuando las pectinas están menos saturadas de calcio. Complementariamente, Bateman (1963 y 1964) demostró como reemplazando los iones Ca^{++} a nivel del sistema radicular por iones Mg^{++} , Na^+ y K^+ , la acción de la poligalacturonasa de *Rhizoctonia solani* es más intensa. Davet *et al.* (1966) sugieren que en los suelos regados con aguas con altos contenidos en sales, tales como NaCl o Cl_2Mg , los iones Na^+ o Mg^{++} pueden reemplazar a los iones Ca^{++} , en el caso de encontrarse estos últimos en menor proporción que los otros, posibilitando que los compuestos péptidos de las raíces sean más sensibles a la acción de las enzimas de *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, a temperatura de 20 °C a 28 °C el parasitismo del hongo sería posible con base en la actuación de otra enzima, la transeliminasa, capaz de romper los enlaces Ca^{++} de los compuestos pépticos (pectatos).

Davet *et al.* (1966) propusieron que la sintomatología de la Fusariosis vascular causante del marchitamiento en plantas de tomate, se agrava con agua de riego con altos contenidos en NaCl.

La influencia de la macro y microfertilización, así como el riego con aguas salinas se ha asociado con podredumbres radiculares y del cuello de las plantas de tomate (Duffy *et al.*, 1999; Triky-Dotan *et al.*, 2005). El crecimiento de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* en medio de cultivo no se vio afectado cuando las concentraciones de NaCl o KCl eran menores de 100 mM, solo cuando la concentración salina excedía los 200 mM el área de la colonia se veía significativamente reducida.

Stoddard y Diamond (1948) y Standaert *et al.* (1973 y 1978) también refieren el desarrollo de la misma patología del tomate y concluyen que se inhibe mediante el aumento de la concentración de nutrientes.

III. JUSTIFICACIÓN

En México el cultivo del tomate es una de las hortalizas con más superficie sembrada, pero en los últimos años la superficie dedicada a este cultivo ha experimentado una reducción en la superficie sembrada, debido a diversas enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos; de ellos destaca *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, que ocasiona la marchitez del tomate, ocasionando pérdidas de hasta el 50 %.

Es evidente el efecto dañino que las condiciones de salinidad alta presentes en el agua de riego o en el suelo tienen sobre el desarrollo normal de las plantas. Uno de los principales factores negativos a los que las raíces de las plantas están sometidas es el estrés salino, la toxicidad se propicia como consecuencia de la impregnación y almacenamiento de iones salinos. Los iones Na^+ o Cl^- son capaces de almacenarse en las hojas, raíces y otros tejidos de las plantas logrando perjudicar severamente las reacciones metabólicas, así como propiciar la aparición de manchas necróticas o necrosis marginales de las hojas (Bernstein *et al.*, 1969, 1975).

Jacoby (1994) señala que el efecto inicial y principal de la salinidad, primordialmente de bajas a moderadas concentraciones, es debido a su efecto osmótico. Los solutos disueltos en las raíces crean una inestabilidad hídrica entre la planta y el suelo que a su vez provocan una disminución de su capacidad para absorber agua, derivando, la baja absorción de nutrientes minerales. Otra consecuencia de los elevados contenidos de sal de los sustratos es la inhibición de la asimilación de nitrato (NO_3^-). La influencia de la salinidad en dicha absorción se debe a la interferencia aniónica con la penetración de nitrato a las células de la raíz. Así mismo, el estrés salino retrae la absorción y transporte del potasio (K^+), calcio (Ca^+) y fósforo (P), todos ellos nutrientes necesarios para el crecimiento celular (Flores *et al.*, 2001). Comúnmente, las secuelas adversas de la salinidad derivan una disminución del desarrollo que se ve reflejado en hojas y plantas pequeñas. Por esta razón se puede suponer que el estrés salino podría

predisponer a las plantas a sufrir infecciones fúngicas (Beech, 1949; Mac Donald, 1982).

Inclusive se han señalado a los desórdenes fisiológicos en la nutrición de las plantas como el principal efecto de la salinidad, pero también se ha señalado que tales desórdenes fisiológicos pueden ser causa, no solo de la consecuencia adversa de las altas concentraciones sal en las plantas, sino que, las condiciones de salinidad del medio, pueden tener una secuela sobre la patogeneicidad de los hongos del suelo (Nachmias, 1993).

Esta investigación tuvo como objetivo evaluar el comportamiento del hongo bajo tres temperaturas en seis presiones osmóticas diferentes para así poder evaluar el crecimiento del hongo que se obtuvo en dichas condiciones.

Ante ello se optó por analizar el efecto de la temperatura en el crecimiento micelial y de la salinidad en la germinación y viabilidad de las esporas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

IV. HIPÓTESIS

La salinidad y la temperatura tienen un efecto en el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* así como en la germinación y viabilidad de sus esporas, viéndose afectados por el potencial osmótico del medio.

V. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general:

Analizar la influencia de la temperatura y presión osmótica en el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

5.2 Objetivos específicos:

1. Analizar el efecto de la temperatura en el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.
2. Analizar el efecto de la presión osmótica en el crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.
3. Conocer el efecto de la salinidad en la germinación y viabilidad de las esporas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Aislados utilizados en los ensayos de salinidad y temperatura

Se utilizaron cepas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* de raza 1, 2 y 3, procedentes de los muestreos en predios comerciales de tomate del estado de Sinaloa durante el ciclo otoño-invierno 2016-2017.

Los aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* utilizados en el presente estudio se muestran en el **Cuadro 1**.

Cuadro 1. Aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* estudiados y sus códigos

CÓDIGO	ESPECIE
FOLR1(+)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> Raza 1
FOLR1(-)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> Raza 1
FOLR2(+)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> Raza 2
FOLR2(-)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> Raza 2
FOLR3(+)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> Raza 3
FOLR3(-)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> Raza 3
CFOLR1	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> Raza 1
CFOLR2	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> Raza 2
CFOLR3	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> Raza 3
CFORL	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>radicis-lycopersici</i>

Fuente: Elaboración propia

6.2. Elaboración de medios de cultivo

Se utilizó medio de cultivo PDA (papa dextrosa agar) puro y modificado según la dosis empleada de distintas cantidades de NaCl y KCl para conseguir las presiones osmóticas deseadas (**Figura 1**) (**Cuadro 2**). Dichas presiones se basan en la propuesta de Besri (1976, 1977, 1980 a y b, 1981 a y b, 1993).



Figura 1. Preparación de medio de cultivo. En **(A)** Autoclave Yamato SN500 en donde se esterilizaron los medios y en **(B)** momento en el que se están introduciendo medios para esterilizar.

Cuadro 2. Relaciones entre el potencial osmótico del medio (ψ) y las concentraciones de NaCl y KCl.

Ψ en bares	Cantidad de producto (g/l de PDA)	
	NaCl**	KCl**
-1.50*	0.0	0.0
-13.79	17.6	22.2
-41.70	52.0	68.8
-70.37	84.8	112
-99.56	115.2	152.8
-144.54	156.6	212.5

*Cook (1973)

**Jakobsen *et al.* (1972)

6.3. Determinación del crecimiento micelial

El estudio de análisis de crecimiento micelial se realizó según la metodología descrita por Palmero (2008a), para lo cual los aislados se replicaron del medio selectivo Komada (Tello *et al.*, 1991) a medio PDA (**Figura 2**). Se incubaron en cámara a 25 °C y oscuridad, y se incubaron 2 placas de cada uno de los aislados entre 7 y 14 días, hasta tener un tamaño suficiente de las colonias para poder tomar 5 discos de 1 cm de diámetro de cada.

Cada presión osmótica fue ensayada a las temperaturas siguientes: 15, 25 y 35 °C. Se sembraron discos de 1 cm de diámetro de cada aislado, 5 placas (5 repeticiones), más una placa control sin sal. Así, los aislados fueron sembrados en placas Petri y se mantuvieron en incubadora y oscuridad a las temperaturas anteriormente descritas (15, 25 y 35 °C) durante 4 días (**Figura 3**). Se valoraron 2 sales (NaCl y KCl) con 5 presiones osmóticas distintas, más el testigo sin sal, a las 3 temperaturas (15, 25 y 35 °C).



Figura 2. Repicado de cepas de medio *Komada* a *PDA*.



Figura 3. Incubación de los aislados a 15 °C durante 4 días

6.3.1. Medición del crecimiento micelial

A los 4 días de incubación, las placas se extrajeron de la incubadora y se midió el crecimiento del micelio, para lo cual se consideraron dos diámetros perpendiculares y se midieron con regla graduada de 1 mm de precisión (**Figura 4**).

Se consideró crecimiento micelial en cada una de las placas a la media aritmética de dichos diámetros, restando el diámetro del disco sembrado (1 cm).

Se tomó como medida del crecimiento de cada uno de los aislados, para cada combinación de temperatura y salinidad, la media aritmética de las 5 repeticiones.

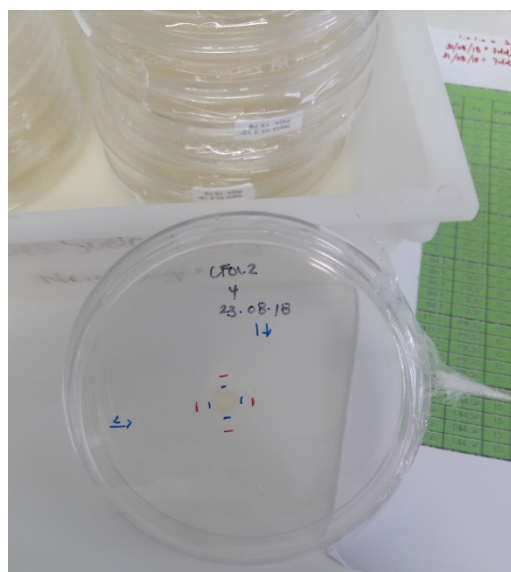


Figura 4. Medición del tamaño de la colonia, se tomaron dos diámetros perpendiculares.

6.4. Germinación conídica

El estudio de análisis de germinación conídica se realizó según la propuesta descrita por Palmero (2008b), donde los mismos aislamientos utilizados en el ensayo de crecimiento micelial fueron utilizados para determinar su capacidad de germinación frente a un rango creciente de presión osmótica ajustada en agua destilada mediante la adicción de cantidades medidas de NaCl (0; -13,79; -41,79; -70,37; -99,56 y -144,54 bares) (**Cuadro 2**). La viabilidad de los conidios se determinó mediante la capacidad de formar colonias viables (UFC/ml), para lo cual se realizará el estudio en tres tiempos de permanencia de los conidios en las soluciones acuosas anteriormente descritas: 0, 24 y 48 horas.

Cada uno de los aislados fue sembrado en 12 placas de Petri con 20 ml de medio PDA-KCl (6g/l) de manera individual, y fueron incubados por 10 días para fomentar la formación de esporodocios. Después de esto, se realizaron dos lavados con 5 ml cada uno, mediante la adicción con micropipeta de las distintas concentraciones de NaCl en agua destilada y el control sin sal (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Relaciones entre el potencial osmótico del medio (ψ) y las concentraciones de NaCl y KCl

Tratamiento	Ψ en bares	NaCl (g/l)	Ce (mS/cm)	pH
0	-1.50 (1)	0.0	0.0	5.35
1	-13.79	17.6	24.8	4.62
2	-41.70	52.0	60.5	4.79
3	-70.37	84.8	82.7	4.73
4	-99.56	115.2	98.5	4.64
5	-144.54	156.6	113.6	4.74

Después de los lavados, se recuperó cada solución en matraces Erlenmeyer, identificados con el código del aislado, fecha, y disolución salina de lavado.

La lectura de la germinación se realizó en la cámara de Neubauer (**Figura 5**). Los conteos se repitieron tres veces, a las 0, 24 y 48 horas, siendo el resultado final la media de tres conteos en el hematocitómetro (**Figura 6**).

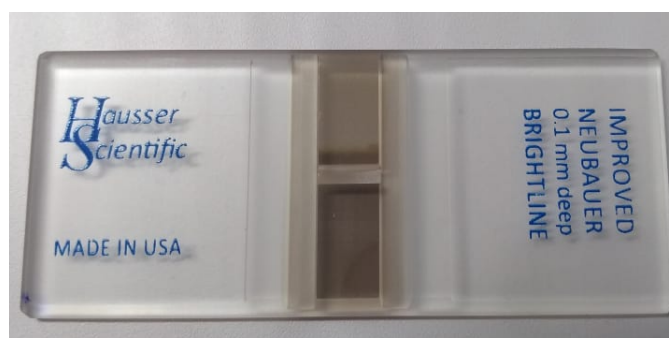


Figura 5. Cámara de Neubauer

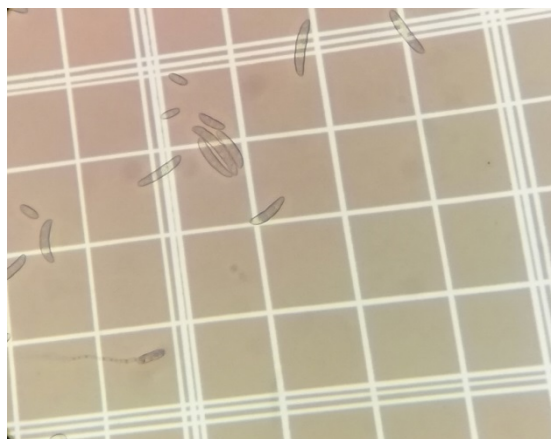


Figura 6. Vista al microscopio óptico de la germinación conídica de *Fusarium* en la cámara de conteo.

6.4.1. Ensayos de viabilidad

La viabilidad de los conidios se determinó por la metodología descrita por Palmero (2008b), para lo cual se sembró 0.25 μ l de la disolución de conidios correspondiente en placas de Petri (5 placas por cada concentración salina y aislado, y después se le añadieron 15 ml de medio PDA en subfusión.

Tras la incubación de las placas en estufa microbiológica durante cuatro días a 25 °C y oscuridad, se procedió a la lectura de las unidades formadoras de colonias (UFC) (**Figura. 7**) para poder expresar el resultado de cada análisis como el número de unidades formadoras de colonias por ml de disolución, que corresponde a la media de cinco repeticiones, acompañada de la desviación típica.

Lo anteriormente descrito se repitió a las 24 y 48 horas a partir del lavado, para cada uno de los aislados estudiados.

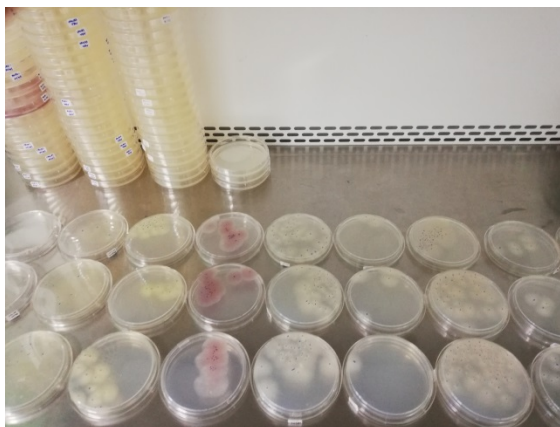


Figura 7. Lectura de las unidades formadoras de colonias (U.F.C.)

6.5. Análisis estadístico de los datos

Para realizarse el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa XLSTAT, versión 2019 (Addinsoft, 2019). Se realizaron análisis no paramétricos y se aplicaron pruebas no paramétricas para la magnitud del crecimiento como lo es la chi cuadrada.

Primeramente, se estudió si los aislados crecen o no, considerando las diferentes variables, sin analizar la magnitud del crecimiento. Los resultados se muestran en las tablas de frecuencia (porcentaje de aislados que crecen) posteriormente se realizó la prueba de chi cuadrada (χ^2) para constatar si las diferencias de frecuencia son significativas o no.

Posteriormente para la comprobación de la influencia en el crecimiento de las variables utilizadas en el experimento (presión osmótica y periodo de incubación), se efectuaron comparaciones de medias. Se realizó ANOVA de un factor y (si no existe homogeneidad en las varianzas) la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y las pruebas *post hoc* (Mann-Whitney) que demuestran si las diferencias son significativas.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. Frecuencias de crecimiento

Los datos obtenidos de los experimentos se ordenaron por razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Primeramente, con las razas de *Fusarium oxysporum* se realizó una clasificación en dos categorías: 1: crecieron; 2: no crecieron, considerando las diferentes variables, sin tener en cuenta el tamaño del incremento.

Los valores obtenidos se observan en los cuadros de frecuencias (porcentaje de aislamientos que crecen). Se efectuaron pruebas de chi cuadrada (χ^2) para comprobar si hay diferencias significativas en la frecuencia de crecimiento.

7.1.1. Frecuencias de crecimiento en función del tipo de sal

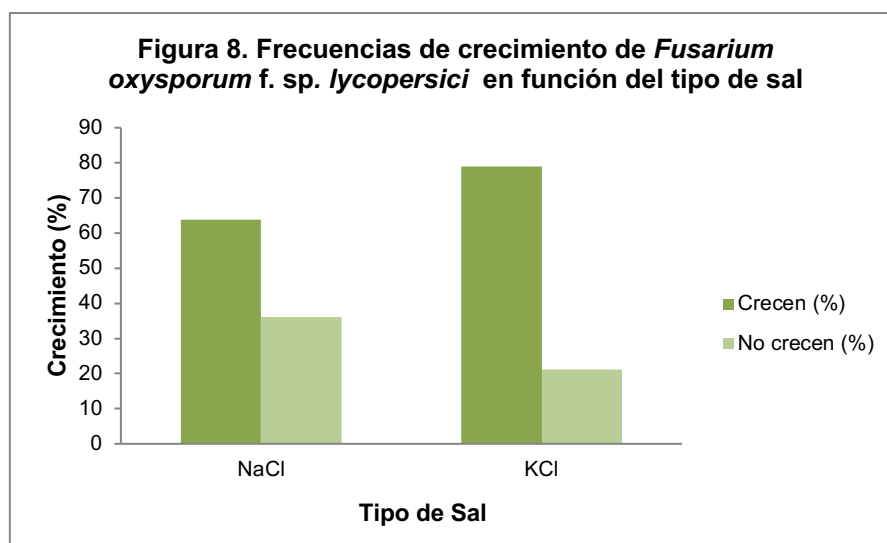
La prueba de chi cuadrada arrojó diferencia significativa en la frecuencia de crecimiento en función del tipo de sal ($\chi^2 = 5.509$; $p = 0.064$) para todas las razas, se observa que la sal en la cual se presenta el crecimiento máximo del hongo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, es en KCl mostrando crecimiento superior sobre NaCl (**Cuadro 4**) (**Figura 8**).

Esto se puede explicar a que los iones que forman a las dos sales tienen efectos químicos apreciables por su diferencia en la fisiología de los hongos.

Cuadro 4. Frecuencias de crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en función del tipo de sal (%).

TIPO DE SAL	CRECEN	NO CRECEN	TOTAL
NaCl	63.9	36.1	100.0
KCl	78.9	21.1	100.0

Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

Al realizarse el análisis de varianza del crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en función de los tipos de sales se observó que sí hay diferencias estadísticas significativas en la frecuencia de crecimiento entre los valores obtenidos como se muestra en **Cuadro 5** y **Cuadro 6**. Por lo tanto, se procedió a realizar los análisis de manera independiente y en conjunto los dos tipos de sal.

Cuadro 5. Análisis de varianza de los datos sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en la sal KCl

FUENTE	GL	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	Pr > F
Modelo	26	241.0244	9.2702	33.74	<0.0001
Error	153	42.0357	0.2747		
Total	179	283.0601			
Corregido					

Calculado contra el modelo Y= Media (Y)

Fuente: Elaboración propia

Cuadro 6. Análisis de varianza de los datos sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en la sal NaCl.

FUENTE	GL	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	Pr > F
Modelo	26	154.61	5.95	37.13	<0.0001
Error	153	24.50	0.16		
Total Corregido	179	179.11			

Calculado contra el modelo Y= Media (Y)

Fuente: Elaboración propia

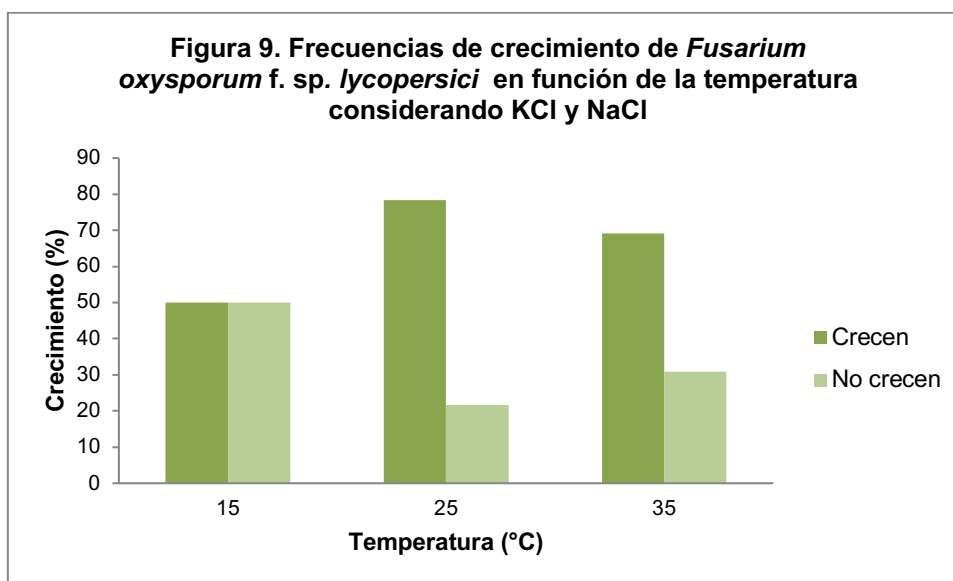
7.1.2. Frecuencias de crecimiento en función la temperatura

Al realizarse la prueba de chi cuadrada se observaron diferencias significativas en la frecuencia de crecimiento en función de la temperatura ($\chi^2 = 18.559$; $p < 0.001$). Al analizar las frecuencias de crecimiento por temperatura considerando ambas sales se encontró que la temperatura de 25 °C es considerada la temperatura óptima de las tres en estudio para que el hongo de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* crezca, le siguen los 35 °C y, por último, 15 °C (**Cuadro 7, Figura 9**).

Cuadro 7. Frecuencias de crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en función de la temperatura considerando KCl y NaCl (%)

TEMPERATURA (°C)	CRECEN (%)	NO CRECEN (%)	TOTAL (%)
15	50.0	50.0	100
25	78.3	21.7	100
35	69.2	30.8	100

Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

De acuerdo con Salinas (2006), la temperatura óptima de desarrollo se sitúa entre los 23 y 25 °C. Partiendo de ese criterio, en esta investigación queda sustentada dicha afirmación.

Se realizaron comparaciones de media para el crecimiento por temperatura tanto para KCl como para NaCl, como se muestra en **Cuadro 8** y **Cuadro 9**.

Cuadro 8. Grupos formados de las comparaciones por pares para Crecimiento por Temperatura (Tukey (HSD)) KCl

Temperatura (°C)	Crecimiento promedio	Agrupamiento de Tukey
15	1.52	A
25	1.98	B
35	0.60	C

Fuente: Elaboración propia

Cuadro 9. Grupos formados de las comparaciones por pares para Crecimiento por Temperatura (Tukey (HSD)) NaCl

Temperatura (°C)	Crecimiento promedio	Agrupamiento de Tukey
15	0.6695	A
25	1.1610	B
35	0.5028	C

Fuente: Elaboración propia

Se observó una tendencia similar en cuanto al crecimiento micelial con base a la temperatura en ambas sales, es decir, tanto en KCl como en NaCl, el crecimiento máximo del hongo se manifestó a los 25 °C, posteriormente 35 °C, mientras que el crecimiento mínimo ocurrió en 15 °C.

El resumen de comparación de medias de la temperatura de ambas sales, permitió observar que el mayor crecimiento micelial en las tres temperaturas estudiadas fue KCl, siendo sobresaliente el crecimiento en NaCl, mostrando similitud en la temperatura de 15 °C pero aun siendo superior los ensayos en KCl.

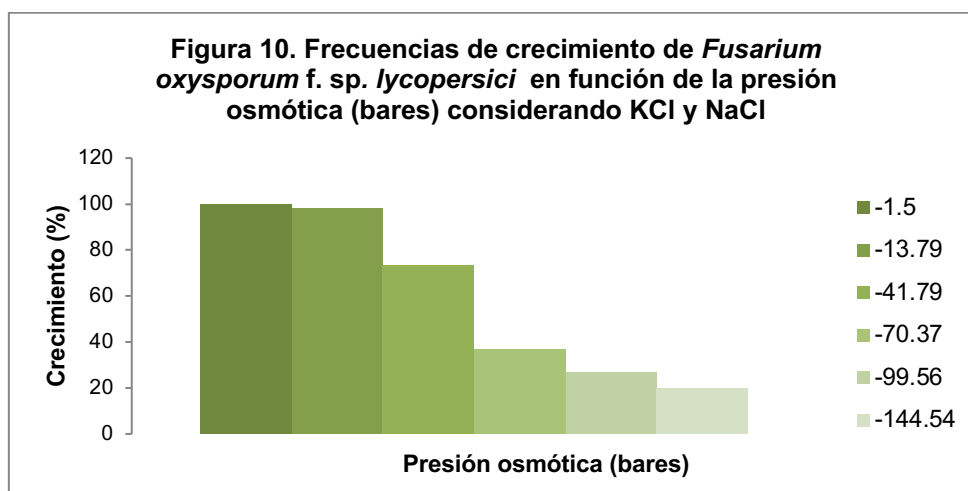
7.1.3. Frecuencias de crecimiento en función de la presión osmótica

La prueba de chi cuadrada para la frecuencia de crecimiento en función de la presión osmótica presentó diferencias significativas ($\chi^2 = 268.687$; $p < 0.001$) para la agrupación de razas estudiadas. En las presiones osmóticas -70.37, -99.56 y -144.54 bares se presentaron las frecuencias de crecimientos más bajos, mientras que en las presiones osmóticas -1.50 y -13.79 bares se observó una diferencia mínima entre ellas en cuanto a la frecuencia de aislamientos que crecieron (**Cuadro 10, Figura 10**). Con los resultados obtenidos se observó que a mayor presión osmótica menor frecuencia de crecimiento.

Cuadro 10. Frecuencias de crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en función de la presión osmótica considerando KCl y NaCl (%).

PRESIÓN OSMÓTICA (bares)	CRECEN (%)	NO CRECEN (%)	TOTAL (%)
-1.50	100.0	0.0	100.0
-13.79	98.3	1.7	100.0
-41.79	73.3	26.7	100.0
-70.37	36.7	63.3	100.0
-99.56	26.7	73.3	100.0
-144.54	20.0	80.0	100.0

Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

En cuanto al crecimiento micelial se realizaron comparaciones de medias por presión osmótica tanto para KCl como para NaCl, como se muestra en **Cuadro 11**

y **Cuadro 12**, donde se observa que para KCl las presiones osmóticas -1.50 y -13.79 bares no tienen diferencia significativa entre sí, siendo estas las dos presiones más favorables para el crecimiento del hongo, siguiéndole -41.70 bares y por último en las presiones -70.37, -99.56 y -144.50 se presentaron crecimientos similares entre sí y a su vez favoreciendo el crecimiento micelial mínimo. Analizando los resultados para NaCl coincide con KCl siendo la presión osmótica -1.5 bares la más favorable para el crecimiento micelial, sin embargo, difiere de los -13.79 bares, las demás presiones siguen comportándose desfavorablemente para el crecimiento (**Figura 11**).

Cuadro 11. Grupos formados de las comparaciones por pares para Crecimiento por Presión Osmótica (Tukey (HSD)) KCl

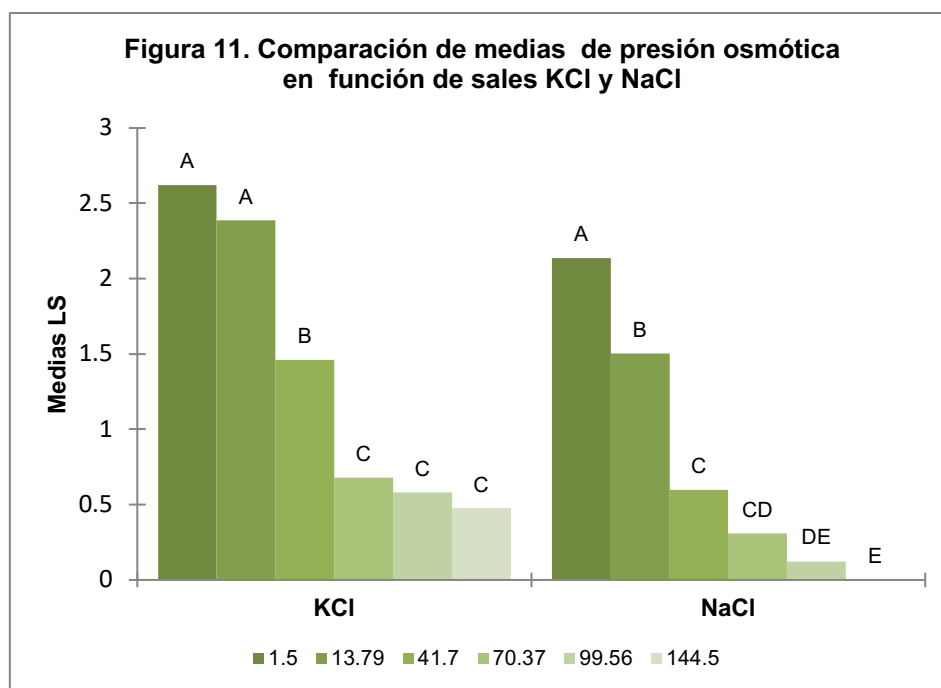
Presión Osmótica	Crecimiento promedio	Agrupamiento de Tukey
-1.50	2.6230	A
-13.79	2.3883	A
-41.70	1.4617	B
-70.37	0.6770	C
-99.56	0.5823	C
-144.50	0.4733	C

Fuente: Elaboración propia

Cuadro 12. Grupos formados de las comparaciones por pares para Crecimiento por Presión Osmótica (Tukey (HSD)) NaCl

Presión Osmótica	Crecimiento promedio	Agrupamiento de Tukey
-1.50	2.1343	A
-13.79	1.0543	B
-41.70	0.5960	C
-70.37	0.3880	C D
-99.56	0.1240	D E
-144.50	0.0000	E

Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

La comparación de medias de la presión osmótica de ambas sales, permitió observar que el crecimiento máximo ocurrió en KCl a los -1.5 bares mientras que el mínimo crecimiento fue en NaCl a -144.5 bares.

7.1.4. Frecuencias de crecimiento en función de la temperatura y la presión osmótica

La prueba de chi cuadrado arrojó que existen diferencias significativas en la frecuencia de crecimiento en función de la temperatura y la presión osmótica para 15 °C ($\chi^2 = 65.775$; $p < 0.001$), 25 °C ($\chi^2 = 24.734$; $p < 0.001$) y 35 °C ($\chi^2 = 4.580$; $p < 0.001$). En el **Cuadro 13** se muestran las frecuencias de crecimiento con base en las tres temperaturas y las seis presiones osmóticas estudiadas, donde se puede observar que la temperatura donde se obtuvo la mayor frecuencia de crecimiento fue la de 25 °C, siguiéndole 35 °C y por último los 15°C.

Cuadro 13. Frecuencias de crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en función de la temperatura y presión osmótica considerando KCl y NaCl (%)

PRESIÓN OSMÓTICA (bares)	TEMPERATURA (°C)		
	15	25	35
-1.50	100.0	100.0	100.0
-13.79	100.0	95.0	100.0
-41.79	65.0	85.0	80.0
-70.37	35.0	85.0	55.0
-99.56	0.0	60.0	45.0
-144.54	0.0	45.0	35.0

Fuente: Elaboración propia

El análisis de varianza sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en KCl y NaCl en función de la temperatura y presión osmótica presentó diferencia estadística significativa, como se muestra en el **Cuadro 14 y Cuadro 15**.

Cuadro 14. Análisis de varianza de los datos sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en KCl en función de la temperatura y presión osmótica

FUENTE	DF	TIPO I SS	CUADRADO DE LA MEDIA	F VALOR	Pr > F
Cepa	9	32.6330	3.6259	13.20	<0.0001
Presión Osmótica	5	135.6018	27.1203	98.71	<0.0001
Temperatura	2	59.6046	29.8023	108.47	<0.0001
P.O x temperatura	10	13.1850	1.3185	4.80	<0.0001

Fuente: Elaboración propia

Cuadro 15. Análisis de varianza de los datos sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en la sal NaCl en función de la temperatura y presión osmótica

FUENTE	DF	TIPO I SS	CUADRADO DE LA MEDIA	F VALOR	Pr > F
Cepa	9	5.078	0.564	4.243	<0.0001
Presión Osmótica	5	109.708	21.942	165.037	<0.0001
Temperatura	2	14.074	7.037	52.929	<0.0001
P.O x temperatura	10	25.959	2.596	19.526	<0.0001

Fuente: Elaboración propia

Se realizaron comparaciones de media para el crecimiento por presión osmótica y temperatura tanto para KCl como para NaCl, como se muestra en **Cuadro 16** y **Cuadro 17**. Observando que la presión con mayor crecimiento fue la -1.5 bares en conjunto con la temperatura de 25 °C para ambas sales, sin embargo, en KCl la presión -13.5 bares a 25 °C no mostró diferencia significativa con la primera, dichos resultados indican que a mayor presión osmótica menor crecimiento y que la temperatura óptima para el desarrollo del hongo es a los 25 °C.

Cuadro 16. Grupos formados de las comparaciones por pares para Crecimiento por Temperatura y Presión Osmótica (Tukey (HSD)) KCl

Tratamiento	Crecimiento promedio (cm)	Agrupamiento de Tukey
P.O-1.5*TEMP.-25	3.643	A
P.O-13.79*TEMP.-25	3.443	A
P.O-1.5*TEMP.-35	2.544	B
P.O-13.79*TEMP.-35	2.516	B
P.O-41.7*TEMP.-25	2.308	B
P.O-1.5*TEMP.-15	1.682	C
P.O-41.7*TEMP.-35	1.477	CD
P.O-13.79*TEMP.-15	1.206	CDE
P.O-70.37*TEMP.-25	1.003	DEF
P.O-99.56*TEMP.-35	0.958	DEF
P.O-70.37*TEMP.-35	0.928	DEF
P.O-99.56*TEMP.-25	0.789	EF
P.O-144.5*TEMP.-35	0.717	EF
P.O-144.5*TEMP.-25	0.703	EF
P.O-41.7*TEMP.-15	0.600	FG
P.O-70.37*TEMP.-15	0.100	GH
P.O-99.56*TEMP.-15	0.000	H
P.O-144.5*TEMP.-15	0.000	H

P.O.: Presión osmótica

TEMP: Temperatura (°C)

Fuente: Elaboración propia

Cuadro 17. Grupos formados de las comparaciones por pares para Crecimiento por Temperatura y Presión Osmótica (Tukey (HSD)) NaCl

Tratamiento	Crecimiento promedio (cm)	Agrupamiento de Tukey
P.O-1.5*TEMP.-25	3.589	A
P.O-13.79*TEMP.-25	1.964	B
P.O-1.5*TEMP.-15	1.624	BC
P.O-13.79*TEMP.-35	1.585	BC
P.O-1.5*TEMP.-35	1.193	CD
P.O-13.79*TEMP.-15	0.964	DE
P.O-41.7*TEMP.-25	0.819	DEF
P.O-41.7*TEMP.-35	0.671	DEFG
P.O-70.37*TEMP.-25	0.468	EFGH
P.O-70.37*TEMP.-35	0.325	FGH
P.O-41.7*TEMP.-15	0.298	FGH
P.O-99.56*TEMP.-35	0.243	FGH
P.O-70.37*TEMP.-15	0.131	GH
P.O-99.56*TEMP.-25	0.129	GH
P.O-144.5*TEMP.-25	0.000	H
P.O-99.56*TEMP.-15	0.000	H
P.O-144.5*TEMP.-15	0.000	H
P.O-144.5*TEMP.-35	0.000	H

P.O.: Presión osmótica

TEMP: Temperatura (°C)

Fuente: Elaboración propia

En el resumen de resultados desglosados de comparación de medias de la presión osmótica y temperatura de ambas sales muestra cómo el aumento en la concentración salina en el medio provoca una disminución en la frecuencia de crecimiento.

7.2. Magnitud del crecimiento

Para cerciorar la influencia en el crecimiento de las variables estudiadas en el presente trabajo de investigación (tipo de sal, temperatura, presión osmótica y raza), se han efectuado análisis paramétricos y no paramétricos. Considerando como variable dependiente la magnitud del crecimiento, obtenida a partir de la

media aritmética de las 5 repeticiones de cada caso, el tipo de sal, temperatura, presión osmótica y raza se han estudiado como variables independientes.

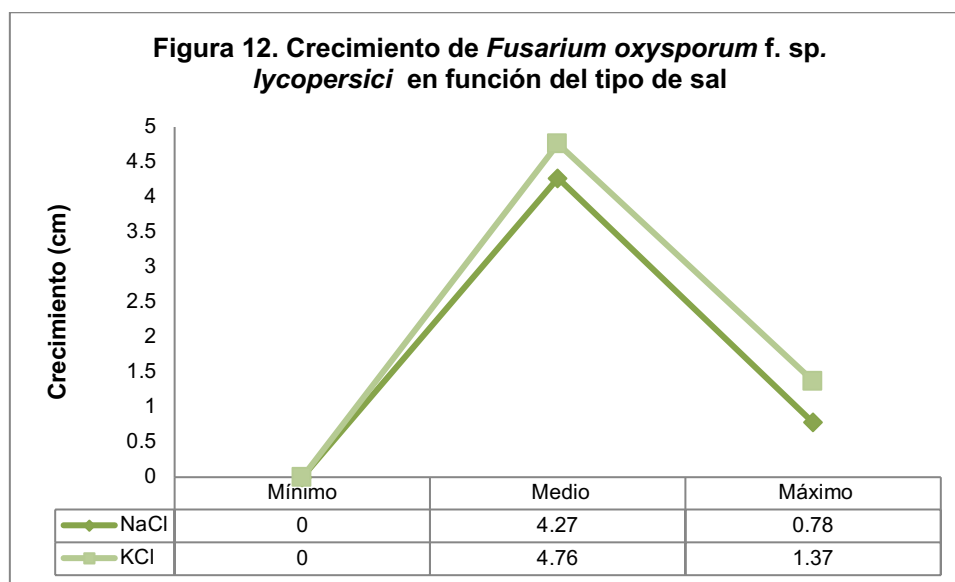
7.2.1 Magnitud del crecimiento en función del tipo de sal

El ANOVA de un factor muestra que hay diferencias significativas en la magnitud de crecimiento en función del tipo de sal [$F= 5.509$; $p = 0.064$;] (**Cuadro 18**) (**Figura 12**).

Cuadro 18. Descriptivos del crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* según el tipo de sal

TIPO DE SAL	N	CRECIMIENTO MEDIO (cm)	DESVIACIÓN ESTÁNDAR	CRECIMIENTO MÍNIMO (cm)	CRECIMIENTO MÁXIMO (cm)
NaCl	900	0.78	0.9977	0	4.27
KCl	900	1.37	1.2540	0	4.76
TOTAL	1800	1.07	1.1241	0	4.76

Fuente: Elaboración propia
N= número de casos estudiados



Fuente: Elaboración propia

Semejante a lo sucedido en el estudio de frecuencias, nuevamente se aprecian diferencias significativas entre los crecimientos medios en función del tipo de sal utilizada. Por tanto, se analizaron ambas sales por separado en los estudios posteriores.

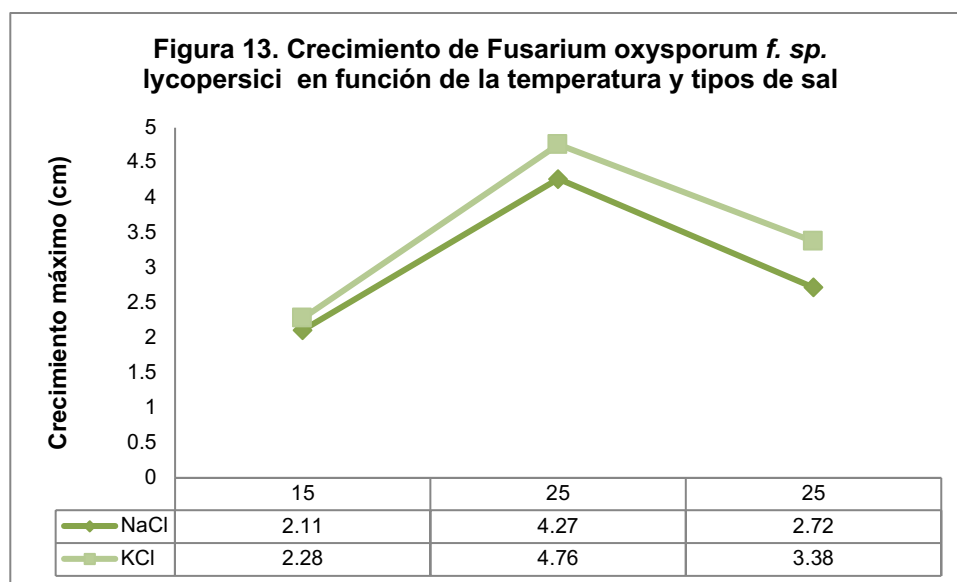
7.2.2. Magnitud del crecimiento en función de la temperatura

Al realizarse el análisis para conocer el efecto de la temperatura, debido a la falta de homogeneidad en las varianzas, se decidió efectuar la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, confirmándose que son diferentes entre sí los tratamientos de las tres temperaturas (15 °C, 25° C y 35 °C) en fcuanto a esta variablede esta variable ($\chi^2 = 17$; $p < 0.001$). Las pruebas post hoc (Mann-Whitney) mostraron que esas diferencias son significativas entre las temperaturas 15 y 25 ($z = 1$; $p < 0.001$); entre 15 y 35 ($z = 0.319$; $p < 0.001$) y entre 25 y 35 ($z = 0.076$; $p < 0.001$). De las tres temperaturas estudiadas, el crecimiento máximo para las razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* analizadas fue a 25 °C, con diferencia significativa con las otras dos. Dicha temperatura fue la única en la cual los aislados tuvieron la capacidad de llenar la placa Petri, la siguiente temperatura que presenta mayor crecimiento medio es 35 °C y por último, 15 °C (**Cuadro 19**) (**Figura 13**).

Cuadro 19. Descriptivos del crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* según la temperatura y el tipo de sal

TEMPERATURA (°C)	N		CRECIMIENTO MEDIO (cm)		DESVIACIÓN ESTÁNDAR		CRECIMIENTO MÍNIMO (cm)		CRECIMIENTO MÁXIMO (cm)	
	NaCl	KCl	NaCl	KCl	NaCl	KCl	NaCl	KCl	NaCl	KCl
15	300	300	0.51	0.6	0.6716	0.7264	0	0	2.11	2.28
25	300	300	1.16	1.98	1.1479	1.5184	0	0	4.27	4.76
35	300	300	0.67	1.52	0.6881	0.944	0	0	2.72	3.38
TOTAL	900	900	0.78	1.37	0.9977	1.254	0	0	4.27	4.76

Fuente: Elaboración propia
N= número de casos estudiados



Fuente: Elaboración propia

7.2.3. Magnitud del crecimiento en función de la presión osmótica

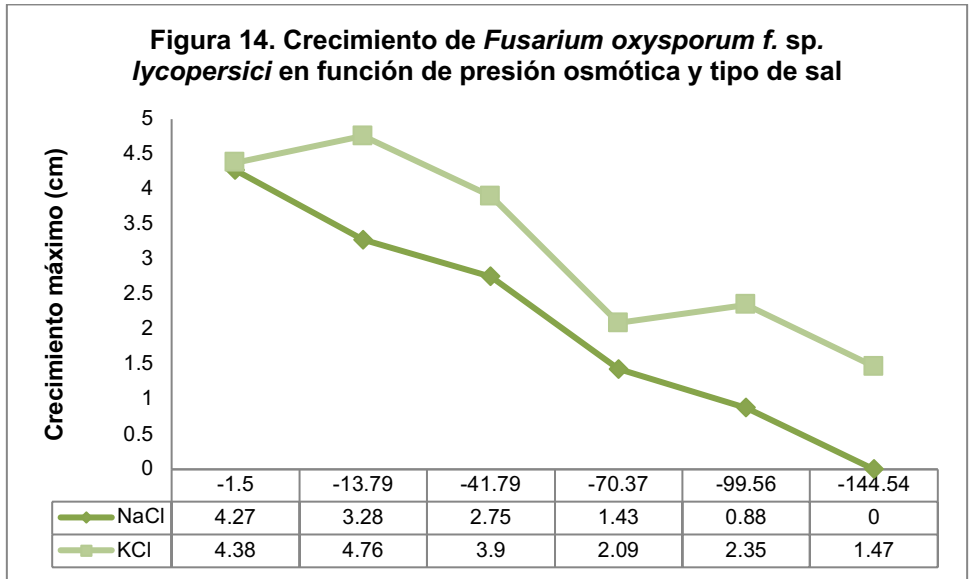
En el **Cuadro 20** y **Figura 14** se observa el incremento de la media de crecimiento entre las presiones de -1.50 bares y -13.79 bares, sin embargo, dicha diferencia no es estadísticamente significativa para KCl pero si para NaCl. Ambas presiones son las más favorables para el desarrollo y son las únicas en las que se alcanza el máximo crecimiento posible en las placas empleadas en nuestros ensayos. También se observa un descenso en el crecimiento en la tercera presión osmótica (-41,79 bares) frente a la de -13.79.

Cuadro 20. Descriptivos de crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en función de la presión osmótica y tipo de sal

PRESIÓN OSMÓTICA (bares)	N		CRECIMIENTO MEDIO (cm)		DESVIACIÓN ESTÁNDAR		CRECIMIENTO MÍNIMO (cm)		CRECIMIENTO MÁXIMO (cm)	
	NaCl	KCl	NaCl	KCl	NaCl	KCl	NaCl	KCl	NaCl	KCl
-1.5	150	150	2.14	2.62	1.1732	0.907	0.52	1.04	4.27	4.38
-13.79	150	150	1.5	2.39	0.7261	1.2326	0.25	0.22	3.28	4.76
-41.79	150	150	0.6	1.46	0.4913	1.1912	0	0	2.75	3.9
-70.37	150	150	0.31	0.68	0.3424	0.6592	0	0	1.43	2.09
-99.56	150	150	0.12	0.58	0.2311	0.6696	0	0	0.88	2.35
-144.54	150	150	0	0.47	0	0.5207	0	0	0	1.47
TOTAL	900	900	0.78	1.37	0.9977	1.254	0	0	4.27	4.76

Fuente: Elaboración propia

N= número de casos estudiados



Fuente: Elaboración propia

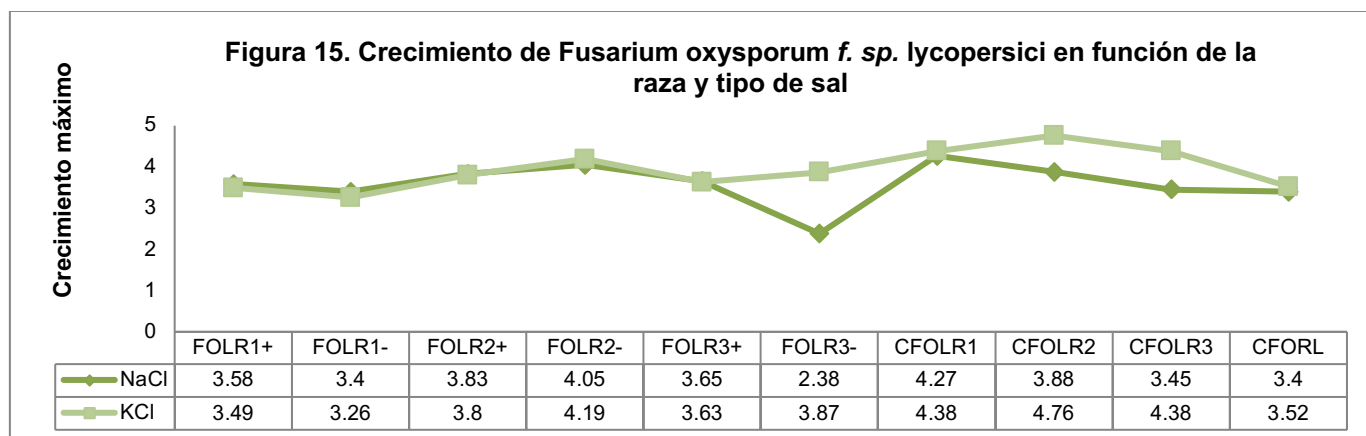
7.2.4. Magnitud del crecimiento en función del tipo de raza

En el **Cuadro 21** y **Figura 15** se muestra que la cepa que alcanzó el crecimiento máximo fue CFOLR2 siendo superior a todos los aislamientos en KCl mientras que en NaCl fue CFOLR1, FOLR1(-) fue el aislamiento que presentó menor crecimiento para ambas sales.

Cuadro 21. Descriptivos de crecimiento de *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* en función de la raza y tipo de sal

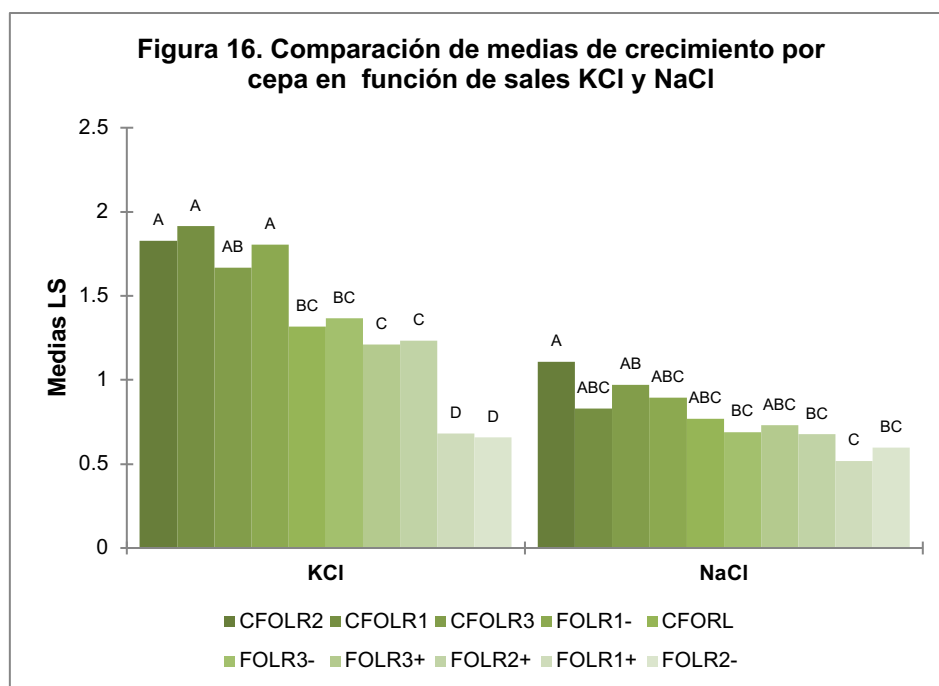
CEPA (raza)	N		CRECIMIENTO MEDIO (cm)		DESVIACIÓN ESTÁNDAR		CRECIMIENTO MÍNIMO (cm)		CRECIMIENTO MÁXIMO (cm)	
	NaCl	KCl	NaCl	KCl	NaCl	KCl	NaCl	KCl	NaCl	KCl
FOLR1+	90	90	0.518	0.68	0.914	0.991	0	0	3.58	3.49
FOLR1-	90	90	0.895	1.8	0.888	1.119	0	0	3.4	3.26
FOLR2+	90	90	0.676	1.23	0.979	1.086	0	0	3.83	3.8
FOLR2-	90	90	0.597	0.66	1.117	1.204	0	0	4.05	4.19
FOLR3+	90	90	0.729	1.21	1.053	1.223	0	0	3.65	3.63
FOLR3-	90	90	0.689	1.37	0.931	1.133	0	0	2.38	3.87
CFOLR1	90	90	0.828	1.91	0.998	1.305	0	0	4.27	4.38
CFOLR2	90	90	1.107	1.83	1.056	1.37	0	0	3.88	4.76
CFOLR3	90	90	0.971	1.67	0.96	1.256	0	0	3.45	4.38
CFORL	90	90	0.77	1.32	0.915	1.16	0	0	3.4	3.52
TOTAL	900	900	0.78	1.37	0.998	1.254	0	0	4.27	4.76

N= número de casos estudiados
Fuente: Elaboración propia



Fuente: Elaboración propia

En la comparación de medias realizada podemos observar que para KCl los aislamientos CFOLR1 y CFOLR2 , no tienen diferencia significativa entre sí, siendo estas las razas con mayor frecuencia de crecimiento, mientras que para NaCl la raza que presentó mayor crecimiento fue CFOLR1. Analizando los resultados de ambas sales podemos deducir que la raza que presenta mayor crecimiento para ambas sales fue CFOLR1 como se muestra en **Figura 16**.



Fuente: Elaboración propia

Con base en el resumen de comparación de medias de crecimiento por cepa en función de los dos tipos de sales, se percibió que el crecimiento máximo, así como la frecuencia de crecimiento máxima se tuvo en KCl siendo esta la más favorable para el crecimiento del hongo, como se contempla en **Figura 15**.

Para realizar este ensayo se utilizaron 10 cepas correspondientes al género *Fusarium* en distintas razas FOL Raza 1, FOL Raza 2 y FOL Raza 3 más y menos patogénica de cada una de las razas, así como también un control para cada raza y una más para *Fusarium oxysporum* f. sp *radicis-licopersici*, las cuales se analizaron para conocer su germinación en condiciones crecientes de presión osmótica ajustada en agua destilada por medio de la añadidura de NaCl (0; -13,79; -41,79; -70,37; -99,56 y -144,54 bares). La viabilidad de las suspensiones de conidios se evaluó por la habilidad de formación de colonias viables (UFC/ml), considerando tres intervalos de tiempo (0, 24 y 48h) de los conidios en las soluciones acuosas mencionadas anteriormente.

7.3. Germinación conídica

Se sembraron cada una de las cepas en cajas de Petri con 20 ml de medio PDA-KCl (6g/l), cumplido el intervalo de tiempo de la incubación se procedió a realizar dos lavados con 5 ml (cada uno), agregando a cada una de las cajas Petri las diferentes concentraciones de NaCl en agua destilada y el control sin sal, como se observa en el **Cuadro 22**.

Cuadro 22. Presiones osmóticas y soluciones salinas estudiadas

TRATAMIENTO	Ψ EN BARES	NaCl (g/l)	Ce (mS/cm)	pH
0	-1.50 (1)	0.0	0.0	5.35
1	-13.79	17.6	24.8	4.62
2	-41.70	52.0	60.5	4.79
3	-70.37	84.8	82.7	4.73
4	-99.56	115.2	98.5	4.64
5	-144.54	156.6	113.6	4.74

Fuente: Elaboración propia

Por último, se colocaron las soluciones en matraces Erlenmeyer, etiquetados con el nombre de cepa, fecha y disolución salina con la cual se realizó el lavado y se procedió a contar la cantidad de esporas. Con la ayuda de la cámara de Neubauer. Se realizaron tres conteos a las 0, 24 y 48 horas, considerándose como resultado final la media de las tres lecturas en la cámara. La suspensión conídica se conservó a los 25 °C y en oscuridad.

La germinación en los medios acuosos de los conidios de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* se observó para los tres periodos de incubación y para dos de las concentraciones salinas (-1.5 y -13.79 bares) estudiadas de todos los aislados.

El análisis de varianza sobre la germinación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en en los tres periodos de incubación mostró diferencia estadística significativa, como se observa en el **Cuadro 23**.

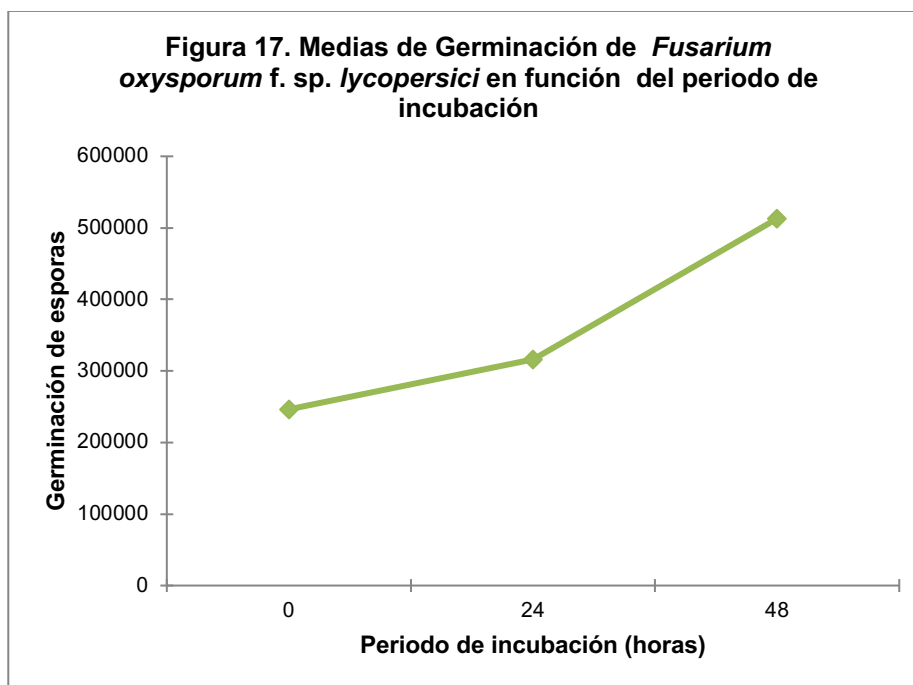
Cuadro 23. Análisis de varianza de los datos sobre la germinación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en los tres periodos de incubación.

FUENTE	GL	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	F	Pr > F
Modelo	89	144152277003521.000	1619688505657.540	3.948	< 0.0001
Error	90	36918937749322.500	410210419436.916		
Total corregido	179	181071214752844.000			

Calculado contra el modelo $Y = \text{Media (Y)}$

Fuente: Elaboración propia

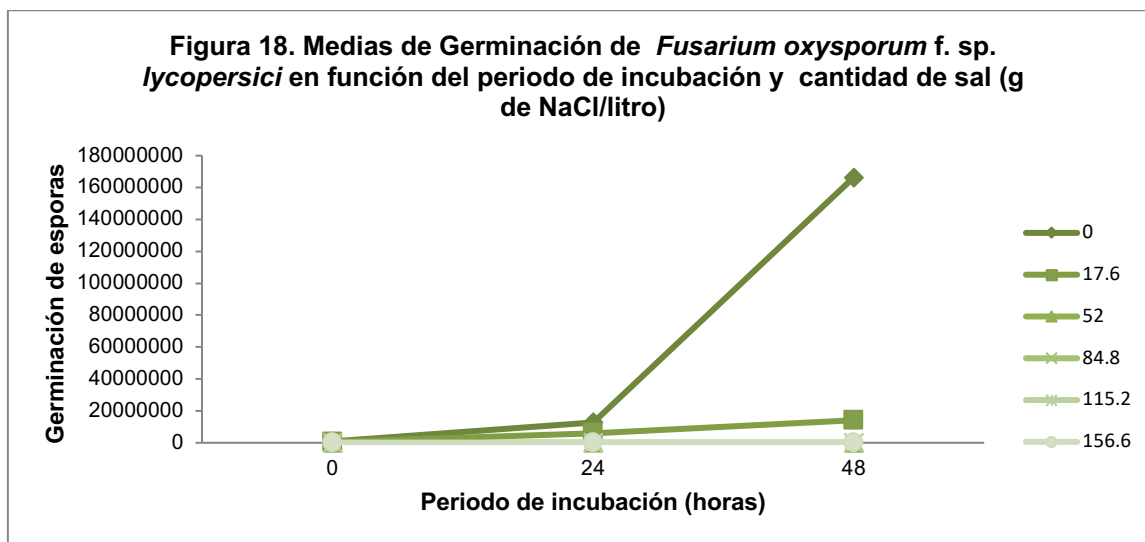
De los tres periodos de incubación, la germinación máxima para las razas analizadas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, muestra que conforme aumenta el tiempo incrementa el número de esporas germinadas, obteniéndose el mayor número de esporas germinadas a las 48 horas (**Figura 17**).



Fuente: Elaboración propia

La **Figura 18** muestra que la máxima germinación de esporas se lleva a cabo en las cantidades de 0 y 17.6 (g de NaCl/litro) mostrándose baja germinación de esporas en las otras concentraciones salinas (52, 84.8, 115.2 y 156.6 g de NaCl/litro) sin embargo, el crecimiento en las dos primeras concentraciones es similar en el periodo de incubación de 0 y 24 horas, siendo a las 48 horas donde

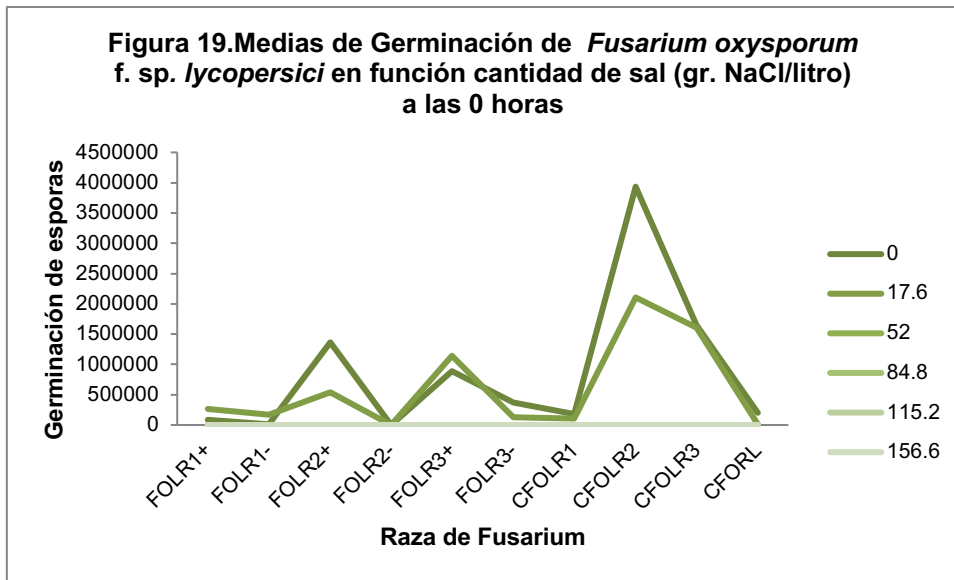
se expresa diferencia significativa en la germinación de esporas y menos favorable en la concentración salina de 17.6 (g de NaCl/litro).



Fuente: Elaboración propia

7.3.1. Análisis realizados a las 0 horas con todas las razas

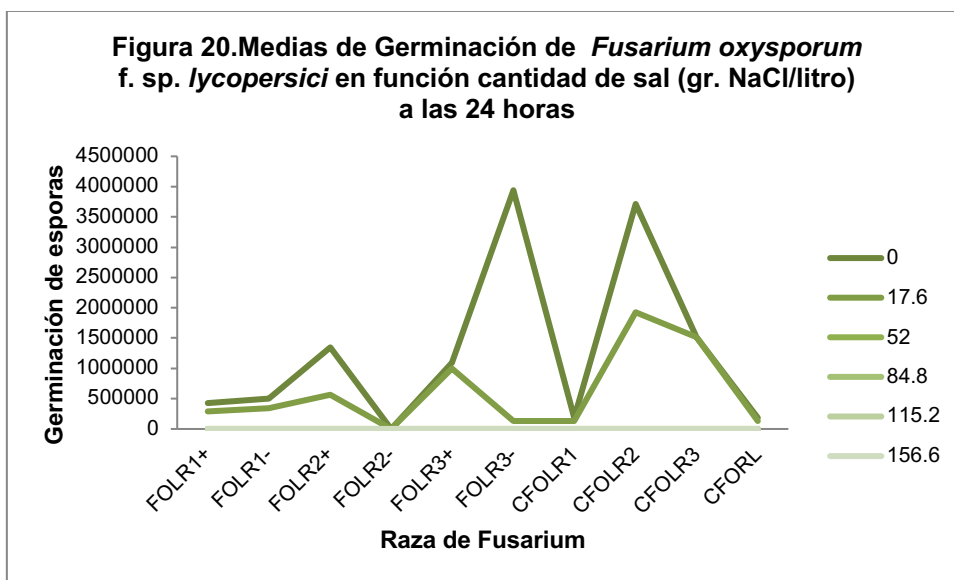
En la comparación de medias que se muestra en la **Figura 19** podemos observar que la germinación de esporas solo se presentó en la concentración salina de 17.6 gr NaCl/litro y el control (0 gr NaCl/litro), el aislamiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* que presentó la mayor germinación de esporas para ambas concentraciones fue CFOLR2 (raza 2), siguiéndole CFOLR3 (raza 3) en las mismas condiciones que CFOLR2 y la raza que no presentó crecimiento alguno fue la FOLR2(-) (raza 2).



Fuente: Elaboración propia

7.3.2. Análisis realizados a las 24 horas con todas las razas

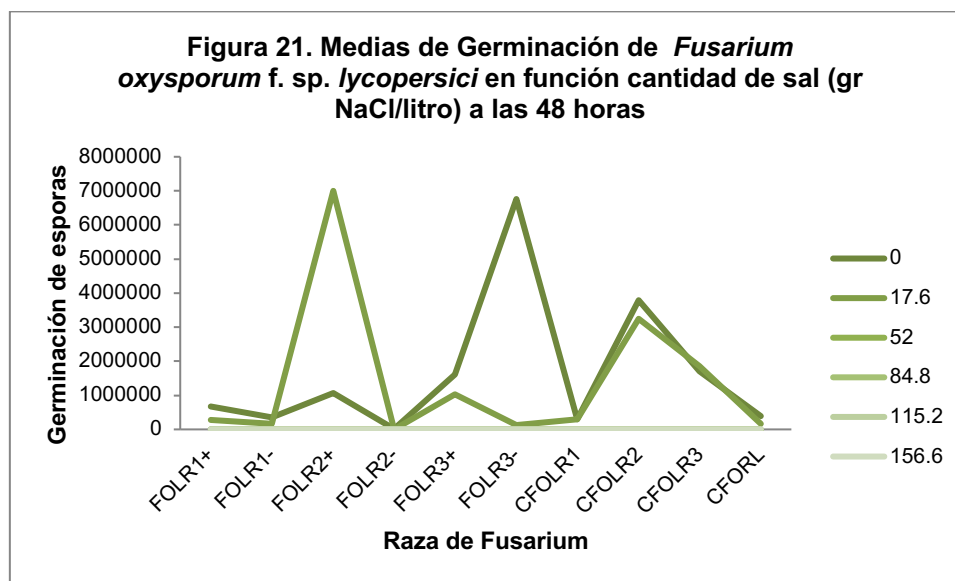
Para la concentración salina 0 gr NaCl/litro los aislamientos que sobresalieron fueron las siguientes: FOLR3(-), CFOLR2 y CFOLR3, mientras que para la concentración salina de 17.6 gr NaCl/litro la mejor germinación se manifestó en los siguientes aislamientos: CFOLR2, CFOLR3 y FOLR3(+). (Figura 20)



Fuente: Elaboración propia

7.3.3. Análisis realizados a las 48 horas con todas las razas

Con los gráficos que se muestran en la **Figura 21** se observa que al igual que en los análisis realizados a las 0 y 24 horas, las únicas concentraciones que presentaron germinación conídica fueron 0 y 17.6 g de NaCl/litro siendo iguales a los estudios realizados a las 48 horas. Para la concentración salina 0 g de NaCl/litro presentaron la mejor germinación conídica los siguientes aislamientos: FOLR2(+), FOLR3(-) y CFOLR2. Mientras que para la concentración 17.6 g de NaCl/litro los aislamientos que presentaron la mejor germinación conídica fueron los siguientes: CFOLR2, CFOLR3 Y FOLR2 (+).



Fuente: Elaboración propia

7.4. Ensayos de viabilidad

Para conocer la viabilidad de los conidios se procedió a realizar la siembra en cajas de Petri con 0.25 µl de la solución de conidios (5 placas por cada concentración salina y cepa) a la que se le agregaron 15 ml de medio PDA en subfusión.

Después de la permanencia por cuatro días en la incubadora a 25 °C y oscuridad, se realizó la lectura de las unidades formadoras de colonias (UFC) los resultados obtenidos muestran el número de unidades formadoras de colonias por ml de

disolución, correspondientes a la media de cinco repeticiones. El procedimiento se repitió a las 24 y 48 horas después del lavado, para cada una de las cepas ensayadas.

Los resultados de los ensayos de viabilidad se muestran en el **Cuadro 24** donde se observa que existe diferencia significativa entre la viabilidad de las UFC/ml estudiadas con los periodos de incubación y concentraciones salinas antes ensayadas.

Tras los periodos de incubación de las distintas soluciones salinas, la viabilidad del género a diferencia del medio acuoso, actúan de manera contraria, es decir, a mayor periodo de incubación menor viabilidad de esporas, las concentraciones salinas se comportan de la misma forma, solo presentan viabilidad las dos primeras presiones osmóticas.

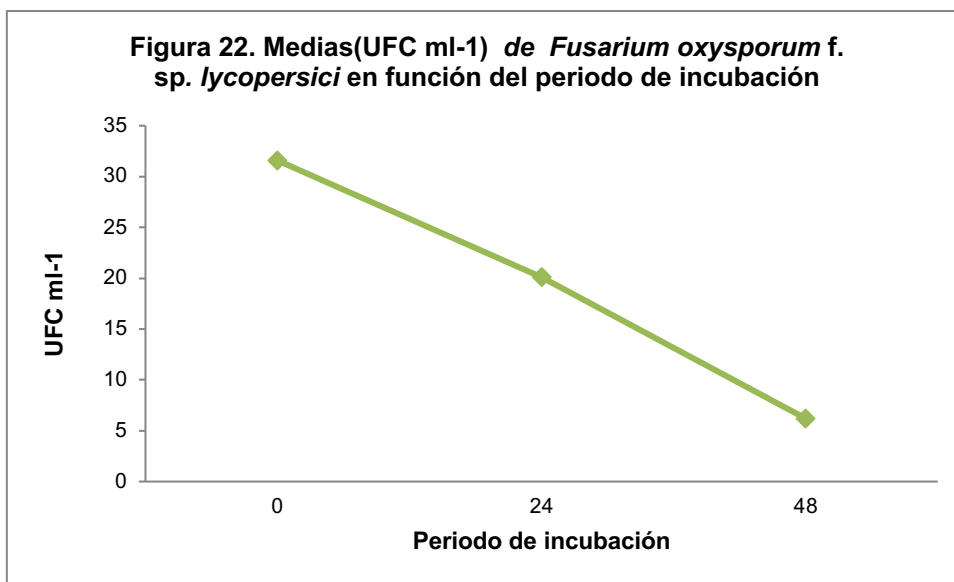
Cuadro 24. Análisis de varianza de los datos sobre la viabilidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en en los tres periodos de incubación.

FUENTE	GL	SUMA DE CUADRADOS		F	Pr > F
		CUADRADOS	MEDIOS		
Modelo	74	63313.594	855.589	5.028	< 0.0001
Error	45	7657.197	170.160		
Total					
Corregido	119	70970.792			

Calculado contra el modelo $Y = \text{Media (Y)}$

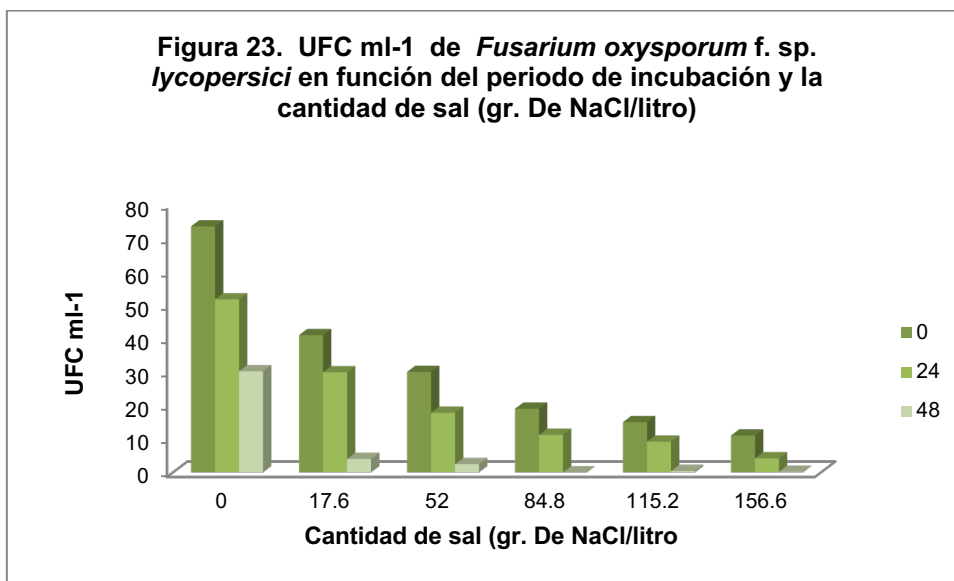
Fuente: Elaboración propia

De los tres periodos de incubación, la viabilidad máxima para las razas analizadas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, se observa que conforme aumenta el tiempo disminuye la viabilidad de UFC/ml, siendo mayor el número de conidios viables a las 0 horas (**Figura 22**).



Fuente: Elaboración propia

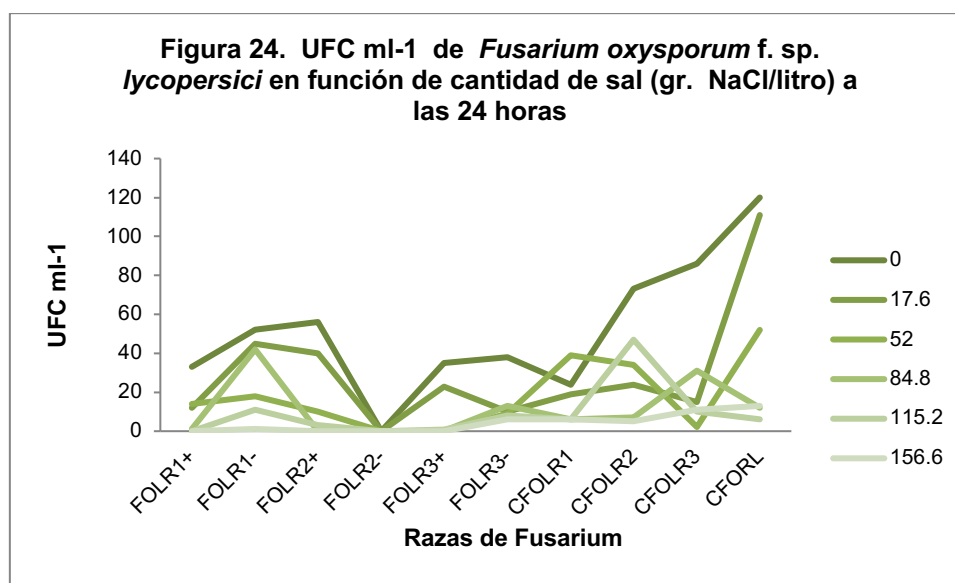
En la **Figura 23** se observa que la máxima viabilidad se lleva a cabo en las cantidades de 0 y 17.6 g de NaCl/litro mientras que el crecimiento en las otras concentraciones salinas es menor (52, 84.8, 115.2 y 156.6 g de NaCl/litro), sin embargo, el crecimiento en todas las concentraciones es similar en el periodo de incubación, obteniendo una viabilidad máxima a las 0 horas, siguiéndole las 24 y 48 horas respectivamente.



Fuente: Elaboración propia

7.4.1. Análisis realizados a las 24 horas con todas las razas

Las medias de viabilidad muestran similitud a los resultados obtenidos en las medias de germinación presentando viabilidad solo las dos primeras concentraciones salinas. En la concentración salina 0 g de NaCl/litro, los aislamientos sobresalientes fueron CFORL, CFOLR2 y CFOLR3, mientras que para la concentración salina de 17.6 g de NaCl/litro la máxima viabilidad se presentó en los siguientes aislamientos: CFORL, FOLR1(-) y FOLR2(+). (Figura 24).

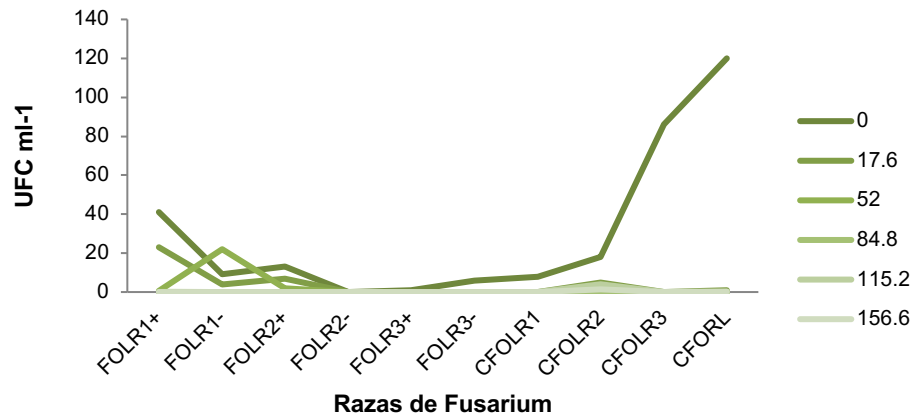


Fuente: Elaboración propia

7.4.2. Análisis realizados a las 48 horas con todas las razas

En cuanto a los análisis a las 48 horas se observó que las únicas concentraciones que presentaron conidios viables fueron 0 y 17.6 g de NaCl/litro. Para la concentración salina de 0 g los aislamientos que presentaron conidios viables fueron: CFORL, CFOLR3 y FOLR1(+), mientras que para la concentración 17.6 g de NaCl/litro los aislamientos que presentaron conidios viables fueron: FOLR1(+), FOLR1(-) Y FOLR2 (+).

Figura 25. UFC ml-1 de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en función de cantidad de sal (gr. NaCl/litro) a las 48 horas



Fuente: Elaboración propia

VIII. CONCLUSIONES

Frecuencias de crecimiento en función del tipo de sal

Se encontró que la frecuencia de crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* fue superior en KCl en comparación con NaCl.

Frecuencias de crecimiento en función del tipo de la temperatura

Se encontró que la temperatura de 25 °C fue la temperatura óptima de las tres ensayadas en el presente estudio en cuanto a la frecuencia de aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* crecidos, seguido de 35 °C y por último 15 °C.

Frecuencias de crecimiento en función del tipo de la temperatura

La frecuencia de aislamientos crecidos con base en la presión osmótica a la que fueron expuestos de ambas sales, permitió observar que el mayor número de aislamientos crecidos ocurrió en KCl a los -1.5 bares mientras que el mínimo crecimiento fue en NaCl a -144.5 bares. En general, se observó que a mayor presión osmótica menor frecuencia de crecimiento de los aislamientos.

Frecuencias de crecimiento en función del tipo de la temperatura y la presión osmótica

La combinación presión osmótica y temperatura en la que se observó mayor frecuencia de crecimiento fue la -1.5 bares en conjunto con la temperatura de 25 °C para ambas sales, sin embargo, en KCl la presión -13.5 bares a 25 °C no mostró diferencia significativa con las combinaciones antes descritas, dichos resultados indican que a mayor presión osmótica menor crecimiento y que la temperatura óptima para el desarrollo del hongo es a los 25 °C.

Magnitud del crecimiento en función de la temperatura

La temperatura en la que se observaron los mejores crecimientos para las tres razas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* analizadas fue a 25 °C, con diferencia significativa con las otras dos (35 °C y 15 °C). A los 25 °C los aislados tuvieron la capacidad de llenar la placa Petri, seguido de 35 °C y por último a los 15 °C.

Magnitud del crecimiento en función de la presión osmótica

Se observó que las presiones osmóticas más favorables para el desarrollo micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* son de -1.50 bares y -13.79 bares para ambas sales.

Magnitud del crecimiento en función del tipo de raza

La cepa que alcanzó el mayor crecimiento en KCl fue CFOLR2 (raza 2) siendo superior a todos los aislamientos. En NaCl la cepa que obtuvo el mayor crecimiento fue CFOLR1 (raza 1). Así mismo, el aislamiento que presentó menor crecimiento en ambas sales fue FOLR1(-) (raza 1).

Germinación conídica

De los tres periodos de incubación, la mayor germinación conídica de los aislamientos analizados de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, muestra que conforme aumenta el tiempo incrementa el número de esporas germinadas, obteniéndose el mayor número de esporas germinadas a las 48 horas. Así mismo, la máxima germinación de esporas se observó en la concentración de 17.6 g de NaCl/litro y el control (0 g de NaCl/litro), mostrándose baja germinación de esporas en las otras concentraciones salinas (52, 84.8, 115.2 y 156.6 g de NaCl/litro). Sin embargo, la germinación conídica en las dos primeras concentraciones es similar en el periodo de incubación de 0 y 24 horas, siendo a las 48 horas donde se expresa diferencia significativa en la germinación de esporas y menos favorable en la concentración salina de 17.6 g de NaCl/litro.

Viabilidad de los conidios

Se determinó que a mayor periodo de incubación de los conidios en las soluciones salinas resultaba en un menor número de conidios viables.

IX. LITERATURA CITADA

- Addinsoft (2019). XLSTAT statistical and data analysis solution. Boston, USA. <https://www.xlstat.com>.
- Ascencio, A. (2006). *Variabilidad Genética para Virulencia en Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen (Fol) Fuentes de resistencia y formas de herencia en especies de Lycopersicon. TESIS presentada como requisito parcial para obtener el grado de Doctor en Ciencias en Fitomejoramiento. UAAAN.
- Baker, R. (1988). Environmental conditions favoring symptom expression. Primer curso internacional sobre patógenos vasculares del clavel. Asocolflores. Noviembre 8- 11 de 1988.
- Balmas, V., et al. (2005). "Molecular characterisation of vegetative compatibility groups in *Fusarium oxysporum* f. sp. radicle-lycopersici and f. sp. lycopersici by random amplification of polymorphic DNA and microsatellite-primed PCR." *European Journal of Plant Pathology* 111(1): 1-8.
- Bateman, D. F. (1963). The "macerating enzyme" of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 53:1178-1186.
- Bateman, D. F. (1964). An induced mechanism of tissue resistance to polygalacturonase in *Rhizoctonia* infected hypocotyls of bean. *Phytopathology* 54:438-445.
- Beech, W.S. (1949). The affects of excess solutes, temperature and moisture upon damping off. *Penn. Agric. Exp. Stn. Bull.* 509: 29 pp.
- Bernstein, L. (1969). Salinity factors and their limits for citrus culture. *Proc. Int. Citrus Symp.* 1st. 3: 1779-1782.
- Besri, M. (1976). Comportement des principales variétés de tomates utilisées au Maroc vis-à-vis de *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici et de *Verticillium dahliae*. *Agricultural Conspectus Scientificus*. 39 : 89-99.
- Besri, M. (1980). Influence du potencial osmotique de l'eau sur la croissance de *Fusarium oxysporum* f sp lycopersici et de *Verticillium dahliae*. *Phytopath. Z* 99: 1-8.
- Besri, M. (1981) b. Qualité des sols et des eaux d'irrigation sur et manifestation des trachéomycoses de la tomate au Maroc. *Phytopath. Medit.* 20: 107-111.
- Booth, C. (1971). The genus *Fusarium*. Ed. Commonwealth Mycol. Inst., Kew, England. 237 pp.
- Cakir, B., et al. (2014). "Response to *Fusarium oxysporum* f.sp radicle-lycopersici in tomato roots involves regulation of SA- and ET-responsive gene expressions." *European Journal of Plant Pathology* 139(2): 373-385.

- Camargo, O., Ic. Sanabria, G. Arbelaez Y I Ospina (1994). *Influencia del tipo de planta, respuesta del hospedante a la infección y tratamiento del suelo sobre la dinámica de la población de Fusarium oxysporum f.sp. dianthi en un suelo colombiano*. Agronomía Colombiana 11: 118-130.
- Cho, J.1.,R.F.L. Mau, T.L. German, R.W. Hartmann, L.S. Yudin, D. Gonsalves and R. Provvidenti (1989). *A multidisciplinary approach to management of Tomato Spotted Wilt Virus in Hawai*. PlantDisease 73: 375-383.
- Connick, W.1.,DJ. Daigle, A.B.Pepperman, K.P.Hebbar, R.D. Lumsden, T.W. Anderson Y D.C. Sand (1998). *Preparation of stable granular formulations containing Fusarium oxysporum pathogenic to narcotic plants*. Biological control 13:79-84.
- Cook, R.J. (1973). *Influence of low plant and soil water potentials on diseases caused by soilborne fungi*. Phytopathology 63: 451-458.
- Cook, R.J. and R.I. Papendick. (1970). *Effect of soil water on microbial growth, antagonism, and nutrient availability in relation to soil-borne fungal diseases of plants*. In: Tousson, T.A.; Bega, R.V. and Nelson, P.E. (Eds.). Root diseases and soil-borne pathogens. 2nd International Symposium on Factors Determining the Behavior of Plant Pathogens in Soil. London, England. Imperial College, July 14-28, 1968. University of California. Berkeley, California, USA. p. 8188.
- Cook, R.J. (1981). *Water relations in the Biology of Fusarium*. In Fusarium. Diseases, Biology, and Taxonomy. Eds: Nelson PE., T.A. Toussoun, R.J. Cook. The Pennsylvania State University Press., 237-242 pp.
- Davet P., C.M. Messiaen and P. Rieuuf. (1966). *Interprétation des manifestations hivernales de la Fusariose de la tomate en frique du nord favorisées par la présence de sels dans les eaux d'irrigation*. 1er Congrès de l'Union Phitopathologique Méditerranéenne. Bari-Naples: 407-41.
- Duffy, B.K. and G. Defago. (1999). *Macro- and microelement fertilizers Influence the severity of Fusarium Crown and Root rot of tomato in a soilless production system*. HortScience 34 (2): 287-291.
- FAO, (2016). FAOSTAT: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (octubre 2017). Retreived from <http://faostat.fao.org>
- FIRA, (2016). Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura. "Panorama Agroalimentario Dirección de Investigación y Evaluación Económica y Sectorial Tomate rojo 2016". Disponible en línea: <https://www.gob.mx/fira/documentos/panorama-agroalimentario>(Consulta Octubre, 2017).

- Fletcher, J. T. Y Martin, J. A. (1972). Spread and control of Fusarium wilt in carnation. Plant Pathology. 25: 81- 84.
- Flores, P., M. Carvajal, A. Cerdá and V. Martínez. (2001). Salinity and ammonium/nitrate interactions on tomato plant development, nutrition and metabolites. Journal of Plant Nutrition 24 (10) 1561-1573.
- Garcés, E. (2001). *Fusarium oxysporum*: El hongo que nos falta conocer. Acta Biológica Colombiana, 6 (1). 7-26.
- Garibaldi, A. (1975). *Race differentiation in Fusarium oxysporum f.sp. dianthi* (Prill. et Del.) Snyd. et Hans. First Contribution. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent40: 531-537.
- Garibaldi, A., F. Brunatti Y M.L. Gullino (1986). *Suppression of Fusarium wilt of carnation by competitive non pathogenic strain of Fusaria*. Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent 51 (2b): 633-638.
- Garret, S. D. (1977). Pathogenic root-infecting fungi. Cambridge University Press. 294 p.
- Gul, J.G., Q. M. Mandeel and A.N. Ayub. (2005). *In vitro effect of salinity and Temperature on growth of Fusarium species in arid environment of Bahrain (Arabian gulf)*. Applied and environmental Microbiology.
- Haglund, W.A.; Kraft, J.M. (2001). *Fusarium wilt*. En: Kraft, J.M.; Pfleger, F.L. (ed.). Compendium of Pea Diseases and Pests. The American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota. USA 14-16-84 pp.
- Hernández, R, G. Arbelaez, H. Junca, M. Posada y P. Del Portillo (1998). Identificación de marcadores genéticos del agente causal del marchitamiento del clavel *Fusarium oxysporum f.sp. dianthi* mediante aplicación arbitraria de fragmentos polimórficos de ADN. Revista Colombiana de Biotecnología 1:51-57.
- Jacoby, B. (1994). Mechanisms involved in salt tolerance by plants. In Handbook of Plant and Crop Stress. (M Pessarakli ed.) 97-123.
- Jones, Ib., Ip. Jones, Re. Stall yT.A.Zitter (1997). Compendium oftomato diseases. The American Phytopathological Society Press. St. Paul.
- Kistler, H. (1997). Genetic Diversity in the Plant-Pathogenic Fungus *Fusarium oxysporum*. Phytopathology 87:474-479
- Leslie, J., and Summerell, B. 2006. Laboratory manual for *Fusarium*. Blackwell. Publishing. Iowa, USA 388 p.
- MacDonald, J.D. (1982). Effect of salinity stress on the development of *Phytophthora* root rot of *Chrysanthemum*. Phytopathology 72, 214-219.

- Marllat, M., Correll, J., y Kaufman, P. (1996). Two Genetically Distinct Populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Race 3 in the United States. *Plant Disease*, 80, 7.
- Medina-Ríos, M. (2011). Inducción de Resistencia a *Fusarium oxysporum* y Estimulación del Desarrollo Vegetal en Jitomate (*Solanum lycopersicon*) Empleando *Methylobacterium* spp. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional, CIIDIRIPN-MICHOACÁN. Jiquilpan, Michoacán, México. 69 pp.
- Nachmias, A., Z. Kaufman, L. Livescu, L. Tsrer, A. Meiri and P. D. S. Caligari. (1993). Effects of salinity and its interactions with disease incidence on potato grown in hot climates. *Phytoparasitica* 21: 245-255.
- Nelson, P.E. (1981). *Life cycle and epidemiology of Fusarium oxysporum*. En M.E. Mace, A.A. Bell and e.H. Beckman (eds.). *Fungal wilt diseases of plants*. Academic Press. New York. p. 51-80.
- Nelson, P. E., T. A. Toussoun and W. F. O. Marasas. (1983). *Fusarium species. An illustrated manual for identification*. Ed. The Pennsylvania State University Press. 193 pp.
- Palmero Llamas, D., de Cara Gonzalez, M., Iglesias Gonzalez, C., Ruíz Lopez, G. y Tello Marquina, J. C. (2008a). The interactive effects of temperature and osmotic potential on the growth of marine isolates of *Fusarium solani*. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 35:1405–1409.
- Palmero Llamas, D., de Cara Gonzalez, M., Iglesias Gonzalez, C., Ruíz Lopez, G. y Tello Marquina, J. C. (2008b). Effects of water potential on spore germination and viability of *Fusarium* species. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 35:1411–1418
- Papendick, R.I., R.J. Cook and P.J. Shipton. (1971). *Plant water stress and the development of Fusarium foot rot in wheat*. *Phytopathology* 61: 905.
- Pardo, V.M. (1995). *Hongos fitopatógenos de Colombia*. Centro de Publicaciones. Universidad Nacional de Colombia. Medellín.
- Peralta, I., Napp, S., and Pooner, D. M. (2005). *New Species of Wild Tomatoes (Solanum Section Lycopersicon: Solanaceae) from Northern Peru*. *Systematic Botany*, 30, 424-434.
- Rodríguez, IC., R Rodríguez, Rojas, IL. Sánchez y G. Arbelaez. (1993). *Control biológico del marchitamiento vascular del clavel ocasionado por Fusarium oxysporum f.sp. dianthi con aislamientos no patogénicos de Fusarium oxysporum*. *Agronomía Colombiana* 10:62-67.1993.

- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación), 2017. Disponible en línea: <http://www.sagarpa.gob.mx/saladeprensa/2012/Paginas/2015B466.aspx> (consulta octubre 15, 2017).
- Salinas, M. (2006). Resistencia a araña roja en tomate: análisis genético y mapeo de QTLs. Tesis de Doctor en Ciencias. Universidad de Almería. 171 p.
- SIAP (2017). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. "Boletín mensual de la producción tomate rojo (jitomate)" Disponible en línea: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/213646/Boletin_mensual_prod_tomate_rojo_mzo17.pdf (Consulta Octubre, 2017)
- Standaert, J.Y., H. Maraite, C. Myttenaere and J.A. Meyer. (1978). A study of the effects of salt concentration and sodium/calcium ratio in the nutrient médium on the susceptibility of tomatoes to Fusarium wilt. *Plant Soil* 50: 269-286.
- Standaert, J.Y., C. Myttenaere and J.A. Meyer. (1973). Influence of Sodium/calcium rations and ionic strength of the nutrient solution on Fusarium wilt of tomato. *Plant Sci. Letters* 1: 413-420.
- Stover, R.H. (1987). Fusarium wilt of banana: some history and current status of the disease. p. 1-7. En R.C. Ploetz (ed.). *Fusarium wilt of banana*. The American Phytopathological Society Press, St. Paul.
- Tello, J. C., F. Varés y A. Lacasa. (1991). Análisis de muestras. En: *Manual de laboratorio: Diagnóstico de hongos, bacterias y nematodos fitopatógenos*. M.A.P.A. Madrid. 39-48.
- Triky-Dotan, S., U. Yermiyahu, J. Katan and A. Gamliel. (2005). *Development of crown and root rot disease of tomato under irrigation with saline water*. *Phytopatology*. 95 (12): 1438-1444.
- Warnock, S. J. (1991). "Natural Habitats of *Lycopersicon* Species". *HortScience*, 26 (104), 1-6.
- Williams, D.E. (1990). A review of sources for the study of Nahuatl plant classification. *Advances in Economic Botany*, 8, 249-270.