



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA INGENIERÍA AGRONÓMICA

Proyecto de Investigación previo
a la obtención del título de
Ingeniero Agrónomo.

Título del Proyecto de Investigación:

**“Evaluación del efecto de medicamentos homeopáticos sobre
Fusarium oxysporum en hortalizas de interés comercial”**

Autor:

Alex Fabrizzio Alvarado Mendoza

DIRECTOR PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

Dr. Fernando Abasolo Pacheco

Quevedo – Los Ríos - Ecuador.

2017

DECLARACION DE AUTORIA Y SESION DE DERECHOS

Yo, **ALEX FABRIZIO ALVARADO MENDOZA** declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, y por la normatividad institucional vigente.

ALEX FABRIZIO ALVARADO MENDOZA

CERTIFICACION DE CULMINACION DEL PROYECTO DE INVESTIGACION

El suscrito, Dr. Fernando Abasolo Pacheco de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el Egresado Alvarado Mendoza Alex Fabrizzio, realizó el proyecto de investigación previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo titulado “**Evaluación del efecto de medicamentos homeopáticos sobre *Fusarium oxysporum* en hortalizas de interés comercial**”, bajo mi dirección, habiendo cumplido con todas las disposiciones reglamentarias establecidas.

Dr. Fernando Abasolo Pacheco

DIRECTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO



| | |
|----------------|---|
| Documento | PROY. INV. ALEX ALVARADO 24.08.17.docx (D30236664) |
| Presentado | 2017-08-24 18:52 (-05:00) |
| Presentado por | rgaibor@uteq.edu.ec |
| Recibido | rgaibor.uteq@analysis.orkund.com |
| Mensaje | PROY. INV. ALEX ALVARADO 24.08.17 Mostrar el mensaje completo |

1% de estas 20 páginas, se componen de texto presente en 1 fuentes.



Urkund Analysis Result

Analysed Document: PROY. INV. ALEX ALVARADO 24.08.17.docx (D30236664)
Submitted: 2017-08-25 01:52:00
Submitted By: rgaibor@uteq.edu.ec
Significance: 1 %

Sources included in the report:

WILLIAN DENNIS ALARCON MONSERRATE 22.02.2016.docx (D18126163)

Instances where selected sources appear:

1

Dr. Fernando Abasolo Pacheco
DIRECTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA

TÍTULO DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN:

**“Evaluación del efecto de medicamentos homeopáticos sobre
Fusarium oxysporum en hortalizas de interés comercial”.**

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de Ingeniero Agrónomo.

Aprobado por:

Ing. Ramiro Gaibor Fernández M Sc.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Ing. Abraham Bayas Zamora M Sc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Cesar Varas Maenza M Sc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

El autor de la presente investigación quiere dejar constancia de su sincero agradecimiento a las personas que hicieron posible la culminación de la misma.

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, institución digna que me acogió como estudiante y forjó mis conocimientos durante seis años.

Le agradezco a mi Director de tesis, Dr. Fernando Abasolo Pacheco, por su enseñanza y estimulación para la exitosa culminación de este trabajo de investigación.

A mis amigos Shachary Rodriguez, Jasmany Villa Gabriel Cuesta y Kevin Cedeño, por todo el apoyo y la ayuda necesaria en el transcurso de mi carrera universitaria

A Ricardo Romero, Ángel Cedeño y Ángel Verdesoto, por el apoyo y ayuda brindada.

También a mis amigos que han formado parte de mi vida profesional, a las que me encantaría agradecerles su amistad, apoyo y compañía.

DEDICATORIA

Agradezco a Dios por permitirme alcanzar esta meta, también por bendecirme con unos padres que me han apoyado en todo momento, ya que con sus esfuerzos, permitieron culminar mis estudios y poder ser un profesional, este logro se los dedico a Marianita Mendoza y Darwin Alvarado.

A mis hermanos por toda la ayuda y apoyo otorgado durante lo largo de mi carrera universitaria.

A mis abuelos por todos los consejos y apoyo brindado.

Y sobre todo a DIOS por bendecir cada camino que he recorrido.

RESUMEN EJECUTIVO

La agrohomeopatía fue planteada como el uso del método homeopático en agricultura, a partir del cual es posible incidir en los procesos biológicos de la planta para acelerar o detener su crecimiento. Por otro lado representa una alternativa eco amigable para el control natural de plagas y enfermedades. En el presente trabajo se realizó la evaluación *in vitro* e *in vivo* de seis productos homeopáticos (*Magnesia phosphorica* (Mp), *Zincum phosphoricum* (Zp), *Phosphoricum acidum* (Pa), *Silícea terra* (St), *Natrum muriaticum* (Nm), *Arsenica álbum* (Aa)) en diluciones de (6C, 7C y 13C) sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Para esto se utilizó la técnica de envenenamiento del medio de cultivo Papa Dextrosa Agar en la parte *in vitro*, la siembra por punción para evaluar el crecimiento diametral del hongo, la técnica de barrido para determinar el porcentaje de inhibición de esporas y la técnica de infiltración para la parte *in vivo*. El crecimiento diametral se evaluó en diferentes tiempos (cada 48 h por siete días). No se encontraron diferencias significativas en el crecimiento diametral del hongo, sin embargo, se observaron diferencias significativas en cuanto al porcentaje de inhibición. Los mayores porcentajes se obtuvieron con los tratamientos Zp-7C (70%), Mp-13C (65%) y Aa-13C (51%). Para el conteo de estomas no se notaron diferencias significativas, sin embargo en la supervivencia y daño se demostraron diferencias en comparación al control. Los resultados indican que el efecto de los medicamentos sobre *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* es dependiente del tipo de homeopático y de la dilución empleada. Este trabajo muestra la efectividad del uso de la agrohomeopatía para el control de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* causante de la marchitez vascular, la cual es una de las enfermedades que más afecta el cultivo de tomate.

Palabras clave: Sanidad vegetal, inhibición, *in vitro*, marchitez vascular, homeopatía agrícola, *in vivo*.

ABSTRACT

The agrohomeopathy was raised as the use of the homeopathic method in agriculture, from which it is possible to influence the biological processes of the plant to accelerate or stop its growth. On the other hand it represents an eco-friendly alternative for the natural control of pests and diseases. In the present work the *in vitro* evaluation of six homeopathic products (*Magnesia phosphorica* (Mp), *Zincum phosphoricum* (Zp), *Phosphoricum acidum* (Pa), *Silícea terra* (St), *Natrum muriaticum* (Nm), *Arsenica album* (Aa)) was made in two dilutions (7C and 13C) on the growth of the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. For this, the poisoning technique of Potato Dextrose Agar culture medium was used; also puncture seeding to evaluate the diametrical growth of the fungus and the scanning technique to determine the percentage of spore inhibition. Diametral growth was evaluated at different times (every 48 h for seven days). No significant differences were found in the diametric growth of the fungus; however, significant differences were observed in the percentage of inhibition. The highest percentages were obtained with the treatments Zp-7C (70%), Mp-13C (65%) and Aa-13C (51%). The results indicate that the effect of the drugs on *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* is dependent on the type of homeopathic and the dilution employed. This work shows the effectiveness of the use of agrohomeopathy for the control of *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* causing vascular wilt, which is one of the diseases that most affect the tomato crop.

Key words: Vegetable health, inhibition, *in vitro*, vascular wilt, agricultural homeopathy.

TABLA DE CONTENIDO

| | |
|---|-----------|
| Portada..... | i |
| DECLARACION DE AUTORIA Y SESION DE DERECHOS..... | ii |
| CERTIFICACION DE CULMINACION DEL PROYECTO DE INVESTIGACION..... | iii |
| CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO | iv |
| AGRADECIMIENTO | vi |
| DEDICATORIA..... | vii |
| RESUMEN EJECUTIVO | viii |
| TABLA DE CONTENIDO | x |
| Introducción..... | 1 |
| CAPÍTULO I CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN..... | 3 |
| 1.1 Problema de investigación..... | 4 |
| 1.1.1 Planteamiento del problema | 4 |
| 1.1.2 Formulación del problema..... | 5 |
| 1.1.3 Sistematización del problema..... | 5 |
| 1.2 Objetivos..... | 6 |
| 1.2.1 Objetivo general | 6 |
| 1.2.2 Objetivos específicos..... | 6 |
| 1.3 Justificación..... | 7 |
| CAPITULO II FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN..... | 8 |
| 2.1 Marco referencial..... | 9 |
| 2.1.1 Importancia de las hortalizas | 9 |
| 2.1.2 Principales enfermedades en cultivos de hortalizas de interés comercial | 9 |
| 2.1.2.1 Enfermedades causadas por hongos en el cultivo de tomate..... | 10 |
| 2.1.3 Estudio taxonómico y genético de <i>Fusarium oxysporum</i> fs. p. <i>Lycopersi</i> | 11 |
| 2.1.4.1 Origen de los medicamentos homeopáticos | 13 |
| 2.1.5 Uso de la homeopatía en la agricultura | 14 |
| 2.1.6.1 Antagonismo <i>in vitro</i> | 15 |
| 2.1.6.3 Formas para evaluar el antagonismo | 16 |
| CAPÍTULO III MÉTODOLÓGÍA DE LA INVESTIGACIÓN..... | 17 |
| 3.1 Localización..... | 18 |
| 3.2 Tipo de Investigación | 18 |
| 3.3 Material Genético | 18 |

| | |
|---|-----------|
| 3.5 Fuentes de recopilación de la información | 18 |
| 3.6 Instrumentos de investigación | 19 |
| 3.7 Diseño de la investigación y análisis estadístico | 20 |
| 3.7.1 Diseño de la investigación fase <i>in vitro</i> | 20 |
| 3.7.2 Diseño de la investigación fase <i>in vivo</i> | 21 |
| 3.8 Manejo del experimento | 22 |
| 3.8.1 Primera fase <i>in vitro</i> | 22 |
| 3.8.1.1 Reproducción de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> en condiciones de laboratorio ... | 22 |
| 3.8.1.2 Tratamientos evaluados | 22 |
| 3.8.1.3 Evaluación <i>in vitro</i> de los medicamentos homeopáticos sobre <i>F. oxysporum</i> f. sp <i>lycopersici</i> | 22 |
| 3.8.1.3.1 Pruebas de inhibición | 22 |
| 3.8.1.3.2 Conteo de esporas | 23 |
| 3.8.2.1 Evaluación durante fase <i>in vivo</i> | 24 |
| 3.8.2.2 Reto experimental | 24 |
| 3.9 Datos registrados y formas de evaluación | 25 |
| 3.9.1 Variables evaluadas en la fase <i>in vitro</i> | 25 |
| 3.9.1.1 Diámetro micelial (cm) | 25 |
| 3.9.1.2 Número de esporas | 25 |
| 3.9.2 Variables evaluadas en la fase <i>in vivo</i> | 25 |
| 3.9.2.1 Supervivencia | 25 |
| 3.9.2.2 Numero de estomas | 26 |
| 3.10 Recursos humanos y materiales | 26 |
| 3.10.1 Recursos humanos | 26 |
| 3.10.2 Recursos Materiales | 26 |
| CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 28 |
| 4.1 Resultados | 29 |
| 4.1.1 Pruebas de inhibición <i>in vitro</i> | 29 |
| 4.1.1.1 Conteo de esporas en diluciones de 7C y 13C | 29 |
| 4.1.1.2 Conteo de esporas en diluciones de 6C y 7C | 29 |
| 4.1.1.3 Diámetro micelial en diluciones de 7C y 13C | 32 |
| 4.1.1.4 Diámetro micelial en diluciones de 6C y 7C | 32 |
| 4.1.2 Pruebas de inhibición <i>in vivo</i> | 35 |
| 4.1.2.1 Supervivencia | 35 |
| 4.1.2.2 Conteo de estomas 7C y 13C | 35 |

| | |
|--|----|
| 4.1 Discusión | 37 |
| CAPITULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES | 40 |
| 5.1 Conclusiones..... | 41 |
| 5.2 Recomendaciones | 42 |
| CAPITULO VI BIBLIOGRAFÍA | 43 |
| 6.1 Bibliografía..... | 44 |
| CAPITULO VII ANEXOS | 49 |

Índice de Tablas

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Esquema del ADEVA para fase <i>in vitro</i> | 21 |
| Tabla 2. Esquema del ADEVA para fase in vivo | 21 |
| Tabla 3. Medicamentos homeopáticos de la Farmacia Homeopática Nacional (México). 23 | |
| Tabla 4. Conteo de esporas en diluciones 7C y 13C durante la evaluación in vitro de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>lycopersici</i> tratados con diferentes medicamentos homeopáticos..... | 30 |
| Tabla 5. Conteo de esporas en diluciones 6C y 7C durante la evaluación in vitro de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>lycopersici</i> tratados con diferentes medicamentos homeopáticos..... | 31 |
| Tabla 6. Diámetro micelial en diluciones de 7C y 13C durante la evaluación in vitro de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>lycopersici</i> tratados con diferentes medicamentos homeopáticos..... | 33 |
| Tabla 7. Diámetro micelial para las diluciones 6C y 7C durante la evaluación in vitro de <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp <i>lycopersici</i> tratados con diferentes medicamentos homeopáticos..... | 34 |
| Tabla 8. Conteo de estomas para las diluciones 7C y 13C..... | 36 |

Índice de Anexos

| | |
|--|----|
| Anexo 1. Preparación de las diluciones homeopáticas..... | 50 |
| Anexo 2. Esterilización de medio de cultivo en autoclave..... | 50 |
| Anexo 3. Preparación de los tratamientos. | 51 |
| Anexo 4. Incubadora | 51 |
| Anexo 5. Registro de diámetro micelial..... | 52 |

| | |
|---|----|
| Anexo 6. Registro de diámetro micelial..... | 52 |
| Anexo 7. Esporas de (<i>Fol</i>)..... | 53 |
| Anexo 8. Cepa de (<i>Fol</i>) creciendo en medio PDA con <i>Phosporicum acidum</i> 13C | 53 |
| Anexo 9. Cepas de (<i>Fol</i>) para determinar efectividad de los medicamentos homeopáticos | 54 |
| Anexo 10. Cepas de (<i>Fol</i>) para descartar posibilidades utilizando agua destilada, agua purificada y dos medicamentos homeopáticos | 54 |
| Anexo 11. Cepas de (<i>Fol</i>) empleando los medicamentos homeopáticos explicados en metodología en diluciones 7C con su respectivo testigo | 55 |
| Anexo 12. Cepas de (<i>Fol</i>) empleando los medicamentos homeopáticos explicados en metodología en diluciones 6C con su respectivo testigo | 55 |
| Anexo 13. Infección de plántulas de tomate con (<i>Fol</i>) | 56 |
| Anexo 14. Porcentaje de severidad de (<i>Fol</i>) en plantas no tratadas con medicamentos homeopáticos | 56 |
| Anexo 15. Porcentaje de severidad de (<i>Fol</i>) en plantas tratadas con medicamentos homeopáticos | 57 |
| Anexo 16. Porcentaje de severidad de (<i>Fol</i>) en plantas tratadas con medicamentos homeopáticos | 57 |
| Anexo 17. Estomas de tomate en plantas tratadas con el medicamento homeopático <i>Phosphoricum acidum</i> 13C | 58 |
| Anexo 18. Estomas de tomate en plantas tratadas con el medicamento homeopático <i>Silicea terra</i> 7C..... | 58 |
| Anexo 19. Estomas de tomate en plantas tratadas con el testigo (etanol a 85°GL) | 59 |
| Anexo 20. Estomas de tomate en plantas tratadas con el testigo agua..... | 59 |
| Anexo 21. Esquema para realizar el conteo de esporas. | 60 |

Código Dublín

| | | | |
|----------------------------------|---|-----------|----------------|
| Título: | Evaluación del efecto de medicamentos homeopáticos sobre patógenos de hortalizas de interés comercial | | |
| Autor: | Alvarado Mendoza Alex Fabrizzio | | |
| Palabras clave: | Homeopatía Agrícola | Inocuidad | Biotechnología |
| Fecha de publicación: | | | |
| Editorial: | Quevedo: UTEQ 2017 | | |
| Resumen: (hasta 300 palabras) | <p>Resumen.- La agrohomeopatía fue planteada como el uso del método homeopático en agricultura, a partir del cual es posible incidir en los procesos biológicos de la planta para acelerar o detener su crecimiento. Por otro lado representa una alternativa eco amigable para el control natural de plagas y enfermedades. En el presente trabajo se realizó la evaluación in vitro e in vivo de seis productos homeopáticos (<i>Magnesia phosphorica</i> (Mp), <i>Zincum phosphoricum</i> (Zp), <i>Phosphoricum acidum</i> (Pa), <i>Silícea terra</i> (St), <i>Natrum muriaticum</i> (Nm), <i>Arsenica album</i> (Aa)) en diluciones de (6C, 7C y 13C) sobre el crecimiento del hongo fitopatógeno <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>. Para esto se utilizó la técnica de envenenamiento del medio de cultivo Papa Dextrosa Agar en la parte <i>in vitro</i>, la siembra por punción para evaluar el crecimiento diametral del hongo, la técnica de barrido para determinar el porcentaje de inhibición de esporas y la técnica de infiltración para la parte <i>in vivo</i>. El crecimiento diametral se evaluó en diferentes tiempos (cada 48 h por siete días). No se encontraron diferencias significativas en el crecimiento diametral del hongo, sin embargo, se observaron diferencias significativas en cuanto al porcentaje de inhibición. Los mayores porcentajes se obtuvieron con los tratamientos Zp-7C (70%), Mp-13C (65%) y Aa-13C (51%). Para el conteo de estomas no se notaron diferencias significativas, sin embargo en la supervivencia y daño se demostraron diferencias en comparación al control. Los resultados indican que el efecto de los medicamentos sobre <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> es dependiente del tipo de homeopático y de la dilución empleada. Este trabajo muestra la efectividad del uso de la agrohomeopatía para el control de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> causante de la marchitez vascular, la cual es una de las enfermedades que más afecta el cultivo de tomate.</p> | | |
| Descripción: | Hojas : dimensiones, 29 x 21 cm + CD-ROM 6162 | | |
| URI: | | | |

Introducción

Las hortalizas en Ecuador tienen gran importancia en lo que se refiere a la alimentación, ya que forman parte del consumo diario. En algunas hortalizas, el rendimiento no está dado por sus frutos, sino por las diferentes partes de la planta, ya que éstas se consumen directamente, tal es el caso de la lechuga (*Lactuca sativa*) en la que se consume la parte aérea; del rábano (*Raphanus sativus* L.) en el que se utiliza solo la raíz Alvarez, (2011). Las medidas que se toman para el manejo de estos cultivos implican al excesivo uso de productos químicos para controlar enfermedades, por ende los patógenos tienden a resistirse a los productos químicos. Las enfermedades tienen el potencial de destruir las cosechas, aún en los casos en que no causan pérdidas totales, por lo general reducen en forma crónica el rendimiento de la mayoría de los cultivos, obligando a tomar medidas de combate químico que aumentan los costos de producción y afectan la calidad y la durabilidad de los productos cosechados, de manera que constituyen una de las principales causas de inestabilidad en la empresa agrícola y del déficit alimentario local y mundial (Strange, 2005).

Conforme el control químico se ha incrementado, los problemas de índole fitosanitario se han hecho más evidentes y entre ellos destaca la enfermedad conocida como “moho gris”, la cual constituye una de las principales limitantes para la producción. El agente etiológico de la enfermedad es *Botrytis cinerea* P. Mich. ex Pers., el cual causa pudriciones en varios tipos de frutos menores, produciendo grandes pérdidas tanto en campo como en almacenamiento Pitt, (2009). Así mismo *Sclerotium cepivorum* Berk. es el principal agente patógeno que causa la pudrición blanca en ajo; sin embargo, otros hongos filamentosos que inciden y afectan a este cultivo son *Fusarium oxysporum* (Schl.), agente causal de la pudrición basal que ataca al ajo desde su estado de plántula, y *Penicillium hirsutum* Diercks el cual produce un micelio verde-azul en los bulbos y ocasiona la pérdida de vigor de las plantas en las primeras etapas de crecimiento y reduce significativamente la calidad de la semilla de ajo (Heredia, 2000).

La marchitez vascular producida por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) es la principal enfermedad que causa problemas en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*), disminuye en un 60% el rendimiento y afecta la calidad del producto. Esta enfermedad, la cual se ha reportado en por lo menos 32 países Jones, (1991), prospera en una diversidad de condiciones ambientales desde trópicos secos hasta climas templados (Cai, 2003).

Los géneros *Alternaria*, *Botrytis*, *Lasiodiplodia*, *Penicillium*, *Colletotrichum*, *Phoma*, *Fusarium*, *Rhizopus* y *Mucor*, son conocidos como los principales causantes de las alteraciones más frecuentes en frutas y hortalizas, especialmente las referidas al aspecto físico, valor nutricional, características organolépticas y dificultad de conservación, así como de las alergias e intoxicaciones en los consumidores, debido a que producen estructuras especializadas que se depositan sobre el producto, penetran, invaden y eventualmente colonizan masivamente el tejido para causar daño y posteriormente segregan sustancias, como consecuencia de su metabolismo secundario Filtenborg *et al.*, (1996). Resultados científicamente comprobados en los cultivos validan su capacidad de modificar al crecimiento, comportamiento de la planta, cantidad, forma de frutos, abundancia del follaje entre otros y puede controlar la mayoría de plagas y enfermedades conocidas Silva, (2002); Rossi, (2005).

La mayor parte de las enfermedades fungosas se han venido controlando con el uso de agroquímicos pero la manipulación excesiva de éstos, el uso indiscriminado, y la falta de conocimientos de los agricultores, ha ocasionado la resistencia de patógenos, lo cual ha potencializado las enfermedades, provoca además la degradación del suelo y contaminación ambiental. Por lo que es necesario el uso de alternativas amigables al ambiente para el control de estas enfermedades, como es el caso de la homeopatía agrícola.

La agro-homeopatía, una ciencia relativamente nueva, dispone un modelo diferente, económicamente viable incluso en condiciones muy rústicas, socialmente benéfico y lo más importante, fácilmente replicable Barberato, (2002). Se han realizado experimentos con herbicidas y otras sustancias sintetizadas artificialmente, aplicados en forma homeopática, funcionando éstos como promotores de crecimiento en plantas, sin producir efectos negativos tales como la resistencia de microorganismos patógenos y daño al medio ambiente. Resultados científicamente comprobados en los cultivos validan su capacidad de modificar al crecimiento, comportamiento de la planta, cantidad, forma de frutos, abundancia del follaje entre otros y puede controlar la mayoría de plagas y enfermedades conocidas (Silva, 2002). El objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto *in vitro* e *in vivo* de medicamentos homeopáticos sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopercisi*, con la finalidad de contribuir a disminuir el uso de agroquímicos empleados en las hortalizas de interés comercial.

CAPÍTULO I
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Problema de Investigación

1.1.1 Planteamiento del Problema

El uso excesivo e indiscriminado de plaguicidas químicos por parte de los agricultores, provocan la disminución o pérdida de la capa fértil y la muerte de los microorganismos del suelo, los patógenos desarrollan resistencia al ingrediente activo que muchas veces tiene elevados costos de adquisición.

Es poco lo que se ha trabajado en relación a las estrategias para reducir el uso de agro-químicos en el control de plagas y enfermedades, y a problemas con la fertilidad biológica; debido al accionar veloz que tienen los agro-químicos en relación a los mecanismos biológicos con las plantas.

Se ha puesto más énfasis en el estado socio económico que en la preservación de los medios, la aplicación de estos insumos más la práctica monocultivista ha acelerado los niveles de esterilización del suelo, afectando directamente su productividad natural.

Diagnóstico

La agrohomeopatía es una alternativa para combatir plagas y enfermedades de la misma manera se la puede aplicar en un sistema de producción orgánico, la cual surge por la preocupación de la sanidad alimentaria acompañada de las distintas estrategias que se están implementando para preservar el medio ambiente. Por lo cual surge la agrohomeopatía como una alternativa más ecológica sostenible y sustentable.

Pronóstico

En la presente investigación busca comprobar que el efecto de los medicamentos homeopáticos es favorables para la inhibición de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. El problema estaría basado en el uso excesivo de agroquímicos para el control fitosanitario de las enfermedades causadas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

1.1.2 Formulación del problema

¿Qué medicamento homeopático muestra un mayor porcentaje de inhibición (*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) en hortalizas de interés comercial?

1.1.3 Sistematización del problema

¿Qué efecto tienen los medicamentos homeopáticos en las fase *in vitro* e *in vivo*?

¿Cuál tratamiento presentará mayor efecto antagónico contra el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*?

¿Qué dilución presentará el mejor efecto para la fase *in vitro* y la fase *in vivo*?

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General

Evaluar el efecto de medicamentos homeopáticos sobre el patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en hortalizas de interés comercial.

1.2.2 Objetivos Específicos

- Determinar el efecto inhibitorio *in vitro* de los medicamentos homeopáticos contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.
- Evaluar el efecto *in vivo* de los medicamentos homeopáticos sobre plántulas de tomate, mediante un reto experimental contra *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.
- Determinar el efecto de diferentes diluciones homeopáticas sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

1.3 Justificación

Mediante la realización del presente trabajo de investigación se espera contribuir a disminuir el uso excesivo de plaguicidas químicos, ya que se intenta combatir a los organismos que producen enfermedades y pérdidas en hortalizas de interés comercial.

Los medicamentos homeopáticos son inocuos, económicos, no dañan al ambiente y tienen potencial en la agricultura.

La homeopatía agrícola es una alternativa para la agricultura que puede controlar enfermedades causadas por patógenos, además también es capaz de incidir en los procesos biológicos de la planta para acelerar su crecimiento. Adicionalmente a la homeopatía agrícola se la puede determinar con un impacto social positivo si se la compara con los métodos de control utilizados actualmente.

Cabe mencionar que el siguiente trabajo está dirigido a el control de la marchitez vascular producida por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) es la principal enfermedad que causa problemas en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*) (Jones *et al.*, 1991).

Con la finalidad de reducir las pérdidas económicas debidas a esta enfermedad, los agricultores aplican un gran número de productos químicos lo que frecuentemente da lugar a mayores costos de producción y contaminación ambiental; esto ocasiona mayores riesgos para el equilibrio ecológico y la salud humana (León, 1980).

CAPITULO II
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 Marco Referencial

2.1.1 Importancia de las hortalizas

Se considera que a nivel internacional, las hortalizas junto con las frutas ocupan en nuestros días el segundo lugar de los productos agropecuarios, apenas aventajadas por los cereales. Se estima que tan solo dos hortalizas contribuyen con el 50% de la producción en el mundo: la papa y el tomate de mesa, lo cual nos indica el enorme valor que este último cultivo representa no solo en el comercio, sino también en el sistema alimentario mundial (Jones, 2001).

El tomate es una hortaliza de porte arbustivo que se cultiva como anual, su crecimiento es limitado en las variedades determinadas e ilimitadas en las indeterminadas y puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta o erecta (Jaramillo, 2007).

Hay cultivares de dos tipos que son de tipo indeterminado e determinado. Los de tipo indeterminado presentan inflorescencias más espaciadas. Los determinados producen una inflorescencia junto con cada hoja o cada dos hojas, suelen ser más precoces y de porte bajo, terminando el tallo en un racimo floral. El tallo termina en una yema vegetativa, lo cual determina que la planta continúe creciendo de manera indefinida (Devlin, 1989).

2.1.2 Principales enfermedades en cultivos de hortalizas de interés comercial

Existen muchos hongos y bacterias que ocasionan enfermedades en cultivos de interés comercial como son *Phytophthora capsici* y *Verticillium dahliae*, los cuales causan el “tizón del pimiento”, de la misma manera que *Leveillula taurica*, el cual es el agente causal de la “ceniza del pimiento” Rui, (1998). Por otra parte, la “mancha bacteriana” causada por *Xanthomonas campestris* pv. *Vesicatoria*, propuesta como *Xanthomonas axonopodis* pv. *vesicatoria*, es otra importante enfermedad no solo del pimiento, sino también del tomate Vanterin, (1995). De la misma manera *Alternaria alternata*, es un hongo que ocasiona la “podredumbre negra del tomate” Larrán, (2005). La Fusariosis que es una de las más graves y extendidas de las enfermedades del melón ocasionado por el hongo *Fusarium* sp. (Zapata, 1989).

2.1.2.1 Enfermedades causadas por hongos en el cultivo de tomate.

Antracnosis

Enfermedad causada por el hongo *Colletotrichum* sp. Durante periodos cálidos y húmedos. Los síntomas tempranos se manifiestan en frutos maduros en forma de manchas circulares acuosas hundidas. Las lesiones aumentan de tamaño, se vuelven más hundidas y se oscurece la sección central. Dicha zona contiene estructuras fungosas a partir de las cuales se liberan esporas de color salmón cuando el clima es húmedo. A medida que el hongo se extiende en el fruto, tiene lugar una pudrición semiblanda. Estas lesiones ocasionan pudrición en amplias áreas del fruto y organismos secundarios se trasladan a dichas áreas produciendo la pudrición total. El hongo infecta tanto al fruto verde como al maduro y penetra en la cutícula del mismo (InfoAgro, 2006).

Alternariosis (Cáncer del tallo)

Esta enfermedad se conoce como cáncer del tallo es causada por el hongo *Alternaria* sp., y suele abreviarse como ASC por sus siglas en inglés (*Alternaria* Stem Canker). Afecta principalmente a plantas de la familia de las solanáceas y especialmente a tomate y papa. En trasplantes produce un chancro negro en el tallo a ras del suelo. En pleno cultivo las lesiones aparecen tanto en hojas como en tallos, frutos y pecíolos. En la hoja se producen manchas pequeñas circulares o angulares, con anillos concéntricos marcados. En tallo y pecíolo se producen lesiones negras alargadas, en las que se pueden observar a veces anillos concéntricos (InfoAgro, 2006).

Fusariosis

Esta enfermedad obtiene su nombre de su agente causal, el hongo *Fusarium oxysporum*. La diseminación se realiza mediante semillas, viento, labores de suelo, plantas enfermas o herramientas contaminadas. La temperatura óptima de desarrollo es de 28 °C. El hongo puede permanecer en el suelo durante años y penetrar a través de las raíces hasta el sistema vascular (InfoAgro, 2006).

Los primeros síntomas corresponden a la caída de pecíolos de las hojas superiores. Las hojas inferiores sufren amarillamiento que avanza hacia el ápice y terminan por secarse. Puede manifestarse una marchitez en verde de la parte aérea, pero ésta puede ser reversible. Luego se hace permanente y la planta muere. En ocasiones el amarillamiento comienza en las hojas

inferiores y termina por secar la planta. Si se realiza un corte transversal en el tallo se puede observar un oscurecimiento de los vasos (InfoAgro, 2006).

Verticillium

Es un hongo de propagación por suelo que afecta a cultivos de tomate, papa, berenjena y fresa, entre otros. A pesar de nombrar la enfermedad como marchitez por *Verticillium*, dicha marchitez ocurre raramente en tomate, al menos no hasta el final de temporada. El hongo permanece en el suelo por largos periodos de tiempo y es sensible a la humedad del suelo y a la temperatura. En el caso de tomates y papas debe producirse la saturación del suelo durante al menos un día para producirse la infección. Las temperaturas favorables del suelo para el desarrollo de la enfermedad deben ser de moderadas a frescas, siendo 24 °C la óptima, 13 °C la mínima y 30 °C la máxima (InfoAgro, 2006).

El hongo forma microesclerocios que permanecen en el suelo en restos de cultivos, siendo capaz de soportar condiciones extremas y sobrevivir durante más de 12-14 años. La diseminación se produce especialmente a través del agua de riego, tierra en calzado y material de plantación infectado. Las malezas actúan como reservorio de la enfermedad (InfoAgro, 2006).

2.1.3 Estudio taxonómico y genético de *Fusarium oxysporum* fs. p. *Lycopersici*

El estudio taxonómico de *Fusarium oxysporum* se basa en la morfología, en el desarrollo de las estructuras reproductivas y en la manera como se forman, como lo referencia Kistler, (1997). Cuando se utiliza el taxón forma especial (f. sp.) este corresponde a cepas cuyas características morfológicas y de cultivo son indistinguibles, pero muestran diferentes propiedades fisiológicas en su habilidad para parasitar un hospedante específico Booth, (1975). Se ha empleado este taxón para categorizar aislamientos que causan enfermedades de una especie, género o familia en particular Bosland, (1987); Bosland, (1988), por ende, los aislamientos con el mismo rango de hospedantes se asignan a una forma especial. Se han reportado más de 70 formas especiales del patógeno (Kistler, 1997). Las formas especiales del patógeno *Fusarium oxysporum* se han subdividido en razas fisiológicas, basados en su especificidad patogénica sobre determinadas variedades de una misma especie de planta, razón por la cual las pruebas de patogenicidad y las características de virulencia de los aislamientos del hongo han sido el principal criterio para diferenciar las formas especiales de *Fusarium oxysporum* y sus razas fisiológicas (Bosland, 1988).

Según Kistler (1997), existe el problema de determinar el grado de diversidad genética que existe entre categorías subespecíficas y si hay correlación entre genotipo y fenotipo patogénico, ya que en algunos estudios no se ha observado una clara diferencia entre los patotipos (bien sea forma especial o raza) y los genotipos determinados por RFLPs, RAPDs o DNA 'fingerprint'.

En cuanto al origen de las formas especiales de *Fusarium oxysporum* ha existido controversia acerca de si es o no monofilético. En algunos casos se ha observado que genéticamente, los aislamientos ubicados dentro de la misma forma especial presentan mayor similitud, que en aquellos aislamientos que pertenecen a diferentes formas especiales. Tal es el caso de aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *radicis-lycopersici*, *niveum* y *cubense*, lo cual se interpreta por un posible origen monofilético Kistler, (1997). Por el contrario, hallazgos de Appel, (1994), sugieren que ciertos aislamientos dentro de una forma especial son menos similares genéticamente a otros de la misma forma especial, que a aislamientos no patogénicos o pertenecientes a otras formas especiales, colocando en duda su origen monofilético.

La marchitez vascular producida por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) es la principal enfermedad que causa problemas en el cultivo, disminuye en un 60% el rendimiento y afecta la calidad del producto. Esta enfermedad, la cual se ha reportado en por lo menos 32 países Jones, (1991), prospera en una diversidad de condiciones ambientales desde trópicos secos hasta climas templados (Cai, 2003).

2.1.4 Medicamentos Homeopáticos

La homeopatía propiamente, surge en Alemania con Samuel Hahnemann (1755-1843), creador de la homeopatía a finales del siglo XVIII (Barros, 1977).

Se basa en tres principios básicos:

1. Ley de semejanza o similitud (origen hipocrático). El Dr. Ángel Marzetti, en su libro "*La Homeopatía, Medicina del Porvenir*", habla sobre el reconocimiento involuntario de la existencia de este principio, ejemplificando; "*Diez o veinte gramos de sulfato de sodio producen una diarrea acuosa con poco dolor. Diez o veinte centigramos o aun una cantidad mucho menor, curan una diarrea semejante* (Ballester, 1999).

2. Individualización del enfermo y no de la enfermedad. Basado en las patogénesis, que es el conjunto de perturbaciones que la sustancia en dosis ponderables genera en el experimentador (Ballester, 1999).
3. Dosis infinitesimales o microdosis de sustancia activa. Por medio de diluciones y dinamizaciones se obtiene el remedio homeopático (Ballester, 1999).

Se conoce como medicamento homeopático cuando cumple con las leyes de semejanzas, lo que quiere decir, que durante su preparación fue a un proceso de dinamización el cual está basado que a partir de la tintura madre se procedió a realizar las debidas diluciones y sucusiones Buegel, (1999), Gruner, (2008) define este proceso como, la agitación energética de una sustancia diluida. Utilizando un centímetro cúbico de la tintura madre en nueve (dilución decimal), noventa y nueve (centesimal) o novecientos noventa y nueve (milesimal) centímetros cúbicos de agua o alcohol se agita energéticamente la mezcla. La lógica y objetivo de este mecanismo se basa en que entre más se diluya y dinamice una sustancia con fines homeopáticos, mayor potente será su efecto, y es claro como anteriormente se mencionó, que este principio de dinamismo farmacológico está fundamentado con el principio homeopático de la ley de los infinitesimales (Gerber, 2000).

2.1.4.1 Origen de los Medicamentos Homeopáticos

Según Tichavsky, (2007), las sustancias homeopáticas se catalogan por su origen, en su mayoría se extraen de la naturaleza: es decir, son de origen animal, mineral o vegetal. Además se pueden preparar dinamizaciones de cargas energéticas, patógenos o gases. En el caso de las sustancias elaboradas de patógenos (tejidos enfermos) hablamos de biopreparados (antes conocidos también como nosodes). Como ejemplo de sustancias de origen vegetal podemos mencionar la belladona o árnica montana; de origen animal *Apis melífica*, extraída del veneno de las abejas; *Crotalus horridus* extraído del veneno de la serpiente conocida en México como cascabel. Como ejemplo de una sustancia mineral podemos mencionar *sulphur* (azufre), *phosphorus* o *arsenicum*. En el caso de los gases se pueden realizar dinamizaciones de los gases de escape del coche, por ejemplo, y en el caso de cargas energéticas podemos dinamizar solución hidroalcohólica magnetizada o pasada por carga de microondas. Los medicamentos homeopáticos generalmente adoptan nombres en latín, a veces se refieren al nombre de la planta animal o sustancia, otras veces denotan en su nombre la manera de prepararla. Minerales como el arsénico, el azufre, el plomo, el

carbonato de calcio, el fósforo y el antimonio son ampliamente utilizados en la medicina homeopática a manera de medicamento.

2.1.5 Uso de la homeopatía en la agricultura

Existen varias alternativas de control de enfermedades de manera ecológica, una de las principales es el control biológico, del cual una de sus herramientas para este control es el antagonismo. Sin embargo, otra alternativa es la homeopatía agrícola o a su vez agrohomeopatía, de la cual no se tiene mucha información por ser una alternativa nueva y poco implementada pero la cual persigue una agricultura amigable con el ambiente y al mismo tiempo sostenible para los pequeños agricultores.

Diferentes estudios realizados muestran que la homeopatía puede aplicarse tanto en seres humanos, animales, así como en plantas, brindando ciertos beneficios para el manejo de enfermedades de una manera ecológica. Por ello son motivo de interés en países como México, Brasil y Cuba, quienes son los que están implementando esta nueva alternativa. De acuerdo con lo mencionado por Cruz *et al.*, (2005), una de las alternativas que promete es el empleo de productos homeopáticos. Estos, por su manera especial de preparación, no acarrearán ningún tipo de contaminación al medio ni al hombre. El empleo de altas diluciones (dinamizaciones) hace mucho más inocuos los mismos ya que en el producto final solo permanece la energía del medicamento.

La agrohomeopatía, es una ciencia relativamente nueva, dispone un modelo diferente, económicamente viable incluso en condiciones muy rústicas, socialmente benéfico y lo más importante: fácilmente replicable Barberato, (2002). Ya que trata a los síntomas de afectaciones en un cultivo, realiza acciones preventivas, pero además puede tratar los traumas que conserva la planta en su memoria biológica, producto de hibridación forzada, traslados a lugares fuera de su hábitat natural o debido a la fertilización exagerada que maximiza al extremo su producción. “Los agrotóxicos y fertilizantes químicos presentan alto contenido químico y baja energía, siendo aplicados a un organismo este recibirá influencias de baja energía, siendo su energía interna desequilibrada o podrá generar manifestaciones de síntomas. Las sustancias homeopáticas son altamente energéticas y contribuyen al proceso de curación, siendo los organismos sometidos a tratamientos homeopáticos menos vulnerables a las dolencias” (Andrade, 2000).

Los medicamentos homeopáticos se catalogan por su origen, en su mayoría se extraen de la naturaleza: es decir, son de origen vegetal, animal o mineral. También se preparan dinamizaciones de gases, cargas energéticas o patógenas. Los medicamentos homeopáticos se dividen en policrestos, semi-policrestos, monocrestos y bioterápicos Tichavsky, (2007). Los medicamentos homeopáticos pueden ser administrados a cualquier ser vivo, incluyendo plantas terrestres Kayne, (1991). Una de las razones de la relativa marginación de la agrohomeopatía consiste en que se basa en experiencias prácticas, ya que a pesar de varios intentos hasta ahora no existe una teoría generalmente aceptada, que pudiera explicar su funcionamiento (Guajardo, 1996).

Los estudios de agrohomeopatía, basados en investigaciones científicas, han sido determinantes en los últimos diez años para la agricultura. Se han realizado experimentos con herbicidas y otras sustancias sintetizadas artificialmente, aplicados en forma homeopática, funcionando estos como promotores de crecimiento en plantas, sin producir efectos negativos tales como la resistencia de microorganismos patógenos y daño al medio ambiente. En países como Brasil, India y Cuba se tienen grupos de investigación aplicados a la agrohomeopatía, en donde se han obtenido resultados aplicables al campo Castro, (2000). Resultados científicamente comprobados en los cultivos validan su capacidad de modificar al crecimiento, comportamiento de la planta, cantidad, forma de frutos, abundancia del follaje entre otros y puede controlar la mayoría de plagas y enfermedades conocidas Silva, (2002); Rossi, (2005). Se ha investigado también sobre el efecto de diferentes productos homeopáticos sobre hongos fitopatógenos en condiciones *in vitro* Cruz *et al.*, (2005).

2.1.6 Antagonismo.

Se considera al control biológico como la “reducción de la cantidad de inóculo de un patógeno o de sus actividades para causar enfermedad, obtenida por o a través de uno o más organismos diferentes del hombre”. Para dichos autores, las actividades determinantes de enfermedades involucran crecimiento, infectividad, virulencia, agresividad, sobrevivencia y otras características del patógeno, o procesos que determinan infección, desarrollo de síntomas y reproducción (Cook, 1983).

2.1.6.1 Antagonismo *in vitro*

Los microorganismos del suelo juegan un papel crítico en la interacción planta-suelo a nivel rizósfera, tanto los patógenos como los agentes de biocontrol (López, 2007).

(Pocasangre, 2000) Indica que la utilización de microorganismos antagonistas constituye una alternativa para disminuir los porcentajes de incidencia y severidad de enfermedades en bananeras y plataneras de Nicaragua, mientras mejoran la nutrición y la resistencia de las plantas a las enfermedades.

Debido a su desempeño en el combate biológico de enfermedades, *Trichoderma* spp., muestra efectividad en la reducción de pérdidas atribuidas a un número de patógenos transmitidos por el suelo, incluyendo la marchitez por *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Phytophthora*, *Verticillium*, *Sclerotium rolfsii*, *Ralstonia solanacearum* (Yamaguchi, 1992).

2.1.6.2 Antagonismo *in vivo*

El uso de cultivares resistentes es el método más sencillo, barato, efectivo y seguro para el control de las enfermedades Fernández, (2001). Sin embargo, esta estrategia de control requiere encontrar variedades de plantas cultivadas, capaces de resistir los daños causados por dichas enfermedades. La importancia de las variedades resistentes es reconocida universalmente, pues el éxito o fracaso de un cultivo depende frecuentemente de la reacción que tenga éste frente a un patógeno determinado (Fernández, 2001).

Sin embargo como se mencionó antes la agrohomeopatía es una alternativa de control ecológico más sencillo de manejar y con buenos resultados.

2.1.6.3 Formas para evaluar el antagonismo

El control biológico de enfermedades se establece a través de una interacción continua entre los potenciales patógenos y sus antagonistas, de forma tal que estos últimos contribuyen a que no haya enfermedad en la mayoría de los casos, es decir, causan un control biológico que funciona naturalmente (Vero, 2002).

El control biológico de fitopatógenos mediante organismos antagonistas es una de las líneas de investigación y desarrollo de mayor expansión en México, durante los últimos años. Su impulso obedece en buena medida a la importancia que tiene la agricultura dedicada a productos de exportación, la cual ha demandado tecnologías para la producción, formulación y aplicación de agentes de control biológico de fitopatógenos (Ibarra, 2006).

CAPÍTULO III
MÉTODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Localización

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal del Departamento de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, ubicado en la Av. Quito Km 1,5 vía a Santo Domingo de los Tsáchilas de la provincia de Los Ríos.

3.2 Tipo de Investigación

Se realizó una investigación de tipo experimental en la cual se evaluaron los medicamentos homeopáticos sobre el patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* que causa enfermedades en hortalizas.

3.3 Material Genético

Para el experimento se emplearon plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) de la variedad Floradade, también se emplearon cepas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* de la colección del Laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal del Departamento de Biotecnología de la UTEQ.

3.4 Métodos de la Investigación

En la investigación se utilizaron los siguientes métodos:

- **El inductivo:** se utilizó para delimitar las variables y además la información más relevante referente a los efectos de los medicamentos homeopáticos.
- **El deductivo:** se utilizó partiendo de lo general a lo específico, a fin de identificar el efecto del uso de los medicamentos homeopáticos sobre los patógenos.
- **Analítico:** se utilizó para el análisis e interpretación de los datos y resultados obtenidos.
- **Observación:** se aplicó para determinar las diferencias que se presentan visualmente en las plantas de tomate del efecto entre los factores en estudio.

3.5 Fuentes de Recopilación de la Información

Se recopiló información de fuentes secundarias (textos, revistas científicas, documentos y otros) con el fin de obtener datos sobre medicamentos homeopáticos actualizados que permitan inferir o comparar los resultados generados en este trabajo. Además, se consultó fuentes primarias basadas en la observación.

3.6 Instrumentos de investigación

- **Factores en Estudio**

Se estudiaron dos fases dos factores por cada fase.

1° fase *in vitro*:

a) Diluciones

D1: 7 C centesimal

D2: 13 C centesimal

b) Medicamentos homeopáticos

Mh1: *Magnesia phosphorica*

Mh2: *Zincum phosphoricum*

Mh3: *Phosphoricum acidum*

Mh4: *Silicea terra*

Mh5: *Natrum muriaticum*

Mh6: *Arsenica album*

2° fase *in vivo*:

a) Diluciones

D1: 7C centesimal

D2: 13C centesimal

b) Medicamentos homeopáticos

Mh1: *Zincum phosphoricum*

Mh2: *Phosphoricum acidum*

Mh3: *Silicea terra*

Mh4: *Natrum muriaticum*

Tratamientos estudiados primera fase

Con la combinación de los dos factores se establecieron 13 tratamientos de los cuales se estableció un testigo.

T1: D₁Mh₁ (*Magnesia phosphorica* 7C)

T₂: D₁Mh₂ (*Zincum phosphoricum* 7C)
T₃: D₁Mh₃ (*Phosphoricum acidum* 7C)
T₄: D₁Mh₄ (*Silicea terra* 7C)
T₅: D₁Mh₅ (*Natrum muriaticum* 7C)
T₆: D₁Mh₆ (*Arsenica album* 7C)
T₇: D₂Mh₁ (*Magnesia phosphorica* 13C)
T₈: D₂Mh₂ (*Zincum phosphoricum* 13C)
T₉: D₂Mh₃ (*Phosphoricum acidum* 13C)
T₁₀: D₂Mh₄ (*Natrum muriaticum* 13C)
T₁₁: D₂Mh₅ (*Silicea terra* 13C)
T₁₂: D₂Mh₆ (*Arsenica album* 13C)
T₁₃: Testigo absoluto.

Tratamientos estudiados segunda fase

Con la combinación de los dos factores se establecieron 8 tratamientos más tres testigos.

T₁: D₁Mh₁ (*Zincum phosphoricum* 7C)
T₂: D₁Mh₂ (*Phosphoricum acidum* 7C)
T₃: D₁Mh₃ (*Silicea terra* 7C)
T₄: D₁Mh₄ (*Natrum muriaticum* 7C)
T₅: D₂Mh₁ (*Zincum phosphoricum* 13C)
T₆: D₂Mh₂ (*Phosphoricum acidum* 13C)
T₇: D₂Mh₃ (*Silicea terra* 13C)
T₈: D₂Mh₄ (*Natrum muriaticum* 13C)
T₉: Alcohol homeopático
T₊: Testigo positivo (antibiótico)
T₋: Testigo negativo (agua destilada)

3.7 Diseño de la Investigación y Análisis Estadístico

3.7.1 Diseño de la Investigación fase *in vitro*

El diseño experimental que se empleó en la investigación es Diseño completamente al azar con arreglo factorial de 2 x 6 + 1 en 3 repeticiones, donde el factor A las concentraciones de los medicamentos homeopáticos, el factor B los diferentes tratamientos homeopáticos. Las

variables en estudio serán sometidas al análisis de varianza y se utilizara la prueba de Duncan al 95% de probabilidad, utilizando InfoStat para establecer las diferencia estadísticas.

Tabla 1. Esquema del ADEVA para fase *in vitro*

| Fuentes de variación | Grados de libertad |
|---|---------------------------|
| Diluciones | 1 |
| Medicamento homeopático | 5 |
| Interacción (Dilución x M. homeopático) | 5 |
| Residuo | 2 |
| Error | 22 |
| Total | 35 |

3.7.2 Diseño de la Investigación Fase *in vivo*

El diseño experimental empleado fue el denominado Diseño completamente al azar con arreglo factorial de 2 x 4 + 3 en 3 repeticiones, donde el factor A las concentraciones de los medicamentos homeopáticos, el factor B los diferentes tratamientos homeopáticos. Las variables en estudio serán sometidas al análisis de varianza y se utilizara la prueba de Duncan al 95% de probabilidad, utilizando InfoStat para establecer las diferencia estadísticas.

Tabla 2. Esquema del ADEVA para fase *in vivo*

| Fuentes de variación | Grados de libertad |
|---|---------------------------|
| Diluciones | 1 |
| Medicamento homeopático | 3 |
| Interacción (Dilución x M. homeopático) | 3 |
| Residuo | 3 |
| Error | 13 |
| Total | 23 |

3.8 Manejo del Experimento

3.8.1 Primera fase *in vitro*

Se utilizaron una serie de técnicas para medir el efecto inhibitorio de los medicamentos homeopáticos frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. entre ellas; por envenenamiento, por pocillos, y aplicar el medicamento luego del crecimiento del patógeno, una vez se determinó la mejor técnica se procedió a la estandarización de la misma, que consistió en cambiar el número de succiones y las diluciones, la cual fue la técnica por envenenamiento.

3.8.1.1 Reproducción de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* en condiciones de laboratorio

Se utilizó la cepa de la colección del Laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal del Departamento de Biotecnología de la UTEQ, y se realizó la replicación del hongo en una cabina de flujo laminar. Brevemente, con una espátula se procedió a retirar un disco de agar conteniendo el patógeno, previamente crecido a una nueva caja petri que solo contenía el medio de cultivo PDA previamente esterilizado en un autoclave, realizado este proceso, se colocó en una incubadora a 28 °C, durante 7 días (Anexos 2, 3 y 4).

3.8.1.2 Tratamientos Evaluados

Para la investigación se establecieron 6 tratamientos y 1 repetición.

Como se muestra en la tabla 3, para llevar los medicamentos homeopáticos a diluciones de 7C y 13C respectivamente, se aplicaron los principios básicos de la homeopatía el cual inicio con la respectiva dilución del medicamento que consistió en tomar 1mL del medicamento homeopático en 99mL de agua destilada, luego se procedió a la succión que consiste en una serie de agitaciones energéticas para homogenizar la dilución (Anexo 1).

3.8.1.3 Evaluación *in vitro* de los medicamentos homeopáticos sobre *F. oxysporum* f. sp *lycopersici*

3.8.1.3.1 Pruebas de inhibición

Se empleó el método del medio envenenado, que consiste en incluir 1 mL de los medicamentos homeopáticos a diluciones de 6, 7 y 13C, en 20 mL de medio en cada placa Petri. Después de aproximadamente 10 a 15 min, con el medio gelificado, se procedió a insertar un disco de agar conteniendo el fitopatógeno, el cual se obtuvo a través de un

sacabocados del número cuatro y una espátula de doble punta. Finalmente se sellaron las placas petri con parafilm y se incubaron a 28°C por 7 días. El experimento se evaluó a partir del día de la siembra del patógeno, cada 24 horas, tomando el crecimiento micelial del patógeno (cm) en cada placa.

Tabla 3. Medicamentos homeopáticos de la Farmacia Homeopática Nacional (México).

| Medicamento Homeopático | Diluciones |
|--------------------------------|-------------------|
| <i>Magnesia phosphorica</i> | 6C y 12C |
| <i>Zincum phosphoricum</i> | 6C y 12C |
| <i>Phosphoricum acidum</i> | 6C y 12C |
| <i>Silicea terra</i> | 6C y 12C |
| <i>Natrum muriaticum</i> | 6C y 12C |
| <i>Arsenica album</i> | 6C y 12C |

3.8.1.3.2 Conteo de esporas

Para el conteo de esporas se aplicaron 10mL de agua esterilizada en la caja Petri donde se desarrolló el hongo en diluciones de 6, 7 y 13C, con una varilla de vidrio se raspo el micelio filtrándose en tubos eppendorf. Se aplicó una gota de la solución de TWEEN 20% y se agito por 10 segundos. Para el conteo de esporas se usó la cámara de Neubauer en donde se colocaron 20 µL de la muestra y se observaron en un microscopio Olympus CX21 (40x) (anexo 7).

3.8.2 Segunda fase *in vivo*

Similar a la primera fase se realizaron una series de prueba para las técnicas; por infiltración al peciolo, por infiltración al tallo, infiltración al peciolo y tallo, por aspersion, y por empapamiento del suelo, una vez determinada la mejor técnica, se continuo con la estandarización de la misma, las cuales consistían en evaluar que dosis funcionaba mejor, y el tiempo en el que las plántulas mostraban síntomas de infección, utilizando finalmente la técnica de infiltración al peciolo.

Las plantas de tomate usadas en el presente estudio fueron previamente tratadas con diferentes medicamentos homeopáticos. Brevemente, las semillas fueron sumergidas 20 minutos con los medicamentos homeopáticos *Zincum phosphoricum*, *Phosphoricum acidum*, *Silicea terra* y *Natrum muriaticum* en diluciones de 7 y 13C. Posteriormente, las semillas se sembraron en macetas de aproximadamente 1 kg, las cuales contenían sustrato. Para obtener las plantas que serán infectadas, se iniciará con la aplicación diaria del riego y los medicamentos homeopáticos fueron aplicados mediante aspersión al follaje de las plantas.

3.8.2.1 Evaluación durante fase *in vivo*

Se desarrolló un diseño experimental para evaluar el efecto de los medicamentos homeopáticos (por triplicado) sobre la respuesta al ataque de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Se realizó bajo condiciones de laboratorio, inoculando el fitopatógeno por la metodología de hojas infiltradas en las especies objetivo previamente tratado con los medicamentos homeopáticos (anexo 13). Se incluye un control negativo (sin tratamiento previo y sin la inoculación del fitopatógeno), un control positivo (inoculado con el patógeno y sin el medicamento homeopático) y un control de etanol (inoculado el patógeno y con etanol a 85° GL).

3.8.2.2 Reto experimental

Se utilizaron 40 plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) previamente tratadas con los medicamentos homeopáticos mencionados en la sección 3.8.2, posteriormente se realizó el tutorio de las plantas en el invernadero de microbiología y luego de 2 días se procedió infectar cada una de ellas utilizando una técnica de infiltración al peciolo que consiste en descargar esporas del patógeno en los conductos vasculares de cada peciolo de la planta, se inoculó 1ml de esporas que contienen aproximadamente 1.687.500 esporas, después se procedió a observar supervivencia de los tratamientos y el control manteniendo las plantas solo con agua en base al método de observación.

3.9 Datos registrados y formas de evaluación

3.9.1 Variables evaluadas en la fase *in vitro*

3.9.1.1 Diámetro micelial (cm)

Se midió con un vernier (calibrador o pie de rey), desde el centro del pozo hasta el borde del halo de inhibición, en comparación con el testigo se determinó cual tratamiento presento menor diámetro micelial el cual se realizó en diluciones de 6, 7 y 13C (centesimal), respectivamente (anexos 5 y 6).

3.9.1.2 Número de esporas

Se realizó el conteo por medio de una cámara Neubauer, se utilizó 20 μ l seguidamente se la coloco en un vortex durante aproximadamente 20 – 30 segundos, finalmente se procedió con el conteo el cual se evaluó en diluciones de 6, 7 y 13C (centesimal), respectivamente (anexo 21). Se determinó el porcentaje de inhibición utilizando la siguiente fórmula:

% de Inhibición

$$= \frac{\text{Número de esporas testigo} - \text{Número de esporas tratamiento}}{\text{Número de esporas testigo}} * 100$$

También se aplicó la fórmula para sacar la concentración de la cámara Neubauer:

$$\% \text{ de Concentración} = \frac{\text{Número de esporas} * 10000}{4}$$

3.9.2 Variables evaluadas en la fase *in vivo*

3.9.2.1 Supervivencia

Se realizó el conteo de plántulas vivas por método observatorio, el daño de las plántulas se evaluó mediante métodos cualitativos sobre el tejido de hojas y tallo, y se realizaron análisis comparativos descriptivos.

3.9.2.2 Numero de estomas

Se realizó el conteo por medio de una cámara Neubauer, de cada uno de los tratamientos, se realizaron tres observaciones distintas por muestras, y se las promedió para obtener un total por tratamiento. Para obtener las muestras se aplicó brillo de uñas ultra secante sobre el envés de la hoja, luego de 10 a 15 minutos aproximadamente se realizó la extracción del esmalte cuidadosamente para no dañar el tejido y por ende obtener una buena muestra, este procedimiento se realizó para todas las muestras.

3.10 Recursos humanos y materiales

3.10.1 Recursos humanos

En el presente Proyecto de Investigación se contó con los siguientes recursos humanos:

- El Dr. Fernando Abasolo Pacheco en calidad de Director del Proyecto de Investigación, quien dirigió el proyecto de investigación.
- Al Dr. Hayron Canchignia docente de la Facultad de Ciencias Agrarias que colaboró con la guía de la metodología inicial del proyecto.
- Al Dr. Pablo Ramos docente de la Facultad de Ciencias Agrarias.
- Al Fondo Competitivo de Investigación Científica y Tecnológica (FOCICYT) por permitir los requerimientos respectivos de la utilización del laboratorio.

3.10.2 Recursos Materiales

➤ Implementos

Medicamentos homeopáticos (*Arsenica Album*, *Magnesia phosphorica*, *Silicea terra*, *Natrum muriaticum*, *Zincum phosphoricum* y *Phosphoricum acidum*).

Hongo patógeno: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Plantas de tomate de variedad *Floradade*

➤ Equipo de Laboratorio

Balanza analítica

Estufa

Micropipetas

Incubadora

Campana de flujo laminar

Autoclave

➤ **Oficina**

Bolígrafos

Computadora

Etiquetas

Hojas A4

Libreta de registro

| Fase <i>in vitro</i> | Fase <i>in vivo</i> |
|-----------------------------------|----------------------------|
| Alcohol 85°GL | Alcohol 85°GL |
| Cajas Petri | Guantes |
| Medio de cultivo PDA | Jeringa de insulina |
| Sacabocados n°4 | Tubos eppendorf |
| Espátula doble punta | Tween 80% |
| Probeta 10 ml | Barredora |
| Mechero | Mechero |
| Mandil | Mandil |
| Piceta | Fósforos |
| Tijeras | Puntas amarillas |
| Probeta | Puntas azules |
| Frascos de vidrio | Agua destilada |
| Frascos chop | |
| Matraz | |
| Fósforos | |
| Tween 80% | |
| Puntas amarillas | |
| Puntas azules | |
| Parafilm | |
| Vernier (Calibrador o pie de rey) | |
| Agua destilada | |
| Barredora | |
| Tubos eppendorf | |
| Medicamentos homeopáticos | |

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

4.1.1 Pruebas de inhibición *in vitro*

4.1.1.1 Conteo de esporas en diluciones de 7C y 13C

Los resultados se muestran a continuación en la tabla 4, correspondientes al número de esporas.

Para la variable del número de esporas los medicamentos homeopáticos presentaron significancia estadística, mientras que las diluciones, y la interacción entre ambos no presentaron significancia estadísticas, siendo el coeficiente de variación 20,71%.

Las diluciones no presentan diferencias estadísticas para el número de esporas, con promedios de 32 y 29 esporas, para 7C y 13C, respectivamente

Para los medicamentos homeopáticos *Phosphoricum acidum* presento el mayor promedio con un valor de 41 esporas, mostrando diferencias significativas frente a los demás tratamientos con promedios de 27 y 30 esporas, respectivamente.

Para los tratamientos, *Phosphoricum acidum* es el que presento mayor promedio con valores de 42 esporas mostrando diferencias significativas a los demás tratamientos y al control que presentaron promedios entre 24 y 40 esporas, respectivamente.

El medicamento homeopático *Silicea terra* en dilución de 13C obtuvo un promedio de 24 esporas.

4.1.1.2 Conteo de esporas en diluciones de 6C y 7C

Los resultados se muestran en la tabla 5, correspondientes al número de esporas.

Para la variable del número de esporas las diluciones y la interacción de los dos factores mostraron alta significancia estadística, sin embargo los medicamentos homeopáticos no presentaron significancia estadística, siendo el coeficiente de variación 43,76%.

La dilución 7C presento la mayor cantidad de número de esporas con un promedio de 18 esporas estadísticamente superior a la dosis 6C que mostro un promedio de 5 esporas.

Tabla 4. Conteo de esporas en diluciones 7C y 13C durante la evaluación in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* tratados con diferentes medicamentos homeopáticos

| CONTEO DE ESPORAS EN DILUCIONES 7C Y 13C | | |
|---|----|-------|
| Diluciones | | |
| D1: 7C centesimal | 32 | |
| D2: 13C centesimal | 29 | |
| Medicamentos homeopáticos | | |
| MH1: <i>Silicea terra</i> | 29 | b |
| MH2: <i>Natrum muriaticum</i> | 30 | b |
| MH3: <i>Zincum phosphoricum</i> | 25 | b |
| MH4: <i>Phosphoricum acidum</i> | 41 | a |
| MH5: <i>Arsenica album</i> | 30 | b |
| MH6: <i>Magnesia phosphorica</i> | 27 | b |
| Tratamientos | | |
| D1MH1: 7C de <i>Silicea terra</i> | 34 | abc |
| D1MH2: 7C de <i>Natrum muriaticum</i> | 32 | abc |
| D1MH3: 7C de <i>Zincum phosphoricum</i> | 25 | bc |
| D1MH4: 7C de <i>Phosphoricum acidum</i> | 40 | ab |
| D1MH5: 7C de <i>Arsenica album</i> | 32 | abc |
| D1MH6: 7C de <i>Magnesia phosphorica</i> | 27 | abc |
| D2MH1: 13C de <i>Silicea terra</i> | 24 | c |
| D2MH2: 13C de <i>Natrum muriaticum</i> | 29 | abc |
| D2MH3: 13C de <i>Zincum phosphoricum</i> | 25 | bc |
| D2MH4: 13C de <i>Phosphoricum acidum</i> | 42 | a |
| D2MH5: 13C de <i>Arsenica album</i> | 29 | abc |
| D2MH6: 13C de <i>Magnesia phosphorica</i> | 28 | abc |
| T1: Agua | 38 | abc |
| Promedios | | 31 |
| Coefficiente de variación % | | 20,71 |

1/ Promedios con la misma letra en cada grupo de datos no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan al 95% de probabilidad.

Tabla 5. Conteo de esporas en diluciones 6C y 7C durante la evaluación *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* tratados con diferentes medicamentos homeopáticos

| CONTEO DE ESPORAS EN DILUCIONES 6C Y 7C | | |
|--|----|-------|
| Diluciones | | |
| D1: 6C centesimal | 5 | b |
| D2: 7C centesimal | 18 | a |
| Medicamentos homeopáticos | | |
| MH1: <i>Silicea terra</i> | 13 | |
| MH2: <i>Natrum muriaticum</i> | 10 | |
| MH3: <i>Zincum phosphoricum</i> | 14 | |
| MH4: <i>Phosphoricum acidum</i> | 9 | |
| MH5: <i>Arsenica album</i> | 10 | |
| MH6: <i>Magnesia phosphorica</i> | 10 | |
| Tratamientos | | |
| D1MH1: 6C de <i>Silicea terra</i> | 8 | ab |
| D1MH2: 6C de <i>Natrum muriaticum</i> | 8 | ab |
| D1MH3: 6C de <i>Zincum phosphoricum</i> | 10 | ab |
| D1MH4: 6C de <i>Phosphoricum acidum</i> | 1 | b |
| D1MH5: 6C de <i>Arsenica album</i> | 5 | b |
| D1MH6: 6C de <i>Magnesia phosphorica</i> | 3 | b |
| D2MH1: 7C de <i>Silicea terra</i> | 18 | a |
| D2MH2: 7C de <i>Natrum muriaticum</i> | 17 | a |
| D2MH3: 7C de <i>Zincum phosphoricum</i> | 19 | a |
| D2MH4: 7C de <i>Phosphoricum acidum</i> | 18 | a |
| D2MH5: 7C de <i>Arsenica album</i> | 16 | a |
| D2MH6: 7C de <i>Magnesia phosphorica</i> | 17 | a |
| T1: Agua | 20 | a |
| Promedios | | 12 |
| Coefficiente de variación % | | 43,76 |

1/ Promedios con la misma letra en cada grupo de datos no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan al 95% de probabilidad.

Los medicamentos homeopáticos no presentan diferencias significativas entre ellos, presentando promedios entre 9 y 14 esporas, respectivamente.

Para los tratamientos muestra que el Testigo presentó el mayor número de esporas con un promedio de 20 esporas presentando diferencias significativas frente a los demás tratamientos que presentaron promedios entre 1 y 19 esporas, respectivamente.

Los medicamentos homeopáticos *Phosphoricum acidum*, *Arsenica album*, y *Magnesia phosphorica* en dilución de 6C, presentaron promedio de 1, 5 y 3 esporas, respectivamente.

4.1.1.3 Diámetro micelial en diluciones de 7C y 13C

Los resultados se muestran en la tabla 6, correspondientes al diámetro micelial.

Para la variable del diámetro micelial, las diluciones no presentaron significancia estadística, sin embargo los medicamentos y la interacción entre ambos presento significancia estadística, siendo el coeficiente de variación 14,41%.

Las diluciones no presentan diferencias estadísticas para el diámetro micelial, con promedios de 3,00 y 2,75cm para las dosis 7C y 13C, respectivamente

Los medicamentos homeopáticos el que presentó mejores resultados fue *Arsenica album* con un promedio de 3,19cm con diferencias significativas a los demás tratamientos que presentaron promedios entre 2,38 y 3,13cm.

Para los tratamientos muestra que el Testigo presentó el mayor diámetro micelial con un promedio de 3,63cm presentando diferencias significativas a los demás tratamientos que presentaron promedios entre 2,53 y 3,50cm.

4.1.1.4 Diámetro micelial en diluciones de 6C y 7C

Los resultados se muestran en la tabla 7, correspondientes al diámetro micelial.

Para la variable del diámetro micelial de acuerdo al análisis de la varianza las diluciones y la interacción entre ambos presentaron alta significancia estadística, mientras que los medicamentos presentaron significancia estadística, siendo el coeficiente de variación 8,68%.

Tabla 6. Diámetro micelial en diluciones de 7C y 13C durante la evaluación *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* tratados con diferentes medicamentos homeopáticos

| DIÁMETRO MICELIAL EN DILUCIONES 7C Y 13C | | |
|---|-------|-----|
| Diluciones | | |
| D1: 7C centesimal | 3,00 | |
| D2: 13C centesimal | 2,75 | |
| Medicamentos homeopáticos | | |
| MH1: <i>Silicea terra</i> | 2,81 | ab |
| MH2: <i>Natrum muriaticum</i> | 3,06 | a |
| MH3: <i>Zincum phosphoricum</i> | 2,70 | ab |
| MH4: <i>Phosphoricum acidum</i> | 3,13 | a |
| MH5: <i>Arsenica album</i> | 3,19 | a |
| MH6: <i>Magnesia phosphorica</i> | 2,38 | b |
| Tratamientos | | |
| D1MH1: 7C de <i>Silicea terra</i> | 3,25 | ab |
| D1MH2: 7C de <i>Natrum muriaticum</i> | 3,13 | abc |
| D1MH3: 7C de <i>Zincum phosphoricum</i> | 2,88 | abc |
| D1MH4: 7C de <i>Phosphoricum acidum</i> | 3,50 | a |
| D1MH5: 7C de <i>Arsenica album</i> | 3,13 | abc |
| D1MH6: 7C de <i>Magnesia phosphorica</i> | 2,13 | c |
| D2MH1: 13C de <i>Silicea terra</i> | 2,38 | bc |
| D2MH2: 13C de <i>Natrum muriaticum</i> | 3,00 | abc |
| D2MH3: 13C de <i>Zincum phosphoricum</i> | 2,53 | abc |
| D2MH4: 13C de <i>Phosphoricum acidum</i> | 2,75 | abc |
| D2MH5: 13C de <i>Arsenica album</i> | 3,25 | ab |
| D2MH6: 13C de <i>Magnesia phosphorica</i> | 2,63 | abc |
| T1: Agua | 3,63 | a |
| Promedios | 2,94 | |
| Coeficiente de variación % | 14,41 | |

1/ Promedios con la misma letra en cada grupo de datos no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan al 95% de probabilidad.

Tabla 7. Diámetro micelial para las diluciones 6C y 7C durante la evaluación *in vitro* de *Fusarium oxysporum* f. sp *lycopersici* tratados con diferentes medicamentos homeopáticos

| DIÁMETRO MICELIAL EN DILUCIONES 6C Y 7C | | |
|--|------|------|
| Diluciones | | |
| D1: 6C centesimal | 3,43 | a |
| D2: 7C centesimal | 0,59 | b |
| Medicamentos homeopáticos | | |
| MH1: <i>Silicea terra</i> | 2,08 | a |
| MH2: <i>Natrum muriaticum</i> | 1,98 | a |
| MH3: <i>Zincum phosphoricum</i> | 2,15 | a |
| MH4: <i>Phosphoricum acidum</i> | 2,20 | a |
| MH5: <i>Arsenica album</i> | 1,49 | b |
| MH6: <i>Magnesia phosphorica</i> | 2,16 | a |
| Tratamientos | | |
| D1MH1: 6C de <i>Silicea terra</i> | 0,50 | e |
| D1MH2: 6C de <i>Natrum muriaticum</i> | 0,50 | e |
| D1MH3: 6C de <i>Zincum phosphoricum</i> | 0,50 | e |
| D1MH4: 6C de <i>Phosphoricum acidum</i> | 0,50 | e |
| D1MH5: 6C de <i>Arsenica album</i> | 1,03 | d |
| D1MH6: 6C de <i>Magnesia phosphorica</i> | 0,50 | e |
| D2MH1: 7C de <i>Silicea terra</i> | 3,65 | ab |
| D2MH2: 7C de <i>Natrum muriaticum</i> | 3,45 | b |
| D2MH3: 7C de <i>Zincum phosphoricum</i> | 3,80 | ab |
| D2MH4: 7C de <i>Phosphoricum acidum</i> | 3,90 | ab |
| D2MH5: 7C de <i>Arsenica album</i> | 1,95 | c |
| D2MH6: 7C de <i>Magnesia phosphorica</i> | 3,83 | ab |
| T1: Agua | 4,00 | ab |
| Promedios | | 2,16 |
| Coefficiente de variación % | | 8,68 |

1/ Promedios con la misma letra en cada grupo de datos no difieren estadísticamente según la prueba de Duncan al 95% de probabilidad.

Los medicamentos homeopáticos presentaron diferencias significativas para el diámetro micelial siendo el mayor *Phosphoricum acidum* con un promedio de 2,20cm y el menor promedio fue de *Arsenica album* con 1,49cm.

Los tratamientos mostraron diferencia significativa para diámetro micelial siendo el mayor promedio para el control con 4cm y el menor para *Zincum phosphoricum* con un promedio de 0,50cm.

4.1.2 Pruebas de inhibición *in vivo*

4.1.2.1 Supervivencia

De acuerdo al método de observación indicado en la parte 3.4 la supervivencia se evaluó en referencia al grado de afectación de la respuesta de las plantas de tomate (*Solanum lycopersicum*) frente a la infección del patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, mostrando una muerte del 100% para las plantas que no fueron tratadas con medicamentos homeopáticos, y un porcentaje entre 40 y 60% para las plantas que fueron tratadas con estos medicamentos, como se puede observar en los anexos 14, 15 y 16, respectivamente para los tratamientos control negativo, *Zincum phosphoricum* 7C y *Silicea terra* 7C

4.1.2.2 Conteo de estomas 7C y 13C

En la tabla 8 se muestran los valores referentes al conteo de estomas.

Para el número de estomas de acuerdo al análisis de la varianza las dosis, los medicamentos y la interacción entre ambos no presentaron significancia estadística, siendo el coeficiente de variación 26,00%.

No hay diferencias estadísticas para el factor medicamentos homeopáticos presentando promedios entre 16 y 17estomas.

Para el factor dilución no se encontraron diferencias significativas mostrando promedios de 17y 16 estomas para 7C y 13C, respectivamente.

Para los tratamientos no se presentaron diferencias significativas obteniendo promedios entre 14 y 23 estomas.

Tabla 8. Conteo de estomas para las diluciones 7C y 13C

| CONTEO DE ESTOMAS EN DILUCIONES 7C Y 13C | |
|--|-------|
| Diluciones | |
| D1: 7C centesimal | 17 |
| D2: 13C centesimal | 16 |
| Medicamentos homeopáticos | |
| MH1: <i>Silicea terra</i> | 17 |
| MH2: <i>Natrum muriaticum</i> | 16 |
| MH3: <i>Zincum phosphoricum</i> | 16 |
| MH4: <i>Phosphoricum acidum</i> | 17 |
| Tratamientos | |
| D1MH1: 7CH de <i>Silicea terra</i> | 19 |
| D1MH2: 7CH de <i>Natrum muriaticum</i> | 18 |
| D1MH3: 7CH de <i>Zincum phosphoricum</i> | 14 |
| D1MH4: 7CH de <i>Phosphoricum acidum</i> | 17 |
| D2MH1: 13CH de <i>Silicea terra</i> | 15 |
| D2MH2: 13CH de <i>Natrum muriaticum</i> | 15 |
| D2MH3: 13CH de <i>Zincum</i> | 19 |
| D2MH4: 13CH de <i>Phosphoricum</i> | 17 |
| T1: Etanol 85°GL | 17 |
| T2: Agua | 15 |
| T3: Alcohol homeopático | 23 |
| Promedios | 16,60 |
| Coefficiente de variación % | 26,00 |

4.1 Discusión

Se logró determinar que su efectividad se encuentra determinada por factores como el vector de dilución, y las diluciones. En nuestra investigación se observó que el etanol 85°GL como vector de dilución inhibe significativamente el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Fol), por lo contrario si el vector es agua destilada el efecto es contrario, es decir, se ve favorecido el crecimiento del hongo (anexos 9 y 10). Al respecto, Solís *et al.*, (2005) obtuvieron porcentajes de inhibición con extractos etanólicos de 91.4, 93.4 y 94.0% en los patógenos *Alternaria solani* Sorauer, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.), y *Penicillium digitatum* (Pers.:Fr.), respectivamente. Estas diferencias pueden depender del patógeno, naturaleza y concentración real de las sustancias activas de los extractos. La efectividad depende de la dilución usada, por ejemplo Ramírez *et al.*, (2000) mencionan que se requieren 25 µg/ml de afinina para inhibición del 90% sobre el crecimiento de *Sclerotium rolfsii* y 28 µg/ml para *Sclerotium cepivorum*; con 150 µg/ml de afinina para *Fusarium* sp. obtuvieron una inhibición del 38% del crecimiento. Con 150 µg/ml de afinina para *Rhizoctonia solani* AG-3 un 100% de inhibición y con misma concentración para *Verticillium* sp. 45% de inhibición (Molina, 2004). En el presente trabajo las diluciones 6, 7 y 13 C difieren entre si respecto al crecimiento y reproducción del hongo. Para 6C no se reportó crecimiento ni reproducción para *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en los presentes tratamientos utilizados a la dilución 6, en comparación a 7 y 13 C (anexos 8, 11 y 12). Se observó en 6C el crecimiento de una presunta levadura la cual se especula es producida por los medicamentos homeopáticos y es la que puede estar ocasionando una restricción total del desarrollo y crecimiento del *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, aunque la levadura puede aumentar su tamaño independiente a el del patógeno. Al respecto Dal Bello *et al.*, (2005) obtuvieron 100 aislamientos de levadura del fitoplano de tomates y las confrontaron con el hongo *Botrytis cinerea*. Dos de las cepas que inhibieron la germinación del 50% de los conidios, redujeron el desarrollo de enfermedad sobre frutos.

Respecto a las dinamizaciones Rey, (2003) mediante una serie de experimentos, pudo comprobar que sustancias como el cloruro de litio o el cloruro de sodio modifican la estructura de hidrógeno del agua, probablemente gracias a las sucesivas agitaciones mecánicas vigorosas. De igual manera Davenas *et al.*, (1988), afirman que el paso de la sucusión en el proceso de dilución cambia sutilmente la estructura del agua, causando que el agua imite las moléculas del soluto. Lo que concuerda con nuestros resultados ya que

mientras mayor sea la dilución menor será el efecto expresado, lo que significada que mientras más alta la dilución el medicamento no funcionara, al contrario solo disminuirá el efecto por tales razones es preferible utilizarlo con diluciones hasta de 12C, ya que se considera que luego de esa dilución se pierde la molécula Rey, (2003) de la misma manera Cruz *et al.*, (2005) observó que la mayor efectividad en el control de *Fusarium solani* fue la lograda por *Selenium* 30CH. Este es un patógeno de difícil control incluso con productos químicos por lo que un control *in vitro* del 44 % se considera bueno. Aunque como se mencionó anteriormente un factor clave también es la dilución en la que se encuentra el medicamento homeopático, con los resultados obtenidos se puede especular que los medicamentos homeopáticos tendrían mayor actividad antagónica incluso que muchos microorganismos.

Se evaluó el efecto de inhibición en nuestro trabajo se observó que los tratamientos inhiben el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, coincide con resultados encontrados por Montes, (1990) señalan que el extracto de ajo ha demostrado tener un amplio espectro de acción inhibitoria, de 74 especies de plantas evaluadas, el extracto de ajo inhibió en diferentes grados la germinación de las esporas de 14 especies de hongos fitopatógenos. Grainge, (1988), indican también que el ajo y la cebolla (*Allium cepa* L.) con compuestos azufrados como principios activos, son las especies que destacan con un mayor espectro de acción inhibitoria. Mientras que Campos, (1979); Hurtado, 1979; De la Cruz, 2003; Tequida, (2002). Mencionan que Los extractos de *Larrea tridentata* han mostrado también un amplio espectro de acción inhibitorio del crecimiento del micelio de algunas especies de hongos fitopatógenos, entre las que se encuentran *Fusarium oxysporum*, *Verticillium* spp., y *R. solani* con un rango de inhibición. Algo similar obtuvo Gamboa, (2003) con respecto a los patógenos (*Fol*) y *V. dahliae*, se observó un consistente incremento inhibitorio al incrementar la concentración de *Larrea tridentata* un 5 a 10% con 72 h de incubación y disminuyó con 144 h de incubación. Es lo que sucedió con el medicamento homeopático *Phosphoricum acidum* en diluciones de 13C, que favoreció el crecimiento micelial del patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

La resistencia de la planta a las enfermedades está asociada con un número de respuestas de defensa, activadas por el hospedante después de ponerse en contacto con los patógenos. Se expresa frecuentemente como una reacción de hipersensibilidad, la cual resulta en la muerte celular acotada a los sitios de penetración del patógeno Amaral, (2008). Lo que a su vez

concuenda por lo realizado en la metodología aplicada para la fase *in vivo*, ya que donde se mostró los primeros síntomas de infección fue en los lugares donde se inoculó el patógeno. Resultados similares se obtuvieron con plantas previamente tratadas con los medicamentos homeopáticos ya que con las plantas que fueron tratadas presentaron un mecanismo de defensa frente a *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*.

Leyva, (2013) reporta que entre los 22 y 64 días después del tratamiento se detectaron plantas muertas por *F. oxysporum*, generando daños entre 10 y 37 %. Coincide con los resultados encontrados en la presente investigación ya que las plantas no tratadas o control alrededor de los 20 a 25 días después del tratamiento presentaron gran daño vascular ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. lo cual se contradice con lo que encontró Crill, (1971) que el genotipo Floradade posee genes de resistencia contra *F. oxysporum* (*Fol* y *For*), lo cual se observó porque presentó una media de una planta muerta a partir de una muestra de 10, es decir, 10 % de daño por el patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. pero en la presente investigación las plántulas de la variedad Floradade que no fueron previamente tratadas con los medicamentos homeopáticos presentaron muerte total de un 100%.

Se especula que los estomas no están directamente relacionados con los mecanismos de defensa, con lo mencionado por Madriz, (2002), los mecanismos de defensa, que son inducidos como consecuencia del reconocimiento, son los responsables de la resistencia, actuando muchas veces en conjunto para detener el avance del patógeno. Estos mecanismos incluyen principal mente la muerte celular por reacción hipersensible, la acumulación de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana, la acumulación de enzimas hidrolíticas y la deposición de sustancias de refuerzo que evitan el avance del patógeno, entre otros, Collinge (1994), sin embargo se encontraron variaciones en los estomas de los medicamentos *Phosphoricum acidum* en dilución de 13C quienes presentaron estomas de mayor tamaño, con el tratamiento *Silicea terra* en dilución de 7C, mostraron un gran número de estomas y de pequeño tamaño, lo cual se especula que mantuvo activas las funciones fisiológicas de las plantas por ende presentó un menor porcentaje de daños en relación a los testigos, el testigo con etanol a 85° GL, presentaron estomas similares al tratamiento de *Silicea terra* 7C, con la particularidad que son de un mayor tamaño y menor número de estomas, y el testigo agua, o testigo absoluto, se obtuvieron un estomas de un tamaño similar al de *Phosphoricum acidum* a 13C, pero con un menor número de estomas (anexos 17, 18, 19 y 20).

CAPITULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Los medicamentos homeopáticos en diluciones de 6C inhibieron por completo la producción de esporas y el diámetro micelial.
- Los medicamentos homeopáticos *Zincum phosphoricum* y *Silicea terra* en diluciones de 7C presentaron el mayor número de supervivencia en comparación al control.
- La mejor dilución para la parte *in vitro* fue 6C, debido a que presentaron la mejor inhibición del patógeno tanto en diámetro micelial como en número de esporas, y la mejor dilución para la parte *in vivo* fue 7C, por que tuvieron mayor número de plántulas vivas.

5.2 Recomendaciones

- Realizar ensayos *in vivo* utilizando dosis de 6C, para comprobar si existe la misma expresión que en la parte *in vitro*.
- Para la parte *in vivo*, se recomienda continuar realizando las aplicaciones de las sustancias homeopáticas luego de que el patógeno muestre síntomas de infección, para que así la planta muestre una respuesta total hacia el ataque.
- Utilizar dosis menores a 6C, para determinar el efecto inhibitorio de los medicamentos homeopáticos, y evaluar diferentes patógenos y otro tipo de hortalizas para determinar la eficiencia de los medicamentos homeopáticos

CAPITULO VI
BIBLIOGRAFÍA

6.1 Bibliografía

- Alvarez, I. R. (2011). Efectos de una mezcla de oligogalacturónidos. *Cultivos Tropicales*, 69 - 74.
- Amaral, D. M. (2008). Differential gene expression induced by salicylic acid and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* infection in tomato. *Pesq Agrop Bras*, 1017 - 1023.
- Andrade, F. y. (2000). La homeopatía en las plantas medicinales. 43.
- Appel, D. y. (1994). Local and regional variation in populations of *Fusarium oxysporum* from agricultural field soils. *Phytopathology*, 786-791.
- Ballester, S. S. (1999). Homeopatía: Fundamentos científicos. 72.
- Barberato, C. (2002). Homeopatia também na agricultura. *Londrina*, 8.
- Barros, S. y. (1977). Homeopatía: Medicina del terreno. 17 - 22.
- Booth, C. (1975). The present status of *Fusarium* taxonomy. *Annual review of phytopathology*, 83-93.
- Bosland, P. (1988). *Fusarium oxysporum* a pathogen of many plant species. *Advances in plant pathology*, 281-289.
- Bosland, P. y. (1987). An evaluation of *Fusarium oxysporum* from crucifers based on pathogenicity, isozyme polymorphism, vegetative compatibility and geographical origin. *Canadian Journal of Botany*, 2067-2073.
- Buegel, D. (1999). Homeopathic remedies. *The Himalayan Institute Express*, 5-7.
- Cai, G. G. (2003). Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* at a single site in California. *Phytopathology*, 1014 - 1022.
- Campos, E. M. (1979). Larrea. Serie el Desierto. *Centro de Investigación en Química Aplicada*, 411.
- Collinge, D. G. (1994). The induction of gene expression in response to pathogenic microbes. In Mechanisms of plant growth and improved microbes. In Mechanisms

- of plant growth and improved productivity, Modern approaches. *Basra*, AS, 391 - 433.
- Cook, R. y. (1983). The nature and practice of biological control of plant pathogens. *APS*, 539.
 - Crill, P. S. (1971). Florida MH-1, Florida's first machine harvest fresh market tomato. *University of Florida*, 12.
 - Cruz, M. F. (2005). Efectos de los productos homeopáticos sobre hongos fitopatógenos en condiciones in vitro. *Centro agrícola*, 88.
 - Dal Bello, G. M. (2005). Control biológico de la podredumbre del fruto del tomate causada por *Botrytis cinerea*. *Resúmenes XIII Congreso Latinoamericano de Fitopatología.*, 263.
 - Davenas, E. B. (1988). Human basophil degranulation triggered by dilute antiserum against IgE. *Nature*, 301.
 - De la Cruz, R. (2003). Efecto Inhibitorio de 16 Extractos Vegetales sobre el Crecimiento Micelial de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Verticillium dahliae* y *Rhizoctonia solani* en Medio de cultivo PDA. *Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro*, 82.
 - Devlin, R. (1989). Fisiología vegetal. . (T. F. BLACK, & N. M. COELLO, Edits.) (4 edición), 443-445.
 - Fernández, M. (2001). Introducción a la Fitopatología. *INTA*, 518.
 - Filtenborg, O. F. (1996). Moulds in food spoilage. *Internacional Journal of Food Microbiology* , 85 - 102.
 - Gamboa, R. H. (2003). Inhibición del crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* Kühn y *Phytophthora infestans* Mont. (De Bary) con extractos vegetales metabólicos de hojas en (*Flourensia cernua* D.C.), Mejorana (*Origanum majorana* L.) y trompetilla [*Bouvardia ternifolia*(Ca.)]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 13 - 18.
 - Gerber, R. (2000). Medicina newtoniana frente. *La curación energética*, 51-53.

- Grainge, M. a. (1988). Handbook of Plants with Pest Control Properties. *John Wiley and Sons*, 470.
- Gruner, C. (2008). Homeopathic Pharmacopoeia. *Kessinger Publisher*, 12-13,28.
- Guajardo, G. (1996). Modelos biocibernéticos para explicar la curación homeopática.
- Heredia, G. y. (2000). El ajo en México. Origen, mejoramiento genético tecnología de producción. . *Centro de Investigación Regional del Centro Campo Experimental Bajío*, 101.
- Hernández, F. L. (2008). Potencial antifúngico de cepas de *Bacillus* spp. y extracto de *Larrea tridentata* contra *Rhizoctonia solani* en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.). *Int. Bot. Exp*, 241 - 252.
- Hurtado, L. H. (1979). Fungi-toxic compounds in the Larrea resin.
- Ibarra, J. D. (2006). Los microorganismos en el control biológico de insectos fitopatógenos. *Latinoamericana de microbiología*, 113-120.
- InfoAgro. (Marzo de 2006). Plagas y enfermedades del tomate. (P. d. hortalizas, Ed.) *Guia de identificación y manejo*.
- Jaramillo, J. R. (2007). El cultivo de tomate bajo invernadero. *Corpoica*, 48.
- Jones, J. J. (1991). Compendium of Tomato Diseases. *American Phytopathological Society*, 46.
- Jones, J. S. (2001). *Plagas y enfermedades del tomate*. Madrid: Mundi-Prensa.
- Kayne, S. (1991). An agricultural application of homeopathy. *Br Homeopath J*, 157-160.
- Kistler, H. (1997). Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phiytopathology*, 474-479.
- Larrán, S. M. (2005). Estrategias alternativas para el control de la podredumbre negra del tomate. 287.

- León, G. y. (1980). El Cultivo del Tomate para Consumo Fresco en el Valle de Culiacán. *CIAPAN. INIA–SARH. Libros Técnicos.*, 12.
- Leyva, S. G. (2013). Comportamiento de líneas avanzadas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a fitopatógenos en Chapingo, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 301 - 313.
- López, A. L. (2005). Inhibición del Crecimiento Micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb. Mediante Extractos Vegetales Acuosa. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 188.
- López, B. C. (2007). *Bacillus megaterium* rhizobacteria promote growth and alter root-system architecture through an auxin and ethylene independent signaling mechanism in *Arabidopsis thaliana*. *The american phytopathological society*, 207-217.
- Madriz, K. (2002). Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. *Manejo integrado de plagas*, 22 - 32.
- Mojica, V. L. (2009). Control biológico de la marchitez del chile (*Capsicum annum* L.) por *Bacillus thuringiensis*. *Int. Bot. Exp.*, 105 - 110.
- Molina, T. S. (2004). Fungistatic and bacteriostatic activities of alkalamides from *Heliopsis longipes* Roots: Affinin and reduced amides. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 4700 - 4704.
- Montes, R. y. (1990). Extractos vegetales inhibidores de la germinación de urediosporas de *Uromyces phaseolarum* Arth., y su espectro de acción antiesporulante. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 64 - 67.
- Pitt, J. a. (2009). Fungi and food spoilage. *Springer*, 519.
- Pocasangre, L. (2000). Biological enhancement of banana tissue culture plantlets with endophytic fungi for the control of the burrowing nematode *Radopholus similis* and the Panama disease *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*. 95.
- Ramírez, C. L. (2000). Actividad fungicida de la afinina y del extracto crudo de raíces de *Heliopsis longipes* en dos especies de *Sclerotium*. *Agrociencia*, 207 - 215.

- Rey, L. (2003). Thermoluminescence of ultra-high dilutions of lithium chloride and sodium chloride. *Physical A*, 67 - 74.
- Rossi, F. (2005). Aplicação de preparados homeopáticos em morango e alface visando o cultivo em base ecológica. *Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz*, 79.
- Rui. (1998). Enfermedades fúngicas del pimiento en España: Sintomatología, daños ocasionados y control de hongos en este cultivo. . *Vida rural*, 56-58.
- Silva, E. (2002). Efeito do medicamento homeopatico Sulphur em algumas variáveis do crescimento e produtividade de rabanete. *Departamento de Biologia, Universidade Estadual de Maringá*, 32.
- Solís, S. S. (2005). Actividad biológica de hojas de hojas en (*Flourensia cernua*) sobre los patógenos de suelo *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora capsici*. *Memorias del XXXII Congreso Nacional de Fitopatología y VII Congreso Internacional de Fitopatología*, 43.
- Strange, R. a. (2005). Plant disease: A threat to global food security. *Phytopathol*, 83-116.
- Tequida, M. C. (2002). Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus níger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 84 - 88.
- Tichavsky, R. (2007). Manual de agrohhomeopatía. *Instituto Comenius*, 31-32.
- Vanterin, L. H. (1995). Reclassification of Xanthomonas. *International Journal of systematic bacteriology*, 361-378.
- Vero, S. y. (2002). Control biológico de enfermedades de plantas. 81-97.
- Yamaguchi, K. S. (1992). Biocontrol of Fusarium wilt of tomato and Verticillium wilt of eggplant by non-pathogenic F. oxysporum. *Annals of the phytopathological society of Japan*, 188-194.
- Zapata, N. C. (1989). *El melón*. Madrid: Mundi-Prensa.

CAPITULO VII
ANEXOS



Anexo 1. Preparación de las diluciones homeopáticas



Anexo 2. Esterilización de medio de cultivo en autoclave



Anexo 3. Preparación de los tratamientos.



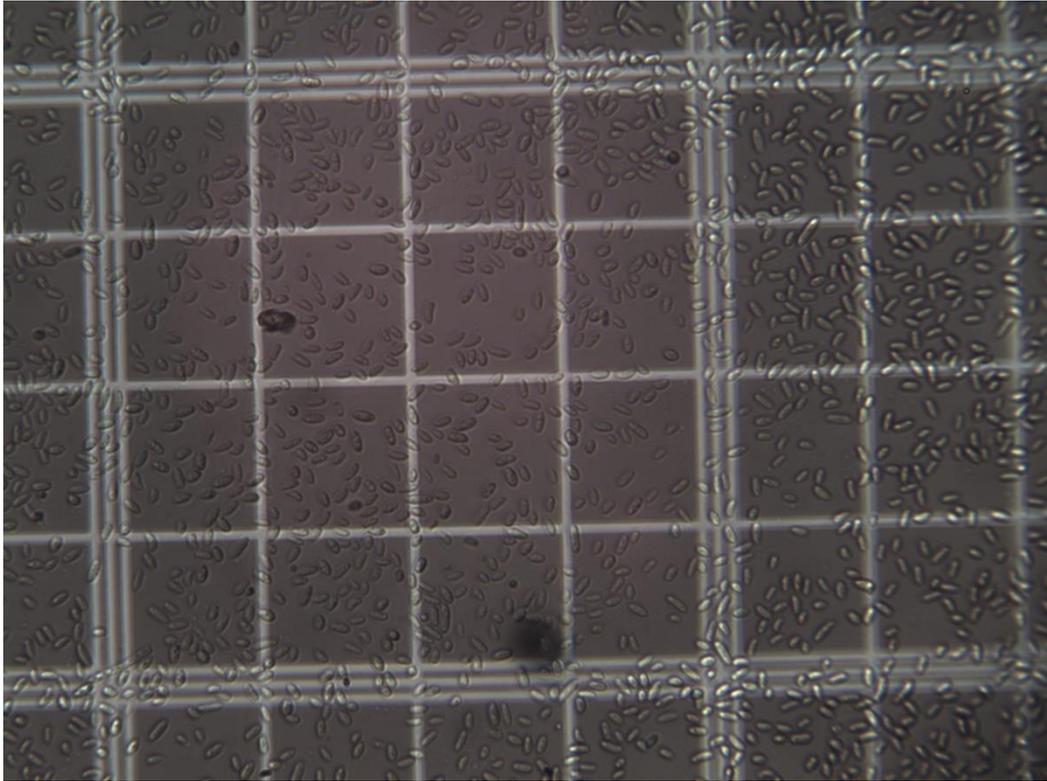
Anexo 4. Incubadora



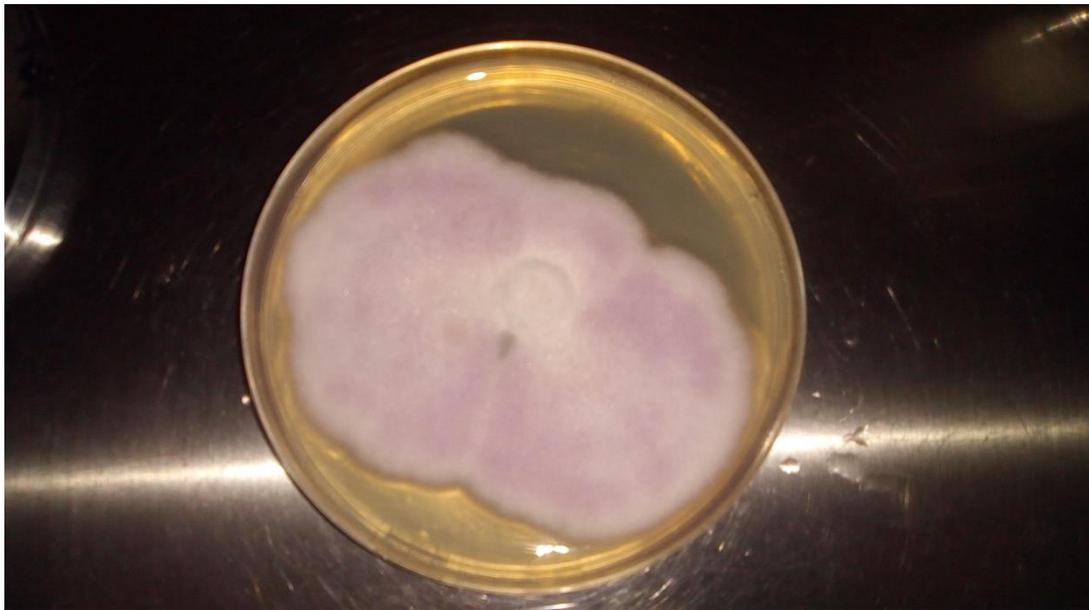
Anexo 5. Registro de diámetro micelial



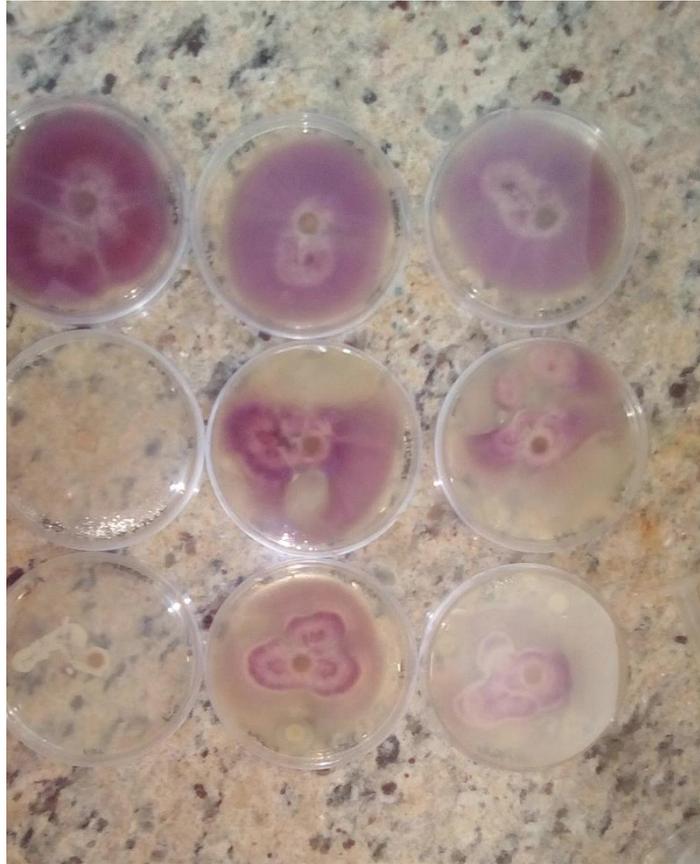
Anexo 6. Registro de diámetro micelial



Anexo 7. Esporas de (*Fol*)



Anexo 8. Cepa de (*Fol*) creciendo en medio PDA con *Phosporicum acidum* 13C



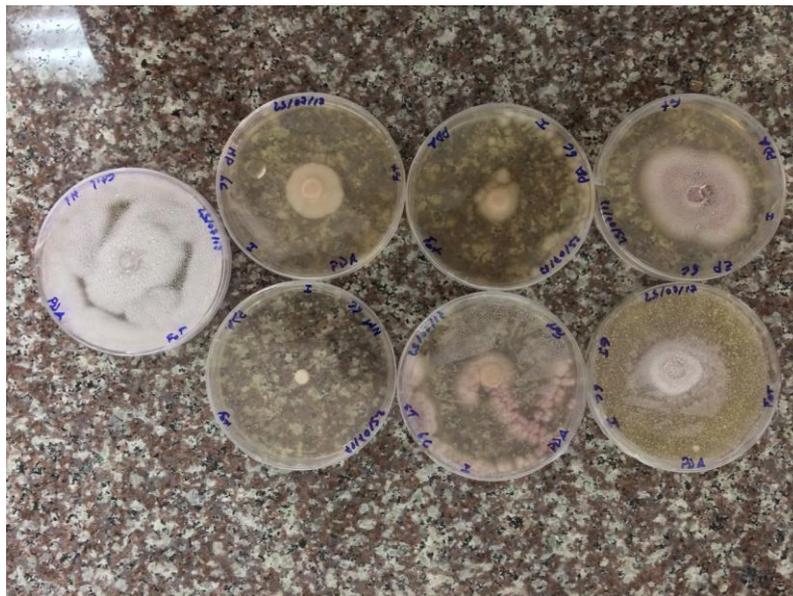
Anexo 9. Cepas de (*Fol*) para determinar efectividad de los medicamentos homeopáticos



Anexo 10. Cepas de (*Fol*) para descartar posibilidades utilizando agua destilada, agua purificada y dos medicamentos homeopáticos



Anexo 11. Cepas de (*Fol*) empleando los medicamentos homeopáticos explicados en metodología en diluciones 7C con su respectivo testigo



Anexo 12. Cepas de (*Fol*) empleando los medicamentos homeopáticos explicados en metodología en diluciones 6C con su respectivo testigo



Anexo 13. Infección de plántulas de tomate con (*Fol*)



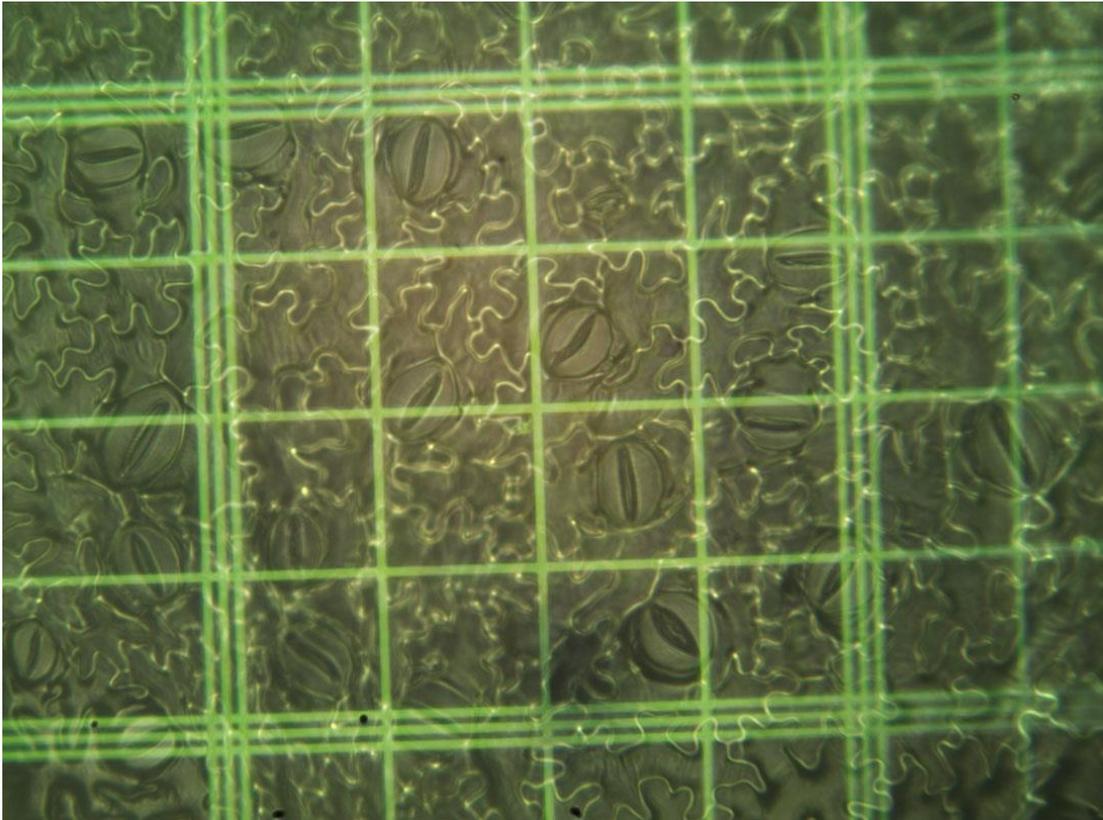
Anexo 14 Porcentaje de severidad de (*Fol*) en plantas no tratadas con medicamentos homeopáticos



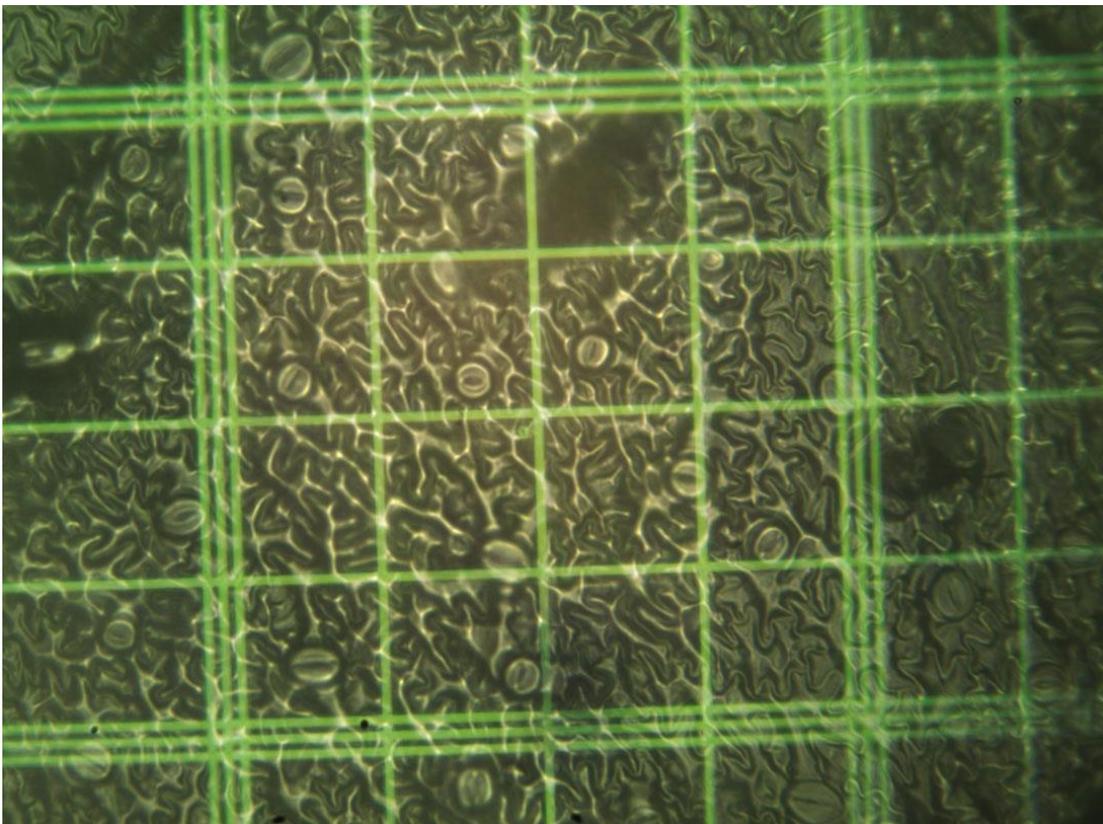
Anexo 15. Porcentaje de severidad de (*Fol*) en plantas tratadas con medicamentos homeopáticos



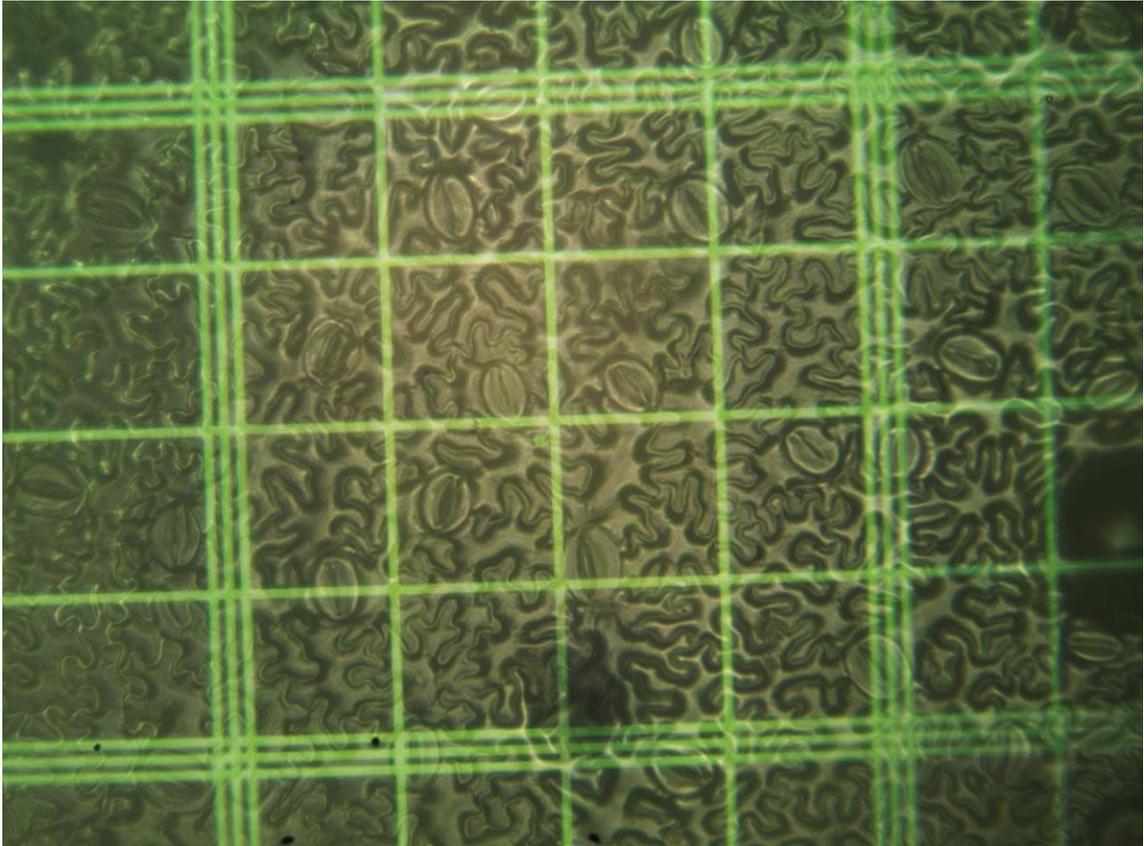
Anexo 16. Porcentaje de severidad de (*Fol*) en plantas tratadas con medicamentos homeopáticos



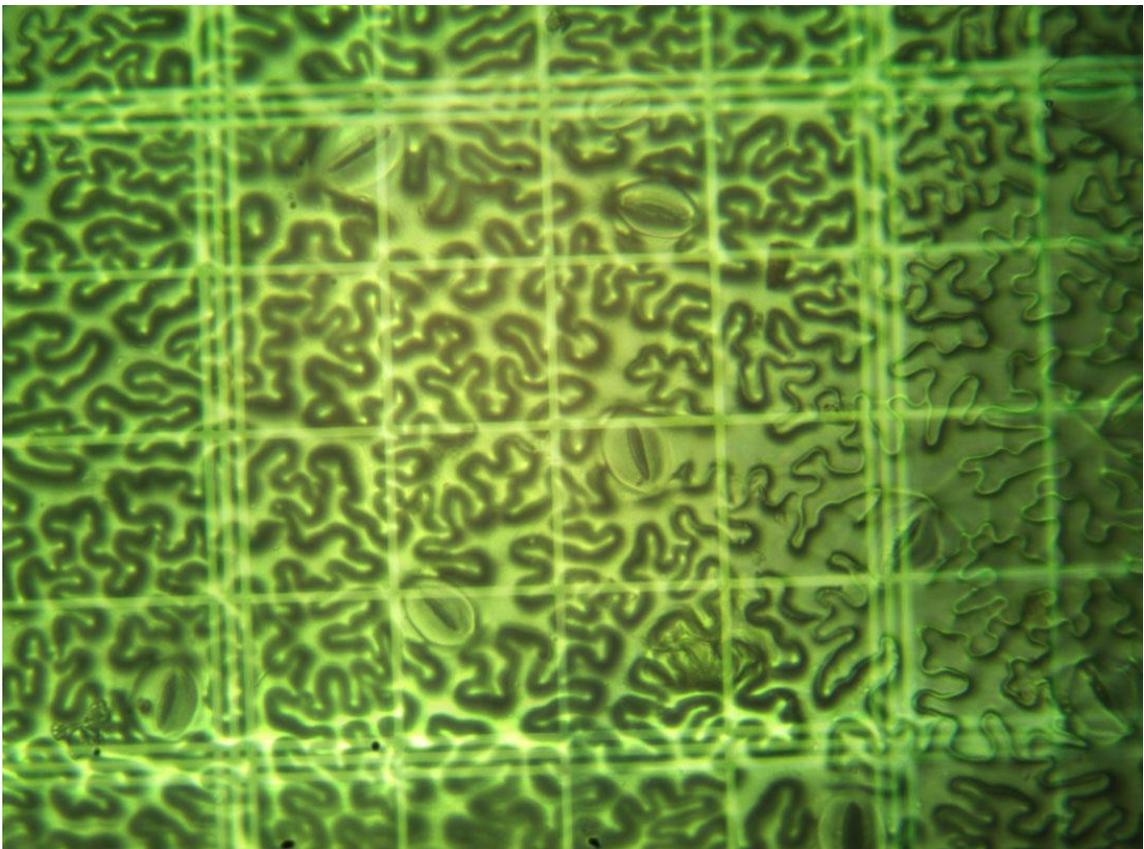
Anexo 17. Estomas de tomate en plantas tratadas con el medicamento homeopático *Phosphoricum acidum* 13C



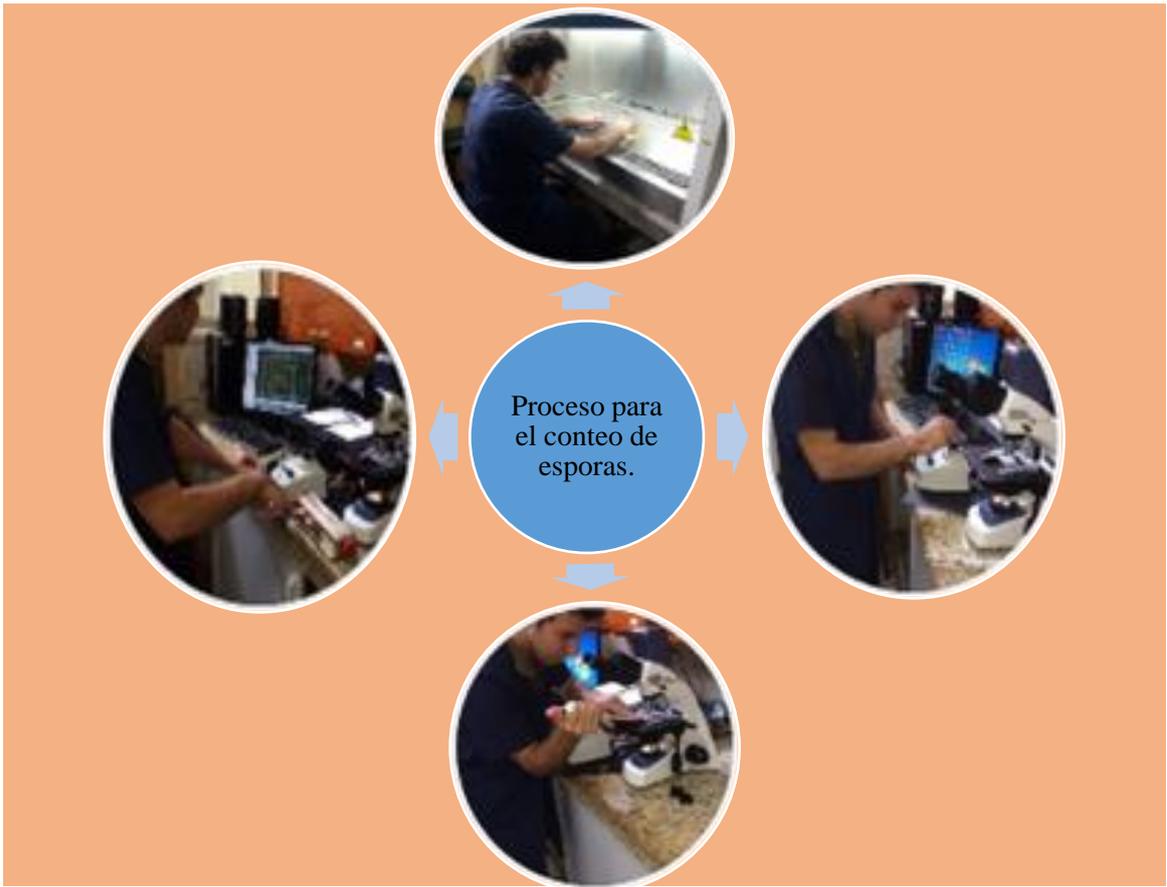
Anexo 18. Estomas de tomate en plantas tratadas con el medicamento homeopático *Silicea terra* 7C



Anexo 19. Estomas de tomate en plantas tratadas con el testigo (etanol al 70% 85°GL)



Anexo 20. Estomas de tomate en plantas tratadas con el testigo agua



Anexo 21. Esquema para realizar el conteo de esporas.