



Universidad Estatal Península de Santa Elena

Facultad de Ciencias Agrarias

Carrera Ingeniería Agropecuaria

**ESTUDIO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CREOLINA
EN EL CONTROL DE *Fusarium spp* EN SEMILLAS DE SANDÍA
BAJO CONDICIONES CONTROLADAS.**

TRABAJO DE TITULACIÓN

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERO AGROPECUARIO

Autor: Alex Daniel Gómez Matías

La Libertad, 2017



Universidad Estatal Península de Santa Elena

Facultad de Ciencias Agrarias

Carrera Ingeniería Agropecuaria

**ESTUDIO DE DIFERENTES CONCENTRACIONES DE CREOLINA
EN EL CONTROL DE *Fusarium spp* EN SEMILLAS DE SANDÍA
BAJO CONDICIONES CONTROLADAS.**

TRABAJO DE TITULACIÓN

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERO AGROPECUARIO

Autor: Alex Daniel Gómez Matías

Tutor: Ing. Clotilde Andrade Varela, M.Sc.

La Libertad, 2017

TRIBUNAL DE GRADO

Ing. Lenni Crisol Ramírez Flores, M.Sc
**DECANA (E) DE LA FACULTAD
DE CIENCIAS AGRARIAS**

Ing. Néstor Orrala Borbor, PhD.
**DELEGADO DE LA DIRECTORA
DE CARRERA**

Ing. Kleber Bajaña Alvarado, M.Sc.
PROFESOR DEL ÁREA

Ing. Clotilde Andrade Varela, M.Sc.
PROFESOR TUTOR

Abg. Brenda Reyes Tomalá, Mg.
SECRETARIA GENERAL

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo de tesis realizado en la Universidad Estatal Península de Santa Elena es un esfuerzo en el cual, directa o indirectamente participaron distintos profesionales, opinando, corrigiendo, teniéndome paciencia, etc. Este trabajo me ha permitido aprovechar las experiencias de muchas personas que deseo agradecer en este apartado.

En primer lugar, Agradezco a Dios, por haber puesto en mi camino a los profesionales competentes para realizar este proyecto.

A mi tutora, Clotilde Andrade Varela, M.Sc, mi más amplio agradecimiento por haberme confiado este trabajo, por su dirección y apoyo en el trabajo de graduación y llegar a la conclusión del mismo.

Al M.Sc, Kleber Bajaña Albarado, M.Sc Juan Valladolid y al Ph.D. Néstor Orrala Borbor, les agradezco por sus consejos, apoyo con material de estudios y en ser parte de la dirección del proyecto de graduación.

Agradezco a mis compañeros y amigos de curso Robert Malavé y Daniel Paredes por su colaboración.

Por último, agradezco especialmente a mis padres por ser pilar fundamental en darme la educación y motivarme a ser profesional.

RESUMEN

La presente investigación se llevó en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UPSE. Las pruebas se realizaron para determinar el porcentaje de incidencia de *Fusarium spp.*, en semillas de sandía, híbrido comercial Royal Charleston, por 22 días; tiempo, que permaneció el patógeno en la semilla. Para su control se utilizaron diferentes dosis de creolina líquida ecológica diluida en agua destilada; T1 (0 ml creosota + 100 ml H₂O); T2 (10 ml creosota + 90 ml H₂O); T3 (20 ml creosota + 80 ml H₂O); T4 (30 ml creosota + 70 ml H₂O); T5 (40 ml creosota + 60 ml H₂O) y T6 (50 ml creosota + 50 ml H₂O), para proceder a identificar los tratamientos, se eliminó el funguicida impregnado en las semillas. El experimento, fue evaluado a través de un DCA con tres repeticiones. Finalmente, se colocaron 100 semillas en bandejas plásticas; en cada tratamiento se vació 20ml, de la solución de creolina y permanecieron en cámaras de crecimiento durante 12 días, tiempo en que germinaron todos los tratamientos; luego fueron transferidos a medio PDA, donde fueron inoculados con 25 000 esporas. También, se realizó otra valoración en semillas a los 22 días, para determinar la incidencia del patógeno frente a la creolina y confirmar su eficacia, a través de un intervalo de confianza al 95%; el porcentaje de incidencia se determinó aplicando la fórmula sugerida por Anculle (1999). Un tercio de las plántulas del control transferidas a medio PDA, fueron inoculadas con *Fusarium spp* + captan para evaluar porcentaje de severidad, mediante la fórmula sugerida por Herrera *et al* (2012). Los resultados experimentales en porcentaje de germinación presentaron diferencias estadísticas significativas al 1% de probabilidades para tratamientos. Al respecto, T1 (control) mostró el mayor porcentaje con 96% seguido de T2 y T3 con un valor de 72% y 41% respectivamente; mientras T4, T5 y T6, tuvieron los porcentajes más bajos con valores de 24, 11 y 2%. En cuanto a la incidencia, con una media de 63%, los tratamientos mostraron, que el patógeno puede infectar a la semilla bajo el efecto de C2 y C3, hasta un 95%; pero cuando se encuentra en C5 y C6; la afectación puede llegar a un mínimo de 35% de incidencia. En el caso de las plántulas (Captan+*Fusarium spp*), el patógeno afectó tanto a las raíces como al hipocótilo, en un rango de 40 a 50% de severidad y las del control, tuvieron 100% de severidad.

ABSTRACT

The present investigation was carried out in the laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of the UPSE. The tests were performed to determine the percentage incidence of *Fusarium* spp., In watermelon seeds, Royal Charleston commercial hybrid, for 22 days; time, that the pathogen remained in the seed. For the control, different doses of ecological liquid creolin diluted in distilled water were used; T1 (0 ml creosote + 100 ml H₂ O); T2 (10 ml creosote + 90 ml H₂ O); T3 (20 ml creosote + 80 ml H₂ O); T4 (30 ml creosote + 70 ml H₂ O); T5 (40 ml creosote + 60 ml H₂O) and T6 (50 ml creosote + 50 ml H₂O), to proceed to identify the treatments, the fungicide impregnated in the seeds was removed. The experiment was evaluated through a DCA with three replicates. Finally, 100 seeds were placed in plastic trays; in each treatment 20 ml of the creol solution was emptied and they remained in growth chambers for 12 days, when all treatments germinated; then transferred to PDA medium, where they were inoculated with 25 000. Also, another evaluation was performed on seeds at 22 days, to determine the incidence of the pathogen against the creolina and confirm its effectiveness, through a 95% confidence interval; the incidence rate was determined using the formula suggested by Anculle (1999). One third of control seedlings transferred to PDA medium were inoculated with *Fusarium* spp + captan to evaluate percentage of severity, using the formula suggested by Herrera et al (2012). The experimental results in percentage of germination presented significant statistical differences to 1% of probabilities for treatments. In this respect, T1 (control) showed the highest percentage with 96% followed by T2 and T3 with a value of 72% and 41% respectively; while T4, T5 and T6 had the lowest percentages with values of 24, 11 and 2%. As for the incidence, with an average of 63%, the treatments showed that the pathogen can infect the seed under the effect of C2 and C3, up to 95%; but when it is in C5 and C6; the affectation can reach a minimum of 35% of incidence. In the case of seedlings (Captan + *Fusarium* spp), the pathogen affected both the roots and the hypocotyl, in a range of 40 to 50% of severity and those of the control, had 100% severity.

“El contenido del presente trabajo de titulación está bajo completa responsabilidad del autor en su ideología, el patrimonio intelectual del mismo le pertenece a la universidad estatal península de Santa Elena”

Alex Daniel Gómez Matías

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
1.1.- Clasificación taxonómica de la sandía	4
1.1.1.- Descripción agronómica de la sandía	4
1.1.2.- Importancia del cultivo.....	4
1.1.3.- Variedades de sandía	5
1.2.- Condiciones para la germinación	5
1.2.1.- Fisiología y fase de expansión de la semilla	5
1.2.2.- Germinación de las semillas	5
1.3.- Control químico afecta la germinación	6
1.4.- Germinación en diferentes soluciones.....	7
1.4.1.- Germinación en soluciones salinas	7
1.4.2.- Germinación en solución de cloro.....	7
1.4.3.- Germinación en cromato de potasio, manitol y extractos acuosos	7
1.4.4.- Germinación en concentraciones de creolina biodegradable.....	8
1.5.- Inhibición de <i>Fusarium sp.</i>, con funguicidas químicos y orgánico.....	9
1.6.- Inhibición de <i>Fusarium spp.</i>, mediante extractos vegetales acuosos	9
1.7.- Interacción entre microorganismos y plantas	10
1.8.- Plagas y enfermedades en la sandía	11
1.9.- Métodos de infección de los patógenos a las plantas	12
1.10.- Defensa de las plantas contra patógenos	12
1.11.- Creolina	13
1.11.1.- Uso de la creolina en la agricultura	14
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS	16
2.1.- Localización y descripción del lugar del ensayo	16
2.1.1.- Materiales y equipos	16
2.1.2.- Materiales	16
2.1.3.- Equipos.....	17
2.1.4.- Material genético	17

2.2.- Diseño experimental	18
2.2.1.- Tratamientos	18
2.2.2.- Delineamiento experimental.....	19
2.2.3.- Manejo del experimento.....	19
2.2.3.1.- Cálculos de las disoluciones utilizadas	19
2.2.3.2.- Protocolo de siembra	20
2.2.3.3.- Protocolo de aislamiento de <i>Fusarium spp</i>	21
2.2.3.4.- Protocolo de siembra para las semillas germinadas en creolina	22
2.2.3.5.- Protocolo de inoculación de <i>Fusarium spp</i> en muestras de suelo	24
2.3.- Variables experimentales	25
2.3.1.- Porcentaje de germinación	25
2.3.2.- Longitud de la raíz (mm)	25
2.3.3.- Longitud del hipocótilo (mm)	25
2.3.5.- Peso de masa fresca (g).....	25
2.3.6.- Porcentaje de Incidencia de <i>Fusarium spp</i> en las semillas.....	26
2.3.7.- Severidad de la incidencia de <i>Fusarium spp</i> en plántulas	26
2.3.8.- Numero de colonias de hongos en dilución de suelo.....	27
 CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	 28
3.1.- Porcentaje de germinación.....	28
3.2.- Incidencia de <i>Fusarium spp.</i>, en semillas	31
3.2.3.- Longitud radicular en semillas provenientes de diferentes concentraciones de creolina, a los 12 días de la germinación	32
3.4.- Peso de masa fresca de 20 plántulas de T1C1 (control).....	33
3.4.1.- Longitud radicular de 20 plántulas del tratamiento (T1C1)	35
3.4.2.- Longitud del hipocótilo de 20 plántulas del tratamiento (T1C1)	37
3.4.3.- Porcentaje de severidad en plántulas del tratamiento (T1C1).....	38
3.5.- Numero de colonias de hongos en dilución de suelo 10⁻¹.....	40
 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	 43
Conclusiones	43
Recomendación.....	44

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas de la creolina	13
Tabla 2. Características agronómicas del material genético	17
Tabla 3. Distribución de los grados de libertad.....	18
Tabla 4. Descripción de los tratamientos	18
Tabla 5. Delineamiento experimental	19
Tabla 6. Escala de valoración de severidad de la incidencia	27
Tabla 7. Análisis de varianza de los tratamientos, variable porcentaje de germinación	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de germinación a los 3 días	29
Figura 2. Porcentaje de germinación a los 12 días	30
Figura 3. Intervalo de confianza, incidencia del hongo, en las concentraciones de creolina.....	31
Figura 5. Longitud radicular (mm) bajo el efecto de concentraciones de creolina.....	32
Figura 6. Masa fresca de 20 plántulas del T1C1 evaluadas a los 12 días de la germinación.....	33
Figura 7. Masa fresca de 20 plántulas del T1C1 inoculadas con <i>Fusarium spp</i>	34
Figura 8. Long, radicular (mm) de 20 plántulas del T1C1 a los 12 días de la germinación	35
Figura 9. Long, radicular (mm) de 20 plántulas inoculadas con <i>Fusarium ssp</i>	36
Figura 10. Long, del hipocótilo (mm) de 20 plántulas del T1C1 a los 12 días de la germinación	37
Figura 11. Long, del hipocótilo (mm) de 20 plántulas del T1C1 inoculadas con <i>Fusarium spp</i> ..	38
Figura 12. Porcentaje de severidad en 20 plántulas inoculadas de <i>Fusarium spp</i>	39
Figura 13. Unidades formadoras de colonias provenientes de sustratos tratados con creolina	41

ÍNDICE DE ANEXOS

- Tabla 1A. Porcentaje de germinación a los 3 días
- Tabla 2A. Porcentaje de germinación a los 12 días
- Tabla 3A. Incidencia de *Fusarium spp.*, a los 22 días de exposición con el hongo
- Tabla 4A. Análisis de Varianza de la variable porcentaje de germinación al día 3
- Tabla 5A. Test Duncan ($p \geq 0,05$)
- Tabla 6A. Análisis de la varianza de la variable porcentaje de germinación al día 12
- Tabla 7A. Test Duncan ($p \geq 0,05$)
- Tabla 8A. Intervalo de confianza a los 22 días de la inoculación
- Tabla 9A. Datos de longitud radicular a los 12 días de la germinación, en semillas
- Tabla 10A. Datos de masa fresca (g) del tratamiento (T1C1), a los 12 días de la germinación
- Tabla 11A. Datos de masa fresca (g) del tratamiento (T1C1), inoculado con *Fusarium spp.*
- Tabla 12A. Datos de longitud del tratamiento (T1C1), a los 12 días de la germinación
- Tabla 13A. Longitud radicular del tratamiento control (T1C1), inoculado con *Fusarium spp.*
- Tabla 14A. Datos de longitud del hipocótilo del T1C1, a los 12 días de la germinación
- Tabla 15A. Datos de longitud del hipocótilo del T1C1, inoculado con *Fusarium spp.*
- Tabla 16A. Porcentaje de severidad del tratamiento (T1+*Fusarium spp.*).
- Tabla 17A. Porcentaje de severidad del tratamiento (Captan+*Fusarium spp.*).
- Tabla 18A. Números de colonias en PDA en dilución de suelo 10^{-1} en los sustratos A, B y C
- Tabla 19A. Calculo de dosis para captan
- Figura 1A. Lavado de semilla (agua destilada + 1% de lejía durante 30, 15 y 5 min)
- Figura 2A. Preparación de soluciones de creolina
- Figura 3A. Siembra de las semillas en bandejas para germinación, invidadas de creolina
- Figura 4A. Tratamientos en cámara de crecimiento a 25 °C durante 12 días
- Figura 5A. Muestra de planta enferma por *Fusarium ssp*
- Figura 6A. Crecimiento de *Fusarium spp.*, en la raíz de la planta tomada como muestra
- Figura 7A. *Fusarium spp.*, visto a través de microscopio
- Figura 8A. *Fusarium spp.*, visto en microscopio
- Figura 9A. Inoculación de *Fusarium spp.*, (25 000 esporas por semilla) en PDA
- Figura 10A. Plántulas sanas del control (T0C1)
- Figura 11A. Plántulas del T1C1 inoculadas con 25 000 esporas de *Fusarium ssp*
- Figura 12A. Inoculación de *Fusarium spp.*, a plántulas de T1C1 (tratadas con Captan)
- Figura 13A. Incidencia de *Fusarium ssp.*, en semillas de sandía
- Figura 14A. Infección progresiva de *Fusarium ssp.*, en (T3C4)
- Figura 15A. Inhibición del hongo *Fusarium ssp.*, en (T5C6)

- Figura 16A. Muerte de 10 plántulas de T0C1, por *Fusarium ssp.*, a los 10 días
- Figura 17A. Infección de *Fusarium ssp.*, en plántulas tratadas con Captan, a los 10 días
- Figura 28A. Infección de *Fusarium ssp.*, en plántulas tratadas con Captan
- Figura 29A. Semilla tratada con creolina, visto con estéreo microscopio
- Figura 20A. Longitud radicular de semillas tratadas con creolina
- Figura 21A. Longitud del hipocótilo del T1C1
- Figura 22A. Peso de masa fresca en plántulas del T1C1 a los 12 días de la germinación
- Figura 23A. Sustratos embebidos en soluciones de creolina C5 y C6
- Figura 24A. Unidades formadoras de colonias en el sustrato A (control)
- Figura 25A. Unidades formadoras de colonias de hongos en sustratos B y C

INTRODUCCIÓN

La sandía (*Citrullus lanatus*) es una de las cucurbitáceas más cultivada en el mundo por su condición hidratante y sus beneficios diuréticos. Además, de contener vitaminas A, B1, B2, C calcio, sodio, potasio, hierro y fósforo (Wil, 2012).

La producción mundial más prominente de cucurbitáceas se encuentra en Asia con el 83%, seguida de Europa con el 5.2%, Oceanía el 0.2%, África representa el 5.4% y las Américas el 6.2%. En el Ecuador a partir del 2006 se producía 50 000 t y fue aumentando paulatinamente desde el 2009 con 62 000 t hasta el año 2013 con 65 000 t; cifras que muestran, la demanda del cultivo es dinámico y uno de los más representativos de la zona costera del Ecuador (FAOSTAT, 2013).

Los datos proporcionados por el Tercer Censo Agropecuario publicado en el 2009 muestran que en el Ecuador se sembraron 1 905 ha de sandía como monocultivo, en 1 788 unidades de producción agropecuaria (UPAs.). La producción fue de 25 818 t. La siembra de sandía en el Ecuador es desde mayo hasta octubre y se han presentado exportaciones entre los meses de septiembre y diciembre. La cosecha de sandía en el mercado interno es mayormente en verano, de julio a diciembre, porque en esta temporada la incidencia de lluvias es menor, por lo tanto, hay menos posibilidades de problemas de plagas y enfermedades (Wong *et al*, 2009).

En Santa Elena, los factores agro-meteorológicos, las sequías, la salinidad, excesiva radiación solar, alta humedad relativa afectan a los cultivos e inducen a la presencia de insectos plagas y enfermedades causadas por hongos, situación que ocasiona pérdidas en la producción. Las pérdidas de índole económico por hongos fitopatógenos en los cultivos son de 5 a 25% en países desarrollados y 20 a 50% en países en vías de desarrollo (FHIA, 2007).

Los hongos fitopatógenos del género *Fusarium* son agresivos especialistas; las técnicas de control biológico y químico no han sido mayoritariamente eficaces. Este hongo puede perdurar años en los suelos en materia orgánica en descomposición y de forma activa infecta a la planta cuando las condiciones del medio externo e interno de

las mismas no son favorables, puesto que en los últimos años el marchitamiento causado por *Fusarium* se ha intensificado. (FAO, 2014).

Generalmente en suelos contaminados con hongos, los agricultores para producir sandía realizan controles químicos a nivel del suelo para combatir hongos como el *Fusarium spp.*, causante de la marchitez y muerte posterior de la planta; los efectos de los agroquímicos utilizados para el control se almacenan en el subsuelo y reservorios de aguas, permaneciendo por tiempos indefinidos.

Los problemas fitosanitarios, se han venido controlando con agroquímicos para el manejo integrado de plagas y enfermedades causados por plagas y hongos como el *Fusarium oxysporum.*, que ataca al cultivo de sandía en todos los estadios de crecimiento causando la muerte o marchitamiento. El síntoma más claro de acción de *Fusarium oxysporum.*, es la presencia de necrosis vascular en las raíces o tallos de las plantas infectadas (García *et al*, 2002).

Tomando en cuenta los antecedentes antes mencionados, hay evidencias que los fenoles y cresoles pueden prevenir enfermedades causadas por hongos fitopatógenos en los cultivos. En este sentido la creolina es germicida, poderoso desinfectante agrícola de amplio espectro. Es biodegradable, elimina gérmenes, bacterias, hongos y parásitos. (CIMPA, 2013).

Los resultados posteriores servirán como punto de partida para nuevas investigaciones.

Problema científico

¿El hongo patógeno *Fusarium oxysporum*, ataca permanentemente al cultivo en todas las etapas de desarrollo?.

Objetivo general

Evaluar diferentes concentraciones de creolina en el control de *Fusarium spp* en semillas de sandía bajo condiciones controladas.

Objetivos específicos

1. Determinar la concentración de creolina que permita germinar a la semilla en el menor tiempo posible.
2. Determinar la incidencia de *Fusarium spp*, en cada una de las concentraciones de creolina

Hipótesis

Las altas concentraciones de creolina impiden la infestación del hongo *Fusarium spp.*, en semilla de sandía bajo condiciones controladas.

CAPÍTULO 1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1.- Clasificación taxonómica de la sandía

Matsum *et al.* (1916) indican la clasificación taxonómica de la sandía:

Reino: *Plantae*

Clase: *Magnoliopsida*

Orden: *Cucurbitales*

Familia: *Cucurbitaceae*

Género: *Citrullus*

Especie: *lanatus*

1.1.1.- Descripción agronómica de la sandía

Lluch *et al* (2005) mencionan que la sandía es una dicotiledónea, planta anual herbácea, rastrera o trepadora, con tallos que alcanzan 4 m o 5 m de longitud, con zarcillos ramificados. Su sistema radical es extenso, pero superficial, las guías y las hojas son pubescentes, las hojas son ovaladas. Las flores son de color amarillo y se presentan en las axilas de las hojas.

Alvarado (2008) argumenta que la forma del fruto varía desde esférica a oblonga, el peso es de 5 a 10 kg, el color del fruto es verde claro a casi negro dependiendo de la variedad. La parte comestible es la placenta del fruto dentro de la cual están insertas las semillas. La pulpa puede ser de color blanco cremoso, rojo pálido, rojo o púrpura.

1.1.2.- Importancia del cultivo

Sierra *et al.* (2005) señalan que la sandía se considera originaria de países de África tropical y su cultivo se remonta desde hace siglos a la ribera del Nilo. Los pobladores europeos fueron quienes la llevaron hasta América, donde su cultivo se extendió por todo el continente. Hoy en día es una de las frutas más extendidas por el mundo por su poder alcalinizante favorece la eliminación de ácidos perjudiciales para el organismo, además contiene vitaminas A, B1, B2 y C. Los principales países productores son; Turquía, Grecia, Italia, España, China y Japón.

1.1.3.- Variedades de sandía

MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA MAG (2011) cita que según la variedad pueden ser:

- **Alargadas:** con extremos redondeados, cáscara verde con venas oscuras. (Charleston Gray).
- **Oblondas:** cáscara verde claro, con venas verde oscuro (Crimson Sweet).
- **Redondas:** cáscara verde muy oscura, delgada, dura y firme. (Sugar Barby).

1.2.- Condiciones para la germinación

Gazquez *et al.* (2015) dicen que las condiciones ideales para un óptimo desarrollo de la semilla esta intrínsecamente ligado a una temperatura de 18 a 25°C y un rango de pH de 5 a 6,8. La semilla debe estar expuesta a un medio externo de humedad relativa de 65 a 80%.

1.2.1.- Fisiología y fase de expansión de la semilla

Davies (2004) argumenta que la embriogénesis provoca la aparición de tejidos muy bien organizados para desempeñar funciones muy concretas en la semilla. Entre otras, podemos citar la síntesis coordinada y la acumulación de proteínas, lípidos e hidratos de carbono en diferentes períodos de la embriogénesis y en diversos órganos de la semilla (cotiledones y endospermo), procesos que son dirigidos por enzimas y hormonas.

1.2.2.- Germinación de las semillas

Azcón *et al.* (2000) muestran que la germinación es el proceso que se inicia con la toma de agua por la semilla seca (imbibición) y termina cuando una parte de ésta (eje embrionario) atraviesa las estructuras envolventes que la rodean (emergencia). La emergencia marca el fin de la germinación que pasa de un metabolismo

preferentemente anaerobio a otro típicamente aerobio. Una vez emergida la radícula comienza el crecimiento de la plántula.

Yamaguchi *et al.* (2006) mencionan que, en el proceso germinativo, la semilla pasa por tres fases la primera es la toma de agua rápida inicial, fase de meseta (ψ entre 1 a 1.5 MPa) y nuevo incremento en la absorción de agua, que da lugar al período de elongación del embrión o de la radícula. La duración de cada fase dependerá de las características de la semilla (tamaño, contenido de sustratos hidratables, permeabilidad de la cubierta seminal, toma de O₂, etc.) y de las condiciones externas.

Matilla (2008) cita que la respiración de la semilla es fundamentalmente anaerobia durante los primeros instantes de la imbibición y se transforma en aerobia a medida que el eje embrionario atraviesa la cubierta seminal. Algunas semillas son capaces de germinar en ambientes encharcados con escasez de O₂ (por ejemplo, la del arroz).

El autor antes mencionado, argumenta que la señal que induce el inicio de la elongación y el mecanismo íntimo de ésta no se conoce. Sin embargo, existen tres posibilidades: 1) acumulación de solutos osmóticos para provocar el incremento de la presión de turgencia; 2) aumento en la extensibilidad de las paredes celulares, previo al inicio de la elongación, y 3) acción conjunta de los procesos de elongación de la radícula y relajación de los tejidos que la rodean (hidrólisis de los componentes polisacarídicos de la pared celular).

Besnier (1989) señala que la nacencia de la plúmula tiene lugar a partir de los 3 a 5 días de haber sido sembrado la semilla. La finalización de la germinación tiene lugar con el crecimiento de la radícula que se da durante 10 a 20 días de la etapa inicial en donde también se desarrollan el hipocótilo y la diferenciación de los cotiledones.

1.3.- Control químico afecta la germinación

Maroto (2002) cita que el uso de fungicidas a fin de proteger la semilla en las primeras fases de la nacencia es practica corriente, si bien en el caso de las cucurbitáceas hay

que tener precauciones, pues algunos fungicidas disminuyen el poder germinativo de la semilla, es el caso del captan, quintoceno, carboxina, etc.

1.4.- Germinación en diferentes soluciones

1.4.1.- Germinación en soluciones salinas

Bonifa (2011) aplicó diferentes concentraciones de NaCl (0, 2, 4 y 6 ds.m⁻¹) con el genotipo de tomate Amalia 95, donde encontró diferencias significativas en los cuatro tratamientos, obteniendo la mayor cantidad de semillas germinadas en el control (0) con un valor del 98%, demostrando que en las concentraciones más altas, disminuye la germinación lo que sucedió con las concentraciones 2, 4, 6 ds.m⁻¹, que tuvieron porcentajes que oscilaban entre el 58, 73 y 84%, según en las concentraciones expuestas.

Marco *et al.* (2008) realizaron un estudio respecto al efecto de un extracto vegetal (con composición fenólica) en la germinación de 50 semillas de chile (*Capsicum annuum* L.) bajo condiciones salinas. Los tratamientos incluyeron una solución control (agua de osmosis inversa, AOI), otro con solamente un extracto vegetal líquido y una solución Hoagland modificada. Los resultados mostraron que el porcentaje de germinación fue más alto en los tratamientos donde se aplicó el extracto orgánico que los tratamientos más salinos.

1.4.2.- Germinación en solución de cloro

Días *et al.* (2003) demostraron que el efecto de la desinfección sobre las semillas de tomate con cloro al 0,5 y 1% e inoculadas con *Fusarium oxysporum f. sp lycopersici*, no afecta la germinación ya que tuvieron valores que fluctúan entre el 90 y 98%, aunque si hubo un ligero decrecimiento de la longitud del tallo; también afirman que la testa de la semilla del tomate no fue infectado por el hongo al usar cloro, comparados con los tratamientos que no fueron inoculados ni desinfectados con cloro.

1.4.3.- Germinación en cromato de potasio, manatiol y extractos acuosos

Giardina *et al.* (2012) evaluaron en *Phaseolus vulgaris* L. el largo de la radícula, con dosis mayores de cromo a partir de cromato de potasio (0,01 a 0,0001 M) y se demostró que no hay variaciones en la elongación radicular del testigo, pero si hubo diferencias con valores menores en el tamaño de la radícula de las plántulas sometidas a las concentraciones de cromato de potasio comparado con el testigo.

Villao (2015) en su estudio realizado con semillas reciclada de tomate, comprobó que el peso más bajo de biomasa fresca se observó para los tratamientos con altas concentraciones de manitol. Así mismo estos resultados con valores bajos obtenidos en esta variable, se deban posiblemente que hubo un factor osmótico que limitó la absorción de agua y por lo tanto se observó la reducción del peso de la biomasa fresca y de la germinación.

Zamorano *et al.* (2005) experimentaron con extractos acuosos de hojas de nabo (*Brassica campestris subsp. rapa*) utilizando agua y metanol, en germinación de semillas de tomate; los resultados mostraron que los extractos metanólicos de nabo, redujeron el crecimiento en 50% y el peso entre 44 y 49 g en el cual, obtuvieron un comportamiento decreciente cuando la elongación de la raíz con respecto al testigo disminuyó con el aumento de la concentración.

1.4.4.- Germinación en concentraciones de creolina biodegradable

Rodríguez (2015) evaluó el porcentaje de germinación con cinco concentraciones de creolina (0, 2, 5, 7, 10 v/mL) y tres genotipos de tomate híbridos (Micaela HA 1903, Acerado 3059, Daniela HA 144). En el control solo con agua destilada estuvo entre el 91 y 98%; para los genotipos G1, G2 y G3, se observa una disminución en la germinación cuando estuvieron expuestos a la dosis 2.5 mL de creolina líquida para el G1, G2 y G3 presentando valores que fluctuaban entre el 52 a 97% de germinación. Los genotipos que estuvieron bajo el efecto de C3 (5 mL de creolina líquida) se pudo notar, valores de 11 a 61% de germinación. En el caso de C4 (7,5 mL de creolina líquida) los genotipos 1, 2 y 3, iniciaron su germinación a los 20 días con valores que fluctúan entre 5 y 11%. Situación similar ocurrió en C5 (10 mL creolina líquida),

donde la germinación para G1, G2 y G3 se inició a los 20 días con porcentajes bajos de 4, 2 y 5% respectivamente, sobresaliendo el genotipo G3.

1.5.- Inhibición de *Fusarium sp.*, con fungicidas químicos y orgánico

Céspedes *et al.* (2014) aislaron *Fusarium sp* proveniente de un cultivo de sandía y lo sembró en un medio PDA, con fungicidas químicos y un biofungicida proveniente de la destilación de un árbol de *Melaleuca alternifolia*. Los resultados mostraron que benomyl, Tiofanato metil y Difenconazole inhibieron en un 100% el crecimiento del hongo en cada una de las tres dosis utilizadas, mientras que Pyraclostrobin y Aceite de árbol del té (*Melaleuca alternifolia*) fueron los menos eficientes en el control del patógeno.

1.6.- Inhibición de *Fusarium spp.*, mediante extractos vegetales acuosos

López *et al.* (2005) utilizó extractos acuosos de especies vegetales para el control de *Fusarium spp*, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb; las especies objeto de estudio fueron: *Allium sativum* L., (**ajo**), *Coville* (**gobernadora**), *Larrea tridentata*, *Flourensia cernua* D.C. (**hojasen**), *Syzygium aromaticum* (**clavo**), *Cinnamomum zeylanicum* (**canela**) y *Mangifera indica* L. (**mango**). Se utilizaron hojas, cortezas y botones florales deshidratados, bulbos y dientes en el caso del ajo para hacer los extractos con concentraciones al 5 y 10% para cada especie. Como testigo se utilizó tiabendazol.

El efecto inhibitorio promedio en los dos períodos de incubación del hongo en cada una de las dos concentraciones mostró que el tiabendazol inhibió el 100% del desarrollo del micelio. A la concentración de 5%, el extracto de clavo tuvo 96.2% de inhibición y resultó significativamente igual al tiabendazol. El extracto de gobernadora tuvo un importante efecto inhibitorio, aunque significativamente menor al clavo y

tiabendazol. Los extractos de canela, ajo, mango, y hojasesen fueron significativamente inferiores al extracto de gobernadora. Al incrementar la concentración al 10%, el promedio del efecto inhibitorio en los dos períodos de incubación se incrementó para cada uno de los extractos; sin embargo, no llegaron a igualar al tiabendazol, comportándose de manera similar que a la concentración de 5%.

Al analizar en forma separada la respuesta de *Fusarium spp* con respecto a concentraciones y períodos de incubación, se observó claramente la tendencia a incrementar la inhibición al aumentar la concentración de los extractos de 5 a 10% en cada uno de los períodos de incubación, lo cual no sucedió al incrementar el período de incubación de 72 a 144 h en cada una de las concentraciones, donde todos los extractos, incluyendo el de clavo, disminuyeron su efecto inhibitorio en las dos concentraciones. El tiabendazol mantuvo su efecto inhibitorio de 100%. En términos generales, los extractos utilizados mostraron menor efecto inhibitorio para el crecimiento micelial de *Fusarium* que para *R. solani*; sólo el extracto de clavo a las concentraciones de 5 y 10% y 72 h de incubación lo inhibió por completo, pero no después de 144 h de incubación, y aunque mostró el mayor efecto inhibitorio en las dos concentraciones, fue estadísticamente inferior al tiabendazol.

1.7.- Interacción entre microorganismos y plantas

Atlas *et al.* (2002) argumentan que las raíces de las plantas son hábitat propio para el desarrollo de microorganismos. La biosfera es la fina capa de suelo que se queda adherida al sistema de raíces de las plantas después de sacudirlas. Las interacciones entre las raíces y los microorganismos de la biosfera se basan principalmente en la modificación interactiva del ambiente de suelo por procesos como: captación de agua por la planta, liberación de compuestos orgánicos al suelo por las raíces, producción microbiana de factores nutricionales y a su vez el consumo de nutrientes de la planta o minerales en el suelo.

1.8.- Plagas y enfermedades en la sandía

Según The agronomy guide (2005), existe cierta relación entre la incidencia de pulgones, mosca blanca y minador de la hoja (presentes en casi todos las cucurbitáceas), así como en la cenicilla polvorienta, mildiú vellosa y antracnosis, lo que facilita en cierta forma su identificación y controles en los cultivos.

Sin embargo, Barceló *et al* (2007), argumenta que la presencia de plagas y enfermedades está condicionada por los elementos del complejo agroecológico de cada zona. En el cultivo de sandía, los daños más graves se han presentado por enfermedades del suelo causadas por el exceso de humedad e incremento de temperaturas que generan los acolchados.

García *et al.* (2002) mencionan que la enfermedad “marchitez vascular” o fusariosis causada por el hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum*, representa una de las principales patologías que afectan al cultivo de la sandía, influyendo en su rendimiento y originando considerables pérdidas económicas. El síntoma más claro de acción de *Fusarium sp* es la presencia de necrosis vasculares que pueden observarse fácilmente en cortes longitudinales en las raíces o tallos de las plantas infectadas, finalmente las plantas se secan y mueren.

Herrera *et al.* (2012) manifiestan que una de las estrategias a considerar en el manejo de un microorganismo fitopatógeno es recurrir a la resistencia mediante el mejoramiento genético como medida de control más efectiva. Poder determinar la existencia de resistencia de la planta al ataque de algún patógeno requiere de la existencia de un protocolo de inoculación que asegure el contacto entre estructuras vegetativas y/o reproductivas del agente causal con la planta, así mismo es requerida la disponibilidad de suficiente material que actúe como propágulo inicial (suspensión de 1 000 esporas mL⁻¹ para lograr infectar una plántula).

1.9.- Métodos de infección de los patógenos a las plantas

Castaño (1978), indica los siguientes métodos que utilizan los patógenos para infectar un organismo vegetal:

- a) **Penetración directa.** El diámetro de la punta de la hifa, se incrementa y forma una estructura denominada apresorio, el cual incrementa el área de adherencia y fija al patógeno en la superficie de la planta. Debajo del apresorio se forma una hifa, la cual crece y avanza dentro y a través de la cutícula y pared celular.
- b) **Enzimas.** las enzimas; pectolíticos, celulolíticas, hemicelulasas, amilasas y lipolíticos causan la degradación de las células.
- c) **Toxinas.** *Fusarium oxysporum*, emite toxinas que mata las células del huésped, avanza por el conducto xilemático y se nutre de ella, son especializados, algunas toxinas que emite son; Ophiobolin, Lycomarasmin, Piricularin, Victorin, Colletotin., etc.
- d) **Reguladores de crecimiento.** En algunas ocasiones el patógeno conserva su individualidad, produce la hormona dentro de la célula. En otros casos el patógeno cede parte de su material genético al núcleo o al citoplasma de la célula; se incorpora al DNA o al RNA normal de la célula, se replica y codifica de ahí en adelante. Esta hormona finalmente es producida por la planta, pero inicialmente el código vino del patógeno.

1.10.- Defensa de las plantas contra patógenos

Urquijo *et al.* (1961) mencionan que las plantas utilizan a parte de sus estructuras especializadas compuestos bioquímicos contra los patógenos:

- a) **Compuestos fenólicos;** Algunas variedades de cebolla son resistentes a pudrición inducida por *Colletotrichum* y ello se debe a compuestos fenólicos que están presentes en dichas cebollas. Como los compuestos son solubles en

agua pueden salir sobre la cebolla húmeda e inhibir la germinación del patógeno.

- b) Alverjas; resistentes a pudrición de raíz por *Fusarium* tienen altos niveles de leucoantocianinas.
- c) Papas resistentes a marchitez por *Verticillium* presentan alta concentración de ácido clorogénico en la raíz y los haces vasculares.

1.11.- Creolina

PROQUIMSA (2007), argumenta que la creolina es un desinfectante de origen natural que se extrae de la destilación seca de la madera, se obtiene la resina vegetal o esencia de trementina, el residuo que queda de este proceso es una masa de color oscuro, de aspecto siruposo que se denomina creosota, está compuesta principalmente por fenol (ácido fénico) y cresol (ácido cresílico) que es la materia activa para elaborar diferentes compuestos para la limpieza y desinfección. **Tabla 1.**

Tabla 1. Propiedades físicas y químicas de la creolina

Propiedades físicas	Propiedades químicas
Apariencia y color: Líquido, color ámbar oscuro	Estabilidad: Estable en condiciones normales de uso y almacenamiento (presión atmosférica temperatura ambiental, libre de contaminantes).
Olor: Fenólico	Peligros por descomposición: A temperaturas mayores a 65 °C puede desprender vapores tóxicos.
Densidad 20 °C: 1.03	Incompatibilidades: Cauchos naturales.
pH: 12	Condiciones a evitar: Recipientes sin hermeticidad o contaminantes, altas temperaturas y los incompatibles.
Solubilidad en agua:	Total

Fuente: Proquimsa (2007)

Grupo TRANSMERQUIM. GTM. (2014), menciona que la creolina de origen natural, no poseen efectos adversos al medio ambiente. Luego de liberaciones únicas de

pequeñas cantidades, son removidos del aire rápidamente (generalmente la mitad es removida en menos de 1 día). Liberaciones repetidas o de mayores cantidades pueden permanecer en el aire, el agua o el suelo por periodos mucho más prolongados. Generalmente permanece en el suelo sólo 2 a 5 días. Puede permanecer en el agua durante 1 semana o más. La creolina no se acumula en peces u otros animales o en plantas.

Fernández *et al.* (2005) mencionan que la creolina tiene su origen de árboles terebintáceos como el *Eucalyptus globulus*, contiene; ácido gálico, hexahidroxidifenico y sus derivados. Estudios realizados con la especie de árbol antes mencionada muestran que el contenido de fenoles es más alto en las hojas y corteza que en la madera, debiéndose esto a la alta concentración de polifenoles poliméricos como los taninos. Estos compuestos han sido utilizados, para estudios de inhibición de hongos patógenos.

1.11.1.- Uso de la creolina en la agricultura

De acuerdo al INSTITUTO DE NUTRICIÓN DE CENTRO AMÉRICA Y PANAMÁ INCAP (2006), recomienda la utilización de 50 mL de creolina en 100 litros de agua, actúa como repelente contra la mosquita blanca, que durante su ciclo biológico se desarrolla por debajo de la hoja por lo que las aplicaciones deben ser dirigidas en el envés, que, con presencia de lluvias, después de la aplicación el efecto biológico se anula.

Para Bemfica (2010), el efecto de la creolina como desinfectantes en la aplicación del suelo para contrarrestar los Nematodos es eficaz al 10% en campo abierto y al 5% en condiciones controladas de temperaturas y humedad excesiva. La erradicación de nematodos en las áreas infestadas es muy difícil, cada vez es más importante tener cuidado sobre las medidas destinadas a reducir la propagación del inoculo.

La FUNDACIÓN HONDUREÑA DE INVESTIGACIÓN AGRÍCOLA FHIA (2011), demostró el control del zeller (*Hypsipyla grandella*) en el vivero de caoba y en los primeros dos años en el campo, colocó la creolina en una pajilla, hizo aberturas para

que permita la salida de gases, y se colgó lo más cerca posible de la yema terminal y se reubico a medida que la planta iba creciendo.

Rodríguez (2015) en condiciones controladas (25°C) se trató semillas de tomate con diferentes concentraciones de creolina (2,5 – 5 - 7 y 10 mL en 100 mL de agua destilada) durante 20 días; se inoculo el hongo y durante 7 días se dejó en esa interacción para observar si la creolina controlaba *Fusarium spp.* Finalmente, los resultados demostraron que la concentración más alta controlaba el hongo.

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.- Localización y descripción del lugar del ensayo

El experimento se realizó bajo condiciones controladas de laboratorio del Centro de Investigaciones Agropecuarias (CIAP), perteneciente a la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Estatal Península de Santa Elena, en el cantón La Libertad, provincia de Santa Elena.

2.1.1.- Materiales y equipos

2.1.2.- Materiales

- Bandejas plásticas para germinar
- Agua destilada
- Creolina líquida 2 litros
- Sustrato de suelo
- Muestra de *Fusarium spp* obtenida de dilución de suelo
- Pinzas
- Bisturí
- Tubos de ensayo
- Medio de cultivo PDA
- Vasos de precipitación
- Tubos falcón de 15 ml
- Papel filtro
- Papel toalla
- Cartulina de color
- Cinta parafina
- Cajas petri
- Puntas
- Pipetas
- Cubre objetos y porta objetos
- Mecheros
- Gradillas
- Macetas
- Marcador permanente
- Mascarilla descartable
- Guantes de látex
- Lupa

- Pinzas
- Libreta de apuntes, esferos.

2.1.3.- Equipos

- Balanza analítica digital
- Calibrador vernier
- Termómetro infrarrojo
- Estéreo microscopio
- Microscopico de revolver
- Hematocito-metro
- Micropipetas
- Cámara de crecimiento
- Estufa
- Autoclave
- Computadora portátil
- Cámara fotográfica

2.1.4.- Material genético

El material genético utilizado fue el híbrido de sandía Royal Charleston cuyas características agronómicas se presentan en el **Tabla 2**.

Tabla 2. Características agronómicas del material genético

Royal Charleston	
Tipo	Rastrera, trepadora
Fruto	Alargado, de corteza verde claro
Peso de fruto	17 – 25 lb
Problemas fitosanitarios	Medianamente resistente a <i>Fusarium spp.</i>

2.2.- Diseño experimental

El diseño experimental para evaluar el vigor germinativo del genotipo Royal Charleston fue Completamente al Azar (DCA) con seis tratamientos (concentraciones de creolina líquida) y tres repeticiones. A continuación, se describe la distribución de los grados de libertad en la **Tabla 3**:

Tabla 3. Distribución de los grados de libertad

ANDEVA (DCA)	
Fuentes de variación	Grados de libertad
Tratamientos (t-1)	5
Error experimental t(n-1)	18
Total (t*r)-1	23

2.2.1.- Tratamientos

Los tratamientos, fueron seis con concentraciones de creolina líquida: (0, 10, 20, 30, 40, 50 v/ml), **Tabla 4**:

Tabla 4. Descripción de los tratamientos

Tratamientos	Soluciones
T1 = C1	0 mL creolina + 100 mL H ₂ O
T2 = C2	10 mL creolina + 90 mL H ₂ O
T3 = C3	20 mL creolina + 80 mL H ₂ O
T4 = C4	30 mL creolina + 70 mL H ₂ O
T5 = C5	40 mL creolina + 60 mL H ₂ O
T6 = C6	50 mL creolina + 50 mL H ₂ O

Los resultados de porcentaje de germinación e incidencia de *Fusarium spp*, fueron analizados con el programa estadístico infoStat, solo a la variable incidencia de *Fusarium spp*, se realizó intervalos de confianza al 95% de probabilidades.

2.2.2.- Delineamiento experimental

Tabla 5. Delineamiento experimental

A. Diseño experimental	DCA
B. Tratamientos (una bandeja por tratamiento) = unidad experimental	6
C. Repeticiones	3
D. Total de unidades experimentales	18
E. Numero de semillas por unidad experimental	100
F. Numero de bandejas para germinación por tratamiento	1
G. Numero de semillas por tratamiento	100
H. Total de semillas en el experimento	1800

2.2.3.- Manejo del experimento

Para poder obtener cada una de las concentraciones señaladas en los tratamientos, se tuvo que utilizar la formulación y preparación de las disoluciones de creolina líquida.

2.2.3.1.- Cálculos de las disoluciones utilizadas

Esta actividad se realizó, disolviendo el soluto, que es la proporción o relación que hay entre la cantidad de soluto (creolina) y la cantidad de disolvente (agua), dando como resultado una solución homogénea.

La fórmula mediante el cual, se definieron las soluciones de creolina para determinar el porcentaje del volumen de líquidos es la siguiente:

$$\% \text{ volumen} = \frac{\text{volumen de soluto (mL)}}{\text{volumen de disolución mL}} \times 100$$

2.2.3.2.- Protocolo de siembra

Se desinfectaron las bandejas plásticas para germinar las semillas, con hipoclorito de sodio al 20% durante 10 min, finalmente se lavaron con detergente para eliminar los residuos de hipoclorito. Los pasos para el protocolo se detallan a continuación:

- a) Se procedió hacer un triple lavado a los 15, 10 y 5 minutos con agua destilada para eliminar el contenido de funguicida impregnado en las semillas, es decir por cada lavado se cambió el disolvente.
- b) A continuación, se cortó en forma rectangular papel filtro de acuerdo al tamaño de las bandejas plásticas para germinar, se colocó doble papel en el interior de cada unidad experimental para mantener la humedad necesaria durante la germinación.
- c) Luego, se realizó las disoluciones de creolina de acuerdo a los porcentajes establecidos en el cuadro 4 y cálculos de las formulas V/mL , luego se comprobó si la temperatura y el pH de cada una de las soluciones se encontraban en el rango óptimo para la germinación y que se refieren a (18 - 25°C) y (5 – 6.8 pH).
- d) Finalmente, se procedió a colocar 100 semillas en cada bandeja plástica, agregando de acuerdo a cada concentración 20 mL de la solución de creolina.
- e) Por último, se rotularon con su respectiva simbología, ejemplo; T1.R1 a cada tratamiento que se encontraba en su respectiva bandeja.
- f) Para concluir, las unidades experimentales se dejaron en una cámara de crecimiento a una temperatura de 25°C, durante 15 días, tiempo en el cual se evaluó el porcentaje de germinación a los 3 y 12 días.

2.2.3.3.- Protocolo de aislamiento de *Fusarium spp*

En estas actividades se utilizaron implementos como guantes, espátulas bolsas de papel que fueron previamente esterilizadas en autoclave a 121°C durante 1 hora, así mismo se esterilizaron todos materiales de vidrio y plásticos; fiolas, tubos de ensayo, cajas petri, cubre objetos, puntas, pipetas, etc., Los pasos para el protocolo, se detallan a continuación:

- a) El hongo se aisló partiendo de material enfermo que aparentemente estaba contaminado con *Fusarium spp*, debido a que las plantas presentaban síntomas de marchitamiento y raíz café oscura con laceraciones en el tejido radicular. También se tomaron muestras a nivel de suelo (15 cm de profundidad) donde estaban sembradas las plantas antes mencionadas. Las muestras del material vegetativo y de suelo se colocaron por separado en bolsas de papel y se mantuvieron durante 1 día en refrigeración en el laboratorio. Estas muestras se recolectaron en el centro de prácticas Manglaralto.
- b) Las muestras de suelo fueron llevadas al laboratorio, en donde se realizaron diluciones seriadas (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} y 10^{-5}); cada una de ellas, fue sembrada en un medio PDA previamente autoclavado y acidificado a pH 3,3, a continuación, se las dejó por un periodo de una semana hasta observar esporulación.
- c) A continuación, se procedió a contabilizar las colonias por simple observación y se pudo notar que en la dilución 10^{-1} se encontró 3 colonias presuntivas de *Fusarium spp* en muestras que contenían creolina, mientras que en las muestras del control se pudo observar más colonias.
- d) Luego, las colonias encontradas fueron llevadas al microscopio y junto a una colonia testigo se pudo comprobar que las tres muestras eran *Fusarium spp*. Así mismo del material vegetativo se obtuvo una muestra de colonia de hongo que fue sembrada en medio PDA y más tarde se comprobó que la colonia que había crecido era el mismo hongo.

- e) Por último, se procedió a inocular en medio PDA cada una de las colonias del hongo identificadas. Una vez que se observó crecimiento del hongo, se realizó una purificación.

- f) Finalmente, se realizó una suspensión de *Fusarium spp* proveniente de suelo, que consistió en colocar una muestra de hongo con una punta esterilizada en un tubo Falcón que contenía 10 ml de agua destilada, la misma que una vez agitada para homogenizarla, se extrajo una muestra con la micro-pipeta y se vació en las cámaras del hematocitómetro, luego se llevó al microscopio para cuantificar las esporas en 48 cuadrados terciarios (0,25mm x 0,25mm) de la cámara, donde se determinó que en 1 ml de suspensión habían 482 500 esporas. La misma que más adelante sirvió para inocular las semillas seleccionadas de las diferentes concentraciones de creolina.

2.2.3.4.- Protocolo de siembra para las semillas germinadas en creolina

Una vez seleccionadas las semillas de sandía que germinaron en las diferentes concentraciones de creolina, fueron aisladas para ser inoculadas con *Fusarium spp* siguiendo el siguiente protocolo:

- a) Se procedió a esterilizar en autoclave todos los materiales a utilizarse; cajas petri, fiolas, tubos de ensayos, pipetas, porta objetos, puntas y papel filtro, durante 1 hora a 121°C.

- b) A continuación, se procedió a hacer el medio PDA, se autoclavo y se acidifico a pH 3,3.

- c) Seguido del paso anterior, se cortó papel filtro en cuadritos de 1 cm x 1cm, para ponerlos en el medio PDA, que se utilizó para inocular las semillas con el hongo.

- d) Luego, se rotularon 100 cajas petri por tratamiento (T2, T3, T4, T5 y T6), a continuación, se sirvió el PDA en las cajas petri, una vez solidificado, se procedió a colocar los cuadritos en todas las cajas y las semillas se sembraron

sobre el papel filtro. En el caso del control (T1) debido a la germinación eficiente de la semilla hasta el día 12, que finalizo el experimento, para entonces, ya las plántulas tenían crecimiento de hipocótilo y radícula; por lo tanto, se procedió a sembrar 20 plántulas en tubos de ensayo con el mismo medio PDA, para continuar con nuevas pruebas.

- e) Finalmente, para comprobar la eficiencia de las concentraciones de creolina a las que habían sido sometidas las semillas de sandía en cada tratamiento, se inocularon 25 000 esporas de hongo con una micropipeta de 25 micras sobre la semilla que se encontraba sobre el cuadrito de papel filtro en cada caja petri, por último, se procedió a poner cinta parafina para evitar contaminación, para concluir, se dejaron en la cámara de crecimiento, por un periodo de 22 días.

- f) En el caso de T1 (control), 20 plántulas antes de ser sembradas en los tubos de ensayo con medio PDA, fueron separadas en 2 grupos de 10 para realizar otras pruebas y comprobar la supervivencia del hongo. Un grupo fue tratado con Captan (N-(triclorometiltio) ciclohex-4-eno-1,2-dicarboximida), para tal propósito se realizó una solución (0,80 g del producto en 100 mL de agua destilada), a continuación se sumergieron las plántulas durante 30 minutos en la solución, luego, se sembraron en los tubos de ensayo e inoculadas con 25 000 esporas de hongo, lo mismo sucedió con el otro grupo de 10 plántulas, la única diferencia es que fueron inoculadas únicamente con el hongo, finalmente, 10 plántulas adicionales fueron sembradas en tubos de ensayo con agua destilada y sirvieron para el control, por último, se procedió a poner cinta parafina a los tubos de ensayo para evitar contaminación y se dejaron en cámara de crecimiento por un periodo de 10 días.

2.2.3.5.- Protocolo de inoculación de *Fusarium spp* en muestras de suelo de un cultivo de sandía

La muestra de suelo utilizada para realizar la prueba de inoculación con *Fusarium spp* fue traída del Centro de Prácticas UPSE-Manglaralto, el estudio consistió en utilizar del ensayo, las diluciones de las concentraciones más altas de creolina es decir C5 y C6. El experimento se realizó mediante los siguientes pasos:

- a) Se procedió a pesar en balanza analítica las muestras por separado; 2 esterilizadas y 3 sin esterilizar, las cuales pesaron 600 g.
- b) A continuación, todas las muestras de suelo fueron vaciadas en macetas e identificadas como; sustrato A (control), B (esterilizado) y C (natural), Luego, con una micropipeta se inoculo 25 000 esporas de *Fusarium spp* en los sustratos B y C, finalmente se dejó por un periodo de 5 días, tiempo en el cual se esperaba crecimiento de micelio de hongo.
- c) Por último, se realizó una solución de la C5 (40 ml de creolina en 60 mL de agua destilada) y C6 (50 ml de creolina en 50 ml de agua destilada), finalmente, estas fueron vaciadas cada una en las muestras de suelo; esterilizadas y sin esterilizar, hasta que el suelo llegó a capacidad de campo, solo al testigo absoluto se le ponía 100 ml de agua destilada, para concluir, las muestras se dejaron por un periodo de 2 días, con el objetivo, que la solución de creolina se esparciera en todo el sustrato.
- d) Se realizaron diluciones seriadas de las muestras de suelo procedentes de la C5 y C6, donde se utilizó la dilución de 10^{-1} , a continuación en 12 cajas petri previamente preparadas con medio PDA y acidificado a pH 3.3, fueron colocadas las muestras de suelo, así mismo se sembró una muestra de suelo en 3 cajas petri que sirvió para el control.
- e) Finalmente se rotularon las 15 cajas petri; (6 cajas para la muestra esterilizada + *Fusarium spp*), (6 cajas para la muestra sin esterilizar + *Fusarium spp*) y 3 cajas para la muestra que sirvió de control, las muestras fueron dejadas en una

cámara de flujo laminar a 25°C por 5 días, tiempo en el cual se esperaba la formación de colonias.

- f) En último término, después de los 5 días de inoculación, se realizó el conteo de colonias por simple observación, las cuales fueron llevadas al microscopio para identificar los géneros de hongos presentes en las muestras.

2.3.- Variables experimentales

2.3.1.- Porcentaje de germinación

Para considerar el porcentaje de germinación de las semillas del híbrido Royal Charleston, se consideró que el eje embrionario debía atravesar la testa (emergencia). Según Azcón *et al.* (2000), la emergencia marca el fin de la germinación. Esta variable fue evaluada durante 12 días.

2.3.2.- Longitud de la radícula (mm)

Esta variable fue evaluada a los 12 días de la germinación, en el tratamiento T1C1 (control). A continuación, se procedió a utilizar un calibrador vernier y se midió en milímetros; desde la base del hipocótilo hasta el ápice de la raíz primaria.

2.3.3.- Longitud del hipocótilo (mm)

Esta variable fue evaluada a los 12 días de la germinación, en el tratamiento T1C1 (control). A continuación, se procedió a utilizar un calibrador vernier y se midió en milímetros; desde la base de la radícula hasta el primer nudo donde se insertan los cotiledones.

2.3.5.- Peso de masa fresca (g)

Para tomar esta variable, era necesario que las plántulas presentaran crecimiento de radícula e hipocótilo; condición que, se presentó a los 12 días de la germinación

únicamente en el control. Para proceder a la evaluación de la misma, se utilizó una balanza analítica previamente calibrada y a continuación, se pesaron 10 plántulas al azar obtenidas en cada una de las repeticiones.

2.3.6.- Porcentaje de Incidencia de *Fusarium spp* en las semillas

Para evaluar esta variable, se utilizaron las semillas del híbrido Royal Charleston que estuvieron bajo el efecto de las diferentes concentraciones de creolina. Esta situación se dio a los 12 días, debido a que los tratamientos antes indicados, no presentaban características de desarrollo del hipocótilo y emergencia de los cotiledones. Posteriormente, cada tratamiento fue inoculado con 25 000 esporas de *Fusarium spp.*, y después de 22 días, se procedió a contabilizar visualmente el número de semillas infectadas por el hongo; finalmente, el porcentaje de incidencia se determinó aplicando la fórmula sugerida por Anculle (1999), $I = (\text{Número de semillas enfermas} / \text{Número de semillas totales}) \times 100$.

2.3.7.- Severidad de la incidencia de *Fusarium spp* en plántulas

Para esta variable, se utilizaron las plántulas del tratamiento (T1 control), un total de 20 plántulas, seleccionadas al azar entre las tres repeticiones, mismas que fueron divididas en dos submuestras: (T1+Captan) y T1 (control). A continuación, se inocularon 25 000 esporas de *Fusarium spp.*, en cada una de ellas. Después de 10 días que duró la inoculación, se utilizó la siguiente fórmula para determinar el porcentaje de severidad¹: $S = (\text{Longitud de la lesión (mm)} / \text{longitud de la plántula (mm)}) \times 100$ sugerida por Herrera y Laurentin (2012). Las longitudes tanto de las lesiones como de las plántulas se midieron con el calibrador vernier.

Tabla 6. Escala de valoración de severidad de la incidencia

Cobertura por la Enfermedad	1/ Severidad (Esc. 1 - 9)	Clasificación
1-3%	1	Tolerante
3-5%	2	
5-7%	3	
7-10%	4	
10-17%	5	
17-20%	6	Medianamente tolerante
20-30%	7	
30-40%	8	Susceptible
50% o mas	9	Muy susceptible

Fuente: Botero (2001)

2.3.8.- Número de colonias de hongos en dilución de suelo

Para poder evaluar esta variable, se partió de los 6 días de la inoculación de *Fusarium spp.* A continuación, se procedió a realizar el conteo del número de colonias de hongos en cada una de las cajas petri de la dilución de 10^{-1} , por simple observación, Finalmente, se elaboraron placas con todas las colonias encontradas en las cajas petri y se llevó a microscopio para identificar el género de cada hongo.

CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1.- Porcentaje de germinación

En la Tabla 7 se presentan los resultados de los ANDEVA en función de los días a germinación, donde se observan las diferencias estadísticas significativas al 1% de probabilidad, para los tratamientos en la F. calculada. A los días 3 y 12 de la evaluación

Tabla 7. Análisis de varianza (ANDEVA) de los tratamientos, variable porcentaje de germinación a los 3 y 12 días de la evaluación

Días evaluados	Grados de Libertad	F. Calculada	F. Tabular	
			5%	1%
Día 3	5	300, 38 **	3, 81	1,81
Día 12	5	268, 16 **	3,81	1,81

En la **Figura 1** se presentan los resultados del porcentaje de germinación de acuerdo a la prueba de Duncan al 0,05%, a los 3 días de la evaluación. Al respecto, se puede notar las diferencias estadísticas significativas que existen entre el tratamiento de mayor porcentaje de germinación T1C1 (control) con el 81%, con los más bajos en porcentajes, como son T4C4 (30 mL de creolina), T5C5 (40 mL de creolina) y T6C6 (50 mL de creolina) con valores de 9, 5 y 1% de germinación; mientras que T2C2 (10 mL de creolina) y T3C3 (20 mL de creolina), también se diferencian entre ellos, por haber obtenido, valores de 63 y 37%, respectivamente; situación que estadísticamente hace la diferencia entre los tratamientos.

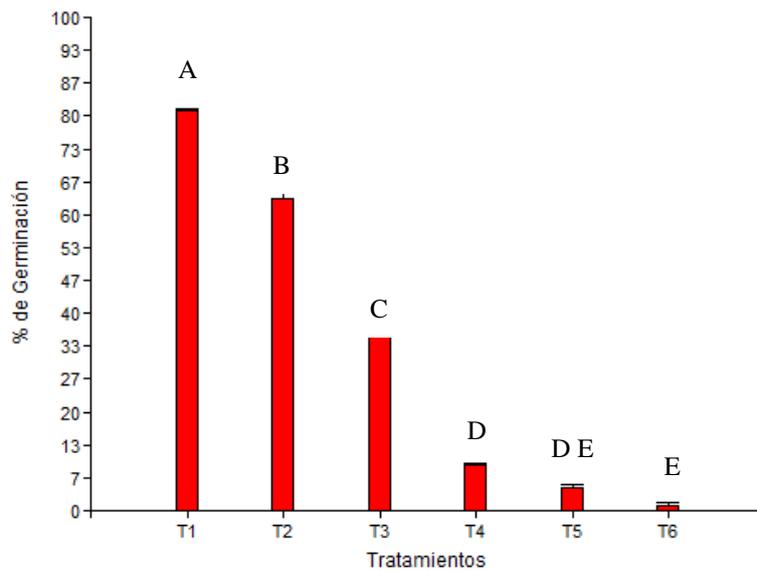


Figura 1. Porcentaje de germinación a los 3 días

Los resultados obtenidos en esta variable son similares a los que obtuvo Rodríguez (2015), cuando aplicó diferentes concentraciones de creolina (0, 2,5, 5, 7,5 y 10 mL) en genotipos de tomate, encontró mayor porcentaje de semillas germinadas en el control con un valor de 94% a los 3 días de evaluación, demostrando que en las concentraciones más altas de creolina, disminuye la germinación como en el presente estudio en donde, T1C1 (control absoluto) obtuvo el mayor porcentaje de germinación al día 3 y a medida que se incrementaban las concentraciones de creolina, la germinación disminuía, como sucedió en; T4C4 (30 mL de creolina), T5C5 (40 mL de creolina) y T6C6 (50 mL de creolina).

En la Figura 2, se presentan los resultados del porcentaje de germinación de acuerdo a la prueba de Duncan al 0,05%, a los 12 días de la evaluación. Al respecto, se puede notar las diferencias estadísticas significativas que existe en germinación entre T1C1 (control) con un valor de 96% y T2C2 (10 mL de creolina) y T3C3 (20 mL de creolina) que obtuvieron valores de 72 y 41% respectivamente, comportándose a la vez como los tratamientos con mayor porcentaje de germinación; mientras que, los tratamientos con los porcentajes más bajos de germinación fueron; T4C4 (30 mL de creolina), T5C5 (40 mL de creolina) y T6C6 (50 mL de creolina) con valores de 24, 11 y 2%, respectivamente, los cuales también establecieron diferencias significativas entre ellos.

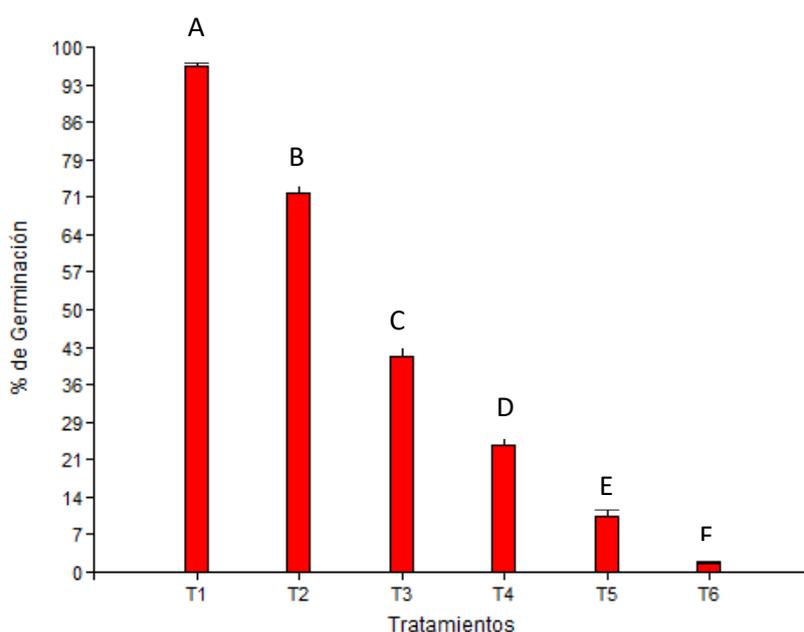


Figura 2. Porcentaje de germinación a los 12 días

Los resultados obtenidos en esta variable son afines a los que obtuvo Rodríguez (2015), cuando aplicó diferentes concentraciones de creolina (0, 2,5, 5, 7,5 y 10 mL) en genotipos de tomate; germinó el 98% en el control a los 10 días de evaluación, demostrando que concentraciones altas de creolina, disminuye la germinación como en el presente estudio en donde, T1C1 (control absoluto) alcanzó el porcentaje más alto de germinación a los 12 días.

Giardina *et al.* (2012) realizaron ensayos de germinación con dosis creciente de cromo: 0 (control), de 0.000001; 0.00001; 0.0001; 0.001; 0.01; 0.1; 0.15; 0.2; 0.25; 0.5; 0.75; 1; 1.5 y 2 M, a partir de Cromato de Potasio en semillas de *Phaseolus vulgaris* L. por tratamiento. Luego de 1 semana desde la fecha de siembra, en los tratamientos de 2 a 10-1 M no hubo germinación de las semillas de poroto, comenzando la misma a partir de la concentración 0,01 M de cromo (VI), o sea a partir de los 520 mg L⁻¹; un valor superior a los encontrados en la bibliografía. Los resultados obtenidos por Giardina *et al.* (2012) son afines al presente estudio, ya que a medida que aumentaban las concentraciones de creolina como en el caso de las semillas expuestas a las concentraciones; C4, C5 y C6 no presentaron una germinación óptima, ya que el porcentaje estuvo por debajo del 12%.

3.2.- Incidencia de *Fusarium spp.*, en semillas

En la Figura 3, se puede observar los resultados a los 22 días después de haber inoculado los tratamientos con *Fusarium spp.*; ellos demostraron con una confiabilidad del 95% que, el patógeno en promedio pudo infectar la semilla de sandía bajo los efectos de la creolina en un 63%, Llegando a un máximo de afectación del 95%, de incidencia, cuando las semillas se encuentran bajo el efecto de C2 y C3, pero cuando el hongo se encuentra bajo las concentraciones más altas del compuesto líquido ecológico, es decir C5 y C6, la afectación puede llegar a un mínimo de 35% de incidencia.

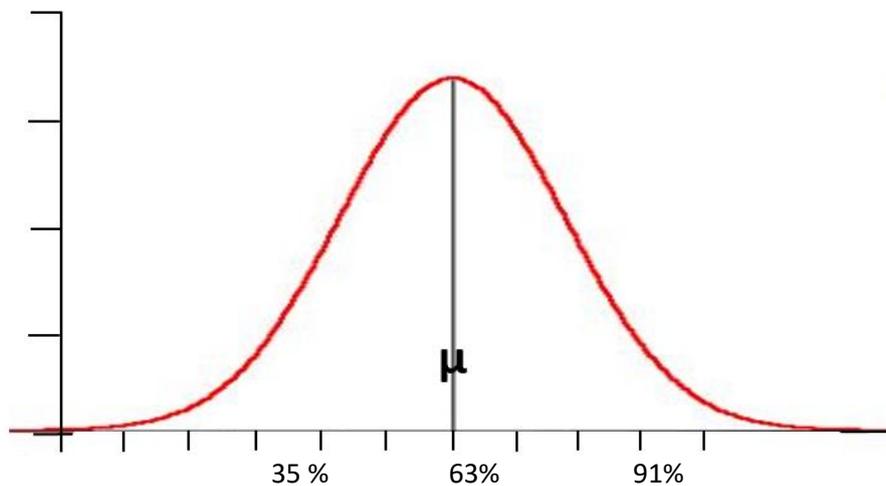


Figura 3. Intervalo de confianza de la incidencia de *Fusarium spp.*, en las concentraciones de creolina

Los resultados obtenidos en el presente estudio, tiene similitud a los que obtuvo López *et al.* (2005), cuando aplicó concentraciones al 5 y 10% de 6 extractos de diferentes especies de origen vegetal sobre *Fusarium oxysporum Schlechtend* y otros hongos fitopatógenos. A los 3 días de la incubación del hongo *Fusarium*, la concentración de 5% del extracto de canela tuvieron cierto poder inhibitorio comparado con el control (fungicida tiabendazol). Estos resultados son afines al presente estudio, demostrando que a mayor concentración de ácidos fenólicos, mayor es el poder inhibitorio, como sucedió en las concentraciones de creolina; **C5** (40 mL creolina + 60 mL agua destilada) y **C6** (50 mL creolina + 50 mL agua destilada) tuvieron mayor efecto inhibitorio, sobre *Fusarium spp.*, a los 10 días de incubación.

Murillo *et al.* (2011) demostraron que aceites de citronelal y citronelol extraídos del eucalipto presentan un efecto fungicida a una concentración de 3 g/l inhibiendo en un 100% el crecimiento de *Fusarium*. Araque *et al.* (2012) determinaron que el aceite esencial de eucalipto fue efectivo al disminuir el crecimiento radial del hongo a concentraciones superiores de 1 g/l e inhibir por completo su crecimiento a 3 g/l. Los resultados obtenidos en el presente estudio son afines a los experimentos anteriores, demostrando que, a mayor concentración de creolina en el caso de la C5 y C6 la incidencia era baja entre 20 – 30% a los 22 días de evaluación, por tanto, inhibieron el crecimiento de *Fusarium spp.*, comparado con las concentraciones más bajas, en donde todas las semilla estuvieron contaminadas totalmente por el hongo.

3.2.3.- Longitud radicular en semillas provenientes de diferentes concentraciones de creolina, a los 12 días de la germinación

En la Figura 5 se puede observar a los tratamientos después de los 12 días de la germinación de las semillas de sandía y se puede notar, la mayor longitud de radícula en C2 con un valor de 7 mm; seguida de C3 con 5 mm, mientras en C4, C5 y C6 se disminuye significativamente la longitud con valores de 3, 2 y 1 mm respectivamente.

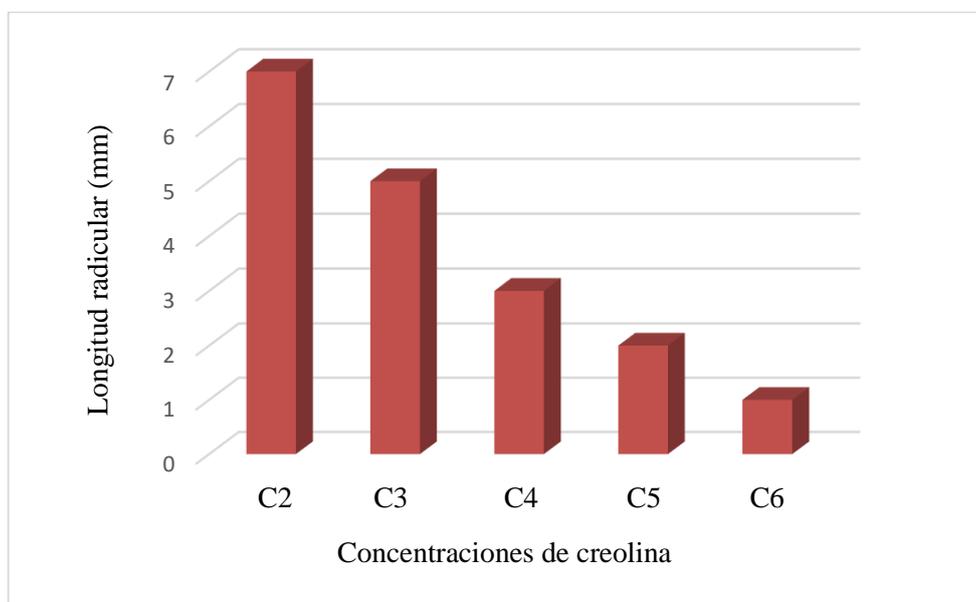


Figura 4. Longitud radicular (mm) bajo el efecto de concentraciones de creolina

Sariego *et al.* (2015), estudió la germinación de *Lolium rigidum*, bajo el efecto del extracto de *Plantago major* durante 4 días; se observó disminución de la radícula con un valor promedio de 37 mm comparado con el control con un valor de 40 mm, debido entre otros factores a la presencia de ácidos fenólicos. Estos resultados tienen similitud con la presente investigación, debido a que, hubo disminución decreciente en la longitud de la radícula, de acuerdo a las concentraciones de creolina C2, C3, C4, C5 y C6 y las semillas no presentaron germinación viable por efecto de la creolina que contiene ácidos fenólicos y cresílicos.

3.4.- *Peso de masa fresca de 20 plántulas de T1C1 (control)*

En la Figura 6 se muestran los resultados de 20 plántulas sin inocular, a los 12 días de la germinación, en donde se puede observar a; 4, 3, 2 y 1 plántulas, con pesos de 0.256; 0.250; 0.254 y 0.252 gramos respectivamente de las 10 del control (T1). En el caso de las 10 restantes, que fueron tratadas con Captan (fungicida), 4, 3, 2 y 1 plántulas, tuvieron pesos de 0.263; 0.260; 0.267 y 0.266 gramos respectivamente.

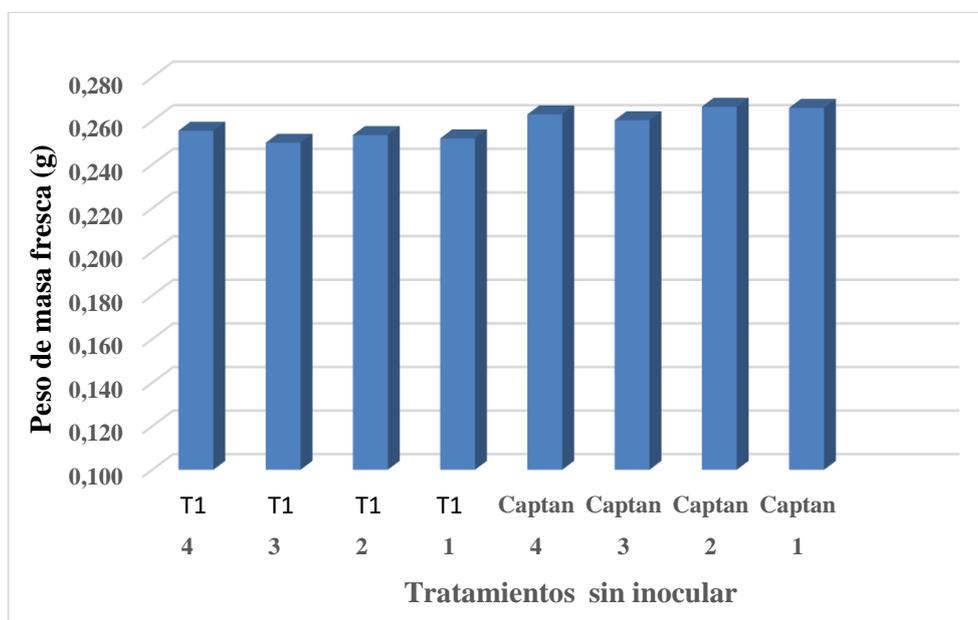


Figura 5. Masa fresca de 10 plántulas tratadas con Captan más 10 del control, evaluadas a los 12 días de la germinación

En relación a la Figura 7 las mismas plántulas antes mencionadas, después de haber sido inoculadas con 25 000 esporas de *Fusarium spp.*, los resultados muestran a 4, 3, 2 y 1 plántulas, con pesos de 0.080; 0.080; 0.080 y 0.100 gramos respectivamente de las 10 del T1+*Fusarium spp.*, mientras las 10 plántulas restantes, tratadas con Captan+*Fusarium spp.*, se muestran a 4, 3, 2 y 1 plántulas, con pesos de 0.203; 0.209; 0.204 y 0.200 gramos respectivamente.

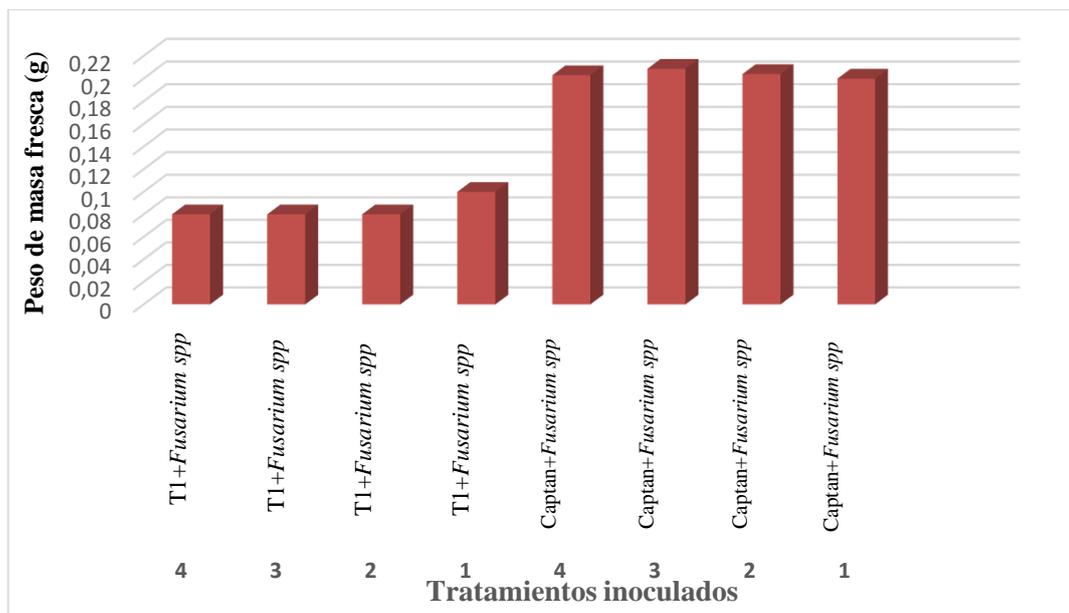


Figura 6. Masa fresca de 10 plántulas tratadas con Captan+*Fusarium spp.*, más 10 del T1+*Fusarium spp.*, evaluadas a los 10 días de exposición con el hongo

Paroussi *et al.*, (2003) injerto el cultivar 'Crimson Sweet', sobre portainjertos comerciales 'Mamouth', 'Calago', 'Astra', 'Dako' y 'Max-2' para evaluar la afectación de *Fusarium oxysporum* f. Sp. *niveum* o *Verticillium dahliae* en el rendimiento del cultivo. El experimento se realizó en un suelo fumigado con bromuro de metilo. La inoculación se realizó sumergiendo las plantas en una suspensión (densidad de 106 conidios por mililitro), para cada patógeno. Las plantas no injertadas inoculadas por *Fusarium* y *Verticillium* produjeron 11.03 y 13.09 kg / planta respectivamente, mientras que las plantas injertadas en 'Mamouth' produjeron 40.91 y 39.67 kg / planta. El hongo *Fusarium* afectó el rendimiento de las plantas tratadas con bromuro de metilo como sucedió en la presente investigación, cuando plántulas tratadas con Captan (fungicida) fueron inoculadas con 25 000 esporas de *Fusarium spp.* y al término de 10

días de exposición, habían disminuido su peso en un 10%; lo mismo ocurrió con las plántulas del control, con la diferencia que éstas, fueron atacadas severamente y disminuyeron su peso en un 15%.

3.4.1.- Longitud radicular de 20 plántulas del tratamiento (T1C1)

En la Figura 8 se muestran los resultados de 20 plántulas sin inocular, tanto en el control como en las tratadas con Captan, a los 12 días de la germinación. Al respecto, se puede observar una mayor longitud, en una plántula de T1 (control) y una de químico (Captan) con un valor de 30 mm en ambos casos; así mismo las longitudes más bajas se verifican para los mismos tratamientos antes mencionados, con un valor de 26 mm en 4 plántulas en cada caso.

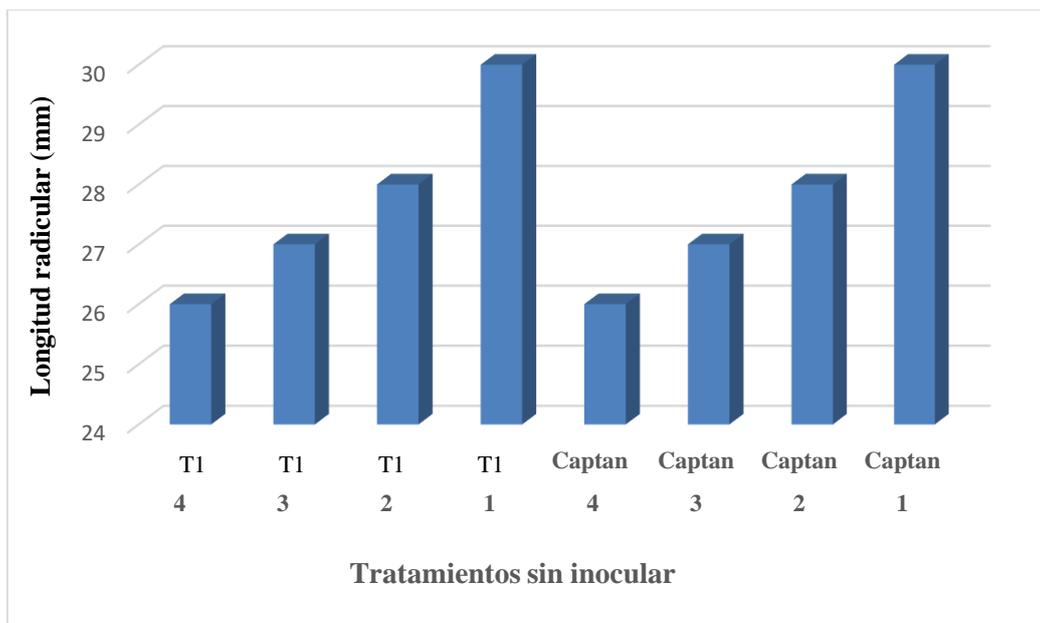


Figura 7. Longitud radicular (mm) de 10 plántulas tratadas con Captan más 10 del control, evaluadas a los 12 días de la germinación

En relación a la Figura 9 las mismas plántulas antes mencionadas, después de haber sido inoculadas con 25 000 esporas de *Fusarium spp.*, los resultados muestran que 10 plántulas provenientes de T1+*Fusarium spp.*, midieron 20 mm cada una, mientras las tratadas con Captan+*Fusarium spp.*, denotan longitudes radiculares con un valor de 32

mm para 1, 3 y 4 plántulas respectivamente, en cambio 2 plántulas en esta misma condición tuvieron una longitud radicular de 33 mm

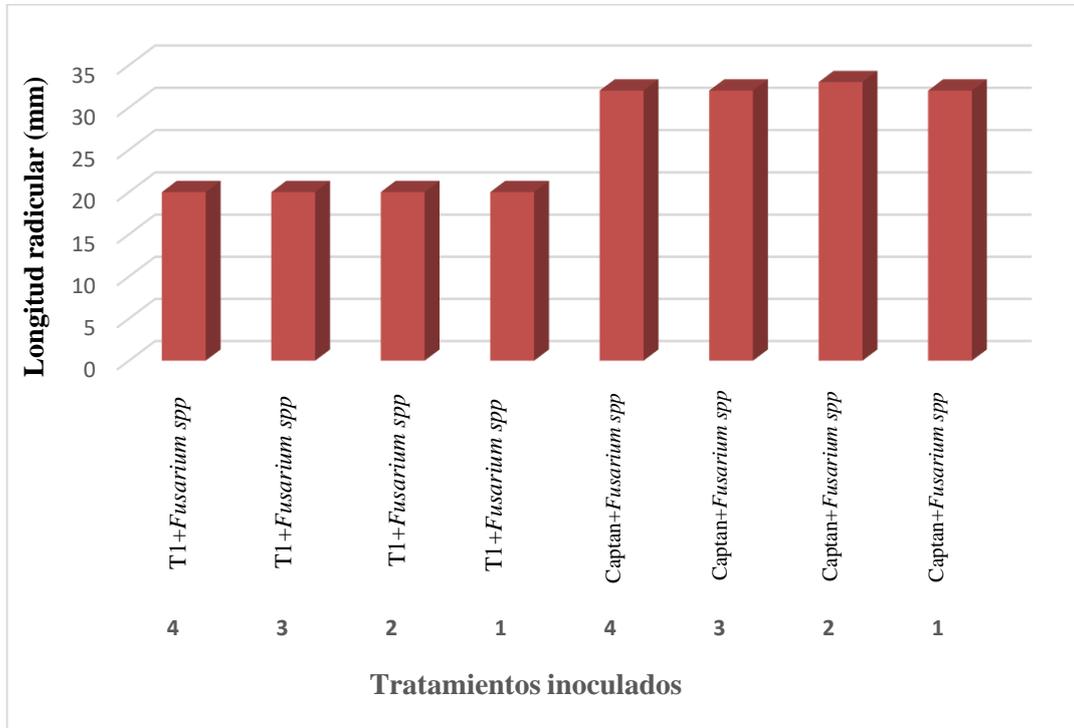


Figura 8. Longitud radicular (mm) de 10 plántulas tratadas con Captan+Fusarium spp., más 10 del T1+Fusarium spp., evaluadas a los 10 días de exposición con el hongo

Sanchez, B. *et al* (2006), utilizaron cepas de *F. lateritium* y de *F. solani*, para evaluar si este hongo era causante de la pudrición de la raíz en plantas de frijol. Los resultados muestran que a los 7 días, plantas inoculadas por *F. lateritium*, tuvieron pequeñas lesiones dispersas de color rojizo, las cuales a los 14 días se extendieron para cubrir mayor superficie. En algunas plantas, la raíz principal y la parte subterránea del hipocótilo se encontraron completamente cubiertas por lesiones del patógeno a los 14 días; mientras que a los 21 días las lesiones se extendieron a toda la raíz principal de las plantas inoculadas no permitiendo el crecimiento de las mismas. Las lesiones causadas por *F. solani* fueron similares a *F. lateritium*. En el presente estudio, todas las plántulas inoculadas con *Fusarium spp.*, presentaron sintomatologías similares al estudio realizado por Sánchez *et al* (2006), la raíz principal de las plántulas sin

tratamiento y las tratadas con Captan presentaron lesiones y coloración rojiza que incluso avanza hasta el hipocótilo a los 10 días de la evaluación.

3.4.2.- Longitud del hipocótilo de 20 plántulas del tratamiento (T1C1)

En la Figura 10 se muestran los resultados de 20 plántulas sin inocular, tanto en el control como en las tratadas con Captan, a los 12 días de la germinación, en donde de las 10 plántulas del control (T1); 4, 3, 2 y 1 presentaron longitudes de 45, 43, 43 y 46 mm respectivamente. En el caso de las 10 plántulas restantes, que fueron tratadas con Captan (químico), se presentan; 4, 3, 2 y 1 plántulas, con longitudes de: 48, 48, 47 y 48 mm respectivamente.

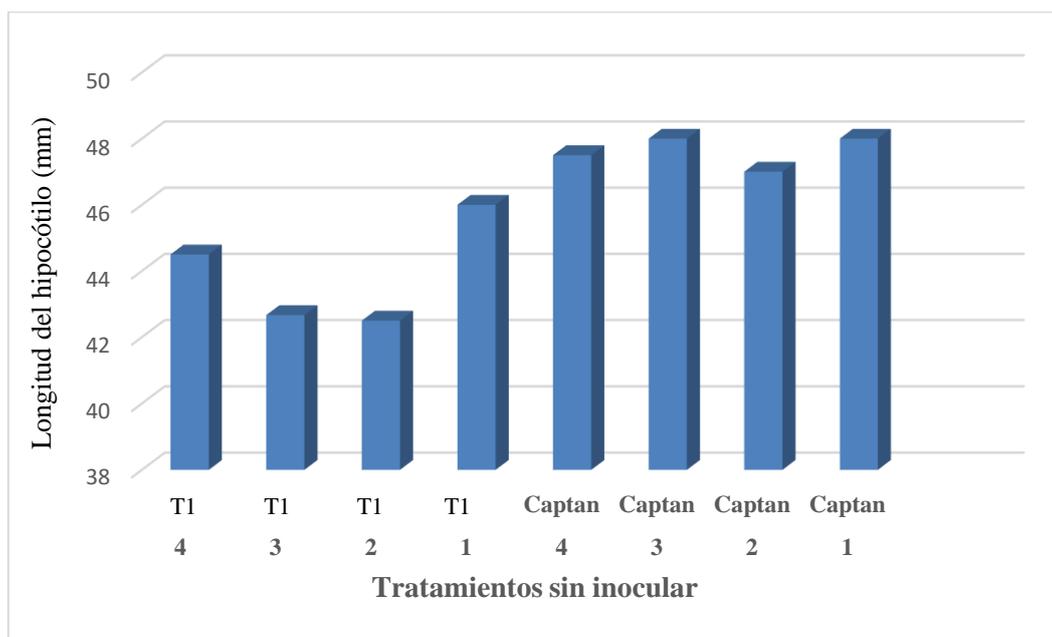


Figura 9. Longitud del hipocótilo (mm) de 10 plántulas tratadas con Captan más 10 del control, evaluadas a los 12 días de la germinación

En relación a la Figura 11, las mismas plántulas con presencia de hipocótilo antes mencionadas, después de haber sido inoculadas con 25 000 esporas de *Fusarium spp.*, los resultados muestran que 10 plántulas provenientes de T1+*Fusarium spp.*, midieron 32, 35, 30 y 36 mm para 4, 3, 2 y 1 plántulas respectivamente, mientras las tratadas

con Captan+*Fusarium spp.*, presentan longitudes del hipocótilo con valores de; 55, 53, 54 y 54 mm para 4, 3, 2 y 1 plántulas respectivamente.

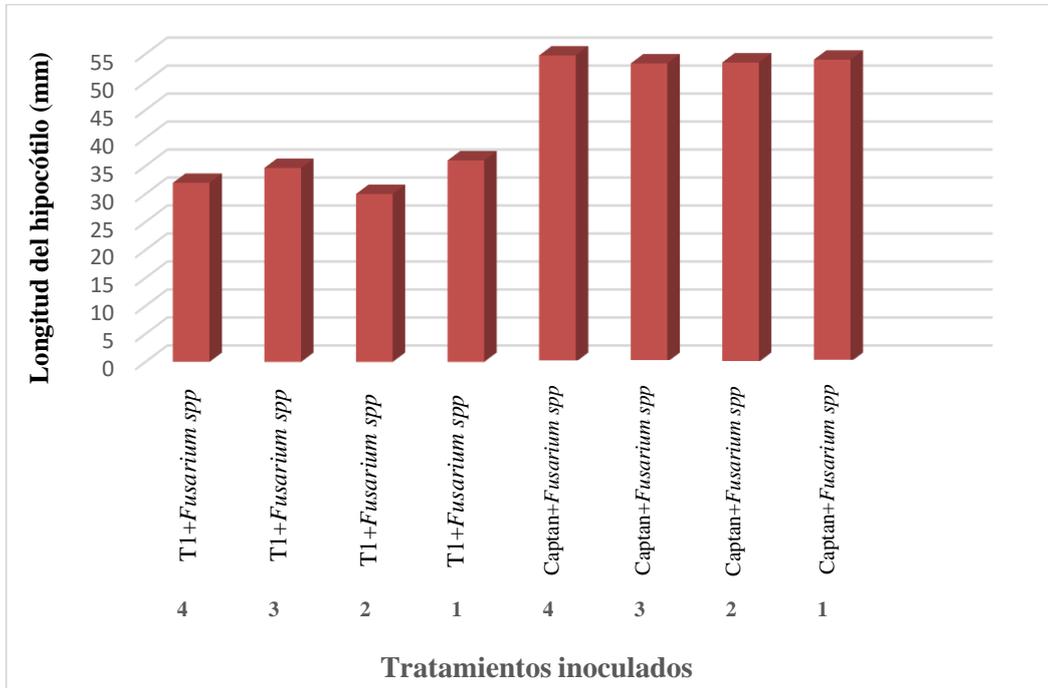


Figura 10. Longitud del hipocótilo (mm) de 10 plántulas tratadas con Captan, más 10 del control, evaluadas a los 10 días de exposición con *Fusarium spp*

Días *et al.* (2003) expusieron semillas de tomate, soluciones de Cl al 0,5 y 1%, sumergidas por 20 min en una suspensión de esporas de *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici* a excepción del tratamiento 4. Al día 14, observaron que la longitud del hipocótilo de las plantulas del tratamiento 1, con valor de 2 cm eran menor que las plantulas sanas del tratamiento 4 que midieron 3 cm. Resultados similares se obtuvo en el presente estudio, donde el fungicida protegió a las plantulas permitiendo crecer al hipocótilo, sin embargo no fue eficaz en el control debido a que presentó síntomas de coloración café oscuro y marchitamiento.

3.4.3.- Porcentaje de severidad en plántulas del tratamiento (T1C1)

En la Figura 12 se presentan los resultados de 20 plántulas de sandías a los 22 días de exposición con el hongo, mismas que fueron inoculadas con 25 000 esporas, de las cuales, 10 tratadas con *Fusarium spp.*, presentaron más del 50% de severidad dentro

de la escala de 1 – 9 y las restantes 10 plántulas que fueron tratadas con Captan formaron dos grupos, 7 de las cuales demostraron una afectación de 30 a 40% de severidad y 3 de ellas obtuvieron más del 50% de afectación.

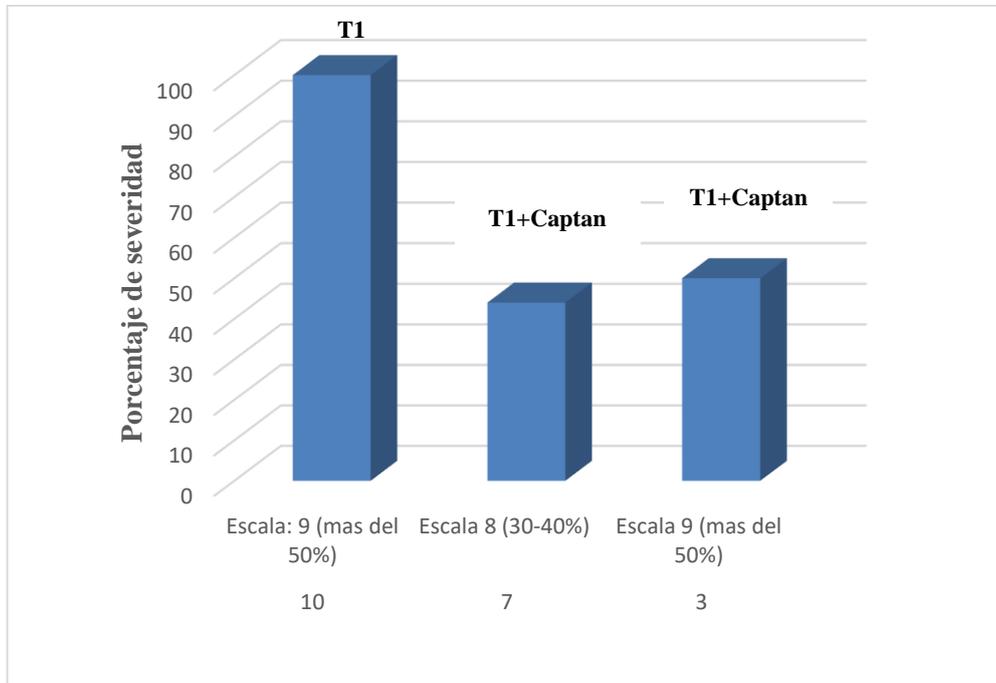


Figura 11. Porcentaje de severidad en 20 plántulas inoculadas de *Fusarium spp.*, evaluadas a los 10 días de exposición con el hongo

Apodaca *et al* (2002) inoculó una suspensión de 1.7×10^4 microconidios por ml, de *Fusarium oxysporum f. sp. radicis-lycopersici* (forl), en semillas de *Citrullus lanatus*, la misma que presento el 90% de Incidencia y el 25% de severidad a los 7 días después de la inoculación, causando síntomas visibles de oscurecimientos en la base del tallo y marchitamiento de las plántulas. En el caso del presente estudio las plántulas del T1+*Fusarium spp.*, presentaron el 100% de severidad con síntomas visibles de raíces e hipocótilos necrosados y marchitamientos a los 10 días de exposición con el hongo.

Bedriñana *et al.* (2009) utilizó tres desinfectantes (metam potasio, metam sodio y 1.3 dicloropropeno+cloropicrina) para el control de la pobredumbre del tallo y de la raíz del pepino, causada por *Fusarium oxysporum f. sp. Radicis-cucumerium*, concluyendo que los desinfectantes químicos no llegaron a controlar satisfactoriamente la enfermedad durante el ciclo de producción. También los tres desinfectantes fueron

añadidos a un medio selectivo para *Fusarium* en estado de fusión (temperatura 30 – 35°C) durante 8 días, observándose que todos los tratamientos disminuyeron la densidad de *Fusarium oxysporum* exceptuando con el tratamiento metam sodio (T5), que presentó 419 u.f.c/g⁻¹ al inicio de la evaluación y al término de la campaña aumento la micro-biota fusárica con 2.143 u.f.c/g⁻¹. Respecto al presente estudio las plántulas tratadas con Captan e inoculadas con *Fusarium spp.*, fueron afectadas con el 44 – 50% de severidad, lo que demuestra que los controles químicos para el patógeno no son eficaces.

3.5.- Número de colonias de hongos en dilución de suelo 10⁻¹

En la Figura 13 se muestran los resultados, de la variable número de colonias, que se encontraron en la dilución de suelo 10⁻¹, provenientes de la mezcla de sustratos de suelo más dos concentraciones de creolina C5 (40 ml de creolina + 60 ml de agua) y C6 (50 ml de creolina + 50 ml de agua) respectivamente, donde se observa que en el Sustrato A (control absoluto) se formaron 21x10⁻¹ UFC, mientras que en el Sustrato C (sin esterilizar + *Fusarium spp*) se formaron 3 x 10⁻¹ y 2 x 10⁻¹ UFC para la C5 y C6 respectivamente, mientras que en el sustrato B (esterilizado + *Fusarium spp*) no se formaron colonias, estos resultados demostraron que las dosis altas de creolina controlan *Fusarium spp* ya que en la identificación de las colonias en el microscopio no se halló el género *Fusarium*, pero si hubo crecimiento de colonias de hongos del genero *Aspergillus* y *Penicillium* en menor concentración en comparación con el control donde se evidenció el mayor número de colonias.

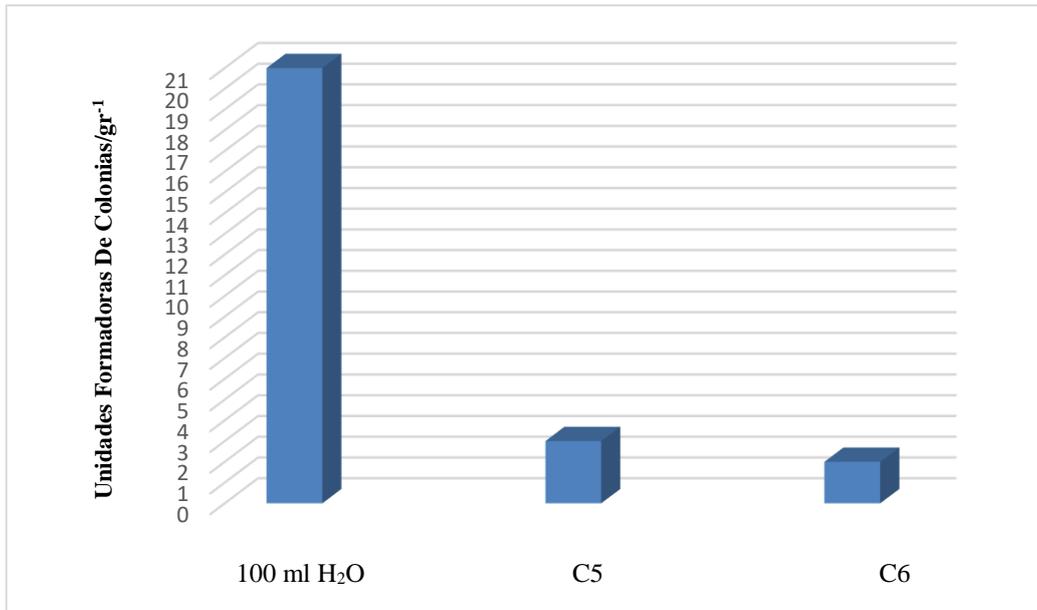


Figura 12. Unidades formadoras de colonias provenientes de sustratos tratados con creolina más un testigo

Snipes (2014), para el control de *Fusarium oxysporum f. Sp. niveum*, aplicó al suelo un cultivo de cobertura (centeno como testigo) y fumigantes (Disulfuro de dimetilo + cloropicrina y bromuro de metilo + cloropicrina); a continuación se realizaron diluciones (10^{-1} , 10^{-2} y 10^{-3}) de las muestras de suelo que fueron recolectadas a 10 - 20 cm de profundidad, luego fueron sembradas en medio PDA acidificado para rastrear el número de UFCs. El muestreo de colonias de hongo se realizaba en periodos establecidos (antes y después de la incorporación de los tratamientos), el muestreo inicial de *Fusarium* tuvo una media de 25.08 CFUs / 10 g de suelo, los resultados mostraron que, no hubo diferencias en la formación de colonias (CFU) de *F. oxysporum* entre los cinco tratamientos con cualquiera de las diluciones. Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que las concentraciones de creolina C5 y C6 aplicadas a los sustratos (esterilizado y natural) controlaron al hongo *Fusarium*; en la concentración 10^{-1} .

Bower (2000) realizó un estudio con extractos botánicos y aceites esenciales como posibles alternativas a la fumigación del suelo para el control de *Fusarium oxysporum f. Sp. Chrysanthemi.*, se trató con 1, 5, y emulsiones de 10% acuosas de extractos formulados de clavo de olor (70% de aceite de clavo), neem (90% de aceite de neem),

pimienta / mostaza (extracto de yuca y aceite esencial de mostaza) del árbol de cassia), Y Banrot (un fungicida estándar) en experimentos separados. Antes del experimento, se determinaron las densidades de población de *F. oxysporum f. Sp. Chrysanthemi*. Después de 3 días de la inoculación, los extractos de pimienta / mostaza, casia y clavo añadieron las emulsiones acuosas al 10%, reduciendo la densidad de población de *F. oxysporum f. Sp. Chrysanthemi* 99.9, 96.1 y 97.5%, respectivamente, en comparación con el control no tratado. El extracto de aceite de neem aumentó la densidad de población de *Fusarium* en todas las concentraciones. Banrot no redujo la densidad de población. En el presente estudio se probó las concentraciones C5 y C6 (40 y 50% de creolina) a capacidad de campo en sustratos de suelos (esterilizados y sin esterilizar) inoculados con *Fusarium spp* por 5 días, a continuación las muestras se sembraron en medio PDA acidificado, finalmente se hicieron placas y se identificó la especie de hongos. Los resultados mostraron que en ninguna de las muestras incluyendo el control, hubo colonias de hongos de *Fusarium spp*, más si se pudo observar, con menor número de colonias en las muestras que contenían creolina otras especies como *Aspergillus* y *Penicillium* comparado con el control que presentó mayor número de colonias de hongos.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- Las concentraciones de creolina, que permitieron germinar a la semilla en el menor tiempo posible, es decir, a los 12 días, fueron C2 y C3, con un porcentaje de germinación promedio de 56%, las demás concentraciones germinaron por debajo del 12%.
- Las concentraciones de creolina líquida agrícola más eficientes para controlar la incidencia de *Fusarium spp.*, en semillas germinadas a los 12 días fueron; **C5** (40 mL creolina + 60 mL agua destilada) y **C6** (50 mL creolina + 50 mL agua destilada), sin embargo no tuvieron una germinación viable.
- A los 22 días después de haber inoculado los tratamientos con *Fusarium spp.*; los resultados demostraron con una confiabilidad del 95% que, el patógeno pudo infectar la semilla de sandía bajo los efectos de la creolina en un 63%, llegando a un máximo de afectación del 95% de incidencia, cuando las semillas se encuentran bajo el efecto de C2 y C3, pero cuando el hongo se encuentra bajo las concentraciones más altas del compuesto líquido ecológico, es decir C5 y C6, la afectación puede llegar a un mínimo de 35% de incidencia.
- El hongo *Fusarium spp.*, afectó tanto a las raíces como al hipocótilo de las plántulas tratadas con el fungicida Captan, en un rango de 40 a 50% de severidad.
- Todas las plántulas del T1 (control+*Fusarium spp.*) en un 100% de severidad sucumbieron a causa de la enfermedad.

Recomendación

- Seleccionar genotipos de sandía que germinen en altas concentraciones de fenoles procedentes de diferentes especies de árboles, y evaluar la eficiencia en el control de *Fusarium*, con la finalidad de mejorar una cualidad de resistencia a enfermedades causadas por hongos.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Alvarado, P., (2008) Melones y sandías. Apuntes de la cátedra de Horticultura. Facultad de Ciencias Agronómicas. Universidad de Chile, Santiago, Chile. pp. 15.

Anculle (1999), citado por Rojas, C., Muñoz, L., Terán, V., Prado, F y Quiñonez, M (2010) Evaluación de patógenos en clones de lulo (*Solanum quitoense* Lam. Universidad Nacional De Colombia. Revista colombiana de fitopatología. Disponible en: https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/16273/17190

Apodaca, M., Sánchez, Zavaleta, E., Mejía, Osada, S., Kawasoe, García, R., Espinosa. (2002) Hospedantes Asintomáticos de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *radicis-lycopersici* W.R. Jarvis y Shoemaker. Universidad Autónoma de Sinaloa. Mexico. Enero-Junio, vol 22, numero 001, pp 7-13.

Araque, P., Murillo, W. y Peláez, C. 2012. Actividad fungicida e insecticida de emulsiones en agua/aceite de mezclas de extractos de *Nicotiana Tabacum*, *Azadiractha indica* y *Eucalyptus tereticornis*. Información Tecnológica. 23 (1): pp 139-152.

Atlas, M. y Bartha, R. (2002). Ecología Microbiana y Microbiológica Ambiental. Editorial Pearson Educación. Cuarta Edición. Madrid España. pp 97-100.

Azcón-Bieto, J. y Talon, M. (2000) "Fisiología y bioquímica vegetal". Disponible en: http://www.euita.upv.es/varios/biologia/temas/tema_17.htm

Bahamonde, G. (1976) *Métodos estadísticos y principios de diseño experimental*. Facultad de Ciencia Agrícolas de la Universidad Central del Ecuador. Segunda Edición, pp 55.

Barceló, M y Alberto, 2007. *Las plagas insectiles en el espacio agrícola del municipio Majibacoa*. Editorial Universitaria. SB605.C9-M6862007eb, pp 134. Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/upsesp/detail.action?docID=10179630>

Bedriñana, A., García, C., Llamas, D., Hernández, S., Marquina, T. (2009) *Control de la podredumbre del tallo y de la raíz del pepino en cultivos sin suelo en Almería*.

Universidad de Almería. Sureste de España. Bol. San. Veg. Plagas, 35: 439-452.
Disponible en:
[file:///D:/Fusarium%20para%20tesis/2010%20Control%20de%20Fusarium%20pepi
no_Añaños.pdf](file:///D:/Fusarium%20para%20tesis/2010%20Control%20de%20Fusarium%20pepi%20no_Añaños.pdf)

Bemfica, S., Antonioli, Z., Steffen, K., Morales, D., Eckhardt, P., y Bassaco, A. (2010) Efeitos da creolina sobre a nematofauna associada a cultura do fumo. *Tecnológica. Revista do depto. Química y física.* pp. 20.

Bertha María Sánchez-García, Francisco González-Flores, José Luis Pons-Hernández, Jorge Alberto Acosta-Gallegos, Mariandrea Cabral-Enciso, Saúl Fraire-Velázquez, June Simpson y Raúl Rodríguez-Guerra. 2006. *Fusarium lateritium*: nuevo patógeno de la raíz del frijol en México. *Revista Agric. Téc. Méx* vol.32 no.3 México sep. Disponible en:
[http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0568-
25172006000300001](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0568-25172006000300001)

Besnier, R. (1989) *Semillas. Biología y tecnología.* Ediciones Mundi – Prensa. Madrid.

Bonifa, N. (2011) *Efecto de tres concentraciones de Cloruro de Sodio (NaCl) en variables del crecimiento y desarrollo de semillas de tomate (Solanum lycopersium L.), variedad Amalia 95 en condiciones de laboratorio.* Universidad Técnica de Cotopaxi. Unidad Académica de Ciencias Agronómicas y Recursos Naturales. Latacunga, Ecuador.

Botero, M. 2001. Tabla y diagrama de severidad de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) en tomate de árbol. Disponible en:
http://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/16273/17190

Bower, JH; Locke, JC. 2000. Effect of botanical extract on the population density of *Fusarium oxysporum* in soil and control of *Fusarium* wilt in the greenhouse. *Plant Dis.* 84: 300 - 305. Disponible en:

<http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr:8080/bitstream/handle/11554/6062A2100e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Castaño, J. (1978) Trayectoria de la Fitopatología en Colombia. Editorial Letras, Medellín, pp 164.

Céspedes, O., Nicolás, H., Briones, S., Claudio, Núñez, A. y Beatriz, F. (2014) Efecto inhibitorio in vitro de cinco ingredientes activos sobre un aislado de *Fusarium oxysporum* obtenido de sandía. Escuela de agronomía. Editorial: Universidad de Talca. Chile. Disponible en: <http://dspace.otalca.cl/handle/1950/10737>

CIMPA s.a.s. (2013) Insumos y tecnología para la industria alimentaria. 26/06/13, pp. 1. Disponible en: <http://www.cimpaltda.com/modulo/quimicos/ft%20creolina.pdf>

Davies P.J. (2004) Plant Hormones. Biosynthesis, Signal Transduction, Action. Kluwer Academic Publishers.

Días, P. y Hernández, A. (2003) Comportamiento de la germinación de semillas de tomate tratadas con cloro (Cl). pp. 64. Disponible en: http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_vrural%2FVrural_2002_160_41_43.pdf

FAO. (2014) Organización De Las Naciones Unidas Para La Alimentación y La Agricultura. *Plantas de banano enfermas*. 14 de abril – Roma. Disponible en: <http://www.fao.org/news/story/es/item/224568/icode/>

FAOSTAT. (2013) Organización De Las Naciones Unidas Para La Alimentación y La Agricultura. Producción mundial y nacional de sandía. Ecuador. Consultado el 03 de octubre de 2016. Disponible en: <http://faostat3.fao.org/browse/Q/QC/S>.

Fernández, C., García, V., Gómez, M y Fernando, 2005. *Estudio de la composición tánica de madera, corteza y hojas de Eucalyptus Camaldulensis, E. Globulus y E. Rudis*. Editorial: Universidad Complutense de Madrid. SB313-C121 1995eb, pp 339. Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/upsesp/detail.action?docID=10088762>

FHIA. (2011) FUNDACIÓN HONDUREÑA DE INVESTIGACIÓN AGRÍCOLA. Deterioro pos-cosecha de las frutas y hortalizas por hongos y bacterias. 4:2-5. Disponible en: http://www.fhia.org.hn/downloads/fhia_informa/fhiainfdic2007.pdf

FHIA. (2007) Fundación Hondureña De Investigación Agrícola. Hoja Técnica. *Evaluación de estrategias para el control de la Hypsipylagrandella (Zeller) en la caoba*. N° 10. Cortes. Honduras.

G. Paroussi, F. Bletsos, G.A. Bardas, J.A. Kouvelos and A. Klonari., J NAGREF, 2003. Control of Fusarium and Verticillium Wilt of Watermelon by Grafting and Its Effect on Fruit Yield and Quality, Agric. Research Center of Macedonia and Thrace, Thessaloniki, Greece Department of Plant Protection, School of Agriculture, AUTH, pp 5.

Garcia, J., Jimenez, A., Vicente y Armengol, J. (2002) Principales enfermedades fungicas de la sandia, prevencion y control. Vida Rural. Diciembre 01, pp. 41. Disponible en: http://www.magrama.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_vrural%2FVrural_2002_160_41_43.pdf

Gázquez, J. y Martínez, B. (2015) Técnicas de cultivo y comercialización de la sandía. Cajamar. Caja Rural. Julio-España. Pp 332. Disponible en: <http://www.publicacionescajamar.es/pdf/series-tematicas/agricultura/tecnicas-de-cultivo-y-comercializacion.pdf>

Giardina, E., N., Heredia, O. S., Castro, M. A., & Efron, E. N. (2012) Fitotoxicidad del cromo sobre *Phaseolus vulgaris L.* Revista Agronomía y ambiente. Buenos Aires. Argentina, pp 75. Disponible en: <http://ri.agro.uba.ar/files/download/revista/agronomiayambiente/2012giardina.pdf>

GRUPO TRANSMERQUIM (GTM). (2014) Función ecológica de la creolina. Agosto, Revisión N° 3, pp 4. Disponible en: <http://www.gtm.net/images/industrial/c/CREOLINA.pdf>

Herrera, I y Laurentin H. (2012) Evaluación de la esporulación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *sesami* en dos medios de cultivo y dos metodologías de inoculación en ajonjolí (*Sesamum indicum*). Universidad Centro occidental Lisandro Alvarado. 10 de octubre. Venezuela. 6 pag. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4689960>

INCAP. (2006) INSTITUTO DE NUTRICIÓN DE CENTRO AMÉRICA Y PANAMÁ. Ecotecnologías para la Producción Agrícola y Pecuaria. Recetas para el control de Insectos. Manual 8. Serie I, pp 5.

Lluch, O., María, J., Barreda, G y Diego, 2005. *Guía gráfica de cultivos herbáceos*. Editorial de la universidad politécnica de Valencia. SB107-08182015eb, pp 427. Disponible en: <http://site.ebrary.com/lib/upsesp/reader.action?docID=11205560&ppg=6>

López-Benítez, Alfonso; López-Betancourt, Sandra Roxana; Vázquez-Badillo, Mario Ernesto; Rodríguez-Herrera, Sergio Alfredo; Mendoza-Elos, Mariano; Padrón-Corral, Y Emilio. (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 Acuáticos. A.C. Texcoco, México. Revista de la Sociedad Mexicana de Fitopatología, vol. 23, núm. 2, pp. 183-190.

López-Sariego M.C., Urbano J.M., López-Martínez N. (2015) *Efectos alelopáticos de extractos acuáticos de arvenses sobre la germinación de trigo duro y Lolium rigidum*. Universidad de Sevilla. España. pp 66. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Jose_Urbano3/publication/283452910_EFECTOS_ALELOPATICOS_DE_EXTRACTOS_ACUOSOS_DE_ARVENSES SOBRE_LA_GERMINACION_DE_TRIGO_DURO_Y_LOLIUM_RIGIDUM/links/5638a7dc08ae51ccb3cc7ebf.pdf

MAG. (2011). Ministerio de agricultura y ganadería. Guía técnica de rubros agropecuarios N°1. San Lorenzo – Paraguay. pp 71. Disponible en: <http://www.mag.gov.py/guia%20tecnica.pdf>

Marco, A., Samani, Z., López, E., Álvarez, A. y Preciado, F. (2008) Efecto de un extracto vegetal en la germinación de semillas de chile (*Capsicum annum*L.) bajo condiciones salinas. Universidad de Sonora. México. Vol x. N° 3. pp 11. Disponible en: <http://www.biocetnia.uson.mx/revistas/articulos/1-art2.pdf>

Maroto, J.V. (2002) *Horticultura Herbácea Especial*. Fundación Caja Rural Valencia. 5ª. Ed. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid.

Matilla, A. (2008) Desarrollo y germinación de la semilla. University of Santiago de Compostela. ResearchGate. October. pp 22. Disponible en: <http://www.uv.mx/personal/tcarmona/files/2016/08/Matilla-2008.pdf>

Matsum y Nakai. (1916) *Taxonomía de la sandía*. Conocimientos con todos y para todos. Ecured. Consultado el domingo, 9 de octubre de 2016. Disponible en: <https://www.ecured.cu/Sand%C3%ADa>

Murillo, W., Acevedo, J. y Peláez, C. 2011. Actividad antimicótica del aceite esencial a partir de *Eucalyptus tereticornis* sobre el hongo patógeno *Fusarium oxysporum* Revista cubana de Farmacia. 5 (2): pp 264-274.

PROQUIMSA (2007) Hoja de Seguridad de materiales. Consultado el 13/10/2016. Disponible: http://portalweb.ucatolica.edu.co/easyWeb2/files/56_12728_creolina.pdf

Rodríguez, L. (2015) *Evaluación de la germinación de tres genotipos de tomate (lycopersicon esculentum mill.) bajo el efecto de diferentes concentraciones de creolina líquida*. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Estatal Península de Santa Elena. pp 45.

Sierra, E., Cruz, J. y Arellano, R. (2005) PROMOSTA. Guías tecnológicas de frutas y vegetales. Costa Rica. Abril. pp. 14. Disponible en: <http://www.dicta.hn/files/Sandia,-2005.pdf>

The Agronomy Guide 2005. Plagas y enfermedades de las cucurbitáceas. Guía de identificación y manejo. Marzo. Impresa en EUA 131915035. p 19.

Urquijo, P., Rodriguez, J. y Santaolalla, G. (1961) Patología Vegetal agrícola. Nalvat Editores, S.A. Barcelona, pp 727 – 63.

Villao, R. (2015) *Capacidad germinativa de semillas de tomate (Lycopersicon esculentum Mill.) provenientes del agricultor al estrés osmótico en diferentes fotoperiodos*. Facultad de Ciencias Agrarias. Universidad Estatal Península de Santa Elena, Ecuador. 44 p.

Wil. (2012) Horticultura casera cultivo de sandía. AGROPECUARIOS. Febrero 14 - Ecuador. Disponible en: <http://agropecuarios.net/cultivo-de-sandia.html>

Wong, A., Gina, Franco, A., Carmen, Coronel, M. y Tulio, M. (2009) *Proyecto de producción de sandía para exportación en la península de Santa Elena*. Ecuador. 20-feb-09. Disponible en: <http://www.dspace.espol.edu.ec/xmlui/handle/123456789/644>

Yamaguchi, S., Nambara, E. (2006) Seed development and germination. En: Hedden P. Thomas SG (eds). Annual Plant Reviews, Blackwell Publishing. 24: 310- 338.

Zamorano, C. y Fuentes, C. (2005) Potencial alelopático de *Brassica campestris subsp. Rapa* y *Lolium temulentum* sobre la germinación de semilla de tomate. Agronomía colombiana. Vol. 23 N° 2. Bogotá. Disponible en: <http://eds.b.ebscohost.com>. Biblioteca virtual Universidad Estatal Península Santa Elena.

Tabla 1A. Datos de porcentaje de germinación a los 3 días de la evaluación

Tratamientos	Repeticiones	% de Germinación
T1	R1	81
T1	R2	80
T1	R3	82
T2	R1	60
T2	R2	66
T2	R3	64
T3	R1	35
T3	R2	30
T3	R3	45
T4	R1	9
T4	R2	9
T4	R3	10
T5	R1	4
T5	R2	4
T5	R3	6
T6	R1	2
T6	R2	1
T6	R3	0

Tabla 2A. Datos de porcentaje de germinación a los 12 días de la evaluación

Tratamientos	Repeticiones	% de Germinación
T1	R1	95
T1	R2	97
T1	R3	97
T2	R1	65
T2	R2	70
T2	R3	82
T3	R1	38
T3	R2	35
T3	R3	50
T4	R1	20
T4	R2	25
T4	R3	28
T5	R1	9
T5	R2	10
T5	R3	13
T6	R1	2
T6	R2	1
T6	R3	2

Tabla 3A. Porcentaje de incidencia a los 22 días de exposición con el hongo

R1	
T1C2 (10 ml de creolina):	% Incidencia = $\frac{10}{10} \times 100 = 100$
T2C3 (20 ml de creolina):	% Incidencia = $\frac{10}{10} \times 100 = 100$
T3C4 (30 ml de creolina):	% Incidencia = $\frac{6}{10} \times 100 = 60$
T4C5 (40 ml de creolina):	% Incidencia = $\frac{2}{10} \times 100 = 20$
T5C6 (50 ml de creolina):	% Incidencia = $\frac{1}{10} \times 100 = 10$
R2	
T1C2 (10 ml de creolina):	% Incidencia = $\frac{10}{10} \times 100 = 100$
T2C3 (20 ml de creolina):	% Incidencia = $\frac{10}{10} \times 100 = 100$
T3C4 (30 ml de creolina):	% Incidencia = $\frac{9}{10} \times 100 = 90$
T4C5 (40 ml de creolina):	% Incidencia = $\frac{3}{10} \times 100 = 30$
T5C6 (50 ml de creolina):	% Incidencia = $\frac{2}{10} \times 100 = 20$

Nota. Fórmula utilizada sugerida por Herrera I y Laurentin H (2012): (número de semillas enfermas / número de semillas totales) x 100

Tabla 4A. Análisis de varianza, variable porcentaje de germinación al día 3

F.V.	SC	GL	CM	F. Cal	F. Tabulada	
					5%	1%
Modelo.	16901,67	7	2414,52	214,94**		
Tratamientos	16871,33	5	3374,27	300,38**	3,81	1,81
Error	112,22	10	11,23			
Total	17014	17				

Tabla 5A. Test Duncan ($p \geq 0,05$)

Tratamientos	Concentraciones	R1	R2	R3	SUMA	MEDIA	E.E	N.S
T1	C1	81	80	82	243	81	11,23	A
T2	C2	60	66	64	190	63	11,23	B
T3	C3	35	30	45	110	37	11,23	C
T4	C4	9	9	10	28	9	11,23	D
T5	C5	4	4	6	14	5	11,23	D-E
T6	C6	2	1	0	3	1	11,23	E
C.V							10,26	

Tabla 6A. Análisis de la varianza, variable porcentaje de germinación al día 12

F.V.	SC	GL	CM	F. Cal	F. Tabulada	
					5%	1%
Modelo.	20537,06	7	2933,87	193,16		
Tratamientos	20365,61	5	4073,12	268,16**	3,81	1,81
Error	151,89	10	15,19			
Total	20688,94	17				

Tabla 7A. Test Duncan ($p \geq 0,05$)

Tratamientos	Concentraciones	R1	R2	R3	SUMA	MEDIA	E.E	N.S
T1	C1	95	97	97	289	96	15,18	A
T2	C2	65	70	82	217	72	15,18	B
T3	C3	38	35	50	123	41	15,18	C
T4	C4	20	25	28	73	24	15,18	D
T5	C5	9	10	13	32	11	15,18	E
T6	C6	2	1	2	5	2	15,18	F
CV:								9

INTERVALOS DE CONFIANZA PARA EVALUAR, INCIDENCIA DE *Fusarium spp*

Se utilizó la prueba de T_{05} de la tabla para determinar los intervalos de confianza al 95% de probabilidad

Tabla 8A. Intervalo de confianza a los 22 días de exposición con el hongo

Variable	Parámetro	Estimación	E.E	N	LI (95%)	LS (95%)
Incidencia de <i>Fusarium spp</i> a los 22 días de inoculación	Media	63	12.39	10	34.98	91.02

Tabla 9A. Datos de longitud radicular a los 12 días de la germinación, en semillas provenientes de diferentes concentraciones de creolina

Concentraciones de creolina	Longitud radicular (mm)										Promedio (mm)	Total (mm)
C2	7	7	5	7	6	7	8	7	8	7	69	7
C3	5	5	4	5	5	5	4	5	5	5	48	5
C4	3	3	2	2	3	4	3	3	4	2	29	3
C5	1	1	2	2	2	1	2	3	3	2	19	2
C6	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10	1

Tabla 10A. Datos de peso de masa fresca en gramos del tratamiento control (T1C1), a los 12 días de la germinación

Tratamientos sin inocular	Numero de plántulas	Peso (g)
T1	4	0.256
T1	3	0.25
T1	2	0.254
T1	1	0.252
Captan	4	0.263
Captan	3	0.260
Captan	2	0.267
Captan	1	0.266

Tabla 11A. Datos de peso de masa fresca en gramos del tratamiento control (T1C1), inoculado con *Fusarium spp.*, evaluado a los 10 días de exposición con el hongo

Tratamientos inoculados	Numero de plántulas	Peso (g)
T1+Fusarium spp	4	0.08
T1+Fusarium spp	3	0.08
T1+Fusarium spp	2	0.08
T1+Fusarium spp	1	0.1
Captan+Fusarium spp	4	0.203
Captan+Fusarium spp	3	0.209
Captan+Fusarium spp	2	0.204
Captan+Fusarium spp	1	0.2

Tabla 12A. Datos de longitud del tratamiento control (T1C1), a los 12 días de la germinación

Tratamientos sin inocular	Número de plántulas	Longitud radicular (mm)
T1	4	26
T1	3	27
T1	2	28
T1	1	30
Captan	4	26
Captan	3	27
Captan	2	28
Captan	1	30

Tabla 13A. Datos de longitud radicular del tratamiento control (T1C1), inoculado con *Fusarium spp.*, evaluados a los 10 días de exposición con el hongo

Tratamientos inoculados	Número de plántulas	Longitud radicular (mm)
T1+ <i>Fusarium spp</i>	4	20
T1+ <i>Fusarium spp</i>	3	20
T1+ <i>Fusarium spp</i>	2	20
T1+ <i>Fusarium spp</i>	1	20
Captan+ <i>Fusarium spp</i>	4	32
Captan+ <i>Fusarium spp</i>	3	32
Captan+ <i>Fusarium spp</i>	2	33
Captan+ <i>Fusarium spp</i>	1	32

Tabla 14A. Datos de longitud del hipocótilo del tratamiento control (T1C1), a los 12 días de la germinación

Tratamientos	Numero de plántulas	Longitud del hipocótilo (mm)
T1	4	45
T1	3	43
T1	2	43
T1	1	46
Captan	4	48
Captan	3	48
Captan	2	47
Captan	1	48

Tabla 15A. Datos de longitud del hipocótilo del tratamiento control (T1C1), inoculado con *Fusarium spp.*, evaluados a los 10 días de exposición con el hongo

Tratamientos	Numero de plántulas	Longitud del hipocótilo (mm)
T1+ <i>Fusarium spp</i>	4	32
T1+ <i>Fusarium spp</i>	3	35
T1+ <i>Fusarium spp</i>	2	30
T1+ <i>Fusarium spp</i>	1	36
Captan+ <i>Fusarium spp</i>	4	55
Captan+ <i>Fusarium spp</i>	3	53
Captan+ <i>Fusarium spp</i>	2	54
Captan+ <i>Fusarium spp</i>	1	54

Tabla 16A. Determinación del porcentaje de severidad del tratamiento (T1+*Fusarium spp*), evaluados a los 10 días de exposición con el hongo

Longitud		Longitud de la Lesión (raíz + hipocótilo)	Altura de plántula	Severidad
Raíz (mm)	Hipocótilo (mm)	(mm)	(mm)	%
20	32	52	52	100
20	32	52	52	100
20	32	52	52	100
20	32	52	52	100
20	35	55	55	100
20	35	55	55	100
20	35	55	55	100
20	30	50	50	100
20	30	50	50	100
20	36	56	56	100

Nota. Formula sugerida por Herrera I y Laurentin H (2012):

% de severidad = (longitud de la lesión/longitud de la plántula) x 100

Tabla 17A. Determinación del porcentaje de severidad de severidad del tratamiento (Captan+*Fusarium spp*), evaluados a los 10 días de la exposición con el hongo

Longitudes		Longitud de la Lesión (raíz + hipocótilo)	Altura de plántula	Severidad
Raíz (mm)	Hipocótilo (mm)	(mm)	(mm)	%
32	55	38	87	44
32	55	38	87	44
32	55	40	87	46
32	55	38	87	44
32	53	45	85	53
32	53	45	85	53
32	53	38	85	45
33	54	40	87	46
33	54	38	87	44
32	54	38	86	44

Nota. Formula sugerida por Herrera I y Laurentin H (2012):

% de severidad = (longitud de la lesión/longitud de la plántula) x 100

Tabla 18A. Datos de número de colonias encontradas en medio PDA en dilución de suelo 10⁻¹ en los sustratos A, B y C

Sustratos	Rep	Número de colonias encontradas en Medio PDA en disolución de suelo 10-1		Género de hongos encontrados
Sustrato (control)	R1	26		
	R1	25		
	R1	25		
	Suma	76		
	Promedio	25		
	R2	20		
	R2	20		
	R2	23		
	Suma	63		
	Promedio	21		
	R3	18		
	R3	17		
	R3	15		
	Suma	50		
	Promedio	17		
Sustrato	Rep	Número de colonias encontradas en Medio PDA en disolución de suelo 10-1		Género de hongos encontrados
Sustrato B (esterilizado)	R1	0	0	
	R1	0	0	
	R1	0	0	
	R2	0	0	
	R2	0	0	
	R2	0	0	
	R3	0	0	
	R3	0	0	
	R3	0	0	
	R3	0	0	

Sustrato	Rep	Número de colonias en sustrato sometido a concentraciones de creolina:		Géneros de hongos
		C5	C6	
Sustrato C	R1	4	3	
	R1	3	3	
	R1	2	1	
	Suma	9	7	
	Promedio	3	2	Penicillium-Aspergillus
	R2	3	2	
	R2	3	1	
	R2	2	2	
	Suma	8	5	
	Promedio	3	2	<i>Penicillium-Aspergillus</i>
	R3	3	1	
	R3	3	1	
	R3	1	1	
	Suma	7	3	
	Promedio	2	1	<i>Penicillium-Aspergillus</i>

Tabla 19A. Cálculo de la dosis de captan para 20 plantas

Dosis estándar	Volumen requerido, mL	Procedimiento	Cantidad requerida, g
800 g/100 L/ha	100 mL	$\frac{800 \text{ g} \times 100 \text{ mL}}{100\,000 \text{ mL}}$	0,80



Figura 1A. Lavado de semilla con agua destilada más 1% de lejía durante 30, 15 y 5 min



Figura 2A. Preparación de soluciones de creolina



Figura 3A. Siembra de las semillas en bandejas para germinación, embebidas de las diferentes concentraciones de creolina



Figura 4A. Tratamientos almacenados en cámara de crecimiento a 25°C



Figura 5A. Muestra de planta enferma por *Fusarium spp*

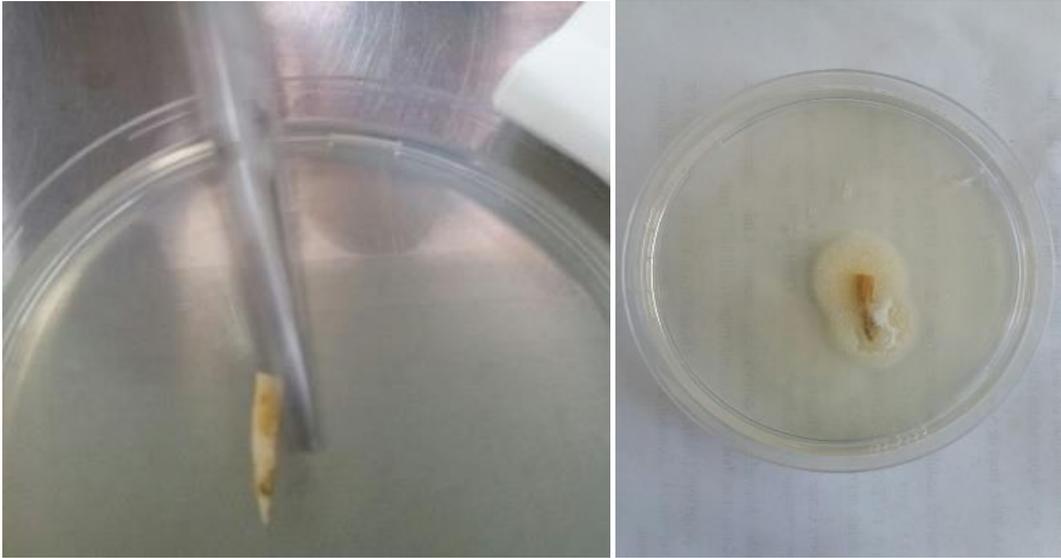


Figura 6A. Crecimiento de *Fusarium spp.*, en la raíz de la planta tomada como muestra

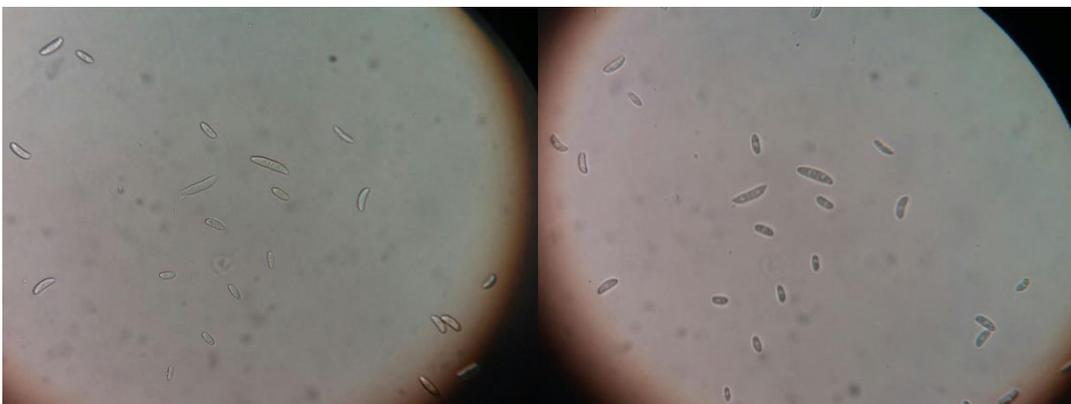


Figura 7A. *Fusarium spp.*, visto a través de microscopio



Figura 8A. *Fusarium spp.*, visto en microscopio, por medio de las cámaras del hematocitometro

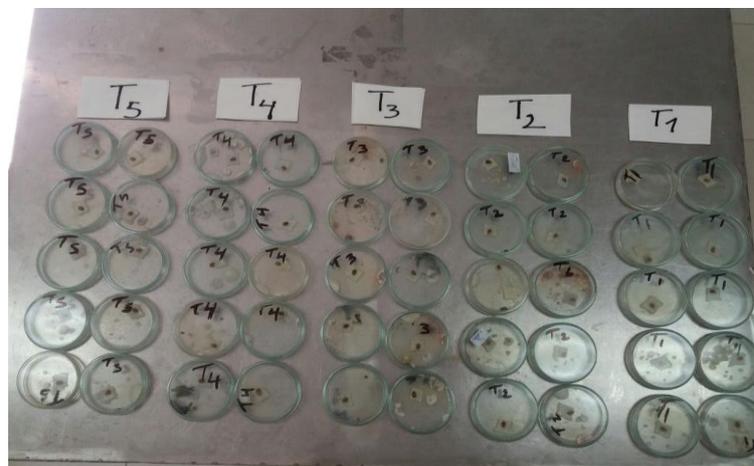


Figura 9A. Inoculación con *Fusarium spp.*, (25 000 esporas por semilla) en medio PDA

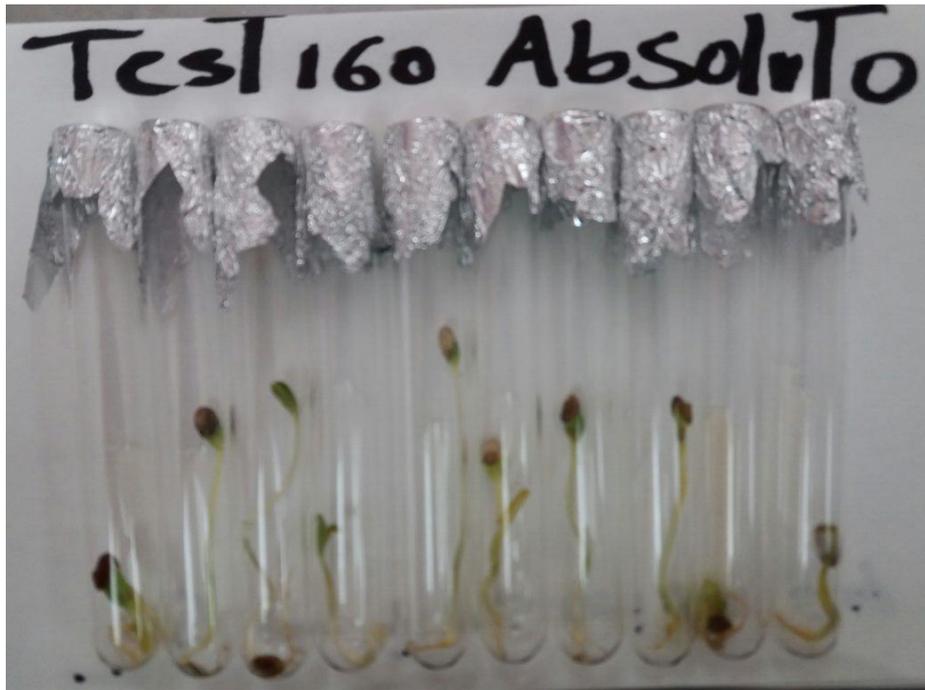


Figura 10A. Plántulas sanas del control (T1C1)



Figura 11A. Plántulas del T1C1 inoculadas con 25 000 esporas de *Fusarium spp*



Figura 12A. Inoculación con 25 000 esporas de *Fusarium spp.*, a plántulas de T1C1 (tratadas con Captan)

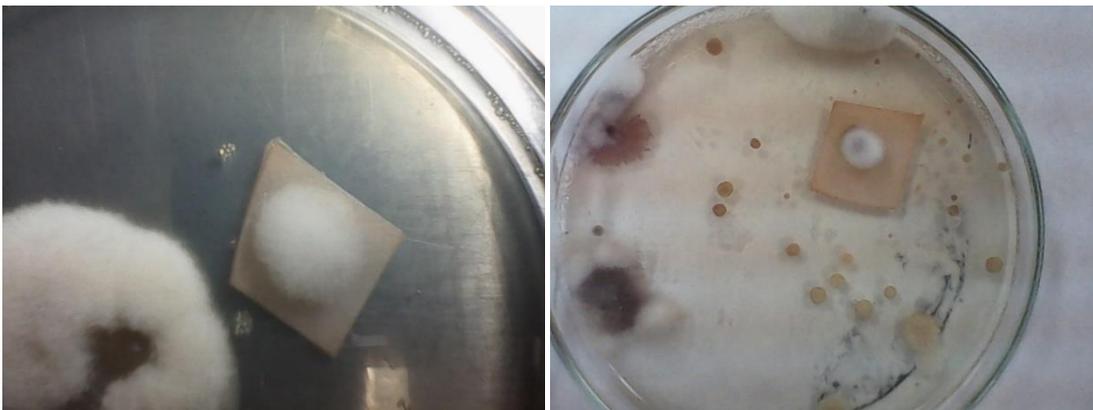


Figura 13A. Incidencia de *Fusarium spp.*, en semillas de sandía procedentes de las concentraciones de creolina (C2 y C3), a los 22 días de exposición con el hongo

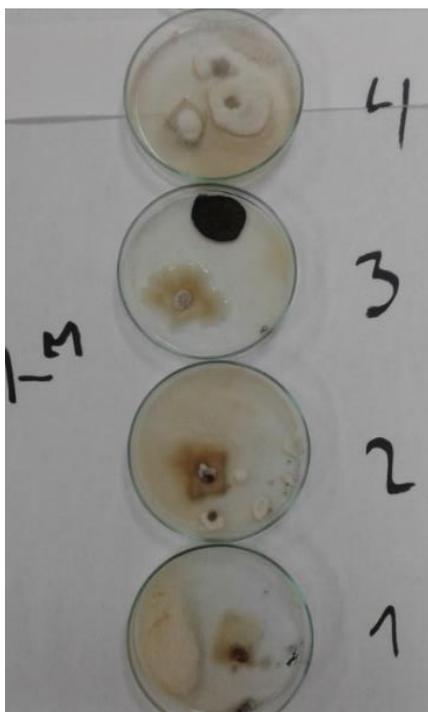


Figura 14A. Infección progresiva del micelio de hongo (*Fusarium spp*), expuesto durante 22 días

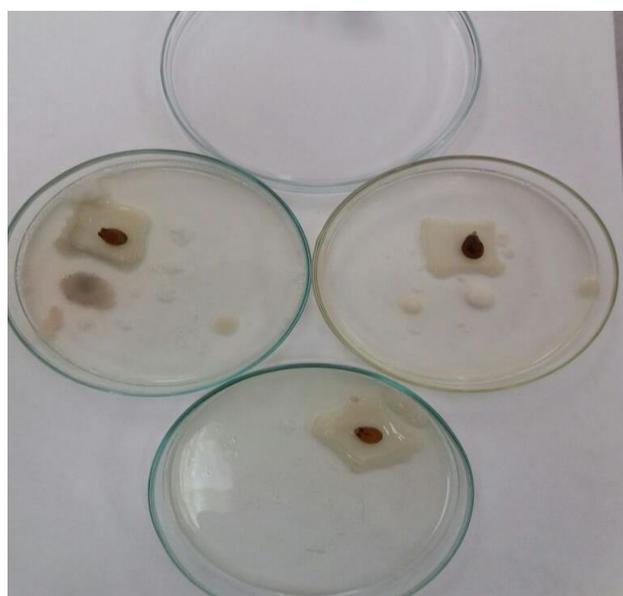


Figura 15A. (T6C6), inhibición del hongo *Fusarium spp*



Figura 16A. Muerte de 10 plántulas de T1C1, por ataque de *Fusarium spp.*, a los 10 días de exposición con el hongo



Figura 17A. Infección de *Fusarium spp.*, en plántulas tratadas con Captan, a los 10 días de exposición con el hongo



Figura 18A. Infección de *Fusarium spp.*, en plántulas tratadas con Captan

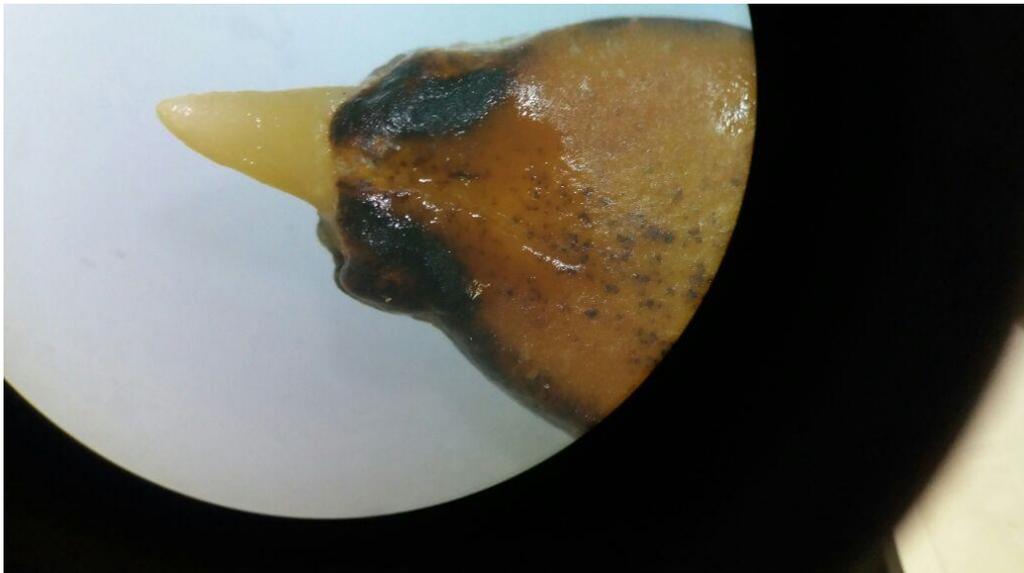


Figura 19A. Semilla tratada con creolina, visto con estéreo microscopio

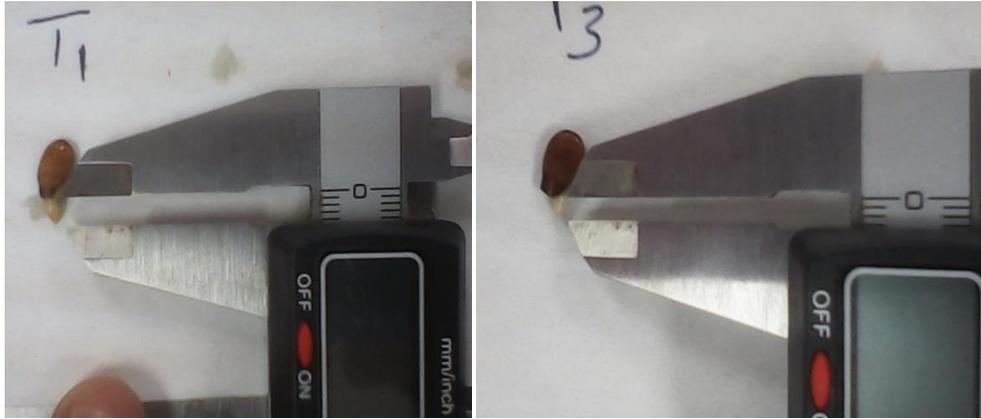


Figura 20A. Longitud radicular de semillas tratadas con creolina



Figura 21A. Longitud del hipocótilo del T1C1



Figura 22A. Peso de masa fresca en plántulas del T1C1 a los 12 días de la germinación



Figura 23A. Sustratos embebidos en soluciones de creolina C5 y C6



Figura 24A. Unidades formadoras de colonias de hongos en el sustrato A (control)

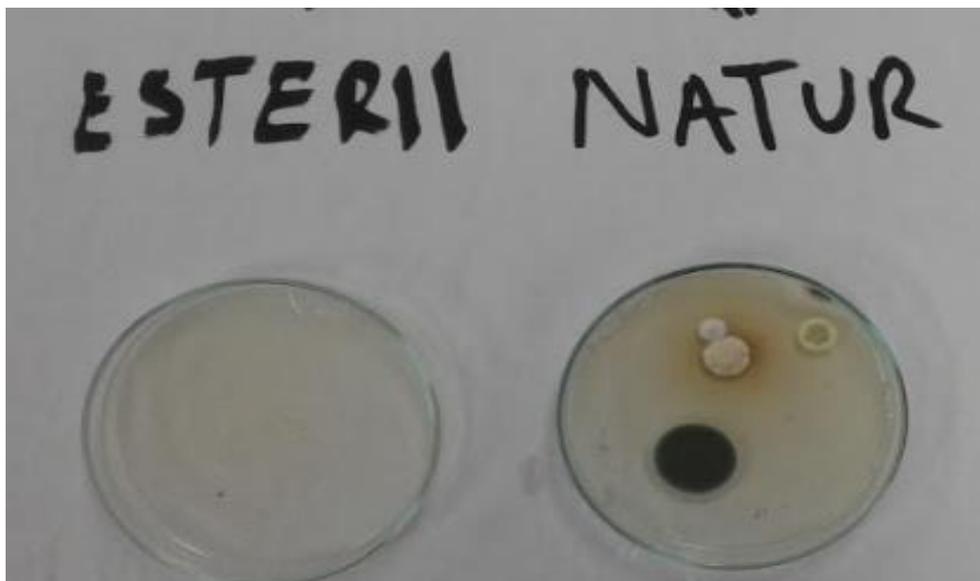


Figura 25A. Unidades formadoras de colonias de hongos en sustratos B y C (esterilizado y natural)

